Original Article

Effects of Hydroalcoholic Extract of Pistacia atlantica kurdica and Fluvoxamine on Anxiety-Like Behavior in Male Rat under Immobilization Stress

Fatemeh Babaeifar[1*], Mehdi Mohammadzadeh[1], Minoo Ilkhanipour[1], Farrin Babaei[1]

[1]*Department of Biology, Faculty of Sciences, Urmia University, Urmia, Iran.*

[*]***Corresponding Author:***
Fatemeh Babaeifar, Department of Biology, Faculty of Sciences, Urmia University, Urmia, Iran.

Email: fatemehbabaei706@yahoo.com

Received: 24 Aug, 2016

Accepted: 27 Sep, 2016

Abstract

Background and Objectives: Today, use of herbal products for treatment of neurological disorders, including anxiety has become commonplace. The purpose of this study was to evaluate the effects of hydroalcoholic extract of *Pistacia atlantica kurdica* and fluvoxamine on anxiety-like behavior in male rats under immobilization stress.

Methods: In this experimental study, 30 mature male wistar rats weighting 170±30g, were divided into 5 groups of 6 each. To induce immobilization stress in the treatment groups, the restrainer was used, and to assess the anxiety-like behavior, the plus-maze test was used, and administration of extract of pistachio (400mg/kg) and fluvoxamine (120mg/kg) was performed through gavage. At the end, the levels of malondialdehyde and catalase in the brain homogenate as well as corticosterone and glucose in serum samples, were measured.

Results: According to evaluation indices for anxiety-like behavior in mice, the effects of pistachio extract had significant difference compared to stress group. This extract improved the anxiety-like behavior with increasing the time spent in the open arms of the maze in the groups treated with the extract and extract+drug compared to the stress group. Also, the extract increased the catalase and decreased malondialdehyde, glucose, and corticosterone levels in extract and extract+drug treatment groups compared to control group. Increased time spent in the open arms, increased catalase, and decreased malondialdehyde and corticosterone, were observed in the fluvoxamine treated group.

Conclusion: Based on the results of this study, the immobilization stress-induced anxiety-like behavior in animals, decreased by hydroalcoholic extract of pistachio and/or by fluvoxamine in the treatment groups

Keywords**:** Anxiety; *Pistacia atlantica kurdica*; Fluvoxamine.

مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره یازدهم، شماره نهم، آذر ۹۶
صفحه ۱۰ الی ۱۹

مقاله پژوهشی
(Original Article)

اثرات عصاره هیدروالکلی پسته‌کوهی و داروی فلووکسامین بر رفتار اضطرابی موش صحرایی نر تحت استرس بی‌حرکتی

فاطمه بابائی‌فر[1*]، مهدی محمدزاده[1]، مینو ایلخانی‌پور[1]، فرین بابائی[1]

[1]گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: امروزه، استفاده از فرآورده‌های گیاهی برای درمان اختلالات عصبی ازجمله اضطراب رواج یافته است. تحقیق حاضر با هدف ارزیابی اثرات عصاره هیدروالکلی پسته‌کوهی و داروی فلووکسامین بر رفتار اضطرابی موش‌های صحرایی نر تحت استرس بی‌حرکتی صورت گرفت.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ۳۰ رأس موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار (با وزن ۳۰±۱۷۰ گرم) به ۵ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. برای القای استرس بی‌حرکتی در گروه‌های تحت‌تیمار، از محدودکننده و جهت سنجش رفتار اضطرابی از آزمون ماز به‌علاوه‌ای و تجویز عصاره پسته‌کوهی (۴۰۰میلی‌گرم برکیلوگرم) و داروی فلووکسامین (دوز ۱۲۰ میلی‌گرم برکیلوگرم)، از روش گاواژ استفاده گردید. در پایان، میزان مالون‌دی آلدئید، کاتالاز هموژنای مغزی، کورتیکوسترون و گلوکز نمونه‌های سرمی اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: با توجه به شاخص‌های ارزیابی رفتار اضطرابی موش‌ها، اثرات عصاره پسته‌کوهی در مقایسه با گروه مبتلا به استرس، تفاوت معنی‌داری داشت. این عصاره سبب بهبود رفتار اضطرابی با افزایش مدت زمان سپری‌شدن در بازوهای باز ماز در گروه‌های تحت تیمار دریافت‌کننده عصاره و گروه دریافت‌کننده عصاره و دارو نسبت به گروه استرس شد. همچنین عصاره سبب افزایش میزان کاتالاز و کاهش مالون‌دی آلدئید، گلوکز و کورتیکوسترون در گروه‌های تحت تیمار عصاره و گروه عصاره - دارو نسبت به گروه شاهد شد. در گروه تحت تیمار با داروی فلووکسامین؛ افزایش مدت زمان سپری‌شده در بازوی باز، افزایش کاتالاز، کاهش کورتیکوسترون و مالون‌دی آلدئید مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: براساس نتایج این مطالعه، رفتار اضطرابی القاشده با استرس بی‌حرکتی در حیوانات با عصاره هیدروالکلی پسته‌کوهی و یا داروی فلووکسامین در گروه‌های تحت تیمار کاهش می‌یابد.

کلید واژه‌ها: اضطراب؛ پسته‌کوهی؛ فلووکسامین.

