

تأثیر عصاره هیدروالکلی میوه گیاهان اسپند و دارفلل بر میزان هورمون‌های محور هیپوفیز-گناد موش‌های آزمایشگاهی نر نژاد NMRI

نامدار یوسف‌وند^۱، دلارام اسلیمی اصفهانی^{۲*} و طیه بهرامی^۲

دریافت: ۱۳۹۵/۶/۱۴ / پذیرش: ۱۳۹۶/۶/۲۸ / چاپ: ۱۳۹۶/۹/۳۰

^۱گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

^۲گروه علوم جانوری، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

*مسئول مکاتبات: eslimi@khu.ac.ir

چکیده. گیاهان اسپند و دارفلل کاربرد درمانی فراوانی دارند. این گیاهان حاوی فلاونوئیدها هستند که احتمالاً بر سیستم اندوکرینی تولیدمثل مؤثرند و می‌توانند باروری را کاهش دهند؛ بنابراین، در این مطالعه عصاره هیدروالکلی اسپند و دارفلل بر محور هیپوفیز-گناد و تغییرات بافت بیضه تحت بررسی قرار گرفت. در این تحقیق حیوانات به یک گروه کنترل و سه گروه تحت آزمایش تقسیم شدند. گروه اول عصاره هیدروالکلی گیاه اسپند با غلظت ۲۰۰ میلی گرم/لیتر، گروه دوم عصاره هیدروالکلی گیاه دارفلل با غلظت ۲۰۰ میلی گرم/لیتر و گروه سوم ترکیب این دو عصاره را با همین غلظت به مدت ۳۰ روز دریافت کردند. بعد از گذشت زمان تیمار چندین شاخص باروری از جمله تعداد اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت و اسپرماتید و تغییرات بافتی بیضه و نیز سطوح سرمی تستوسترون، LH و FSH اندازه‌گیری شد. داده‌های به‌دست آمده توسط نرم‌افزار SPSS تجزیه و تحلیل شدند. در این مطالعه سطوح هورمون‌های تستوسترون، هورمون محرک فولیکولی و هورمون لوتهینی در گروه عصاره اسپند و هردو عصاره در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌دار داشت. علاوه بر این، تعداد اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت و اسپرماتید در گروه عصاره اسپند و هردو عصاره کاهش معنی‌دار نشان داد. نتایج این مطالعه نشان داد عصاره هیدروالکلی گیاهان اسپند و دارفلل باعث کاهش عمل کرد محور هیپوفیز-گناد و اسپرماتوژنز در موش کوچک آزمایشگاهی نر نژاد NMRI می‌شوند.

واژه‌های کلیدی. هورمون محرک فولیکولی، هورمون لوتهینی، تستوسترون، اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت، اسپرماتید

The impact of hydroalcoholic extracts of *Peganum harmala* and *Piper longum* on pituitary-gonad axis hormone levels of male NMRI mice

Namdar Yousefvand ¹, Delaram Eslimi Esfahani^{2*} & Tayebbeh Bahrami²

Received 05.09.2016/ Accepted 19.09.2017/ Published 21.09.2017

¹Department of Biology, Faculty of Science, Razi University, Kermanshah, Iran

²Department of Animal Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

*Correspondent author: eslimi@khu.ac.ir

Abstract. Several therapeutic effects have been reported for *Peganum harmala* and *Piper longum*. These plants contain flavonoids that probably can affect reproductive endocrine system and reduce fertility. In this study, the impacts of hydroalcoholic extracts of *Peganum harmala* and *Piper longum* on pituitary-gonadal axis were investigated. Male mice were divided into one control group and three experimental groups. The first experimental group received the extract of *Peganum harmala* (200 mg/lit), while the second experimental group received the extract of *Piper longum* (200 mg/lit) and the third experimental group received the combination of both extracts (200 mg/lit) for 30 days. After the treatment, spermatogonia, spermatocytes and spermatids were counted and serum levels of testosterone, follicle-stimulating hormone (FSH), and luteinizing hormone (LH) were measured. Data were analyzed by SPSS software. Levels of testosterone, FSH and LH showed a significant decrease in the first and third experimental groups in comparison with the control group. Moreover, the number of spermatogonia, spermatocyte and spermatid decreased in these groups. The results of the present study demonstrated that hydroalcoholic extract of *Peganum harmala* and *Piper longum* can decrease the pituitary gonadal axis function and spermatogenesis in male NMRI mice.

