

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

Fatemeh Babaeifar^{1*}, Mehdi Mohammadzadeh¹, Minoo Ilkhanipour¹, Farrin Babaei¹

¹Department of Biology,
Faculty of Sciences, Urmia
University, Urmia, Iran.

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.

***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

اثرات عصاره هیدروالکلی پسته کوهی و داروی فلووکسامین بر رفتار اضطرابی موش صحرائی نر تحت استرس بی حرکتی

فاطمه بابائی فر^{۱*}، مهدی محمدزاده^۱، مینو ایلخانی پور^۱، فرین بابائی^۱

چکیده

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم،
دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

زمینه و هدف: امروزه، استفاده از فرآورده‌های گیاهی برای درمان اختلالات عصبی از جمله اضطراب رواج یافته است. تحقیق حاضر با هدف ارزیابی اثرات عصاره هیدروالکلی پسته کوهی و داروی فلووکسامین بر رفتار اضطرابی موش‌های صحرائی نر تحت استرس بی حرکتی صورت گرفت.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ۳۰ رأس موش صحرائی نر بالغ نژاد ویستار (با وزن 170 ± 30 گرم) به ۵ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. برای القای استرس بی حرکتی در گروه‌های تحت تیمار، از محدودکننده و جهت‌سنجش رفتار اضطرابی از آزمون ماز به‌علاوه‌ای و تجویز عصاره پسته کوهی (۴۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) و داروی فلووکسامین (دوز ۱۲۰ میلی‌گرم برکیلوگرم)، از روش گاواژ استفاده گردید. در پایان، میزان مالون‌دی‌آلدئید، کاتالاز هموژنای مغزی، کورتیکوسترون و گلوکز نمونه‌های سرمی اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: با توجه به شاخص‌های ارزیابی رفتار اضطرابی موش‌ها، اثرات عصاره پسته کوهی 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 مالون‌دی‌آلدئید، 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 مالون‌دی‌آلدئید مشاهده گردید.

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

کلید واژه‌ها: اضطراب؛ پسته کوهی؛ فلووکسامین.

*نویسنده مسئول مکاتبات:

فاطمه بابائی فر، 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 به صورت 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، به عنوان اختلال اضطرابی در نظر 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 فعال کردن گیرنده‌های آن را در رفتارهای ضد اضطرابی مؤثر دانسته‌اند (۵). زرین دست و همکاران در مطالعه‌ای، اثرات ضد اضطرابی گیرنده‌های GABA را در رت‌ها با استفاده از دستگاه ماز مرتفع به‌علاوه‌ای به اثبات رساندند (۶). آمیگدال نیز به عنوان 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 مهار 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 به عنوان 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 ۲۰-۱۵ ساعت، 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 (۱۳،۱۴). با توجه به تأثیری که اختلالات اضطرابی بر سلامت روان و هزینه‌های اقتصادی - اجتماعی می‌گذارند، باید در پی راه‌های مناسب برای درمان این اختلالات بود. در نتایج مطالعات گسترده، کاربرد فرآورده‌های طبیعی از جمله 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 به عنوان مکمل یا جانشین داروهای شیمیایی کاربرد داشته باشند، از جمله این گیاهان که کمتر مورد توجه محققان علوم دارویی بوده، میوه درخت بنه به نام پسته کوهی است (۱۵). *Pistacia atlantica Kurdica*، از خانواده *Anacardiceae* ایران بیشتر در دامنه‌های زاگرس مشاهده می‌شود. رزین، پوست و میوه آن دارای اثرات درمانی از جمله خاصیت ضدسرطانی، تقویت‌کننده اعصاب، هیپوگلیسمیک و ضد میکروب 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 پسته کوهی بوده و فلاونوئیدها نقش مستقیمی در پاک‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن و بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان دارند (۱۶).