*نویسنده مسئول مکاتبات:
فاطمه بابائی‌فر، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:
fatemehbabaei706@yahoo.com

تاریخ دریافت:۹۵/۶/۲

تاریخ پذیرش:۹۵/۷/۵

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Babaeifar F, Mohammadzadeh M, Ilkhanipour M, Babaei F. Effects of hydroalcoholic extract of pistacia atlantica kurdica and fluvoxamine on anxiety-like behavior in male rat under immobilization stress. Qom Univ Med Sci J 2017;11(9):10-19. [Full Text in Persian]

مقدمه

اضطراب اغلب با آشفتگی‌های عصبی، ذهنی و تغییرات فیزیولوژیک همراه است. بنابراین در صورت تجاوز از یک حد، به‌عنوان اختلال اضطرابی درنظر گرفته می‌شود (۲،۱). معمولاً رفتار اضطرابی در یک‌هشتم از کل جمعیت جهان و در بین زنان، ۳۰/۵٪ و در بین مردان، ۱۹/۲٪ گزارش شده است (۴،۳). در کنترل رفتارهای اضطرابی، نوروترانسمیترهایی مانند نوراپی‌نفرین، GABA، گلوتامات و سروتونین نقش دارند. برخی پژوهش‌ها، سروتونین و فعال‌کردن گیرنده‌های آن را در رفتارهای ضداضطرابی مؤثر دانسته‌اند (۵). زرین‌دست و همکاران در مطالعه‌ای، اثرات ضداضطرابی گیرنده‌های GABA را در رت‌ها با استفاده از دستگاه ماز مرتفع به‌علاوه‌ای به اثبات رساندند (۶). آمیگدال نیز به‌عنوان بخشی از سیستم لیمبیک نقش مهمی در واسطه‌گری رفتارهای اضطرابی می‌تواند ایفا کند (۷). پژوهش‌ها در زمینه اضطراب، بیشتر بر اختلال در سیستم انتقال GABA و گیرنده سروتونین اشاره دارند (۸). مهارکننده بازجذب سروتونین (SSRIs)، بنزودیازپین‌ها و داروهای ضدافسردگی سه‌حلقه‌ای، در درمان اختلالات اضطرابی از برنامه‌های درمانی مفید به حساب می‌آیند. بنزودیازپین‌ها و داروهای ضدافسردگی در کاهش رفتارهای اضطرابی در بیماران، مؤثر گزارش شده‌اند. داروهای ضدافسردگی با به تأخیر انداختن بازجذب سروتونین از شکاف سیناپسی از طریق تنظیم سیستم سروتونرژیک در درمان اختلالات اضطرابی ایفای نقش می‌کنند (۹). در مطالعات کریمی و همکاران، بنزودیازپین‌ها با تسهیل عمل مهاری GABA باعث مهار انتخابی بازجذب سروتونین می‌شوند. بنابراین، به‌واسطه این روش می‌توانند در درمان اضطراب کاربرد داشته باشند. همچنین داروهای ضدافسردگی در درمان اختلالات اضطرابی به‌عنوان داروهای جدیدتر با عوارض جانبی کمتر استفاده می‌شوند (۱۰). ترکیبات بنزودیازپینی به‌واسطه ایجاد وابستگی و اعتیاد در مصرف‌کنندگان، در درمان اضطراب کاربرد چندانی ندارند (۹). Offidani و همکاران برای درمان بیماران مبتلا به اختلالات اضطرابی، با جایگزینی داروهای ضدافسردگی به جای بنزودیازپین‌ها به این نتیجه رسیدند که استفاده از بنزودیازپین‌ها باید بیشتر مورد ارزیابی قرار گیرد (۱۱).

داروی فلووکسامین در سال ۱۹۸۳ از داروهای SSRIs با نیمه‌عمر حدود ۲۰-۱۵ساعت، شناخته شد. غلظت مصرفی فلووکسامین، در غلظت‌های ۳۰۰ -۱۰۰ میلی‌گرم بوده و در درمان افسردگی، اضطراب و اختلالات دیگر کاربرد دارد که با مهارکردن پمپ‌های بازجذب‌کننده سروتونین در نورون‌های پیش‌سیناپسی باعث افزایش غلظت سروتونین در فضای سیناپسی می‌شود (۱۲). سروتونین از مهم‌ترین انتقال‌دهنده‌های پیام‌های عصبی است و ۸۰٪ آن به‌وسیله سلول‌های انتروکرومافین روده و مابقی آن با نورون‌های سروتونرژیک سیستم عصبی مرکزی سنتز می‌شود. نورون‌های هسته رافه، منشأ اصلی آزادسازی سروتونین در مغز هستند که باعث افزایش حالت آرامش و کاهش اضطراب می‌شوند (۱۴،۱۳). با توجه به تأثیری که اختلالات اضطرابی بر سلامت روان و هزینه‌های اقتصادی - اجتماعی می‌گذارند، باید درپی راه‌های مناسب برای درمان این اختلالات بود. در نتایج مطالعات گسترده، کاربرد فرآورده‌های طبیعی ازجمله فرآورده‌های گیاهی در درمان بیماری‌های مختلف، به‌واسطه عدم عوارض جانبی یا عوارض کمتر گزارش شده است. بنابراین، فرآورده‌های گیاهی با ترکیبات متنوع درمانی و تقویتی می‌توانند به‌عنوان مکمل یا جانشین داروهای شیمیایی کاربرد داشته باشند، ازجمله این گیاهان که کمتر مورد توجه محققان علوم دارویی بوده، میوه درخت بنه به‌نام پسته‌کوهی است (۱۵). پسته‌کوهی (*Pistacia atlantica Kurdica*)، از خانواده *Anacardiceae* در ایران بیشتر در دامنه‌های زاگرس مشاهده می‌شود. رزین، پوست و میوه آن دارای اثرات درمانی ازجمله خاصیت ضدسرطانی، تقویت‌کننده اعصاب، هیپوگلیسمیک و ضدمیکروب می‌باشد (۱۵). با توجه به ارتباط استرس اکسیداتیو با اضطراب، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌توانند با مهار رادیکال‌های آزاد در نتیجه مهار مکانیسم‌های اکسیداتیو در درمان بیماری‌های دژنراتیو مؤثر باشند. بنابراین، آنتی‌اکسیدان‌ها قادرند با کاهش اثرات استرس اکسیداتیو، در درمان اضطراب مفید باشند. در نتایج مطالعات، وجود ترکیبات فنلی فلاونوئیدی، نشان‌دهنده فعالیت آنتی‌اکسیدانی پسته‌کوهی بوده و فلاونوئیدها نقش مستقیمی در پاک‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن و بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان دارند (۱۶).