Keywords. follicular stimulating hormone, luteinizing hormone, testosterone, spermatogonia, spermatocyte, spermatid

مقدمه

استفاده از گیاهان دارویی برای درمان بیماری‌ها در طب دنیا و ایران سابقه‌ای طولانی دارد. با توجه به اینکه این داروها، در هنگام مصرف متعادل، عوارض کمتری نسبت به داروهای صناعی دارند، توجه دانشمندان به استفاده دوباره از گیاهان دارویی معطوف شده است. تاکنون تحقیقات بسیاری با استفاده از عصاره‌های گیاهی مختلف روی محور هورمونی هیپوفیز-گناد و بافت بیضه انجام شده است و اطلاعات ارزشمندی در این زمینه به‌دست آمده است (Heidari et al., 2011; 2008; Jasemi et al., 2009 Parandin et al.,

گیاهان دارفلل (*Piper longum*) و اسپند (*Peganum harmala*) که در طب سنتی کاربرد دارند بر سیستم تولیدمثلی اثر گذارند (Zaveri et al., 2010; Subhan et al., 1998). دارفلل از خانواده گیاه فلفل است که در طب سنتی در آسیا و ایسلند استفاده می‌شود. ریشه آن پُرگره و بسیار ضخیم، پوست ریشه خاکستری و مغزش سفید و تند است. این ریشه به فارسی و در بازار دارویی ایران فلفل مویه نامیده می‌شود (Mirheidar & Maarefe, 2006). ترکیبات اصلی آن آلکالوئیدهای پی‌پرین (Piperine) و پی‌پرونال (*piperonal*) هستند. علاوه بر این حاوی فلائدرن و کدنی‌ن است. همچنین، دارای آثار متنوع بیولوژیکی شامل آنتی‌اکسیدانی است (Zaveri et al., 2010). اسپند گیاهی در طب سنتی خواب‌آور، ترقی‌آور، ضدانگل، باکتری و قارچ، سقط‌کننده جنین، ضدسرطان و محرک سیستم عصبی شناخته می‌شود (Mahmoudian et al., 2008). ترکیبات فعال اسپند عمدتاً شامل آلکالوئیدهایی است که به‌ویژه در دانه و ریشه تجمع یافته است (Loub et al., 1985). دانه‌های خشک اسپند حاوی تا ۳۵ درصد پروتئین، ۱۷ درصد روغن و آلکالوئیدهای هارمالین، هارمین، هارمان، هارمالول، پگائین و ایزوپگائین هستند. بتاکربولین‌ها نظیر هارمالین، هارمین به تنهایی بالغ بر ۶۰ درصد آلکالوئیدهای موجود در دانه را تشکیل می‌دهند. مشتقات کینازولینی همچون وسی‌سین و وسی‌سینون دسته دیگری از آلکالوئیدهای یافت‌شده در اسپند هستند. همچنین، عصاره دانه اسپند حاوی فلاونوئیدها و آنتروکینون است (Muhi-eldeen et al., 2008; Sharaf et al., 1997). استفاده از فرآورده‌های گیاهی به‌منزله جانشین یا مکمل داروهای سنتزی مؤثر بر باروری

به‌علت کنترل دوره‌ای، کم‌هزینه‌بودن، داشتن عوارض جانبی کمتر و برگشت‌پذیربودن دوباره کانون توجه قرار گرفته است. با توجه به ترکیبات موجود در گیاهان اسپند و دارفلل و اینکه بررسی‌های کمی در زمینه اثر عصاره این گیاهان بر فعالیت تولیدمثلی جنس نر و عملکرد بیضه صورت گرفته است، در این تحقیق به بررسی تأثیر عصاره هیدروالکلی آنها بر میزان هورمون‌های LH، FSH، تستوسترون و تغییرات بافتی بیضه در موش صحرایی نر بالغ پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

حیوانات مورد آزمایش

در این تحقیق از موش‌های کوچک سفید نر نژاد NMRI استفاده شد که در مرکز پرورش و نگهداری حیوانات در دمای محیط $22 \pm 2^\circ\text{C}$ و رطوبت ۴۰-۳۰ درصد نگهداری شدند. از لحاظ میزان تابش یک دوره تناوب ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی وجود داشت. به حیوانات غذای آماده استاندارد داده شد.

