

تأثیر اولئوروپین بر اضطراب ناشی از استرس حاد از طریق کاهش استرس اکسیداتیو در موش سوری

نویسندگان:

نشمیل رستمی^۱، زهرا هوشمندی^{۲*}، گلاویز محمودی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سنندج، سنندج، ایران

۲- استادیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سنندج، سنندج، ایران

۳- استادیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.20, No.1, Spring 2022

چکیده:

مقدمه: وقوع حوادث استرس زای شدید، با خطر ابتلا به اختلالات روحی و روانی از قبیل اضطراب همراه است. امروزه با توجه به عوارض منفی داروهای ضد اضطراب، توجه پژوهشگران به ترکیبات طبیعی معطوف شده است. هدف مطالعه حاضر ارزیابی اثربخشی اولئوروپین بر اضطراب در موش‌های سوری تحت استرس حاد بود.

روش کار: در این مطالعه تجربی، از تعداد ۴۰ سر موش سوری نر در بازه سنی ۸-۶ هفته و محدوده وزنی ۳۰-۲۵ گرم استفاده شد. برای القاء استرس حاد (Acute Restraint Stress) موش‌ها روزانه دو ساعت در معرض استرس بی‌حرکتی در دستگاه Restrainer و سپس دو دقیقه شوک الکتریکی با قدرت نیم میلی‌آمپر قرار گرفتند. موش‌های تحت استرس حاد در پنج گروه شامل گروه کنترل (دریافت کننده حلال دارو)، سه گروه درمان (دریافت کننده اولئوروپین در دوزهای ۷/۵، ۱۵، ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و گروه کنترل مثبت (دریافت کننده دیازپام با دوز ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) قرار گرفتند. داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه تجزیه و تحلیل شدند. $P < 0/05$ از نظر آماری معنادار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: دوز ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اولئوروپین در موش‌های تحت استرس حاد سبب افزایش زمان سپری شده در بازوهای باز و کاهش مدت زمان سپری شده در بازوهای بسته دستگاه ماز صلیبی شکل مرتفع شد ($P < 0/05$). تجویز دوزهای مختلف اولئوروپین سبب افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش میزان مالون دی‌آلدهید مغز و سرم در موش‌های مذکور شد ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری: اثربخشی اولئوروپین بر اضطراب در موش‌های تحت استرس حاد ممکن است از طریق کاهش استرس اکسیداتیو باشد.

واژگان کلیدی: اولئوروپین، استرس اکسیداتیو، استرس حاد، موش سوری

Pars J Med Sci 2022;20(1):40-49

مقدمه:

در جامعه امروزی به دلیل افزایش مواجهه با انواع عوامل تنش‌زا شیوع اختلالات عصبی از جمله اضطراب، اختلالات شخصیت، اسکیزوفرنی و افسردگی افزایش چشمگیری داشته است. اضطراب و افسردگی دو بیماری روحی - روانی با هم ابتلایی بالا هستند که شیوع آن‌ها در جهان در حال افزایش است. بر اساس گزارش سازمان بهداشت جهانی اضطراب تا سال ۲۰۳۰ به دومین عامل مرگ و میر تبدیل خواهد شد که بار اقتصادی قابل توجهی

بر جوامع تحمیل خواهد کرد [۱]. این در حالی است که فقط حدود نیمی از این بیماران پاسخ مناسب و کافی به درمان نشان می‌دهند و تعدادی زیادی درمان را به دلیل بروز عوارض جانبی رها می‌کنند. از این رو، در سال‌های اخیر پژوهش‌ها به سمت بررسی دیگر عوامل دخیل در بروز این بیماری سوق داده شده است [۲]. محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - آدرنال و سیستم عصبی سمپاتیک مولفه‌های کلیدی پاسخ به استرس هستند. هنگام مواجهه

* نویسنده مسئول، نشانی: استادیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سنندج، سنندج، ایران.