فلاونوئیدها به گیرنده‌های GABA، متصل و با افزایش نفوذپذیری یون کلر و هدایت پتانسیل غشا به سمت پتانسیل تعادلی می‌توانند اثرات ضداضطرابی داشته باشند (۱۷،۱۰).

مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات ضداضطرابی پسته‌کوهی، داروی فلووکسامین و تأثیر همزمان آنها بر روی موش صحرایی نر تحت استرس بی‌حرکتی انجام گرفت.

روش بررسی

این مطالعه در خانه حیوانات گروه زیست‌شناسی دانشگاه ارومیه روی موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار انجام شد. در این بررسی آزمایشگاهی، از ۳۰ رأس موش نر (با محدوده وزنی ۳۰±۱۷۰ گرم) استفاده شد. این مطالعه در شرایط رژیم استاندارد آزمایشگاهی {(غذای پلت استاندارد) و آب بدون محدودیت در شرایط اتاق، ۱۲ ساعت تاریکی، ۱۲ ساعت روشنایی، دمای ۲±۲۲ درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی ۳۰-۲۵٪} اجرا گردید. حیوانات بعد از گروه‌بندی به‌طور تصادفی و قرارگیری در قفس‌های جداگانه، به مدت یک‌هفته در شرایط یکسان نگهداری شدند. به‌منظور حصول سازش حیوانات با محیط پیرامون و رسیدن به نتایج ایده‌ال، تمامی مراحل عملیاتی آزمایش‌ها (بعد از حداقل ۲ هفته) پس از استقرار حیوانات در قفس، در ۵ گروه ۶ تایی آغاز شد. جنس و گونه پسته‌کوهی (*Pistacia atlantica Kordica*) بعد از تهیه از منطقه دالاهو استان کرمانشاه، توسط متخصص بیوسیستماتیک گیاهی هرباریم گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم، شناسایی و تأیید گردید. در ادامه، پسته‌کوهی بعد از تهیه و تمیز شدن، در دمای اتاق و دور از نور خورشید، در سایه خشک شد، سپس به کمک آسیاب برقی به شکل پودر درآمد. پودر حاصله، بعد از تهیه حلال هیدروالکلی (۳۰٪ آب و ۷۰٪اتانول)، به مدت ۴۸ ساعت در ۴ لیتر حلال هیدروالکلی خیسانده شد، سپس با استفاده از قیف بوخنر صاف‌شده و حلال آن در دستگاه روتاری، در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد تحت خلاء جدا شد. مایع تغلیظ‌شده حاصل از این مرحله، در پلیت‌های شیشه‌ای ریخته شد و بعد در آون دمای ۴۰ درجه سانتیگراد قرار گرفت تا خشک و کریستالیزه شود. ماده نهایی خشک به‌دست‌آمده به‌عنوان عصاره پسته‌کوهی قلمداد شد و مطابق روش کار، به مقدار مورد نیاز روزانه بعد از حل شدن کامل در آب مقطر در تیمار حیوانات، مورد استفاده قرار گرفت (۱۸).

داروی مورد استفاده در این مطالعه (فلووکسامین)، با ویژگی داروی ضدافسردگی، ضداضطراب و مهارکننده اختصاصی بازجذب سروتونین از شرکت داروسازی سبحان (تهران - ایران)، تهیه و خریداری گردید.

برای ایجاد استرس از نوع محدودیت حرکتی، حیوانات در محدودکننده‌های پلاستیکی متناسب با اندازه موش‌ها قرار گرفتند. این وضعیت به‌صورت روزی ۲ ساعت در زمان‌های تعیین‌شده (از ساعت ۱۱-۹صبح) به مدت ۲۱ روز انجام گرفت و پس از پایان مراحل عملیاتی القای استرس، موش‌ها به قفس بازگردانده شدند (۱۹).

حیوانات در این آزمایش، جهت بررسی اثرات عصاره هیدروالکلی پسته‌کوهی و داروی فلووکسامین با مقادیر مشخص بر رفتار اضطرابی که به‌صورت خوراکی با گاواژ استفاده گردید، به‌طور تصادفی به ۵ گروه ۶ تایی به شرح زیر تقسیم شدند:

۱- گروه کنترل: دریافت‌کننده فقط آب مقطر به مقدار مشخص؛

۲- گروه شاهد: القای استرس بی‌حرکتی و دریافت‌کننده آب مقطر به مقدار مشخص؛

۳- گروه دریافت‌کننده عصاره (۴۰۰میلی‌گرم برکیلوگرم در روز) همراه با القای استرس بی‌حرکتی؛

۴- گروه دریافت‌کننده فلووکسامین (دوز ۱۲۰ میلی‌گرم برکیلوگرم در روز) همراه با القای استرس بی‌حرکتی؛

۵- گروه دریافت‌کننده عصاره (۴۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم در روز) همراه با داروی فلووکسامین (دوز ۱۲۰ میلی‌گرم برکیلوگرم در روز) و القای استرس بی‌حرکتی.

