

The effect of herniarin on anxiety behaviors and depression following chronic cerebral ischemia hypoperfusion in male rats

Zahra Nazari Perchestani¹, Maryam Rafiei Rad^{2*}

1. Assistant Professor, Department of Biology, Izeh Branch, Islamic Azad University, Izeh, Iran

2. M.A., Department of Biology, Izeh Branch, Islamic Azad University, Izeh, Iran

(Received: Sep. 20, 2019 - Accepted: Dec. 29, 2020)

بررسی اثر هرنیارین بر رفتارهای اضطرابی و افسردگی متعاقب هیپوپرفیوژن-ایسکمی مزمن مغز در موش‌های صحرایی نر

زهرا نظری پرچستانی^۱، مریم رفیعی‌راد^{۲*}

۱. استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ایذه، ایذه، ایران

۲. کارشناس، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ایذه، ایذه، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۶/۲۹ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۹)

Abstract

Ischemia in rat brain causes severe neuronal damage and consequently anxiety and depression disorders. The herniarin has a phenolic compound and is a powerful antioxidant. The aim of this study was to investigate the effect of herniarin on anxiety and depression in ischemia model in male rats. In this experimental study, 50 male Wistar rats (200-250g) were divided into 5 groups: control group, sham and ischemic group and ischemic groups receiving doses of 150 and 300 mg/kg herniarin by gavage method. To induce ischemia, bilateral carotid arteries were separated, blocked in two, and cut off in the middle section. Anxiety assessment was performed during the open-box test. Immobility time in forced swimming was also measured to measure depression. In the ischemic rats a significantly increased anxiety and an increase of mobility duration in both open box and forced swimming tests were observed ($P < 0.001$). When the doses of 150-300 mg/kg herniarin was prescribed the times of elevation of hands was increased ($P < 0.001$) and a significantly reduction of excretion times in each dose was observed ($P < 0.001$) and consumption of herniarin doses 150-300 mg/kg was significantly increased in the ischemic rats when they passed several times through squares in the open box ($P < 0.001$). herniarin has the effect of both anti-anxiety and-depression in the experimental model.

Keywords: Anxiety, depression, herniarin, ischemia, rat.

چکیده

ایسکمی در مغز موش موجب آسیب‌های نورونی شدید و به دنبال آن موجب اختلالات اضطرابی و افسردگی می‌گردد. هرنیارین ترکیبی فنلی دارد و آنتی‌اکسیدان قوی است. لذا هدف از این مطالعه بررسی اثر هرنیارین بر اضطراب و افسردگی در مدل ایسکمی در موش‌های نر است. در این مطالعه تجربی، ۵۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (۲۰۰-۲۵۰ گرم) به پنج گروه شامل گروه کنترل، شاهد، ایسکمی و گروه‌های ایسکمی دریافت‌کننده ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم هرنیارین به روش گاواژ تقسیم شدند. برای ایجاد ایسکمی شریان‌های کاروتید عمومی دو طرفه جدا شده، از دو قسمت مسدود و از بخش میانی قطع شدند. ارزیابی اضطراب در طی تست جعبه باز انجام گرفت. همچنین برای سنجش افسردگی زمان بی‌حرکتی در شنای اجباری اندازه‌گیری شد. در موش‌های ایسکمی افزایش معنی‌دار اضطراب و افزایش مدت زمان حرکتی در تست جعبه باز و شنای اجباری مشاهده گردید ($P < 0/001$). در تجویز دوزهای ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم هرنیارین افزایش تعداد بالا بردن دست‌ها ($P < 0/001$) و نیز کاهش معنی‌دار تعداد دفع در هر دوز مشاهده گردید ($P < 0/001$) و مصرف دوز ۱۵۰ و ۳۰۰ mg/kg هرنیارین در موش‌های ایسکمی در تعداد عبور از مربعات در جعبه باز افزایش معنی‌دار را نشان داد ($P < 0/001$). هرنیارین دارای اثرات ضد اضطرابی و ضد افسردگی در مدل تجربی ایسکمی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: ایسکمی، اضطراب، افسردگی، موش صحرایی، هرنیارین.

مقدمه

اختلالات اضطرابی و افسردگی از شایع‌ترین بیماری‌های عصبی هستند. هر کدام از این موارد در علائم بیماری بعضاً همپوشانی دارند. در مطالعات دیده شده که استرس می‌تواند به‌عنوان ریسک فاکتوری برای افسردگی در طولانی مدت باشد (Lucassen *et al.*, 2014). مطالعات نشان داده‌اند که هیپوپرفیوژن مغزی می‌تواند باعث ایسکمی، هیپوکسی، آسیب‌های پاتولوژیک، آسیب‌های التهابی و تغییرات بیومدیkal در نواحی مختلف مغزی مثل هیپوکامپ و قشرهای مغزی بشود. محققان نشان داده‌اند که رادیکال‌های آزاد و حذف آنتی‌اکسیدان‌ها از پلاسما و بافت مغزی نقش مهمی در آسیب عصبی ناشی از هیپوپرفیوژن مغزی دارند. تجمع سلول‌های التهابی در مغز باعث آسیب نورونی می‌شود و سیگنال مولکولی ایجادشده اجزای سیستم ایمنی را در فرایندهای ایسکمیک فعال می‌کند که در نهایت منجر به آسیب بافتی می‌شود (Simard *et al.*, 2018). سیتوکاین‌های التهابی روی متابولیسم سروتونین نوراپی نفرین و دوپامین در نواحی سیستم لیمبیک شامل هیپوکامپ آمیگدال و هسته اکومبسنس نقش دارند. نقش فرایندهای التهابی در آسیب بافتی عصبی در شرایطی همچون استرس و افسردگی نیز مطرح است (Mahmoudzadeh *et al.*, 2017). اضطراب و افسردگی سبب بروز مشکلات فردی، خانوادگی و اجتماعی مانند طلاق، از دست دادن شغل، اعتیاد، عدم توانایی حضور در محل کار و خودکشی خواهد شد. در ابعاد بزرگ‌تر هزینه‌هایی که بر دوش ملت‌ها به‌واسطه این بیماری نهاده می‌شود هزینه‌های مربوط به داروها، بستری‌شدن و کنترل بیماری‌هایی که در ارتباط نزدیک با این بیماری ایجاد می‌شوند، مانند دیابت، بیماری‌های عروق کرونر و آلزایمر خود بخش دیگر یاز هزینه‌ها را شامل می‌شود. فرایندی که طی آن عملکردهای ارگان‌ها رو به کاهش می‌گذارد. تصلب شرایین، مشکلات قلبی عروقی، آلزایمر، بروز سکت‌های قلبی و مغزی همه از