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 به صورت روزی ۲ ساعت در زمان‌های تعیین شده (از ساعت ۹-۱۱ صبح) 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 پسته کوهی و داروی فلووکسامین با مقادیر مشخص بر رفتار اضطرابی که به صورت خوراکی با گاوآژ استفاده گردید، به طور تصادفی به ۵ گروه ۶ تایی به شرح زیر تقسیم شدند:

۱- گروه کنترل: دریافت کننده فقط آب مقطر به مقدار مشخص؛
۲- گروه شاهد: القای استرس بی حرکتی و دریافت کننده آب مقطر به مقدار مشخص؛

۳- گروه دریافت کننده عصاره (۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در روز) همراه با القای استرس بی حرکتی؛

۴- گروه دریافت کننده فلووکسامین (دوز ۱۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم در روز) همراه با القای استرس بی حرکتی؛

۵- گروه دریافت کننده عصاره (۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در روز) همراه با داروی فلووکسامین (دوز ۱۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم در روز) و القای استرس بی حرکتی.

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

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 پسته کوهی، داروی فلووکسامین و تأثیر همزمان آنها بر روی موش صحرائی نر تحت استرس بی حرکتی انجام گرفت.

روش بررسی

این مطالعه در خانه حیوانات گروه زیست‌شناسی دانشگاه ارومیه روی موش‌های صحرائی نر بالغ نژاد ویستار انجام شد. در این بررسی آزمایشگاهی، از ۳۰ رأس موش نر (با محدوده وزنی 170 ± 30 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 22 ± 2 درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی ۳۰-۲۵٪ اجرا گردید. حیوانات بعد از گروه‌بندی به طور تصادفی و قرارگیری در قفس‌های جداگانه، به مدت یک هفته در شرایط یکسان نگهداری شدند. به منظور حصول سازش حیوانات با محیط پیرامون و رسیدن به نتایج ایده‌آل، 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 پسته کوهی (*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، پسته کوهی 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 بوختر صاف شده و حلال آن در دستگاه روتاری، در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد تحت خلاء جدا شد. مایع تغلیظ شده حاصل از این مرحله، در پلیت‌های شیشه‌ای ریخته شد و بعد در آن دمای ۴۰ درجه سانتیگراد قرار گرفت تا خشک و کریستالیزه شود. ماده نهایی خشک به دست آمده به عنوان عصاره پسته کوهی قلمداد شد و مطابق روش کار، به مقدار مورد نیاز

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 گاوژ، موش‌های تحت تیمار به وسیله استنشاق دی اتیل اتر در دسیکاتور بیهوش شدند، سپس هر حیوان بر روی تشکک تشریح ثابت گردید. با انجام کالبدشکافی و نمایان شدن 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 سانتیفوژ شد و به ۱۵۰ میکرولیتر از محلول رویی، ۳۰۰ میکرولیتر تری کلرواستیک اسید اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۰۰۰ سانتیفوژ گردید. در ادامه، ۳۰۰ میکرولیتر از محلول رویی با ۳۰۰ میکرولیتر از اسید تیوباریتوریک به مدت ۲۵ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفت. ۵ دقیقه پس از خنک شدن محلول، رنگ صورتی ناشی از واکنش مالون‌دی آلدئید با اسید تیوباریتوریک ظاهر شد. درجه پراکسیداسیون لیپیدها بر مبنای میزان تشکیل مالون‌دی آلدئید به کمک ضریب جذبی MDA در طول موج ۵۳۵ نانومتر، محاسبه و بر اساس نانومول بر گرم وزن بافت غیرخشک

(nmol/g wet tissue) بیان شد (۲۲). جهت سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدی، فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس 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 دور ۵۰۰۰ سانتیفوژ شد. سپس از محلول رویی ۱۰۰ میکرولیتر برداشته شد و ۲/۸ میلی‌لیتر بافر فسفات به آن اضافه گردید و پس از افزودن ۱۰۰ میکرولیتر