نحوه تهیه عصاره هیدروالکلی

گیاهان اسپند و دارفلل در هرباریوم دانشگاه خوارزمی شناسایی شد. سپس، ساقه و برگ خشک و پودر شدند. ۲۰۰ گرم از پودر هر گیاه درون ارلن یک‌لیتری ریخته و به آن الکل اتیلیک ۷۰ درصد اضافه شد، به‌گونه‌ای که سطح پودر را کاملاً بپوشاند و پودر گیاه در آن غوطه‌ور شود. سپس، درب ارلن با نسکو فیلم کاملاً مسدود شد. ترکیب حاصل به مدت ۷۲ ساعت در این وضعیت باقی ماند و در طی این زمان، هر ۱۲ ساعت یک‌بار ظرف محتوی ترکیب کاملاً تکان داده شد. در مرحله بعد ترکیب حاصل با کاغذ صافی واتمن صاف شد. سپس به تفاله باقی‌مانده، الکل ۷۰ درصد اضافه شد و بعد از ۱۲ ساعت صاف شد. سپس محلول‌های صاف‌شده توسط دستگاه روتاری در دمای ۴۰ درجه سلیسیوس و سرعت چرخش ۱۱۰ دور در دقیقه تا یک‌سوم حجم اولیه تغلیظ شدند. محلول به‌دست‌آمده در پتری‌دیش ریخته شد و روی هیتز برقی با حرارت غیرمستقیم و شرایط استریل خشک شد. به دلیل اینکه عصاره الکلی به‌دست‌آمده با توجه به پلاریته آن، حاوی کلیه مواد موجود در گیاه است از این‌رو به عصاره به‌دست‌آمده عصاره تام می‌گویند.

گروه‌ها و روش آزمایش

علاوه بر این میزان تستوسترون در گروه اسپند-دارفلل نسبت به گروه‌های اسپند یا دارفلل به تنهایی کاهش معنی‌دار داشت (شکل ۱).

نتایج حاصل از شمارش نشان داد که میانگین سلول‌های اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت و اسپرماتید در گروه‌های اسپند و اسپند-دارفلل به صورت معنی‌دار کاهش یافت ولی این اختلاف در گروه دارفلل نسبت به گروه کنترل معنی‌دار نیست (جدول ۱ و شکل ۲).

بحث

مطالعه حاضر نشان داد که سطح هورمون‌های FSH-LH و تستوسترون در گروه اسپند نسبت به گروه کنترل، کاهش معنی‌دار دارد. این کاهش در میزان سطوح هورمون‌های گنادوتروپین نشان‌دهنده آن است که عصاره اتانولی گیاه اسپند می‌تواند روی فعالیت سیستم تولیدمثلی جنس نر اثر کاهشی داشته باشد. همچنین، گروه دریافت‌کننده عصاره دارفلل کاهش معنی‌داری در میزان تستوسترون نشان داد، ولی کاهشی که در هورمون‌های FSH-LH مشاهده شد معنی‌دار نبود. علاوه بر این، سطح هورمون‌های FSH-LH و تستوسترون در گروه دریافت‌کننده اسپند-دارفلل کاهش معنی‌دار بیشتری نسبت به گروه‌های دریافت‌کننده هریک از این عصاره‌ها به تنهایی داشت. کاهش چشم‌گیر در میزان سطوح هورمون‌های گنادوتروپین و تستوسترون نشان‌دهنده آن است که ترکیب عصاره اتانولی گیاه اسپند-دارفلل می‌تواند بر فعالیت سیستم تولیدمثلی جنس نر در جهت کاهش تولید هورمون‌های محور هیپوفیز و تستوسترون اثر هم‌افزایی داشته باشد. همچنین، در گروه‌های عصاره گیاهان اسپند و اسپند-دارفلل، کاهش تعداد اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت و اسپرماتید همراه با دژنره شدن بافت مشاهده شد.