پیامدهای اجتناب ناپذیر پیری هستند که می‌توانند به‌طور اولیه یا ثانویه اثرات مخرب روی ساختارهای مغزی به‌ویژه آنهایی که در عملکردهای شناختی نقش دارند، داشته باشند (Malan *et al.*, 2016). ایسکمی با مفهوم کاهش و یا قطع جریان خون، در اندام‌های مختلف بروز می‌نماید. به‌عنوان مثال انفارکتوس میوکارد، نارسایی حاد کلیوی ناشی از ایسکمی، جراحی‌های قلبی، آمبولی، انسداد عروقی و پیوند اعضا همه مواردی هستند که در آنها در یک دوره جریان خون به اندام قطع و آن عضو دچار ایسکمی می‌شود. در طی ایسکمی، کاهش موقت یا دائم جریان خون به مغز، سبب کاهش یا عدم انتقال گلوکز و اکسیژن مورد نیاز برای تأمین هموستازی سلولی می‌شود. در این مرحله فرایندهایی همانند سمیت سلولی ناشی از تحریک، اسیدوز، به هم خوردن تعادل یون‌ها، استرس اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدها، التهاب و آپوپتوز، سبب مرگ سلول‌ها می‌گردد. در مرحله بعد که مرحله خون‌رسانی مجدد است، اختلال در کارایی میتوکندری، آزاد شدن گلوتامات و واسطه‌های التهابی، تولید گونه‌های فعال اکسیژنی و پراکسیداسیون لیپیدها رخ می‌دهد. واقعه اصلی در طی ایسکمی مغزی، تولید رادیکال‌های آزاد و گونه‌های واکنشی اکسیژن و نیتروژن است که به خاطر واکنش‌پذیری بالایشان سبب آسیب به لیپیدها، پروتئین‌ها و اسید دزوکسی‌ریبونوکلیک شده و مرگ نورونی را باعث می‌شوند. رادیکال‌های آزاد، در ضمن در شکستن سد خونی-مغزی و ایجاد ادم مغزی نقش دارند (Basile *et al.*, 2014). هرنیارین‌ها دسته‌ای از مشتقات هیدروکسی‌کومارین‌ها هستند (Roomiani *et al.*, 2018). ماده هرنیارین که محافظ کبد است یکی از مواد مؤثر تبریک موجود در گیاهان طبیعی است. علاوه بر این نقش آن در پاک‌سازی کبد از اسید سیناپیک منشأ می‌گیرد. این ماده در گیاهان مختلفی مانند بابونه، شیرین بیان، رزماری و اسطوخودوس وجود دارد (Roomiani *et al.*, 2018). یافته‌های Paladini

با کتامین/ زیلازین (۱۰۰ میلی‌گرم/۵ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) القا گردید. شکافی در وسط بخش شکمی پوست گردن ایجاد شد و بافت چربی زیر پوستی برداشته شده و از تیرویید دور می‌شود. و شریان کاروتید پس از مشاهده و آشکارشدن از بافت‌های اطراف جدا شده و به‌وسیله ابزارهای بخیه پوستی با دو گره محکم در حول رگ (بالا و پایین) مسدود و سپس شریان‌ها به‌طور کامل قطع شدند. حیوانات پس از به هوش آمدن اجازه داشتند تا آب و غذا مصرف کنند. بعد از یک هفته جراحی مشابهی در طرف دیگر انجام گردید (Rafieirad et al., 2018).

تست شنای اجباری (FST) Forced Swimming Test

این تست، تستی برای ارزیابی افسردگی است. روش آزمایش به این صورت است که سلیندری بی رنگ به اندازه ۳۰×۶۰ سانتی‌متر (ارتفاع× قطر داخلی) که با آب ۲۳ درجه با ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر پر شده است مهیا می‌کنیم. موش‌ها را به‌صورت انفرادی از ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر و به ملایمت در این سلیندر سرباز می‌اندازیم. در این شرایط، حیوانات برای حفظ پایداری خود در آب شنا می‌کردند. پس از مدتی، حیوانات با قطع حرکات دست و پای خود از تحرک و فعالیت باز می‌مانند که به‌طور قراردادی به آن زمان بی‌حرکت‌شدن (immobility time) می‌گویند. برای اندازه‌گیری زمان بی‌حرکتی، مدت زمان بی‌حرکتی حیوان طی محدوده زمانی مشخص توسط کروномتر ثبت گردید. زمان‌گیری تمام نمونه‌ها توسط یک فرد اندازه‌گیری و تجزیه و تحلیل شد. شرایط محیط برای تمام گروه‌ها یکسان و زمان آزمایش شنای اجباری ۶ دقیقه بود. در این حالت افزایش زمان بی‌حرکتی را معادل افسردگی و کاهش آن را به‌عنوان اثربخشی درمان ضد افسردگی ارزیابی شد (Eidipour et al., 2018).

تست جعبه باز (open field). تستی برای ارزیابی

et al. (1999) نشان داد که عصاره گیاه بابونه می‌تواند به‌مقدار زیادی استرس و اضطراب ناشی از بی‌حرکتی را در موش‌ها کاهش دهد؛ به‌گونه‌ای که در موش‌هایی که عصاره بابونه دریافت کرده بودند، بعد از استرس، کورتیزول خون آنها نسبت به گروه کنترل افزایش پیدا نکرد. بنابراین در مطالعه حاضر، اثر هرنیاری در مدل حیوانی هیپوپرفیوژن ایسکمی مغزی از طریق بررسی اثر آن بر اضطراب و افسردگی مورد ارزیابی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از ۵۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار تهیه‌شده از مرکز تکثیر و نگهداری حیوانات دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز با محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات در شرایط استاندارد ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد و سیکل روشنایی- تاریکی ۱۲ساعته (روشنایی از ۷ صبح آغاز می‌شود) و دسترسی کافی به غذای شرکت چاودانه شهرضای اصفهان و آب تصفیه شهری و در مرکز نگهداری دانشگاه در درون قفس‌های استاندارد نگهداری شدند. برای آسان‌شدن کار و سازش با شرایط محیط و آزمایشگاه حیوانات از قبل روزانه به مدت چند دقیقه دست‌آموز می‌شدند. حیوانات به‌طور تصادفی به گروه‌های زیر تقسیم شدند. گروه سالم بدون القای ایسکمی و بدون دریافت دارو (کنترل)، گروه شاهد (بدون قطع شریان‌های کاروتید) جراحی شدند، گروه ایسکمی با انسداد هر دو شریان کاروتید مشترک و دو گروه ایسکمی که هرنیاری با دوزهای mg/kg ۳۰۰-۱۵۰ را به‌روش گاواژ به‌مدت ۱۴روز دریافت کردند (Aydin et al., 2017). در طول مطالعه، نگهداری و انجام آزمایش‌ها و از بین بردن حیوانات، مطابق روش‌های استاندارد کار و اصول اخلاق با حیوانات بود (۱۵۳۳۰۵۲۵۹۷۲۰۰۱).