به‌منظور سنجش تست رفتار اضطرابی از دستگاه ماز به‌علاوه‌ای مرتفع (Plus Maze)، برای سنجش میزان اضطراب در جوندگان استفاده شد. این تست اولین‌بار توسط Pillow (سال ۱۹۸۶ میلادی) مطرح شد (۲۰). این دستگاه از جنس چوب شامل چهار بازو به شکل به‌علاوه و یک چهارپایه، دو بازوی روبروی هم با دیواره‌های بلند و انتهای بسته، دالان تاریکی را به‌وجود آورده و دو بازوی دیگر بدون دیواره و به‌طور طبیعی روشن است. چهار بازو به یک محدوده مرکزی منتهی می‌شوند.

معمولاًاین دستگاه در ارتفاع ۵۰ سانتی‌متری از سطح زمین نصب می‌شود، موش درون محدوده مرکزی ماز قرار می‌گیرد؛ به‌طوری‌که سر حیوان رو به بازوی باز قرار دارد، سپس به حیوان ۵ دقیقه فرصت داده می‌شود تا کل ماز را آزادانه بگردد و مدت زمانی‌که حیوان در بازوهای باز و بسته ماز سپری کرده، با دوربین مستقر در بالای ماز، ثبت و ضبط شده و در نهایت، ارزیابی و سنجش می‌شود. در این ارزیابی، مدت زمانی‌که حیوان در محدوده مرکزی دستگاه بوده لحاظ نمی‌گردد؛ درحالی‌که ورود به هر بازو، با ورود چهار دست و پا و خروج، با خارج شدن هر چهار دست و پا در نظر گرفته می‌شود. مدت حضور در بازوی باز، بهترین معیار برای سنجش میزان اضطراب است؛ زیرا موش هنگام واردشدن به بازوی باز، با دیدن ارتفاع (۵۰ سانتی‌متری) از سطح زمین ترسیده و به سمت بازوی بسته می‌رود. هرچه مدت حضور در این بازوی باز بیشتر باشد، نشان‌دهنده کاهش اضطراب است. پس از اتمام هر تست، بخش‌هایی از ماز که در تماس با موش بوده به‌وسیله الکل تمیز می‌شود. در این دستگاه مجموع تعداد ورود به بازوی باز و بسته، نشان‌دهنده فعالیت حرکتی است. درصد ورود به بازوهای باز و درصد زمان سپری‌شده در بازوهای باز به این ترتیب محاسبه می‌گردد:

Open Arm Entris ٪(OAE): عبارت است از درصد تعداد دفعاتی‌که موش وارد بازوهای باز شده که برای محاسبه آن به این صورت عمل می‌شود.

%OAE = [%OAE (OAE+CAE)] ×100

Close Arm Entris (CAE): عبارت است از تعداد دفعات ورود به بازوهای بسته؛

Open Arm Time(OAT%): عبارت است از درصد زمانی که موش دربازوهای باز حضور یافته و محاسبه آن به این ترتیب می‌باشد:

100×%OAT= [OAT%(OAT+ CAT)]

Close Arm Time (CAT%): عبارت است از زمان سپری‌شده در بازوهای بسته.

افزایش در میزان OAT% و OAE%، بیان‌کننده اثر ضداضطرابی عصاره و یا دارو بوده؛ درحالی‌که کاهش این دو پارامتر، بیان‌کننده اثر اضطراب‌زایی می‌باشد.

پس از پایان دوره ۲۱ روزه، هر موش تحت تیمار به مدت زمان ۵ دقیقه و مدت زمان استاندارد جهت بررسی و ارزیابی رفتار اضطرابی، به ترتیب بر روی دستگاه ماز منتقل می‌شود (۲۱).

۲۴ ساعت بعد از آخرین گاواژ، موش‌های تحت تیمار به‌وسیله استنشاق دی اتیل اتر در دسیکاتور بیهوش شدند، سپس هر حیوان بر روی تشتک تشریح ثابت گردید. با انجام کالبدشکافی و نمایان‌شدن قلب حیوان با استفاده از سرنگ‌های ۵cc، خونگیری از قلب موش انجام گرفت. نمونه‌های خونی بعد از عمل سانتریفوژ (به مدت ۱۰ دقیقه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه) و جدا کردن نمونه‌های سرم، تا زمان انجام آزمایش در دمای ۲۰– درجه سانتیگراد نگهداری شدند. میزان هورمون کورتیکوسترون و میزان گلوکز خون در سرم‌های جداشده اندازه‌گیری شد. سپس بافت‌های مغزی بعد از خارج شدن، برای بررسی و آنالیز بیوشیمیایی به فریزر ۸۰– درجه سانتیگراد جهت نگهداری منتقل شدند.

این آزمون بر روی بافت مغز حیوانات انجام گرفت. برای سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدی، مالون‌دی آلدئید (MDA) مورد ارزیابی قرار گرفت. بعد از تهیه هموژنه، بافت مغز به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۰۰۰ سانتریفوژ شد و به ۱۵۰ میکرولیتر از محلول رویی، ۳۰۰ میکرولیتر تری کلرواستیک اسید اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۰۰۰ سانتریفوژ گردید. در ادامه، ۳۰۰ میکرولیتر از محلول رویی با ۳۰۰ میکرولیتر از اسید تیوباربیتوریک به مدت ۲۵دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفت. ۵ دقیقه پس از خنک‌شدن محلول، رنگ صورتی ناشی از واکنش مالون‌دی‌آلدئید با اسید تیوباربیتوریک ظاهر شد. درجه پراکسیداسیون لیپیدها برمبنای میزان تشکیل مالون‌دی آلدئید به کمک ضریب جذبی MDA در طول موج ۵۳۵ نانومتر، محاسبه و براساس نانومول برگرم وزن بافت غیرخشک (nmol/g wet tissue) بیان شد (۲۲). جهت سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدی، فعالیت آنزیم کاتالاز براساس توانایی آن در تجزیه پراکسیداسیون هیدروژن، به روش Aebi تعیین می‌شود (۲۳). برای سنجش کاتالاز، بافت‌ها در بافر فسفات با pH=۶/۸ با غلظت ۱۰٪ وزنی/حجمی (W/V) هموژنیزه شدند، و بافت هموژنه به مدت ۵ دقیقه با دور۵۰۰۰ سانتریفوژ شد. سپس از محلول رویی ۱۰۰ میکرولیتر برداشته شد و ۲/۸ میلی‌لیتر بافر فسفات به آن اضافه گردید و پس از افزودن۱۰۰ میکرولیتر