معمولاً این دستگاه در ارتفاع ۵۰ سانتی‌متری از سطح زمین نصب می‌شود، موش درون محدوده مرکزی ماز قرار می‌گیرد؛ به طوری که سر حیوان رو به بازوی باز قرار دارد، سپس به حیوان ۵ دقیقه فرصت داده می‌شود تا کل ماز را آزادانه بگردد و مدت زمانی که 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 زمانی که حیوان در محدوده مرکزی دستگاه بوده لحاظ نمی‌گردد؛ درحالی که 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 وارد شدن 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 به وسیله 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 سپری شده در بازوهای باز به این ترتیب محاسبه می‌گردد:

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

$$\%OAE = [\%OAE (OAE+CAE)] \times 100$$

عبارت است از تعداد دفعات: **Close Arm Entris (CAE):**

ورود به بازوهای بسته؛

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

$$100 \times \%OAT = [OAT\%(OAT+ CAT)]$$

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

افزایش در میزان OAT% و OAE%، بیان‌کننده اثر ضد اضطرابی عصاره و یا دارو بوده؛ درحالی که کاهش این دو پارامتر، بیان‌کننده اثر اضطراب‌زایی می‌باشد.

از محلول آب اکسیژنه، جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر در زمان‌های صفر و ۳۰ ثانیه اندازه‌گیری شد. در این تحقیق، تجزیه

H_2O_2 توسط آنزیم کاتالاز بافت همورثه، با کاهش جذب در مدت ۳۰ ثانیه در طیف جذبی ۲۴۰ نانومتر ثبت، ارزیابی و به صورت $U/mg \text{ tissue}$ گزارش گردید (۲۳).

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

داده‌ها برحسب میانگین \pm 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 $p \leq 0.05$ تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

براساس ارزیابی میزان کورتیکوسترون در موش‌های صحرایی مورد مطالعه، غلظت این هورمون در حیواناتی که فقط تحت استرس بی‌حرکتی (گروه شاهد) بودند، به‌طور معنی‌دار ($p \leq 0.001$) 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.

در این مطالعه، نتایج بررسی میزان اضطراب با استفاده از آزمون ماز به‌علاوه‌ای شکل نشان داد درصد زمان سپری‌شده در بازوهای باز گروه شاهد در مقایسه با گروه کنترل، به‌طور معنی‌دار کاهش یافته است ($p \leq 0.01$). تجویز داروی فلووکسامین با غلظت ۱۲۰ میلی‌گرم برکیلوگرم به موش‌های تحت استرس بی‌حرکتی منجر به افزایش مدت زمان سپری‌شده در بازوهای باز در مقایسه با گروه شاهد، به‌طور معنی‌دار ($p \leq 0.05$) و در مقایسه با گروه کنترل، بدون تغییر معنی‌داری ($p \geq 0.05$) شد. همچنین تجویز عصاره پسته کوهی با غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم به تنهایی ($p \leq 0.01$) و یا همراه با فلووکسامین ($p \leq 0.001$) باعث افزایش مدت زمان سپری‌شده در بازوهای باز، به‌طور معنی‌دار و در مقایسه با گروه کنترل، بدون تغییر معنی‌داری شد ($p \geq 0.05$).

اندازه‌گیری میزان قند خون در حیوانات مورد مطالعه نشان داد این شاخص در حیواناتی که تحت استرس بی‌حرکتی (گروه شاهد) بوده‌اند در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معنی‌دار ($p \leq 0.001$) افزایش یافته است. تجویز فلووکسامین، به تنهایی تأثیر معنی‌داری در کاهش میزان قند خون در مقایسه با گروه کنترل نداشت، درحالی‌که تجویز عصاره پسته کوهی به تنهایی یا همراه با فلووکسامین، قند خون را در حیوانات تحت استرس بی‌حرکتی به‌طور معنی‌دار ($p \leq 0.001$) 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 ($p \leq 0.001$) کاهش داد.