روش جراحی ایجاد ایسکمی

پس از یک روز محرومیت غذایی به حیوانات، بیهوشی

حیوان به ماز به‌علاوه‌ای مرتفع (در قسمت کفه و رو به بازوی باز) منتقل شد و مدت زمان حضور و تعداد دفعات ورود در بازوهای باز به‌عنوان شاخص‌های ارزیابی اضطراب در مدت زمان ثابت ۵ دقیقه مشاهده و ثبت گردید (Mohammadzadeh *et al.*, 2018).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌های این تحقیق به‌صورت $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ ارائه و سپس با روش‌های مناسب آماری در محیط نرم‌افزارهای Excel و SPSS و با استفاده از روش ANOVA یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی آنالیز گردید و تفاوت نتایج بین گروه‌های مختلف با حداقل $P < 0.05$ معنی‌دار تلقی شد.

نتایج

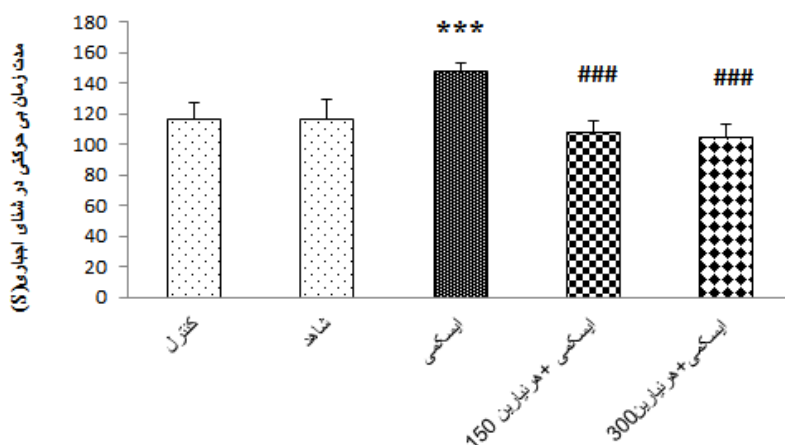
در بخش بررسی افسردگی توسط تست شنای اجباری، مدت زمان بی‌حرکتی در موش‌های ایسکمی شده افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل سالم نشان دادند ($P < 0.001$). همچنین مدت زمان بی‌حرکتی در موش‌های ایسکمی شده گروه کنترل و شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. همان‌طور که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود تجویز ۱۴ روزه دوز ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ($P < 0.001$) و دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ($P < 0.001$) هرنیارین به موش‌های ایسکمی شده کاهش معنی‌دار زمان بی‌حرکتی نسبت به گروه ایسکمی مشاهده گردید ولی نسبت به گروه کنترل سالم کاهش معناداری را نشان نداد. باتوجه به نمودار ۲، درصد تعداد ورود به بازوی باز در گروه ایسکمی کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشته است ($P < 0.05$). از طرفی درصد تعداد ورود به بازوی باز در گروه شاهد نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. درصد تعداد ورود به بازوی باز در هر دو گروه ایسکمی دریافت‌کننده دوزهای ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم هرنیارین در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت ولی این اختلاف

استرس و فعالیت‌های حرکتی است و روش آزمایش به این صورت بود که یک جعبه چوبی به اندازه 72×72 سانتی‌متر که به ۱۶ خانه (18×18 سانتی‌متر) مساوی تقسیم می‌شود و دارای دیوارهای با ارتفاع ۳۶ سانتی‌متر و سفید رنگ می‌باشد (Rafieirad *et al.*, 2014) در وسط جعبه باز یک خانه مرکزی 18×18 سانتی‌متری کشیده شده است. موش‌ها را به‌صورت انفرادی درون میدان مرکزی قرار داده می‌شوند. در این شرایط حیوانات از خطوط مرکزی و بیرونی عبور می‌کنند و بین دو تست محیط مورد نظر با پنبه آغشته به الکل تمیز می‌شود. برای اندازه‌گیری زمان سیستم حرکتی، مدت زمان حرکتی و بی‌حرکتی حیوان طی محدود زمان مشخص توسط کروномتر ثبت می‌گردد. شرایط محیط برای تمام گروه‌ها یکسان و زمان آزمایش ۱۰ دقیقه است و همچنین در این تست تعداد بالابردن دست‌ها و نیز تعداد دفع در ارزیابی اضطراب محاسبه گردید.

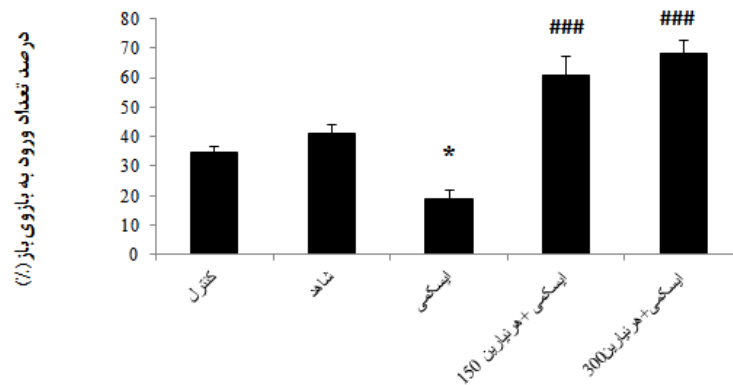
ماز به علاوه ای مرتفع (Elevated Plus Maze) برای ارزیابی میزان اضطراب از این دستگاه که یک مدل استاندارد جهت ارزیابی سطح اضطراب در جوندگان است، استفاده شد. این دستگاه چوبی شامل دو بازوی باز هر یک 50×50 سانتی‌متر) و دو بازوی بسته (هر یک $4 \times 5 \times 50$ سانتی‌متر) و یک کفه مرکزی (5×5 سانتی‌متر) می‌باشد. به‌طوری‌که بازوهای باز روبروی هم و بازوهای بسته هم روبروی یکدیگر قرار دارند و حدود ۵۰ سانتی‌متر از کف اتاق بالاتر قرار می‌گیرد. این مدل تجربی سنجش اضطراب غیر شرطی بوده و نیازی به آموزش و یادگیری حیوان ندارد. بعد از ۳ هفته از تجویز عصاره، در صبح روز آزمون حیوانات به آزمایشگاه منتقل داده می‌شوند و هر موش به‌طور جداگانه ۵ دقیقه قبل از آزمایش در جعبه‌ای با دیوار مشکی از جنس پلکسی گلس به ابعاد $30 \times 40 \times 40$ سانتی‌متر قرار گرفت تا فعالیت جستجوگرانه (Explorative Activity) حیوان افزایش یابد. سپس برای سنجش رفتار اضطرابی،