پست الکترونیک: zhoushmand@yahoo.com

تلفن تماس: ۰۹۱۲۶۳۴۲۱۰۳

پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۰۴

اصلاح: ۱۴۰۲/۰۲/۲۸

دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۴

زیتون یکی از معروف ترین گیاهان آسیایی است که بیش از ۲۰۰۰ سال در رژیم غذایی مردم وجود داشته است [۸]. مطالعات مختلف روی زیتون و مواد موثر آن، خاصیت محافظت نوروئی و ضد التهابی آن را تایید کرده است [۹، ۱۰]. اولئوروپین ترکیب اصلی بیو اکتیو زیتون است که به مقدار زیادی در میوه و برگ فرآوری نشده آن وجود دارد [۸]. مطالعات مختلف روی این ماده نشان دهنده خاصیت محافظت نوروئی در ناهنجاری های مختلف عصبی از جمله آسیب های عصبی هیپوکمپ در طی ایسکمی مغزی [۱۱]، آسیب مغزی پس از هیپوکسی و اکسیژن رسانی مجدد در مدل موش دیابتی [۱۲]، تشنج Audiogenic مرتبط با رژیم غذایی با چربی بالا [۱۳]، صرع القا شده با پنتیلین تترازول [۱۴]، آسیب طناب نخایی در مدل موشی صحرائی [۱۵] و مسمومیت های عصبی دارد [۱۶]. خاصیت مذکور از طریق مهار رادیکال های آزاد و پراکسیداسیون چربی، خواص ضد التهابی، احیا گلوکوتیون و خواص ضد آپتوزی است [۱۷] با توجه به این که تاکنون اثرات ضد اضطراب الئوروپین بررسی نشده است، مطالعه حاضر با هدف ارزیابی اثرات حفاظتی این ماده بر اضطراب ناشی از استرس حاد و مزمن طراحی و اجرا شد.

روش کار:

ارزیابی فعالیت مهار کننده رادیکال آزاد DPPH (1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)

مطالعه حاضر از نوع تجربی با گروه های کنترل و آزمایش بود. در آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH، توانایی به دام انداختن این رادیکال توسط غلظت های ۴۰۰-۱۰۰ ppm از اولئوروپین بررسی شد. برای این منظور درون لوله آزمایش، غلظت های مختلف از اولئوروپین با ۵ میلی لیتر محلول متانولی DPPH (۱/۰ میلی مولار) به طور کامل مخلوط شد و پس از ۲۰ دقیقه نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد، میزان جذب آن در طول موج ۵۱۷ نانومتر تعیین شد. برای نمونه کنترل، از محلول ۸۰٪ متانول به جای اولئوروپین استفاده شد [۱۸].

گروه بندی حیوانات آزمایشگاهی

این پژوهش با کد اخلاق IR.IAU.SDJ.REC.۱۳۹۹.۰۵۹ کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنجید مورد تصویب واقع و در انجام آن تمامی اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شده است. در مطالعه حاضر تعداد ۴۰ موش سوری نر در بازه سنی ۸-۶ هفته و محدوده وزنی ۳۰-۲۵ گرم از انستیتو پاستور تهران، ایران تهیه و در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد و در شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی با دسترسی آزاد به آب و غذای یکسان نگهداری شدند. به منظور القای استرس از روش استاندارد

هیپوتالاموس با یک عامل استرس زا، هورمون آزاد کننده کورتیکوتروپین (CRH) و آرژینین وازوپرسین (AVP) از آن ترشح می شود. هر دو این نوروهورمون ها سبب ترشح هورمون آدرنوکورتیکوتروپین (ACTH) از هیپوفیز خلفی و فعال سازی نوروئین های نور آدرنژیک سیستم لوکوس سرولتوس / نوراپی نفرین می شوند. این سیستم مسئول واکنش گریز یا مقابله است که توسط اپی نفرین و نوراپی نفرین ایجاد می شود، در حالی که هورمون آدرنوکورتیکوتروپیک سبب تحریک ترشح گلوکوکورتیکوئید و به خصوص کورتیزول توسط غده آدرنال می شود [۳].