از محلول آب اکسیژنه، جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر در زمان‌های صفر و ۳۰ ثانیه اندازه‌گیری شد. در این تحقیق، تجزیه H2O2 توسط آنزیم کاتالاز بافت هموژنه، با کاهش جذب در مدت ۳۰ ثانیه در طیف جذبی ۲۴۰ نانومتر ثبت، ارزیابی و به‌صورت U/mg tissue گزارش گردید (۲۳).

داده‌ها برحسب میانگین ± انحراف معیار بیان شدند.

در این تحقیق، داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲، روش آماری آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی برای مقایسه گروه‌های تحت تیمار با ضریب اطمینان p≤۰/۰۵ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

در این مطالعه، نتایج بررسی میزان اضطراب با استفاده ازآزمون ماز به‌علاوه‌ای شکل نشان داد درصد زمان سپری‌شده در بازوهای باز گروه شاهد در مقایسه با گروه کنترل، به‌طور معنی‌دار کاهش یافته است (p≤۰/۰۱). تجویز داروی فلووکسامین با غلظت ۱۲۰میلی‌گرم برکیلوگرم به موش‌های تحت استرس بی‌حرکتی منجر به افزایش مدت زمان سپری‌شده در بازوهای باز در مقایسه با گروه شاهد، به‌طور معنی‌دار (p≤۰/۰۵) و در مقایسه با گروه کنترل، بدون تغییر معنی‌داری (p≥۰/۰۵) شد. همچنین تجویز عصاره پسته‌کوهی با غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم به تنهایی (p≤۰/۰۱) و یا همراه با فلووکسامین (p≤۰/۰۰۱) باعث افزایش مدت زمان سپری‌شده در بازوهای باز، به‌طور معنی‌دار و در مقایسه با گروه کنترل، بدون تغییر معنی‌داری شد (p≥۰/۰۵).

ارزیابی درصد تعداد ورود به بازوهای باز در موش‌های مورد مطالعه نشان داد تعداد ورود به بازوهای باز در گروه شاهد در مقایسه با گروه کنترل، به‌طور معنی‌داری کاهش یافته (p≤۰/۰۰۱)؛ درحالی‌که تجویز فلووکسامین با غلظت ۱۲۰میلی‌گرم برکیلوگرم به موش‌های تحت استرس بی‌حرکتی باعث کاهش تعداد ورود به بازوهای باز در مقایسه با گروه کنترل (p≤۰/۰۵) و در مقایسه با گروه شاهد بدون تغییر معنی‌داری شده است. همچنین تجویز عصاره پسته‌کوهی با غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم به تنهایی و یا با فلووکسامین باعث افزایش تعداد ورود به بازوهای باز، به‌طور معنی‌دار در مقایسه با گروه شاهد (p≤۰/۰۰۱) و در مقایسه با گروه کنترل، بدون تغییر معنی‌داری شد.

در میزان فعالیت حرکتی (مجموع ورود به بازوهای باز و بسته) در ۵ گروه تحت تیمار، هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری نسبت به‌هم مشاهده نشد.

براساس ارزیابی میزان کورتیکوسترون در موش‌های صحرایی مورد مطالعه، غلظت این هورمون در حیواناتی‌که فقط تحت استرس بی‌حرکتی (گروه شاهد) بودند، به‌طور معنی‌دار (p≤۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه کنترل افزایش پیدا کرد. تیمار حیوانات با دارو به تنهایی یا با عصاره، غلظت کورتیکوسترون را در حیوانات تحت استرس بی‌حرکتی به حد گروه کنترل بازگرداند. همچنین تجویز همزمان دارو و عصاره، میانگین غلظت هورمون کورتیکوسترون در موش‌های تحت تیمار را در مقایسه با گروه شاهد کاهش داد و آن را به حد کورتیکوسترون موش‌های گروه کنترل رساند.

اندازه‌گیری میزان قند خون در حیوانات مورد مطالعه نشان داد این شاخص در حیواناتی‌که تحت استرس بی‌حرکتی (گروه شاهد) بوده‌اند در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معنی‌دار (p≤۰/۰۰۱) افزایش یافته است. تجویز فلووکسامین، به تنهایی تأثیر معنی‌داری در کاهش میزان قند خون در مقایسه با گروه کنترل نداشت، درحالی‌که تجویز عصاره پسته‌کوهی به تنهایی یا همراه با فلووکسامین، قند خون را در حیوانات تحت استرس بی‌حرکتی به‌طور معنی‌دار (p≤۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه شاهد کاهش داد. تجویز همزمان عصاره و دارو نیز تأثیر بیشتری بر کاهش قند خون داشت و میزان قند خون را در مقایسه با گروه کنترل، به‌طور معنی‌دار (p≤۰/۰۰۱) کاهش داد.