بین گروه شاهد و کنترل از نظر تعداد عبور از مربعات وجود نداشت. نتایج نشان داد که تعداد عبور از مربعات در گروه دریافت‌کننده دوز ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ($P < 0/001$) و دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ($P < 0/001$) هرنیاری در مقایسه با گروه ایسکمی افزایش معنی‌داری داشت (نمودار ۴). در ارزیابی اضطراب، بین گروه کنترل و ایسکمی تفاوت معنی‌دار است، افزایش تعداد دفع ($P < 0/001$) در گروه ایسکمی که نشان‌دهنده افزایش اضطراب در گروه ایسکمی نسبت به گروه کنترل است. همچنین تعداد دفع در گروه شاهد در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد. در تجویز ۱۴ روزه دوز ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ($P < 0/01$) و دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ($P < 0/001$) هرنیاری کاهش معنی‌دار در تعداد دفع نسبت به گروه ایسکمی مشاهده گردید (نمودار ۵). با توجه به نتایج نمودار ۶ تعداد بالابردن دست در گروه ایسکمی کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشته است ($P < 0/001$). از طرفی تفاوت معنی‌داری بین گروه شاهد و کنترل از نظر تعداد بالابردن دست وجود نداشت. در تجویز ۱۴ روزه دوز ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ($P < 0/001$) و دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ($P < 0/001$) هرنیاری سبب افزایش تعداد بالابردن دست نسبت به گروه ایسکمی شد.

معنی‌دار نبود. همچنین درصد تعداد ورود به بازوی باز در گروه ایسکمی دریافت‌کننده دوز ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ($P < 0/001$) و دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ($P < 0/001$) هرنیاری نسبت به گروه ایسکمی افزایش معنی‌داری داشته است. نتایج مربوط به درصد زمان گذرانده شده در بازوی باز در گروه‌های آزمایشی در نمودار ۳ نشان داده شده است. درصد زمان گذرانده‌شده در بازوی باز در گروه ایسکمی کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشته است ($P < 0/05$). از طرفی درصد تعداد زمان سپری شده در بازوی باز در گروه شاهد نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. با توجه به نتایج درصد تعداد زمان گذرانده‌شده در بازوی باز در گروه ایسکمی دریافت‌کننده دوز ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ($P < 0/001$) و دوز ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ($P < 0/001$) هرنیاری نسبت به گروه ایسکمی افزایش معنی‌داری داشته است، در حالی که در گروه ایسکمی تجویز دوزهای مختلف هرنیاری افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد. آنالیز تعداد عبور از مربعات، اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های مختلف نشان داد. بدین صورت که این تعداد در گروه ایسکمی نسبت به گروه کنترل کاهش یافت ولی از نظر آماری این اختلاف معنی‌دار نبود. همچنین تفاوت معنی‌داری

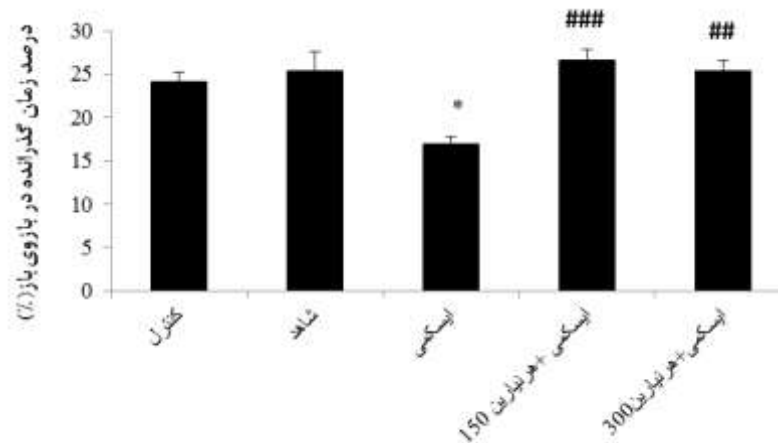


نمودار ۱. تأثیر دوزهای مختلف هرنیاری بر زمان بی‌حرکتی در تست شنای اجباری. هر ستون نشان‌دهنده میانگین \pm انحراف معیار می‌باشد.
 ***: $P < 0/001$ در مقایسه با گروه کنترل؛ ###: $P < 0/001$ در مقایسه با گروه ایسکمی



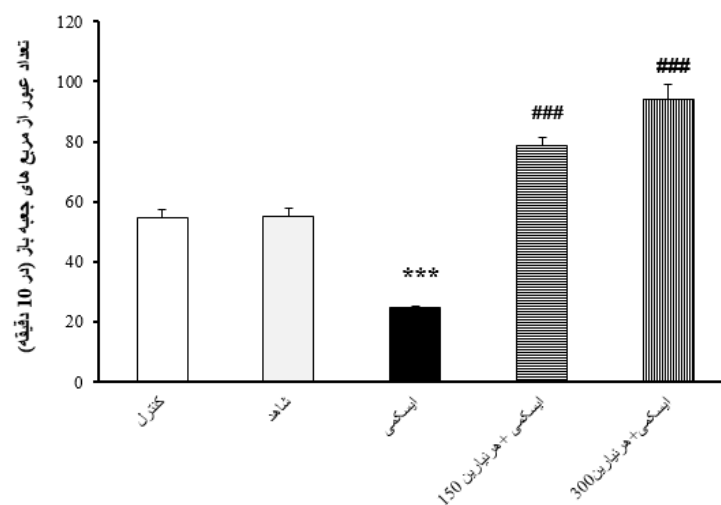
نمودار ۲. تأثیر دوزهای هرئین بر درصد تعداد ورود به بازوی باز (OAE%) در آزمون ماز به علاوه مرتفع. هر ستون نشان‌دهنده میانگین ± انحراف معیار می‌باشد.