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 معنی‌دار کاهش یافته است ($p \leq 0.001$)؛ درحالی‌که تجویز فلووکسامین با غلظت ۱۲۰ میلی‌گرم برکیلوگرم به موش‌های تحت استرس بی‌حرکتی باعث کاهش تعداد ورود به بازوهای باز در مقایسه با گروه کنترل ($p \leq 0.05$) و در مقایسه با گروه شاهد بدون تغییر معنی‌داری شده است. همچنین تجویز عصاره پسته کوهی 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

سنجش میزان مالون‌دی‌آلدئید در بافت مغزی، نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار ($p \leq 0.001$) 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 پسته کوهی، میزان مالون‌دی‌آلدئید را در مقایسه با گروه شاهد ($p \leq 0.001$) و گروه کنترل ($p \leq 0.05$)، به‌طور معنی‌دار کاهش داد.

تجویز فلووکسامین یا پسته کوهی 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 پسته کوهی، میانگین غلظت کاتالاز را در مغز موش‌های تحت استرس بی حرکت، به طور معنی دار ($p \leq 0/001$) در مقایسه با سایر گروه‌ها افزایش داد (جدول).

همچنین تجویز همزمان پسته کوهی و فلووکسامین منجر به کاهش معنی دار پراکسیداسیون لیپیدها در مقایسه با گروه شاهد ($p \leq 0/001$) و گروه کنترل ($p \leq 0/001$) شد. غلظت آنزیم کاتالاز در بافت مغزی موش‌های تحت استرس بی حرکتی (گروه شاهد)، به طور معنی دار ($p \leq 0/001$) در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت.

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

گروه‌ها	مدت زمان سپری شده در بازوی باز	تعداد دفعات ورود به بازوی باز	فعالیت حرکتی	کورتیکوسترون	گلوکز	مالون دی آلدئید	کاتالاز
کنترل	58/8 ± 13/6	48/4 ± 5/02	8/4 ± 3/36	2/51 ± 0/32	252 ± 15/1	2/20 ± 1/58	2/20 ± 0/15
شاهد	15/4 ± 9/86	28/8 ± 11/4	7/8 ± 4/08	4/05 ± 0/38	329/8 ± 40/31	15/8 ± 1/42	1 ± 0/2
عصاره	43/3 ± 5/69	30/4 ± 7/40	7/2 ± 2/68	2/51 ± 0/51	308 ± 18/97	11/38 ± 1	2/2 ± 0/52
دارو	52 ± 18/97	52/5 ± 1/97	8/5 ± 3/16	2/15 ± 0/22	254/4 ± 9/31	7/04 ± 0/68	2/5 ± 0/77
دارو+عصاره	58/5 ± 17/05	57 ± 5/53	5/4 ± 2/96	2/17 ± 0/38	196/5 ± 5/85	6/54 ± 0/9	1/01 ± 0/45

داده‌ها بر اساس میانگین ± انحراف معیار می باشد.

بحث

باعث افزایش قند خون می شود (۲۶). نتایج حاصل از این مطالعه مبنی بر کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی بافت مغزی و افزایش سطح کورتیکوسترون در موش‌های گروه شاهد تحت استرس بی حرکتی 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، بیان کننده تأثیر بهبودبخش این دارو بر کنترل اضطراب است؛ احتمال می رود این دارو علاوه بر جلوگیری از بازجذب سروتونین، به واسطه افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی 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 می باشد (۲۷، ۲۸). همچنین در این مطالعه، داروی فلووکسامین باعث کاهش سطح کورتیکوسترون سرم گردید. تیمار حیوانات تحت استرس بی حرکتی با عصاره پسته کوهی باعث کاهش میزان اضطراب افزایش مدت زمان سپری شده در بازوی باز ماز در مقایسه با گروه شاهد شد.