به نظر می رسد که نوروپپتیدهای CRH و AVP به طور شبانه روزی و با فواصل دو تا سه مرتبه در ساعت در جریان خون پورتال رهاسازی می شوند. در شرایط استراحت، بزرگی پالس های ترشحاتی این دو نوروپپتیدها در ساعات اولیه صبح افزایش یافته که سبب افزایش میزان هورمون آدرنوکورتیکوتروپیک گلوکوکورتیکوئیدها در گردش خون می شود. این روند روزانه با تغییرات روشنایی، برنامه غذایی، فعالیت بدنی و مقابله عوامل استرس زا دچار اختلال می شود [۴]. در مقابله با استرس حاد، اپیزودیک و یا مزمن، میزان این دو نوروپپتید در سیستم پورتال هیپوفیز افزایش می یابد که منجر به افزایش ترشح هورمون آدرنوکورتیکوتروپیک و کورتیزول خواهد شد. بسته به نوع استرس، ترشح عوامل دیگر همچون AVP از منشاء نوروئین مگنوسولولار، آنژیوتانسین II، سیتوکین های مختلف و واسطه های التهابی افزایش یافته و سبب ترشح گلوکوکورتیکوئیدها می شود [۴]. مقدار افزایش یافته گلوکوکورتیکوئیدها به دنبال مواجهه با استرس از یک سو سبب راه اندازی فرایندهای کاتابولیک برای مقابله با عوامل استرس زا و از سوی دیگر تنظیم سیستم بازخورد منفی از طریق گیرنده های گلوکوکورتیکوئیدی هیپوتالاموس، هیپوفیز و هیپوکامپ می شود. با این حال، تولید بیش از حد این هورمون ها در مقابله با استرس حاد یا مزمن سبب کاهش عملکرد و یکپارچگی ساختاری هیپوکامپ شده و زمینه را برای بروز اختلالات حافظه و سایکولوژیک از قبیل اضطراب فراهم می کند [۵].

امروزه پژوهشگران به دنبال یافتن ترکیبات داروهای چند سازوکاری هستند که بتواند با اثرگذاری بر سازوکارهای مختلف دخیل در آسیب و مرگ سلول های عصبی از پیشرفت و گسترش اختلالات خلقی جلوگیری کنند [۶]. یافته ها حاکی از آن است که ترکیبات طبیعی با فعالیت ضد التهابی و آنتی اکسیدانی اهمیت بالایی در ممانعت از مرگ نوروئین ها و اختلال عملکرد سیستم عصبی مرکزی دارند [۶، ۷].

بافت مغز با ۱/۵ میلی‌لیتر اسید استیک ۲۰ درصد، ۱/۵ میلی‌لیتر اسید تیوباریتوریک ۰/۸ و ۲۰۰ میکرولیتر محلول SDS ۸/۱ درصد مخلوط شد. نمونه‌ها پس از قرار گیری در بن ماری آب جوش به مدت ۶۰ دقیقه، خنک شده و ۱ میلی‌لیتر آب مقطر و ۵ میلی‌لیتر مخلوط آن - بوتانول - پیریدین به آن‌ها اضافه و شیکر شدند. مخلوط آماده شده در دور ۴۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد و جذب نوری محلول رویی در طول موج ۵۲۳ نانومتر ثبت شد [۲۱].

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد. توزیع داده‌ها از لحاظ نرمال بودن بررسی و نرمال سازی شدند. برای تعیین اختلاف بین گروه‌ها از تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد ثبت شدند. $p < 0.05$ از نظر آماری معنادار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها:

فعالیت آنتی‌اکسیدانی اولئوروپین در محیط *In vitro* به کمک DPPH تعیین شد. اولئوروپین فعالیت قابل ملاحظه‌ای در حذف رادیکال‌های DPPH با IC50 (غلظت مورد نیاز برای مهار ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد DPPH) برابر با ۱۱/۳۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر نشان داد.

اثر دیازپام و دوزهای مختلف الئوروپین بر دفعات ورود و مدت زمان سپری شده در بازوهای باز و بسته دستگاه ماز صلیبی شکل مرتفع در موش‌های تحت استرس حاد در شکل ۱ نشان داده شده است. تیمار این موش‌ها با دوز ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اولئوروپین سبب افزایش معنادار مدت زمان سپری شده در بازوهای باز و کاهش معنادار مدت زمان سپری شده در بازوهای بسته دستگاه ماز صلیبی شکل مرتفع شد ($p < 0.05$).

اثر دیازپام و دوزهای مختلف الئوروپین روی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم و مغز در موش‌های تحت استرس حاد در شکل ۲ نشان داده شده است. تیمار این موش‌ها با اولئوروپین در هر سه دوز سبب افزایش معنادار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مغز و سرم شد ($P < 0.001$)، ولی دیازپام اثر معناداری بر آن در موش‌های تحت استرس حاد نداشت.