*: $P < 0.05$ در مقایسه با گروه کنترل؛ ###: $P < 0.001$ در مقایسه با گروه ایسکمی



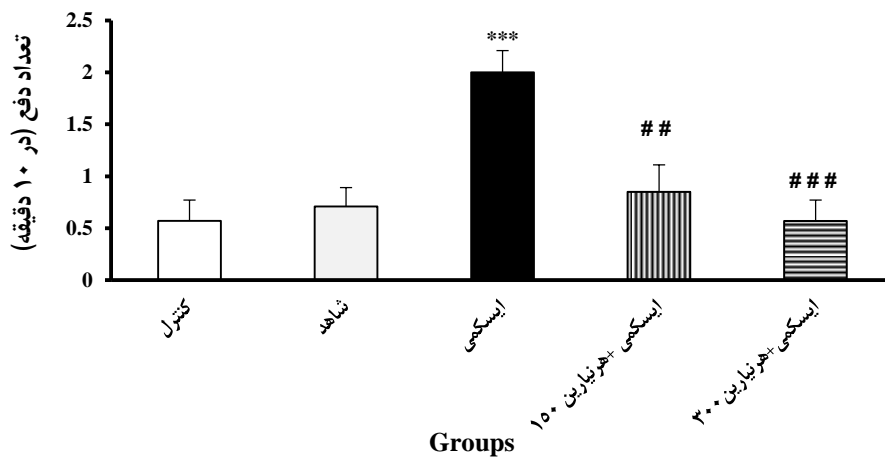
نمودار ۳. تأثیر دوزهای مختلف هرئین بر درصد زمان گذرانده شده در بازوی باز (OAT%) در آزمون ماز به علاوه مرتفع هر ستون نشان‌دهنده میانگین ± انحراف معیار می‌باشد.

*: $P < 0.05$ در مقایسه با گروه کنترل؛ ##: $P < 0.01$ و ###: $P < 0.001$ در مقایسه با گروه ایسکمی

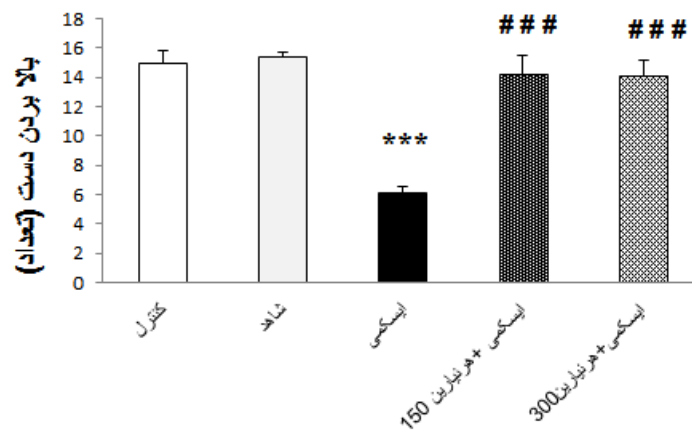


نمودار ۴. تأثیر دوزهای مختلف هرئین بر تعداد عبور از مربعات در تست جعبه باز. هر ستون نشان‌دهنده میانگین ± انحراف معیار می‌باشد.

***: $P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل؛ ###: $P < 0.001$ در مقایسه با گروه ایسکمی



نمودار ۵. تأثیر دوزهای مختلف هرنیارین بر تعداد دفعات دفع در تست محیط باز. هر ستون نشان‌دهنده میانگین \pm انحراف می‌باشد. ***: $P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل؛ ##: $P < 0.01$ و ###: $P < 0.001$ در مقایسه با گروه ایسکمی



نمودار ۶. تأثیر دوزهای مختلف هرنیارین بر تعداد بالا بردن دست در تست جعبه باز. هر ستون نشان‌دهنده میانگین \pm انحراف می‌باشد. ***: $P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل؛ ###: $P < 0.001$ در مقایسه با گروه ایسکمی

درمان مفیدی برای بیماران با اضطراب باشد، زیرا اختلالات اضطراب با استرس اکسیداتیو در ارتباط هستند. مشخص شده‌است که ویتامین C یک اثر ضد افسردگی همراه با داروهای ضد افسردگی سنتی دارد که در دوزهای مؤثر تجویز می‌شوند (Bouayed & Salim *et al.*, 2010). درحالی‌که تولید انواع اکسیژن واکنش‌پذیر (ROS) بر سیستم دفاعی مغز تسلط دارد، ساختار مغز غنی از چربی می‌تواند در معرض پراکسیداسیون لیپید قرار گیرد که واکنش زنجیره‌ای از رادیکال‌های آزاد را ایجاد می‌کند و منجر به از دست‌دادن گیرنده‌ها، آنزیم‌ها و کانال‌های یونی و از بین‌بردن یکپارچگی غشا می‌شود که در نهایت منجر

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این بررسی نشان داد که ایسکمی قادر به افزایش مدت زمان بی‌حرکتی و افزایش اضطراب است، درحالی‌که تجویز دوزهای مختلف هرنیارین می‌تواند باعث کاهش اضطراب و کاهش مدت زمان بی‌حرکتی در مدل حیوانی ایسکمی شود. آسیب‌پذیری مغز در برابر آسیب اکسیداتیو، با این نظریه هم‌خوانی دارد که اضطراب می‌تواند به‌طور مستقیم از طریق استرس اکسیداتیو انجام شود. وقتی استرس اکسیداتیو منجر به اضطراب می‌شود، ممکن است در این فاصله پتانسیل درمانی داشته باشند. علاوه بر این، ترکیبی از آنتی‌اکسیدان‌ها و داروهای کاهش اضطراب می‌تواند