اسپند و دارفلل ترکیبات فلاونویدی دارند (Akhouzadeh, 2000; Sharaf et al., 1997). نتایج حاصل از یک پژوهش نشان‌دهنده این مطلب است که ترکیبات فلاونویدی دارای خواص فیتواستروژنی هستند (Farsam et al., 2000) و می‌توانند بر عملکرد محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد مؤثر باشند (Panjeshahin et al., 2005). افزایش استروژن در جنس نر سبب کاهش هورمون تستوسترون می‌شود. به نظر می‌رسد

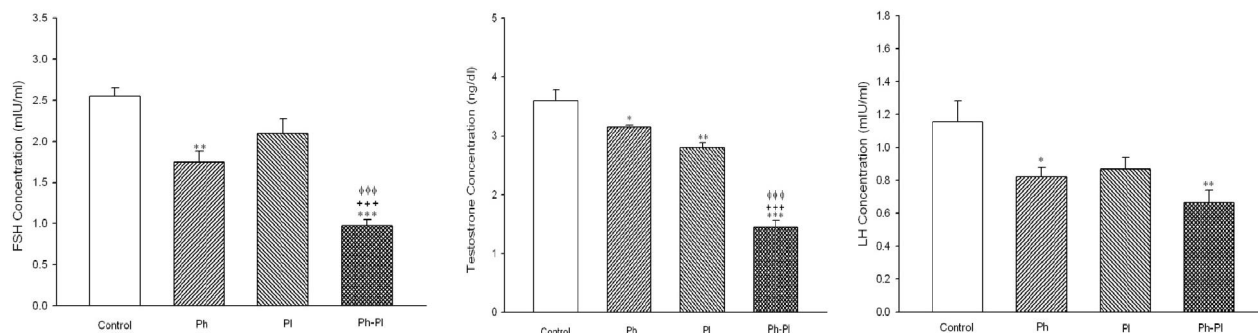
در این آزمایش از ۲۴ سر موش کوچک نر آزمایشگاهی استفاده شد که به صورت تصادفی به چهار گروه شش تایی تقسیم شدند. گروه اول به مثابه گروه کنترل، در طول آزمایش دارویی دریافت نکرد. گروه دوم عصاره گیاه اسپند را با غلظت ۲۰۰ میلی گرم/لیتر دریافت کرد. به گروه سوم عصاره گیاه دارفلل با غلظت ۲۰۰ میلی گرم/لیتر داده شد و گروه چهارم عصاره گیاهان دارفلل و اسپند را با غلظت ۲۰۰ میلی گرم/لیتر دریافت کرد. در پایان روز سی‌ام، حیوانات با اتر بی‌هوش شدند و خون‌گیری از ناحیه بطن قلب انجام شد. پس از جداسازی سرم، تا زمان انجام سنجش‌ها توسط روش رادیوایمنواسی (کیت شرکت بیوتک)، هورمون‌های FSH، LH و تستوسترون در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. همچنین، در پایان، بیضه حیوانات از بدن آنها خارج شد و از آنها مقاطع بافتی تهیه شد. پس از رنگ‌آمیزی به روش هماتوکسیلین-ئوزین، مطالعات بافتی با میکروسکوپ نوری صورت گرفت.

روش تجزیه و تحلیل اطلاعات

محاسبات با استفاده از روش تحلیل واریانس یک‌طرفه برای مقایسه گروه‌ها توسط نرم‌افزار SPSS انجام شد. بعد از هر F معنی‌دار، تحلیل به کمک test Post hoc tukey انجام شد. از لحاظ آماری p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار فرض شد.