اثر دیازپام و دوزهای مختلف الئوروپین بر مالون‌دی‌آلدهید سرم و مغز در موش‌های تحت استرس حاد در شکل ۳ نشان داده شده است. تیمار این موش‌ها با اولئوروپین در هر سه دوز سبب کاهش معنادار مالون‌دی‌آلدهید سرم و در دوزهای ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم سبب کاهش معنادار مالون‌دی‌آلدهید مغز شد ($P < 0.001$). دیازپام

بی‌حرکتی و همچنین مواجهه با شوک الکتریکی استفاده شد. موش‌ها روزانه به مدت ۲ ساعت در دستگاه Restrainer که از نظر حرکتی، آب و غذا محدودیت ایجاد می‌کند، قرار گرفتند. بعد از آن به موش‌ها شوک الکتریکی با قدرت نیم میلی‌آمپر به مدت دو دقیقه (چرخه یک ثانیه با ۱۰ ثانیه استراحت) داده شد. این روند برای ایجاد استرس حاد یک بار انجام شد. موش‌ها در گروه استرس حاد در پنج گروه هشت تایی شامل گروه کنترل (دریافت کننده حلال دارو) و گروه‌های دریافت کننده اولئوروپین در دوزهای ۷/۵، ۱۵، ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و دیازپام با دوز ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم قرار گرفتند [۱۹].

آزمون ماز صلیبی شکل مرتفع

برای ارزیابی میزان اضطراب از دستگاهی به نام ماز صلیبی شکل مرتفع که دستگاهی استاندارد برای ارزیابی میزان اضطراب در جوندگان است، استفاده شد. این دستگاه شامل دو بازوی باز و دو بازوی بسته و یک کفه مرکزی است. بازوهای باز رو به روی هم و بازوهای بسته نیز رو به روی هم قرار داشته و کفی آن حدود ۵۰ سانتی‌متر از کف اتاق بالاتر قرار می‌گیرد. آزمون در یک اتاق نیمه تاریک و ساکت انجام شد. برای انجام آزمون، موش‌ها به آرامی در قسمت مرکزی دستگاه به صورتی که حیوان به سمت یکی از بازوهای باز باشد قرار داده شد و زمان سپری شده در بازوهای باز و بسته و تعداد ورود به بازوهای باز و بسته ثبت شد [۲۰].

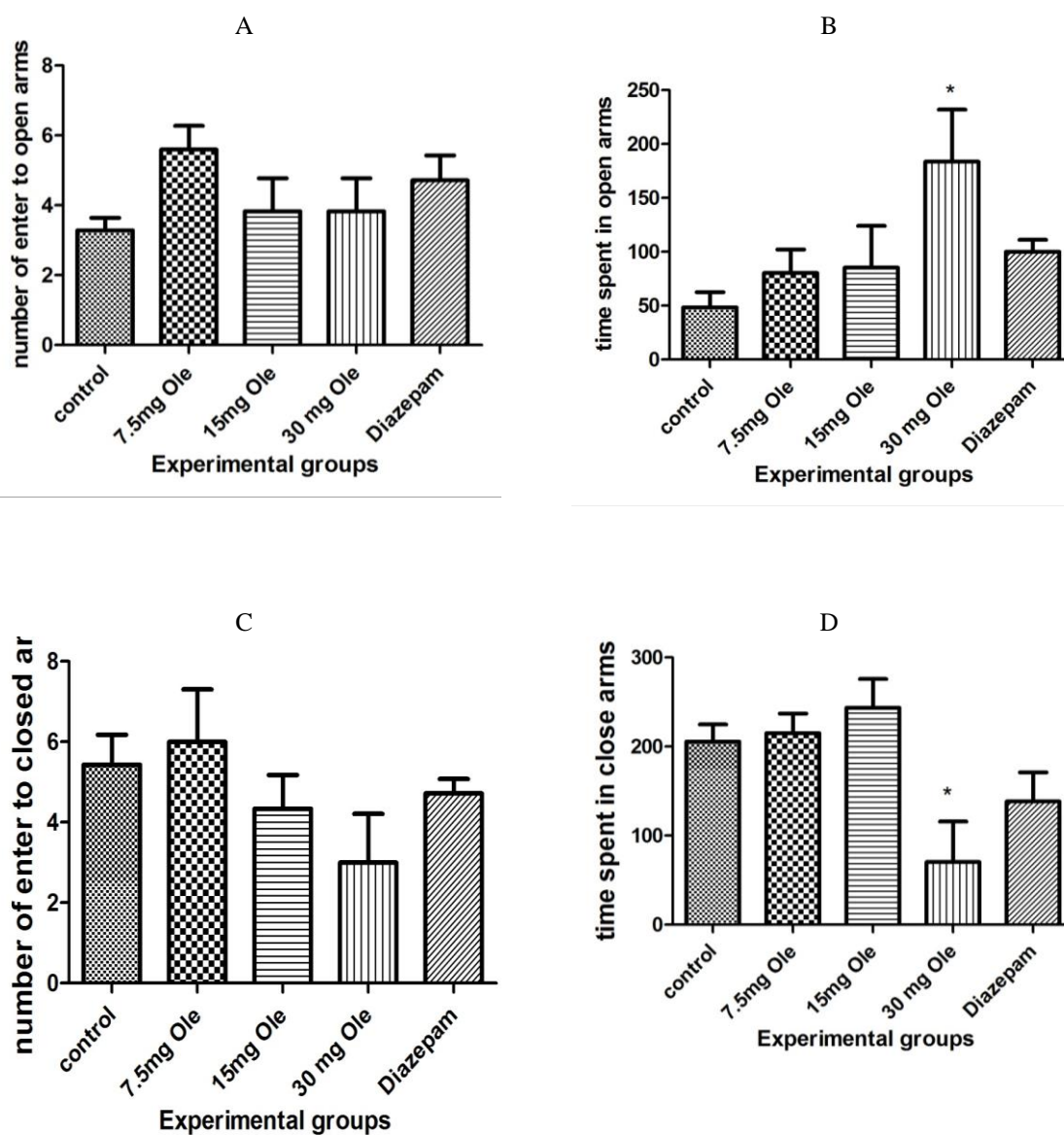
اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم و مغز