به مرگ سلولی می‌شود. علاوه بر آسیب اکسیداتیو به پروتئین‌ها، لیپیدها و غشای سلول‌های عصبی (نورون‌ها)، اکسیداسیون می‌تواند در بخش‌های حساس دیگر و فرستنده اسیدهای نوکلئیک بیولوژیکی رخ دهد. در نتیجه استرس اکسیداتیو می‌تواند انتقال عصبی، عملکرد نورونی و فعالیت کلی مغز را تغییر دهد (Mohammadzadeh *et al.*, 2018). مدارهای مشابه مغز درگیر در اضطراب و لایه‌های عصبی مشابه (مانند GABA، سروتونین) در بین عوامل دیگر باعث ایجاد یک مدل خوب برای مطالعه اضطراب در انسان‌ها می‌شوند (Mathew *et al.*, 2008). سطح بالای اضطراب با تولید قابل‌توجه ROS در خون محیطی، گرانولوسیت، و مونوسیت‌ها در موش‌ها در مقایسه با سطوح پایین اضطراب همراه است. این نتایج رابطه بین سطح گلبول‌های قرمز درون سلولی و رفتار مربوط به اضطراب در موش‌ها را تایید می‌کنند (Bouayed *et al.*, 2009). علاوه بر این، مطالعات قبلی یک رابطه معنی‌دار بین اضطراب خاص و تشکیل ROS در شرکت‌کنندگان را مشاهده کرده‌اند (Hovatta *et al.*, 2005). مطالعات فیتوشیمیایی نشان داده که مهم‌ترین ترکیبات موجود در بخش‌های هوایی و گل‌های گیاه اسطوخودوس شامل مونوترپن‌ها به‌ویژه هیدروکسی کومارین‌ها از قبیل آمبلی فرون و هرنیارین، هستند (Rabiei *et al.*, 2014) که دارای اثرات تسکینی، پیش‌بی‌هوشی و ضد اضطرابی می‌باشند (Rezaei *et al.*, 2010). بابونه نیز اثرات ضدافسردگی دارد (Amsterdam *et al.*, 2012). مکانیسم اثر بابونه می‌تواند از طریق اتصال به رسپتورهای GABA و مهار گلوتامیک اسید دکربوکسیلاز صورت گیرد (Sarris *et al.*, 2011). بابونه بر فعالیت سیستم نوروترانسمیتری منوآمینی نورآدرنالین، دوپامین و سروتونین نیز مؤثر است (Amsterdam *et al.*, 2009). علاوه بر این، گل بابونه نیز حاوی چندین ترکیب شامل کومارین، هرنیارین و آمبلی فرون (Petrulova-Poracka *et al.*, 2013) است. معمولاً هرنیارین در مقایسه با آمبلی فرون به مقدار بیشتری وجود دارد (Redaelli *et al.*, 1981). Yamada *et al.* (1996) گزارش کردند که استنشاق بخارهای بابونه در موش صحرایی، استرس ناشی از محدودساختن حیوان را کاهش داد که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد. در ضمن، گزارش شد که بابونه روی سیستم‌های دخیل در اضطراب مانند سیستم گابا اثر می‌کند و گفته شده که ممکن است مشابه اثر آگونیسست بنزودیازپین عمل کرده باشد. مطالعات Avallone *et al.* (2000) در موش‌های نر نشان داد که بابونه به‌علت داشتن ترکیبات از جمله هرنیارین اثرات ضداضطرابی و تسکینی دارند. همچنین Komeili *et al.* (2016) در گزارش‌های خود عنوان کردند که مصرف عصاره آبی گیاه بابونه می‌تواند سطح اضطراب ناشی از کیندلینگ را در موش‌های صحرایی کاهش دهد. در یک مطالعه کارآزمایی بالینی، تجویز عصاره بابونه در اختلال اضطرابی منتشره توانست اثرات ضداضطرابی از خود نشان دهد (Amsterdam *et al.*, 2009). در مطالعه Ross (2013) نیز تأثیر عصاره بابونه بر اختلالات اضطرابی منتشره گزارش گردید. تحقیقات نشان داده‌اند عصاره چویل با اثر آنتی‌اکسیدانی می‌تواند از عوارض ناشی از ایسکمی از جمله افسردگی را بکاهد (Rafieirad *et al.*, 2018). از سویی مطالعات نشان داده‌اند سیستم سروتونرژیک و گاباژژیک در بروز اثر ضد افسردگی عصاره‌های اسطوخودوس نقش دارند. Ivanovska *et al.* (2018) در مطالعه‌ای بیان داشتند ترکیبات هرنیارین و آمبلی فرون از طریق تحریک آپوپتوز میزان مرگ‌ومیر سلول‌های MCF-7 افزایش می‌دهد، در نتیجه این ترکیبات مشتق‌شده کومارین می‌توانند در درمان سرطان پستان مؤثر باشند. مطالعات گزارش کرده‌اند مشتقات کومارین نیز موجب مهار مونوآمینواکسیداز می‌شوند و از وقوع افسردگی و آلزایمر نیز ممانعت می‌کنند (Patil *et al.*, 2013). تحقیقات کروماتوگرافی نشان داده بیشترین عملکرد عصاره آبی و