نتایج

با توجه به نتایج، کاهش مقدار هورمون FSH در گروه اسپند نسبت به گروه کنترل معنی‌دار بود. ولی در گروه دارفلل کاهش هورمون FSH، معنی‌دار نبود. در گروه اسپند-دارفلل، میزان FSH نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌دار نشان داد. همچنین این کاهش نسبت به گروه اسپند یا دارفلل به تنهایی نیز معنی‌دار بود (شکل ۱). میزان LH در گروه اسپند نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌دار نشان داد. ولی کاهش هورمون LH در گروه دارفلل معنی‌دار نبود. میزان LH نیز در گروه اسپند-دارفلل نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌دار یافته بود (شکل ۱). درباره تستوسترون کاهش معنی‌دار در گروه اسپند نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. در گروه دارفلل نیز کاهش معنی‌داری در میزان تستوسترون نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. در گروه دارفلل نسبت به گروه اسپند، تستوسترون کاهش معنی‌دار نشان داد.



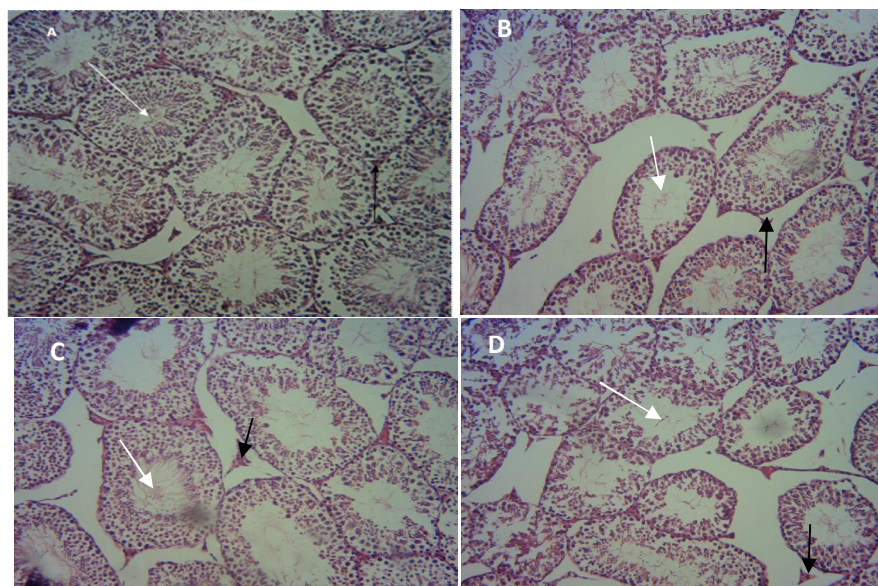
شکل ۱- تأثیر عصاره هیدروالکلی گیاهان اسپند، دارفلفل و ترکیب هر دو عصاره بر مقدار سرمی FSH، LH و تستوسترون (Mean±SE).

Fig. 1. Effect of hydroalcoholic extract of *Peganum harmala*, *Piper langum* and both of them on serum levels of LH, FSH and testosterone (Mean±SE).

جدول ۱- تأثیر عصاره هیدروالکلی گیاهان اسپند، دارفلفل و ترکیب هر دو عصاره بر تعداد اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت و اسپرماتید.

Table 1. Effect of hydroalcoholic extract of *Peganum harmala*, *Piper langum* and both of them on the number of spermatogonia, spermatocytes and spermatids.

اسپرماتید (Means±SD)	اسپرماتوسیت (Means±SD)	اسپرماتوگونی (Means±SD)	گروه های تحت مطالعه
۹۹/۲۵±۱/۱۶	۶۴/۵±۱/۵۹	۵۸/۴±۱/۹۹	کنترل
۸۱/۳۳±۰/۲*	۴۰/۸۹±۱/۰۴*	۳۶/۲۵±۲/۹*	عصاره گیاه اسپند
۸۹/۲±۱/۳	۵۶/۴±۲/۲۹	۴۲/۱۳±۱/۳۶	عصاره گیاه دارفلفل
۸۱±۰/۳*	۴۱±۱/۰۸*	۳۶/۲۰±۲/۷۵*	عصاره هر دو گیاه



شکل ۲- تأثیر عصاره هیدروالکلی گیاهان اسپند، دارفلفل و ترکیب هر دو عصاره بر اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت و اسپرماتید. (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین (x40). پیکان سیاه: سلول های لیدیج، پیکان سفید: اسپرماتیدها.