سنجش میزان مالون‌دی آلدئید در بافت مغزی، نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار (p≤۰/۰۰۱) میزان پراکسیداسیون لیپیدی در گروه شاهد در مقایسه با گروه کنترل بود. همچنین تجویز داروی فلووکسامین به تنهایی، میزان پراکسیداسیون لیپیدها را در بافت مغزی موش‌های تحت تیمار بهبود بخشید و به حد گروه کنترل رساند. تجویز پسته‌کوهی، میزان مالون‌دی آلدئید را در مقایسه با گروه شاهد (p≤۰/۰۰۱) و گروه کنترل (p≤۰/۰۵)، به‌طور معنی‌داری کاهش داد.

همچنین تجویز همزمان پسته‌کوهی و فلووکسامین منجر به کاهش معنی‌دار پراکسیداسیون لیپیدها در مقایسه با گروه شاهد (p≤۰/۰۰۱) و گروه کنترل (p≤۰/۰۰۱) شد.

غلظت آنزیم کاتالاز در بافت مغزی موش‌های تحت استرس بی‌حرکتی (گروه شاهد)، به‌طور معنی‌دار (p≤۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت.

تجویز فلووکسامین یا پسته‌کوهی نیز به تنهایی منجر به بهبود غلظت کاتالاز در حیوانات تحت استرس گردید و میزان این آنزیم به حد گروه کنترل رسید. تجویز همزمان فلووکسامین و عصاره پسته‌کوهی، میانگین غلظت کاتالاز را در مغز موش‌های تحت استرس بی‌حرکت، به‌طور معنی‌دار (p≤۰/۰۰۱) در مقایسه با سایر گروه‌ها افزایش داد (جدول).

جدول: میزان، مدت زمان سپری‌شده در بازوی باز (OAT)، تعداد دفعات ورود به بازوی باز (OAE)، فعالیت حرکتی، کورتیزول، گلوکز، مالون‌دی آلدئید و کاتالاز در گروه‌های تحت بررسی

گروه‌ها	مدت‌زمان سپری‌شده در بازوی باز	تعداد دفعات ورود به بازوی باز	فعالیت‌حرکتی	کورتیکوسترون	گلوکز	مالون‌دی آلدئید	کاتالاز
کنترل	۵۸/۸±۱۳/۶	۴۸/۴±۵/۰۲	۸/۴±۳/۳۶	۲/۵۱±۰/۳۲	۲۵۲±۱۵/۱	۲/۲۰±۱/۵۸	۲/۲۰±۰/۱۵
شاهد	۱۵/۴±۹/۸۶	۲۸/۸±۱۱/۴	۷/۸±۴/۰۸	۴/۰۵±۰/۳۸	۳۲۹/۸±۴۰/۳۱	۱۵/۸±۱/۴۲	۱±۰/۲
عصاره	۴۳/۳±۵/۶۹	۳۰/۴±۷/۴۰	۷/۲ ±۲/۶۸	۲/۵۱±۰/۵۱	۳۰۸ ±۱۸/۹۷	۱۱/۳۸ ±۱	۲/۲±۰/۵۲
دارو	۵۲±۱۸/۹۷	۵۲/۵±۱/۹۷	۸/۵±۳/۱۶	۲/۱۵±۰/۲۲	۲۵۴/۴±۹/۳۱	۷/۰۴±۰/۶۸	۲/۵±۰/۷۷
دارو+عصاره	۵۸/۵±۱۷/۰۵	۵۷±۵/۵۳	۵/۴±۲/۹۶	۲/۱۷±۰/۳۸	۱۹۶/۵±۵/۸۵	۶/۵۴±۰/۹	۱/۰۱±۰/۴۵

داده‌ها براساس میانگین±انحراف معیار می‌باشد.

بحث

در مطالعه حاضر، اثر ضداضطرابی عصاره پسته‌کوهی و داروی فلووکسامین در موش‌های صحرایی نر القاشده با استرس بی‌حرکتی بررسی گردید. نتایج نشان داد القای استرس بی‌حرکتی موش‌های صحرایی نر بالغ باعث کاهش قدرت آنتی‌اکسیدانی و افزایش پراکسیداسیون سلول‌های بافت مغزی می‌شود. ازطرفی، استرس با افزایش ترشح هورمون کورتیکوسترون باعث افزایش اضطراب در موش‌ها شد. تجویز عصاره پسته‌کوهی یا فلووکسامین به تنهایی و یا تجویز همزمان این دو ماده با یکدیگر در موش‌های تحت استرس بی‌حرکتی، تغییر قابل‌ملاحظه‌ای در شاخص فعالیت حرکتی نداشت، ولی با این وجود، برخی از شاخص‌های مورد بررسی را بهبود بخشید.

نتایج مطالعات نشان داده است استرس بی‌حرکتی با تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و سطح پراکسیداسیون لیپیدی در بافت‌های مغز منجر به آسیب سلول‌های مغزی و در نهایت، اختلالات عصبی می‌شود (۲۴). همچنین استرس‌های فیزیکی یا روانی می‌توانند سطح هورمون کورتیکوسترون را در موش‌های تحت بررسی افزایش دهند (۲۵). مطالعات نشان داده‌اند افزایش هورمون کورتیکوسترون با افزایش گلیکوژنولیز و گلوکونئوژنز باعث افزایش قند خون می‌شود (۲۶). نتایج حاصل از این مطالعه مبنی بر کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافت مغزی و افزایش سطح کورتیکوسترون در موش‌های گروه شاهد تحت استرس بی‌حرکتی و مشاهده افزایش میزان اضطراب یا اختلالات عصبی، با نتایج بررسی‌های پژوهشگران دیگر مطابقت داشت. نتایج مطالعه حاضر که در آن همزمان با القای استرس، داروی فلووکسامین تجویز گردید، بیان‌کننده تأثیر بهبودبخش این دارو بر کنترل اضطراب است؛ احتمال می‌رود این دارو علاوه بر جلوگیری از بازجذب سروتونین، به‌واسطه افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافت مغزی و جلوگیری از تخریب سلول‌های سروتونرژیک، با افزایش غلظت کاتالاز و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی، از بروز علائم اضطراب بکاهد. در مطالعات پیشین نیز اثرات مفید فلووکسامین در کاهش اضطراب بیان شده و نتایج مطالعه حاضر نیز همراستا با مطالعات پیشین می‌باشد (۲۸،۲۷). همچنین در این مطالعه، داروی فلووکسامین باعث کاهش سطح کورتیکوسترون سرم گردید.