به مرگ سلولی می‌شود. علاوه بر آسیب اکسیداتیو به پروتئین‌ها، لیپیدها و غشای سلول‌های عصبی (نورون‌ها)، اکسیداسیون می‌تواند در بخش‌های حساس دیگر و فرستنده اسیدهای نوکلئیک بیولوژیکی رخ دهد. در نتیجه استرس اکسیداتیو می‌تواند انتقال عصبی، عملکرد نورونی و فعالیت کلی مغز را تغییر دهد (Mohammadzadeh *et al.*, 2018). مدارهای مشابه مغز درگیر در اضطراب و لایه‌های عصبی مشابه (مانند GABA، سروتونین) در بین عوامل دیگر باعث ایجاد یک مدل خوب برای مطالعه اضطراب در انسان‌ها می‌شوند (Mathew *et al.*, 2008). سطح بالای اضطراب با تولید قابل‌توجه ROS در خون محیطی، گرانولوسیت، و مونوسیت‌ها در موش‌ها در مقایسه با سطوح پایین اضطراب همراه است. این نتایج رابطه بین سطح گلبول‌های قرمز درون سلولی و رفتار مربوط به اضطراب در موش‌ها را تایید می‌کنند (Bouayed *et al.*, 2009). علاوه بر این، مطالعات قبلی یک رابطه معنی‌دار بین اضطراب خاص و تشکیل ROS در شرکت‌کنندگان را مشاهده کرده‌اند (Hovatta *et al.*, 2005). مطالعات فیتوشیمیایی نشان داده که مهم‌ترین ترکیبات موجود در بخش‌های هوایی و گل‌های گیاه اسطوخودوس شامل مونوترپن‌ها به‌ویژه هیدروکسی کومارین‌ها از قبیل آمبلی فرون و هرنیارین، هستند (Rabiei *et al.*, 2014) که دارای اثرات تسکینی، پیش‌بی‌هوشی و ضد اضطرابی می‌باشند (Rezaei *et al.*, 2010). بابونه نیز اثرات ضدافسردگی دارد (Amsterdam *et al.*, 2012). مکانیسم اثر بابونه می‌تواند از طریق اتصال به رسپتورهای GABA و مهار گلوتامیک اسید دکربوکسیلاز صورت گیرد (Sarris *et al.*, 2011). بابونه بر فعالیت سیستم نوروترانسمیتری منوآمینی نورآدرنالین، دوپامین و سروتونین نیز مؤثر است (Amsterdam *et al.*, 2009). علاوه بر این، گل بابونه نیز حاوی چندین ترکیب شامل کومارین، هرنیارین و آمبلی فرون (Petrulova-Poracka *et al.*, 2013) است. معمولاً هرنیارین در مقایسه با آمبلی فرون به مقدار بیشتری وجود دارد (Redaelli *et al.*, 1981). Yamada *et al.* (1996) گزارش کردند که استنشاق بخارهای بابونه در موش صحرایی، استرس ناشی از محدودساختن حیوان را کاهش داد که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد. در ضمن، گزارش شد که بابونه روی سیستم‌های دخیل در اضطراب مانند سیستم گابا اثر می‌کند و گفته شده که ممکن است مشابه اثر آگونیسست بنزودیازپین عمل کرده باشد. مطالعات Avallone *et al.* (2000) در موش‌های نر نشان داد که بابونه به‌علت داشتن ترکیبات از جمله هرنیارین اثرات ضداضطرابی و تسکینی دارند. همچنین Komeili *et al.* (2016) در گزارش‌های خود عنوان کردند که مصرف عصاره آبی گیاه بابونه می‌تواند سطح اضطراب ناشی از کیندلینگ را در موش‌های صحرایی کاهش دهد. در یک مطالعه کارآزمایی بالینی، تجویز عصاره بابونه در اختلال اضطرابی منتشره توانست اثرات ضداضطرابی از خود نشان دهد (Amsterdam *et al.*, 2009). در مطالعه Ross (2013) نیز تأثیر عصاره بابونه بر اختلالات اضطرابی منتشره توانست اثرات ضداضطرابی از خود نشان دهد (Amsterdam *et al.*, 2009). در مطالعه Ross (2013) نیز تأثیر عصاره بابونه بر اختلالات اضطرابی منتشره توانست اثرات ضداضطرابی از خود نشان دهد (Amsterdam *et al.*, 2009). در مطالعه Ross (2013) نیز تأثیر عصاره بابونه بر اختلالات اضطرابی منتشره توانست اثرات ضداضطرابی از خود نشان دهد (Amsterdam *et al.*, 2009). در مطالعه Ross (2013) نیز تأثیر عصاره بابونه بر اختلالات اضطرابی منتشره توانست اثرات ضداضطرابی از خود نشان دهد (Amsterdam *et al.*, 2009).

برای پیشگیری و درمان بیماری‌های نورودژنراتیو باشد که البته این فرضیه به مطالعات مولکولی، الکتروفیزیولوژیکی و بافت‌شناسی نیازمند است.

سپاسگزاری

مقاله حاضر برگرفته از پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد، مصوب معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد ایذه می‌باشد. بدین وسیله، از این معاونت، تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

- Abbasi Maleki, S.; Bekhradi, R.; Asgharpanah, J.; Abbasi Maleki, F.; and Maleki Ahanghari, N. (2013). Antidepressant-like effect of aqueous and hydroalcoholic extracts of *Lavandula angustifolia* Mill in forced swim test and tail suspension test in male mice. *Arak Med. Univ. J*; 16: 65-75.
- Amsterdam, JD.; Li, Y.; Soeller, I.; Rockwell, K.; Mao, JJ.; Shults, J. (2009). randomized, double-blind, placebo-controlled trial of oral *Matricaria recutita* (chamomile) extract therapy for generalized anxiety disorder. *J Clin Psychopharmacol*; 29(4): 378-82.
- Amsterdam, JD.; Li, Y.; Soeller, I.; Rockwell, K.; Mao, JJ.; Shults, J. (2009). A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of oral *Matricaria recutita* (chamomile) extract therapy for generalized anxiety disorder. *J Clin Psychopharmacol*; 29(4): 378-82.
- Amsterdam, JD.; Shults, J.; Soeller, I.; Mao, JJ.; Rockwell, K.; Newberg, AB. (2012). Chamomile (*Matricaria recutita*) may provide antidepressant activity in anxious, depressed humans: an exploratory study. *Altern Ther Health Med*; 18(5): 44-9.
- Avallone, R.; Zanolli, P.; Puia, G.; Kleinschnitz, M.; Schreier, P.; Baraldi, M. (2000). Pharmacological profile of apigenin, a flavonoid isolated from *Matricaria chamomilla*. *Biochem Pharmacol*; 59(11): 1387-94.
- Aydin, T.; Serkan Ero, H.; Cakir, A.; Yildirim, S.; Selim, Y.; Halici, M. (2017). Effects of herniarin on sepsis induced rats' liver. *J Pharma Care Health Sys*; 4: 4 (Suppl)
- Basile, DP.; Yoder, MC. (2014). Renal endothelial dysfunction in acute kidney ischemia reperfusion injury. *Cardiovasc Haematol Disord-Drug Targets*; 14: 3e14.
- Bouayed, J.; Bohn, T. (2010). Exogenous antioxidants-double-edged swords in cellular redox state: Health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses. *Oxid Med Cell Longev*; 3(4): 228-37.
- Bouayed, J.; Rammal, H.; Soulimani, R. (2009). Oxidative stress and anxiety: relationship and cellular pathways. *Oxid Med Cell Longev*; 2(2): 63-7.
- Eidipour, E.; Rafieirad, M.; Alami Rostami, Sh.; And Zangenenezhad, Z. (2018). Anti-depressive effects of hydroalcoholic extract of Chevilan (*Ferulago angulate* Boiss.) in adult male wistar rat model of ischemia/ hypoperfusion. *Nova Biologica Rep*; 137-143.
- Hovatta, I.; Tennant, RS.; Helton, R. (2005). Glyoxalase 1 and glutathione reductase 1 regulate anxiety in mice. *Nature*; 438(7068): 662-6.
- Ivanovska, N.; Phlipov, S. (2018). Apoptosis induction by auraptene, umbelliprenin

هیدروالکلی بابونه مربوط به دو ترکیب آمبلی‌فرون (۱۱/۸۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم) و هرنیارین (۸۲/۷۹ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم) که با استفاده از محلول اتانول ۵۰٪ آبی حاصل شد و همچنین ثابت شده است که این ترکیبات دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۶۱/۵٪ DPPH) است (Molnar *et al.*, 2017).