از روش Beniz, Strain برای سنجش استفاده شد. اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم نمونه با خون‌گیری از قلب حیوانات انجام گرفت. معرف FRAP حاوی ۲/۵ میلی‌لیتر از یک محلول ۱۰ میلی‌مولار 2,2 TPTZ (4,6-tripyridyl-s-triazine) در ۴۰ میلی‌مولار اسید کلریدریک به اضافه ۲/۵ میلی‌لیتر از کلرید آهن و ۲/۵ میلی‌لیتر از بافر استات ۰/۳ مولار با pH=3.6 به طور تازه آماده و به دمای ۳۷ درجه سانتیگراد رسانده شد. مقادیر FRAP با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و در طول موج ۵۹۳ نانومتر خوانده شد [۱۸].

اندازه‌گیری میزان مالون‌دی‌آلدهید کل (MAD)

برای بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مغز، بلافاصله پس از خون‌گیری از قلب، حیوانات با بی‌هوشی عمیق القا شده توسط تزریق کتامین و زایلزین کشته شده و پس از جدا کردن سر و باز کردن جعبه آن‌ها کل بافت دو نیمکره مغز خارج و مخچه و ساقه مغز کنار گذاشته شد. سپس ۲۰۰ میکرولیتر از سرم / هموزنه

اثر معناداری بر مالون‌دی‌آلدهید سرم و مغز در موش‌های تحت استرس حاد نداشت.



شکل ۱: اثر دیازپام با دوز ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم و دوزهای مختلف اولتوروپین بر دفعات ورود به بازوهای باز (A)، مدت زمان سپری شده در بازوهای باز (B)، دفعات ورود به بازوهای بسته (C) و مدت زمان سپری شده در بازوهای بسته (D) در دستگاه ماز صلیبی شکل مرتفع در موش‌های تحت استرس حاد. * نشان دهنده اختلاف معنادار با گروه تحت استرس ($p < 0.05$).

جدول ۱ (A): میانگین و انحراف معیار دفعات ورود به بازوهای باز

	کنترل	التوروپین ۷٫۵ میلی گرم	التوروپین ۱۵ میلی گرم	التوروپین ۳۰ میلی گرم	دیازپام
Mean	۳٫۲۸۶	۵٫۶	۳٫۸۳۳	۳٫۸۳۳	۴٫۷۱۴
Std.Deviation	۰٫۹۵۱	۱٫۵۱۷	۲٫۳۰۸	۲٫۳۱۷	۱٫۸۹
Std.Error	۰٫۳۵۹	۰٫۶۷۸	۰٫۹۳۹	۰٫۹۴۶	۰٫۷۱۴