Fig. 2. Effect of hydroalcoholic extract of *Peganum harmala*, *Piper langum* and both of them on the spermatogonia, spermatocytes and spermatids. (H&E- 40X) (Leydig cells: black arrow); (Spermatid: white arrow).

(Piyachaturawat & Pholpramool, 1997). دوپامین نوروترانسمیتری است که اثر بازدارنده بر محور HPG دارد (Koeppen & Stanton, 2010). از آنجا که بتاکربولین‌های موجود در گیاه اسپند فعالیت MAO-A و MAO-B را مهار می‌کند و غلظت آمین‌هایی نظیر نوراپی نفرین، سروتونین و دوپامین را افزایش می‌دهند، احتمال دارد که این گیاه قسمتی از اثر ضدباروری خود را بر محور HPG از طریق فعالیت مسیر دوپامینرژیک اعمال می‌کند (Kacsoh, 2000).

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر نشان داد که مصرف خوراکی عصاره گیاهان اسپند و اسپند-دارفلل بر هورمون‌های محور هیپوفیز-گناد مؤثر است و سبب کاهش هورمون‌های FSH-LH و تستوسترون می‌شود. احتمالاً فیتواستروئول‌های موجود در اسپند و دارفلل با کاهش کلسترول می‌توانند باعث کاهش پیش‌سازهای سنتز تستوسترون شوند که کاهش تستوسترون را به دنبال دارد. تحقیقات مشابه نیز نشان می‌دهند که گیاهان با خاصیت فیتواستروژنی نقشی شبیه نتایج این تحقیق نشان می‌دهند (Barzegari Firouzabadi *et al.*, 2012). این تحقیق با کاهش غلظت FSH اسپرماتوژنز و تولید پروتئین متصل‌شونده به آندروژن کاهش می‌یابد و در نتیجه میزان سلول‌های دودمان اسپرم کاهش می‌یابد. از آنجا که FSH مانع از دژنره‌شدن طبیعی سلول‌های زایشی می‌شود، کاهش آن دلیلی برای کاهش فاکتورهای اسپرماتوژنز است. از طرفی، سلول‌های بنیادی اسپرماتوژنز [Spermatogonial Stem Cells (SSCs)] اساس اسپرماتوژنز هستند که می‌توانند تعداد زیادی سلول‌های زایشی تمایز یافته ایجاد کنند. سلول‌های سرتولی از عوامل اصلی تنظیم‌کننده (SSCs) هستند. تستوسترون تحت تأثیر هورمون لوتهینی LH که از غده هیپوفیز ترشح می‌شود در سلول‌های لیدیگ بیضه ساخته می‌شود. با توجه به اهمیت FSH در اسپرماتوژنز به نظر می‌رسد که کاهش معنی‌دار سلول‌های جنسی محصول اسپرماتوژنز نتیجه کاهش این هورمون باشد.

سپاسگزاری

نویسندگان از دانشکده علوم زیستی دانشگاه خوارزمی و دانشکده علوم پایه دانشگاه رازی جهت کمک‌های بی‌دریغشان تشکر می‌نمایند.