در مجموع، نتیجه‌گیری می‌شود که هرنیارین موجب کاهش اضطراب و افسردگی در رت‌های نر ایسکمی‌شده می‌شود و ممکن است گزینه مناسبی

- and herniarin in MCF-7 cells. *Int J Ethnopharmacol*; 64(2): 161-66.
- Komeili, G.; Fanaei, H.; Sarani, V.; (2016). Effects of Aqueous *Matricaria Recutita* extract on anxiety-like behavior in rat's model kindled by Pentylentetrazole. *J Birjand Univ Med Sci*; 23 (1) :21-28.
- Lucassen, PJ.; Pruessner, J.; Sousa, N.; Almeida, OF.; Van Dam, AM.; Rajkowska, G.; Swaab, DF.; Czéh, B. (2014). Neuropathology of stress. *Acta Neuropathol*;127(1):109-35.
- Mahmoudzadeh, L.; Najafi, H.; Changizi-Ashtiyani, S.; Mohamadi yarijani, Z. (2017). Antiinflammatory and protective effects of Saffron extract in ischemia-reperfusion induced acute kidney injury. *Nephrology (Carlton)*; 22: 748e754.
- Malan, L.; Hamer, M.; von Keanel, R. (2016). Chronic depression symptoms and salivary NOx are associated with retinal vascular dysregulation: the SABPA study. *Nitric Oxide-Biol. Chem.* 55-56, 10-17.
- Mathew, SJ.; Price, RB.; Charney, DS. (2008). Recent advances in the neurobiology of anxiety disorders: implications for novel therapeutics. *Am J Med Genet*; 148 C(2): 89-98.
- Mohammadzadeh, M.; Sharifzadeh, S.; Ilkhanipoor, M.; Nejati, V.; Heidari, R. (2018). Eff-ect of Aqueous Extract of Cinnamon on Anxiety-Like Behavior in Streptozotocin-Induced Diabetic Male Rats. *Armaghane Danesh*; 23(1): 57-68.
- Molnar, M.; Mendesevic, N.; Subaric, D.; Banjari, I.; Jokic, S. (2017). Comparison of various techniques for the extraction of umbelliferone and herniarin in *Matricaria chamomilla* processing fractions. *Chemistry Central Journal*; 11(1): 78.
- Paladini, AC.; Marder, M.; Viola, H.; Wolfman, C.; Wasowski, C.; Medina, JH. (1999). Flavonoids and the central nervous system: from forgotten factors to potent anxiolytic compounds. *J Pharm Pharmacol*; 51(5): 519-26.
- Patil, P.A. (2013). Comprehensive review on synthesis and designing aspects of coumarin derivatives as monoamine oxidase inhibitors for depression and Alzheimer's disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. January; 21: 2434-2450.
- Petrulova-Poracka, V.; Repcak, M.; Vilkova, M.; Imrich, J. (2013). Coumarins of *Matricaria chamomilla* L.: aglycones and glycosides. *Food Chem*; 141: 54-59.
- Rabiei, Z.; Rafieian-Kopaei, M.; Mokhtari, S.; Shahrani, M. (2014). Effect of dietary ethanolic extract of *Lavandula officinalis* on serum lipids profile in rats. *IJPR*; 13(4): 1295-301.
- Rafieirad, M.; Eydipour, Z.; Alami Rostami, S. (2018). Effects of Antidepressants Hydro-alcoholic extract of Chevilan (*Ferulago angulate*) in model of ischemia/ hypoperfusion in adult male rats. *nbr*; 5 (2): 137-143.
- Rafieirad, M.; Eydipour, Z.; Alami Rostami, S. (2018). Effects of Antidepressants Hydro-alcoholic extract of Chevilan (*Ferulago angulate*) in model of ischemia/ hypoperfusion in adult male rats. *nbr*; 5 (2): 137-143.
- Rafieirad, M.; Zangeneh Nezhad, Z. E. A. (2014). Neuroprotective Effects of Oral Ellagic Acid on Locomotor Activity and Anxiety-Induced by Ischemia/ Hypoperfusion in Rat. *Advances in Environmental Biology*;8(1):83-8.
- Redaelli, C.; Formentini, L.; Santaniello, E. (1981). HPLC determination of coumarins in *Matricaria chamomilla*. *Planta Med*; 43: 412-413.
- Rezaei, A.; Jafari, B.; Jalilzadeh, M.H. (2010). Study of sedative, preanaesthetic and anxiolytic effect of herbal extract of *Lavandula Stoechas* in comparison with diazepam. *U Tabriz J*; 3: 899-905.
- Roomiani, L.; Soltani, M.; Akhondzadeh Basti, A.; Mahmoodi, A.; TaheriMirghaed, A.; Yadollahi, F. (2018). Evaluation of the chemical composition and in vitro antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis*, *Zataria multiflora*, *Anethum*

- graveolens and Eucalyptus globulus against Streptococcus iniae the cause of zoonotic disease in farmed fish. *IJFS*;12(3): 702-16.
- Ross, SM. (2013). Generalized anxiety disorder (GAD): efficacy of standardized *Matricaria recutita* (*German chamomile*) extract in the treatment of generalized anxiety disorder. *Holist Nurs Pract*; 27(6): 366-8.
- Salim, S.; Sarraj, N.; Taneja, M.; Saha, K.; Tejada-Simon, MV.; Chugh, G. (2010). Moderate treadmill exercise prevents oxidative stress-induced anxiety-like behavior in rats. *Behav Brain Res*; 208(2): 545-52.
- Sarris, J.; Panossian, A.; Schweitzer, I.; Stough, C.; Scholey, A. (2011). Herbal medicine for depression, anxiety and insomnia: a review of psychopharmacology and clinical evidence. *Eur Neuropsychopharmacol*; 21(12): 841-60.
- Simard, S.; Coppola, G.; Rudyk, C.A. (2018). Profiling changes in cortical astroglial cells following chronic stress. *Neuropsychopharmacology*; 43 (9): 1961-1971.
- Yamada, K.; Miura, T.; Mimaki, Y.; Sashida, Y. (1996). Effects of inhalation of chamomile oil vapour on plasma ACTH level in ovariectomized-rat under restriction stress. *Biol Pharm Bull*; 19(9): 1244-6.