جدول ۱ (B): میانگین و انحراف معیار مدت زمان سپری شده در بازوهای باز

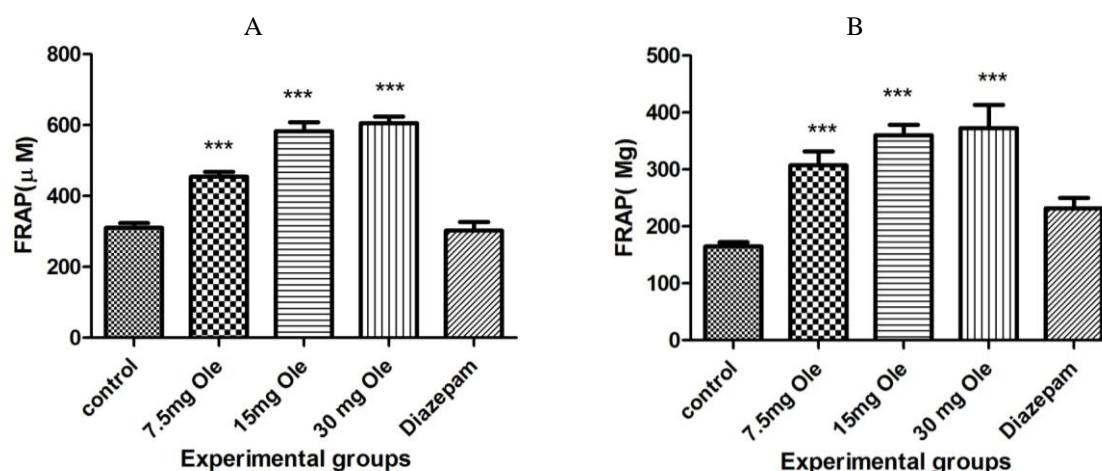
	کنترل	التوروپین ۷٫۵ میلی گرم	التوروپین ۱۵ میلی گرم	التوروپین ۳۰ میلی گرم	دیازپام
Mean	۴۸٫۴۳	۸۰٫۴	۸۵٫۳۳	۱۸۳٫۷	۱۰۰٫۱
Std.Deviation	۳۷٫۳۴	۴۸٫۸۶	۹۵٫۰۴	۱۱۸٫۴	۲۹٫۱۲
Std.Error	۱۴٫۱۱	۲۱٫۸۵	۳۸٫۸	۴۸٫۲۵	۱۱٫۰۱

جدول ۱ (C): میانگین و انحراف معیار دفعات ورود به بازوهای بسته

	کنترل	التوروپین ۷٫۵ میلی گرم	التوروپین ۱۵ میلی گرم	التوروپین ۳۰ میلی گرم	دیازپام
Mean	۵٫۴۲۹	۶	۴٫۳۳۳	۳	۴٫۷۱۴
Std.Deviation	۱٫۹۸۸	۲٫۹۱۵	۲٫۰۶۶	۲٫۹۶۶	۰٫۹۵۱
Std.Error	۰٫۷۵۱	۱٫۳۰۴	۰٫۸۴۳	۱٫۲۱۱	۰٫۲۵۹

جدول ۱ (D): میانگین و انحراف معیار مدت زمان سپری شده در بازوهای بسته

	کنترل	التوروپین ۷٫۵ میلی گرم	التوروپین ۱۵ میلی گرم	التوروپین ۳۰ میلی گرم	دیازپام
Mean	۲۰۵٫۷	۲۱۵٫۲	۲۴۳٫۷	۷۰٫۳۳	۱۳۸٫۴
Std.Deviation	۵۰٫۶۲	۴۹٫۰۷	۷۸٫۹۴	۱۱۱٫۷	۸۶٫۶۵
Std.Error	۱۹٫۱۳	۲۱٫۹۴	۳۲٫۲۳	۴۵٫۶۱	۳۲٫۷۵



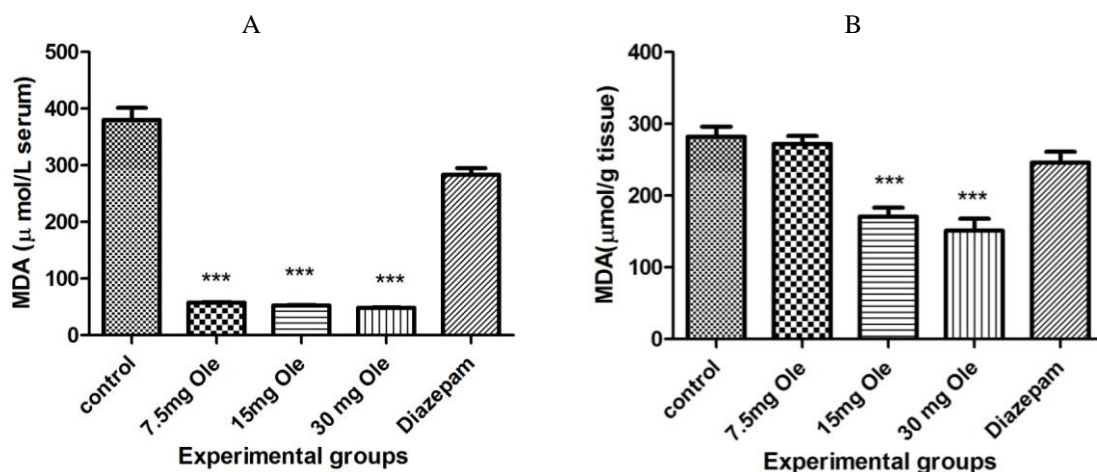
شکل ۲: اثر دیازپام با دوز ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم و دوزهای مختلف اولتوروپین بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم (A) و مغز (B) در موش‌های تحت استرس حاد. * نشان دهنده اختلاف معنادار با گروه تحت استرس (***) ($p < 0.001$)