فیتواستروئول‌ها از طریق کاهش کلسترول خون و تری‌گلیسریدها در کاهش سنتز هورمون‌های آندروژن خصوصاً تستوسترون نقش دارند (Mokhtari *et al.*, 2006). همچنین، آنزیم آروماتاز در سلول‌های سرتولی مسئول تبدیل آندروژن به استروژن است و فیتواستروئول‌ها با مهار این آنزیم حساسیت بافت‌ها به آندروژن را کاهش می‌دهند و فعالیت آندروژن‌ها کاهش می‌یابد (Mokhtari *et al.*, 2006). از طرفی، فیتواستروئول‌ها می‌توانند آنزیم ۵-آلفاردوکتاز را مهار کنند که کاهش این آنزیم باعث کاهش دی-هیدروتستوسترون (شکل فعال تستوسترون) در بافت‌ها می‌شود (Khan *et al.*, 2004). FSH با اتصال به سلول‌های سرتولی سبب تحریک آدنیلات سیکلاز و افزایش cAMP و ساخت و ترشح پروتئین متصل‌شونده به آندروژن می‌شود. این پروتئین، با اتصال به تستوسترون، آندروژن را جهت فرآیند اسپرم‌زایی به درون لوله‌های اسپرم‌ساز هدایت می‌کند. با کاهش غلظت FSH این عمل کاهش می‌یابد و در نتیجه میزان سلول‌های دودمان اسپرم کم می‌شود. از آنجا که FSH مانع از دژنره‌شدن طبیعی سلول‌های زایشی می‌شود، کاهش آن دلیلی برای کاهش فاکتورهای اسپرماتوژنز است. با توجه به اهمیت FSH در اسپرماتوژنز به نظر می‌آید که کاهش سلول‌های جنسی محصول اسپرماتوژنز یعنی اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید، همچنین سلول‌های لیدیگ و سرتولی در گروه‌های آزمایش و کنترل باشد (Hall *et al.*, 1990).

پی‌پرین و پی‌پرینولین از آلکالوئیدهای مهم گیاه دارفلل هستند (Zaveri *et al.*, 2010). پی‌پرین در موش سوری ماده با جلوگیری از لانه‌گزینی سبب عقیم‌شدن این حیوان می‌شود، ولی این خاصیت نتیجه اثر ضد استروژنی و ضد پروژسترونی نیست (Chatterjee & Dutta, 1967). این یافته‌ها با مطالعه ما تطابق دارد و نشان می‌دهد عوامل کاهنده هورمون تستوسترون ممکن است در عصاره این گیاه هم وجود داشته باشند. گزارش شده در موش‌های صحرایی ماده پی‌پرین، گنادوتروپین سرم را به‌طور مشخصی افزایش می‌دهد و اندازه نرمال تستوسترون برخلاف انتظار کاهش پیدا کرده است (Lakshmi *et al.*, 2006). اثر پی‌پرین بر باروری تخمک خوکچه هندی نشان داد که سبب افزایش باروری می‌شود. هرچند بررسی جنین‌ها ۴۸ ساعت بعد نشان داد که تأثیری در پیشرفت مراحل جنینی نداشته است