در مطالعه حاضر، اثر ضد اضطرابی عصاره پسته کوهی و داروی فلووکسامین در موش‌های صحرایی نر القا شده با استرس بی حرکتی بررسی گردید. نتایج نشان داد القای استرس بی حرکتی موش‌های صحرایی نر بالغ باعث کاهش قدرت آنتی اکسیدانی و افزایش پراکسیداسیون سلول‌های بافت مغزی می شود. از طرفی، استرس با افزایش ترشح هورمون کورتیکوسترون باعث افزایش اضطراب در موش‌ها شد. تجویز عصاره پسته کوهی یا فلووکسامین به تنهایی و یا تجویز همزمان این دو ماده با یکدیگر در موش‌های تحت استرس بی حرکتی، تغییر قابل ملاحظه‌ای در شاخص فعالیت حرکتی نداشت، ولی با این وجود، برخی از شاخص‌های مورد بررسی را بهبود بخشید. نتایج مطالعات نشان داده است استرس بی حرکتی با تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و سطح پراکسیداسیون لیپیدی در بافت‌های مغز منجر به آسیب سلول‌های مغزی و در نهایت، اختلالات عصبی می شود (۲۴). همچنین استرس‌های فیزیکی یا روانی می توانند سطح هورمون کورتیکوسترون را در موش‌های تحت بررسی افزایش دهند (۲۵). مطالعات نشان داده‌اند افزایش هورمون کورتیکوسترون با افزایش گلیکوژنولیز و گلوکونئوژنز

طبق گزارش‌های ارائه‌شده، انتظار کاهش ترشح کورتیکوسترون در اثر تجویز داروهای آرامبخش و کاهش‌دهنده اضطراب در حیوانات تحت استرس می‌رفت. به نظر می‌رسد گلوکوکورتیکوئیدها از جمله 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، در پی کاهش ترشح کورتیکوسترون، افت معنی‌دار قندخون در گروه‌های دریافت‌کننده پسته کوهی به تنهایی و همراه با فلووکسامین اتفاق افتاد. مطالعات دیگر نیز اثرات کاهش‌ی میزان قند خون را به وسیله عصاره پسته کوهی تأیید می‌کنند (۲۹).

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی، القای استرس بی‌حرکتی در موش‌های صحرائی منجر به افزایش اضطراب می‌گردد. استفاده از گیاهان دارویی مانند پسته کوهی با تعدیل شرایط آنتی‌اکسیدانی بدن و داروی ضدافسردگی فلووکسامین؛ احتمالاً با تأثیر بر میانجی‌های عصبی باعث کاهش میزان اضطراب می‌شود. به‌طور کلی، القای استرس بی‌حرکتی در موش‌های صحرائی 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 به وسیله عصاره هیدروالکلی پسته کوهی و یا داروی فلووکسامین در گروه‌های تحت تیمار کاهش می‌یابد.

همچنین عصاره پسته کوهی، 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 پسته کوهی و اثرات ضد اضطرابی آنها به اثبات رسیده است (۱۵، ۱۶). روغن پسته حاوی اسیدهای چرب فراوان از جمله اولئیک، لینولئیک، پالمیتیک، استئاریک، میریستیک، آراشیدونیک اسید است، Calos M Contreras و همکاران، اثرات ضد اضطرابی مخلوطی از اسیدهای چرب شامل لینولئیک، پالمیتیک، استئاریک، میریستیک، لوریک، اولئیک و پالمیتولئیک را در مقایسه با دیازپام در موش نشان دادند (۱۵). از این رو پسته کوهی با وجود چنین ترکیباتی باعث کاهش اضطراب می‌شود (۱۵). در مطالعه حاضر، تجویز و اثرات ضد اضطرابی عصاره پسته کوهی و داروی فلووکسامین، به تنهایی یا به‌طور همزمان ارزیابی شد. براساس یافته‌های بیوشیمیایی حاضر، تجویز همزمان آنها، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مغز را به میزان قابل توجهی 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 پسته کوهی، به‌طور انفرادی یا به‌طور همزمان نیز مشاهده گردید.

References:

- 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]
- Doukkali Z, Taghzouti K, Boudida 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.
- Singh N, Kaur S, Bedi PMS, Kaur P. Anxiolytic effects of *equisetum arvense* Linn. Extracts in mice. *Indian 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 anxiety 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: Immunocytochemical distribution of 13 subunits in the adult rat brain. *Neuroscience* 2000;4(101):815-50.
18. Hosseini M, Shemshaki A, Saghebjo 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-Baghabanb 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.