تیمار حیوانات تحت استرس بی‌حرکتی با عصاره پسته‌کوهی باعث کاهش میزان اضطراب افزایش مدت زمان سپری‌شده در بازوی باز ماز در مقایسه با گروه شاهد شد.

همچنین عصاره پسته‌کوهی، فعالیت آنزیم کاتالاز و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافت مغزی را در حیوانات تحت استرس بی‌حرکتی به‌طور معنی‌داری بهبود بخشید. در مطالعات بیوشیمیایی، وجود ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در پسته‌کوهی و اثرات ضداضطرابی آنها به اثبات رسیده است (۱۶،۱۵). روغن پسته حاوی اسیدهای چرب فراوان ازجمله اولئیک، لینولئیک، پالمتیک، استئاریک، میریستیک، آراشیدونیک اسید است، Calos M Contreras و همکاران، اثرات ضداضطرابی مخلوطی از اسیدهای چرب شامل لینولئیک، پالمتیک، استئاریک، میریستیک، لوریک، اولئیک و پالمیتولئیک را در مقایسه با دیازپام در موش نشان دادند (۱۵). از این‌رو پسته‌کوهی باوجود چنین ترکیباتی باعث کاهش اضطراب می‌شود (۱۵). در مطالعه حاضر، تجویز و اثرات ضداضطرابی عصاره پسته‌کوهی و داروی فلووکسامین، به تنهایی یا به‌طور همزمان ارزیابی شد. براساس یافته‌های بیوشیمیایی حاضر، تجویز همزمان آنها، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مغز را به میزان قابل‌توجهی افزایش داد و باعث کاهش اضطراب گردید.

گلوکوکورتیکوئیدها در کوتاه‌مدت برای بقای جانور ضروری هستند، اما افزایش مزمن هورمون‌های گلوکوکورتیکوئیدی باعث بروز طیف وسیعی از اختلالات روانی و جسمانی می‌شود (۱). در این مطالعه، ترشح کورتیکوسترون در گروه تحت استرس بی‌حرکتی افزایش یافت. همچنین کاهش ترشح کورتیکوسترون در هر سه گروه دریافت‌کننده فلووکسامین یا پسته‌کوهی، به‌طور انفرادی یا به‌طور همزمان نیز مشاهده گردید.

طبق گزارش‌های ارائه‌شده، انتظار کاهش ترشح کورتیکوسترون در اثر تجویز داروهای آرامبخش و کاهش‌دهنده اضطراب در حیوانات تحت استرس می‌رفت. به‌نظر می‌رسد گلوکوکورتیکوئیدها ازجمله کورتیکوسترون از طریق اثرات تعدیلی بر سیستم GABA و گلوتامینرژیک موجب تعدیل واکنش‌های اضطرابی می‌شوند (۲۸)، که در نتایج این بررسی مشاهده گردید.

طبق نتایج مطالعات فیزیولوژیکی، کاهش هریک از هورمون‌های گلوکوکورتیکوئیدی منجر به کاهش قند خون می‌شود. در این مطالعه، درپی کاهش ترشح کورتیکوسترون، افت معنی‌دار قندخون در گروه‌های دریافت‌کننده پسته‌کوهی به تنهایی و همراه با فلووکسامین اتفاق افتاد. مطالعات دیگر نیز اثرات کاهشی میزان قند خون را به‌وسیله عصاره پسته‌کوهی تأیید می‌کنند (۲۹).

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی، القای استرس بی‌حرکتی در موش‌های صحرایی منجر به افزایش اضطراب می‌گردد. استفاده از گیاهان دارویی مانند پسته‌کوهی با تعدیل شرایط آنتی‌اکسیدانی بدن و داروی ضدافسردگی فلووکسامین؛ احتمالاً با تأثیر بر میانجی‌های عصبی باعث کاهش میزان اضطراب می‌شود. به‌طورکلی، القای استرس بی‌حرکتی در موش‌های صحرایی منجر به افزایش مدت زمان سپری‌شده در بازوی بسته ماز می‌گردد که نشان از رفتار اضطرابی دارد. رفتار اضطرابی القاشده با استرس بی‌حرکتی در حیوانات نیز به‌وسیله عصاره هیدروالکلی پسته‌کوهی و یا داروی فلووکسامین در گروه‌های تحت تیمار کاهش می‌یابد.

References:

1. Hosseini SE, Heidari M. The effect of interference of morphine and immobility stress on performance of pituitary–adrenal axis in mature male rats. Med J Hormozgan Univ 2013;18(1):11-20. [Full Text in Persian]

2. Doukkali Z, Taghzouti K, Bouidida EL H, Nadjmouddine M, Cherrah Y, Alaoui K. Evaluation of anxiolytic activity of methanolic extract of Urtica urens in a mice model. Behav Brain Func 2015;11:1-5.

3. Singh N, Kaur S, Bedi PMS, Kaur P. Anxiolytic effects of equisetum arvense Linn. Extracts in mice. Iindian J Exp Biol 2011;49(5):352-6.