REFERENCES

- Akhoundzadeh, Sh. 2000. Iranian plant medicine encyclopedia. – Arjumand Press. pp 51.
- Baghiani, A., Djarmouni, M., Boumerfeg, S., Trabsa, H., Charef, N. and Khennouf, S. 2012. Xanthine oxidase inhibition and antioxidant effects of *Peganum harmala* seed extraccts. – European J. Med. Plants 2: 42-56.
- Barzegari Firouzabadi, F. and Mirhosseini, M. 2012. Effect of Persian hogweed (*Heracleum persicum*) on the morphological changes in mice testes and the level of hormone testosterone. – Razi J. Med. Sci. 19: 18-24.
- Chatterjee, A and Dutta, C.P. 1967. Alkaloids of *Piper longum* Linn. I. structure and synthesis of *Piper longumine* and *Piper longuminine*. – Tetrahedron 23: 1769-1781.
- Farsam, H., Amanlou, M., Dehpour, A. and Jahaniani, F. 2000. Anti-inflammatory and analgesic activity of *Bieber steiniamultifida* DC. root extract. – J. Ethnopharmacol. 71: 443-447.
- Hall, SH., Conti, M., French, F.S. and Joseph, D.R. 1990. Follicle-stimulating hormone regulation of androgen-binding protein messenger RNA in sertoli cell cultures. – Mol. Endocrinol. 4: 349-355.
- Heidari, M.A.F., Ghaffari-Novin, M., Vaezi, G.H., Keramati, K. and Rajaei, F. 2008. Antiandrogenic effects of *Rosmarinus officinalis* extract on the reproductive tract of male rats. – Tehran Univ. Med. J. 65: 26-31.
- Jasemi, M., Saki, G.H. and Rahimi, F. 2009. The effect of *Centella asiatica* alcoholic extract on the serum levels of testosterone, FSH and LH in male Wistar rat. – J. Sabzevar Univ. Med. Sci. 16: 6-11.
- Kacsoh, B. 2000. Endocrine Physiology. – Publication of McGraw Hill. pp 448-640.
- Khan, U.A., Aslam, M. and Saeed, S.A. 2004. Effect of beta adrenergic antagonist on the production of testosterone by rat's Leydig cells. – J. Ayub. Med. Coll. Abbottabad 16: 26-28.
- Koeppen, M.B. and Stanton, A.B. 2016. Berne & Levy Physiology, 6th Edition. Section VIII: The endocrine and reproductive system. – Publication of Mosby Elsevier. pp 653-758.
- Lakshmi, V., Kumar, R., Agarwal, S.K. and Dhar, J.D. 2006. Antifertility activity of *Piper longum* Linn. in female rats. – Nat. Prod. Res. 20: 235-239.
- Loub, W.D., Farnsworth, N.R., Soejarto, D.D. and Quinn, M.L. 1985. NAPRALERT: computer handling of natural product research data. – J. Chem. Inf. Comput. Sci. 25: 99-103.
- Mahmoudian, M., Jalipour, H. and Dardashti, P.S. 2008. Toxicity of *Peganum harmala*: reviw and a case report. – Iran J. Pharmacol. 1: 1-4.
- Mirheidar, H. and Maaref G. 2011. Maaref giyahi-karbord giyahan dar pishgiri va darman bimariha. – Publication of Farhang Eslami 3: 72-75.
- Mokhtari, M., Sharifi, A. and Moghadamnia, D. 2006. The Effects of hydroalcoholic extract of Phoenix dactylifera on testis histological changes and testostron, LH and FSH hormone levels of male rat. – Iran J. Basic Med. Sci. 4: 265-271.
- Muhi-elden, Z., Al-Shamma, K.J., Al- Hussainy, T.M., Al-Kaissi, E.N., Al-Daraji, A.M. and Ibrahim, H. 2008. Acute toxicological studies on the extract of Iraqi *Peganum harmala* in Rats. – Eur. J. Sci. Res. 22: 494-500.
- Panjeshahin, M., Dehghani, F., Tahei, T. and Panahi, Z. 2005. The effects of hydroalcoholic extract of Actini diac-hinesis sperm count and motility and on the blood levels of estradiol and testosterone in male rats. – Arch. Iran Med. 8: 211-216.
- Parandin, R., Ghorbani, R. and Sadeghipour Roodsari H.R. 2011. Effects of alcoholic extract of *Achillea millefolium* flowers on fertility parameters in male rats. – Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences 19: 84-93.
- Piyachaturawat, P. and Pholpramool, C. 1997. Enhancement of fertilization by piperine in hamsters. – Cell Biol. Int. 21: 405-409.
- Sharaf, M., el-Ansari, M.A., Matlin, S.A. and Saleh, N.A. 1997. Four flavonoid glycosides from *Peganum harmala*. – Phytochem. 44: 533-536.
- Subhan, F., Sultan, S., Alam, W. and Dil, A.S.T. 1998. Aphrodisiac potential of *Peganum harmala* seeds. – Hamdard Medicus 41: 69-72.
- Zaveri, M., Khandhar, A., Patel, S. and Patel, A. 2010. Chemistry and pharmacology of *Piper longum*. – Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res. 5: 67-76.

How to cite this article:

Yousefvand, N., Eslimi Esfahani, D. and Bahrami, T. 2017. The impact of hydroalcoholic extracts of *Peganum harmala* and *Piper longum* on pituitary-gonad axis hormone levels of male NMRI mice. – Nova Biologica Rep. 4: 209-214.

یوسف‌وند، ن.، اسلیمی‌اصفہانی، د. و بهرامی، ط. ۱۳۹۶. تأثیر عصاره هیدروالکلی میوه گیاهان اسپند و دارقفل بر میزان هورمون‌های محور هیپوفیز-گناد موش‌های آزمایشگاهی نر نژاد NMRI. – یافته‌های نوین در علوم زیستی ۴: ۲۱۴-۲۰۹.

۲۰۹