4. Naderi R, Abbasnejad M. Comparison of the effect of co-injection of ascorbic acid and d2 agonist (bromocriptine) with ascorbic acid in nucleus accumbens shell on male rats' anxiety. J Babol Univ Med Sci 2013;15(4):100-8. [Full Text in Persian]

5. Bordukalo-Niksic T, Mokrovic G, Stefulj J, Zivin M, Jernej B, Cicin-Sain L. 5HT-1A receptors and anxiety-like behaviours: Studies in rats with constitutionally upregulated/downregulated serotonin transporter. Behav Brain Res 2010;213(2):238-45.

6. Zarrindast MR, Solati J, Oryan S, Parivar K. Effect of intra-amygdala injection of nicotine and GABA receptor agents on anxiety-like behaviour in rats. Pharmacology 2008;82(4):276-84.

7. Vaezi Gh, Faizy F, Poozesh R. The effects of intra-amygdala injection of nicotine and harmaline on anxiey related behavior in adult male rat. J Chem Health Risks 2012;2(2):17-24.

8. Salim S, Sarraj N, Taneja M, Saha K, Tejada-Simon MV, Chugh G. Moderate treadmill exercise prevents oxidative stress-induced anxiety-like behavior in rats. Behav Brain Res 2010;208(2):545–52.

9. Hosseini E, Tadayon Z. The effectiveness of drug therapy, relaxation and compound therapy on anxiety reduction, level of epinephrine and norepinephrine among patients with generalized anxiety disorder. J Jahrom Univ Med Sci 2013;10(4):52-9. [Full Text in Persian]

10. Karimi AH, Nazam F, Piri GH. Effects of aerobic training, extract of Althaea kurdica flower and noise stress on the anxiety-related behaviors of wistar male rat. Razi J Med Sci 2015;22(135). [Text in Persian]

11. Offidani E, Guidi J, Tomba E, Fava GA. Efficacy and Tolerability of Benzodiazepines versus antidepressants in anxiety disorders: A Systematic review and Meta- analysis. Psychother Psychosom 2013;82(6):355-62.

12. Sarah Will. Quantitative analysis of new generation antidepressants using gas chromatography-mass spectrometry. Faculty of Pharmaceutical Sciences Ghent University; 2008. p. 30.

13. Hashemi SS, Jelodar GA, Rafati AR. Investigating the effects of fluoxetine on cortisol and thyroid hormone levels in rats. Arak Med Univ J 2014;17(83):82-89. [Full Text in Persian]

14. Albertazzi P. Noradrenergic and serotonergic modulation to treat vasomotor symptoms. J Br Menopause Soc 2006;12(1):7-11.

15. Rashidi Sh, Askari N, Abbasnejad M. Anxiolytic-like effect of Pistacia atlantica fruit in intact and gonadectomized rats subjected to chronic stress. J Occup Health Epidemiol 2015;3(3):152-9.

16. Hatamnia AA, Abbaspour N, Darvishzadeh R. Antioxidant activity and phenolic profile of different parts of Bene (Pistacia atlantica subsp. kurdica) fruits. Food Chem 2014;145:306–11.

17. Pirker S, Schwarzer C, Wieselthaler A, Sieghart W, Sperk G. GABAA receptors: Immunecytochemical distribution of 13 subunits in the adult rat brain. Neuroscience 2000;4(101):815-50.

18. Hosseini M, Shemshaki A, Saghebjoo M, Gharari Arefi R. Effect of aerobic training and pistacia atlantica extract consumption on plasma levels of Lipocalin-2 and Insulin resistance index in streptozotocin-induced diabetic rats. Q Horizon of Med Sci 2016;22(1):27-33. [Full Text in Persian]

19. Nooshinfar E, Akbarzadeh-Baghbanb A, Meisamic E. Effects of increasing durations of immobilization stress on plasma corticosterone level, learning and memory and hippocampal BDNF gene expression in rats. Neurosci Lett 2011;500(1):63-6.

20. Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. J Neurosci Methods 1985;14(3):149-67.

21. Babri S, Doosti MH, Fatehi L, Salari AA. The effects of Scrophularia striata extract on anxiety and depression behaviors in adult male mice. Pharm Sci 2012;18(2):133-40. [Full Text in Persian]

22. Esterbauer, H. Cheeseman, KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: Molondealdehyde and 4- hydroxynonenal. Methods Enzymol 1990;186:407-21.

23. Aebi H. Catalase in vitro. Methods Enzymol 1984;105:121-6.

24. Şahin E, Gümüşlü S. Immobilization stress in rat tissues: Alterations in protein oxidation, lipid peroxidation and antioxidant defense system. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol 2007;144(4):342–7.

25. Pawar VS, Hugar S. Adaptogenic activity of Trigonella foenum graecum (Linn) seeds in rodents exposed to anoxia and immobilization stress. Asian Pac J Trop Biomed 2012;2(1):208-11.

26. Martínez-porchas M, Martínez-córdova LR, Ramos-enriquez R. Cortisol and glucose: Reliable indicators of fish stress? Panam J Aquat Sci 2009;4(2):158-78.

27. Gothelf D, Rubinstein M, Shemesh E, Miller O, Farbstein I, Klein A, et al. fluvoxamine treatment for depression and anxiety disorders in children and adolescents with cancer. J Am Acad Child Adolesc Psychiatry 2005;44(12):1258-62.

28. Vafaei AA, Taherian AA, Sobhaninejad MS. Evaluation of interaction of Corticosterone and verapamil on anxiety related behavior in mice. Panam J Aquat Sci 2009;15(3):219-26. [Full Text in Persian]

29. Hamdan II, AfifiF U. Studies on the in vitro and in vivo hypoglycemic activities of some medicinal plants used in treatment of diabetes in Jordanian traditional medicine. J Ethnopharmacol 2004;93(1):117-21.