جدول ۲(A): میانگین و انحراف معیار اثر دوزهای مختلف اولتوروپین و دیازپام بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل سرم

دiazepam	التوروپین ۳۰ میلی گرم	التوروپین ۱۵ میلی گرم	التوروپین ۷٫۵ میلی گرم	کنترل
Mean	۶۰٫۵۷	۵۸۲٫۸	۴۵۴٫۲	۳۱۰٫۶
Std.Deviation	۴۵٫۲۹	۶۲٫۲۴	۳۴٫۵۹	۳۶٫۶۲
Std.Error	۱۸٫۴۹	۲۵٫۴۱	۱۴٫۱۲	۱۲٫۹۵

جدول ۲(B): میانگین و انحراف معیار اثر دوزهای مختلف اولتوروپین و دیازپام بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل مغز

دiazepam	التوروپین ۳۰ میلی گرم	التوروپین ۱۵ میلی گرم	التوروپین ۷٫۵ میلی گرم	کنترل
Mean	۳۷۲٫۸	۳۶۰٫۳	۳۰۷٫۳	۱۶۴٫۹
Std.Deviation	۹۹٫۵۱	۴۴٫۹۸	۶۰٫۳۵	۲۰٫۹
Std.Error	۴۰٫۶۲	۱۸٫۳۶	۲۴٫۶۴	۷٫۳۹۱



شکل ۳: اثر دیازپام و دوزهای مختلف التوروپین بر مالون‌دی‌آلدهید سرم (A) و مغز (B) در موش‌های تحت استرس حاد. * نشان دهنده اختلاف معنادار با گروه تحت استرس (*** $p < 0.001$)

جدول ۳(A): میانگین و انحراف معیار اثر دوزهای مختلف اولتوروپین و دیازپام بر میزان مالون‌دی‌آلدهید سرم

دiazepam	التوروپین ۳۰ میلی گرم	التوروپین ۱۵ میلی گرم	التوروپین ۷٫۵ میلی گرم	کنترل
Mean	۴۸٫۵	۵۲٫۹۱	۵۷٫۸۳	۳۸۰٫۴
Std.Deviation	۱٫۲۲۷	۰٫۸۵۵	۱٫۳۴۳	۵۹٫۳۸
Std.Error	۰٫۵۰۱	۰٫۳۴۹	۰٫۵۴۸	۲۱

جدول ۳(B): میانگین و انحراف معیار اثر دوزهای مختلف اولتوروپین و دیازپام بر میزان مالون‌دی‌آلدهید مغز

دiazepam	التوروپین ۳۰ میلی گرم	التوروپین ۱۵ میلی گرم	التوروپین ۷٫۵ میلی گرم	کنترل
Mean	۱۵۱٫۲	۱۷۰٫۸	۲۷۲٫۲	۲۸۲
Std.Deviation	۴۰٫۷۲	۳۰٫۱۴	۲۶٫۸۶	۴۰٫۰۱
Std.Error	۱۶٫۶۲	۱۲٫۳	۱۰٫۹۶	۱۴٫۱۵

بحث:

تغییر داده و در نهایت سبب نقصان حافظه و یادگیری و بروز اختلالات خلقی از قبیل اضطراب و افسردگی شود [۲۶، ۲۷]. در بررسی حاضر اثرات حفاظتی اولئوروپین در برابر اضطراب ناشی از استرس حاد می‌تواند به دلیل مقابله با اثرات مخرب استرس اکسیداتیو و تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی باشد، به طوری که در موش‌های تحت استرس، اولئوروپین سبب افزایش معنادار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم و مغز شد. همسو با یافته‌های حاضر، در مطالعه میلنا ریزو و همکاران نیز مشاهده شد که اولئوروپین دارای خاصیت فراهم‌زیستی بالایی بوده و باعث کاهش معنادار میزان مالون دی‌آلدهید مغز موش‌های صحرایی می‌شود [۲۸]. همچنین نتایج مطالعات قبلی نشان داد که درمان با اولئوروپین (۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) یادگیری فضایی و اختلالات حافظه را در حیوانات تحت درمان با مرفین بهبود می‌بخشد. درمان اولوروپین میزان آپوپتوز و استرس اکسیداتیو را در ناحیه CA1 هیپوکامپ موش‌های تحت درمان با مورفین کاهش داد. سازوکارهای مولکولی زمینه‌ای اثرات مشاهده شده می‌تواند حداقل تا حدی به مهار آپوپتوز نورونی و استرس اکسیداتیو در ناحیه CA1 هیپوکامپ موش‌های تحت درمان با مرفین مربوط باشد [۲۹].

نتیجه‌گیری:

در بررسی حاضر تجویز دوزهای مختلف اولئوروپین به موش‌های تحت استرس حاد سبب کاهش رفتارهای شبه اضطرابی، افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش میزان مالون دی‌آلدهید مغز و سرم آنان شد. از این رو، به نظر می‌رسد که اثرات ضد اضطراب اولئوروپین به دلیل کاهش استرس اکسیداتیو باشد.

تشکر و قدردانی:

مقاله حاضر بخشی از پایان‌نامه دانشجویی مقطع کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنجند است. بدین وسیله از کلیه کسانی که در انجام مراحل آزمایشگاهی مطالعه حاضر همکاری داشته‌اند تشکر و قدردانی می‌شود.

تعارض منافع:

هیچ‌گونه تعارض منافی وجود ندارد.

در مطالعه حاضر، دوز ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اولئوروپین در موش‌های تحت استرس حاد سبب افزایش معنادار مدت زمان سپری شده در بازوهای باز و کاهش معنادار مدت زمان سپری شده در بازوهای بسته دستگاه ماز صلیبی شکل مرتفع شد. به طور کلی در پاسخ به استرس مسیرهای متعددی در مغز فعال می‌شوند که یکی از این مسیرها هیپوتالاموس، هیپوفیز، غده آدرنال در پاسخ به آزادسازی هورمون آزادکننده کورتیکوتروپین است که نتیجه آن افزایش مزمن میزان گلوکوکورتیکوئیدها است. گلوکوکورتیکوئیدها (کورتیزول در بدن انسان و کورتیکواسترون در بدن چوندگان) با گیرنده اختصاصی خود تداخل کرده و تغییرات متعددی را در میزان نورون‌ها به وجود می‌آورند و زمینه را برای ابتلا به اختلالات روانی مانند افسردگی و اضطراب فراهم می‌کنند [۲۲]. در تایید این مطلب می‌توان به استفاده از آنالوگ‌های کورتیزول (یا کورتیکواسترون) مانند دکزامتازون و پردنیزولون در بیماری‌های خود ایمنی و یا سندرم کوشینگ اشاره کرد که از جمله عوارض شایع تماس طولانی مدت با کورتیزول و این داروها اختلال حافظه و افسردگی بیماران است [۲۳].

سازوکارهای متعددی در رابطه با افزایش میزان گلوکوکورتیکوئیدها در مغز و اختلالات روحی و روانی مطرح است. بر اساس نتایج مطالعات تجربی، تعامل طولانی‌مدت سلول‌های عصبی با گلوکوکورتیکوئیدها موجب کاهش تعداد دندریت‌ها و تغییر در پلاستیسیته نورونی می‌شود. به نظر می‌رسد در این شرایط استرس اکسیداتیو نقش مهمی دارد [۲۴]. تماس سلولی مکرر با گلوکوکورتیکوئیدها تولید گونه‌های اکسیژن فعال و گونه‌های فعال نیتروژن (به ترتیب ROS و RNS) را افزایش می‌دهد، همچنین موجب مهار ظرفیت سم‌زدایی آنتی‌اکسیدان‌های آندوژن آنزیمی (سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز) و غیرآنزیمی (ویتامین C و گلوتاتیون) در مغز می‌شود و بنابراین سلول‌های عصبی به اثرات مخرب ROS و RNS حساس می‌شوند [۲۵]. این ترکیبات واکنشی به سرعت با مولکول‌های زیستی سلول شامل لیپیدهای غشا، DNA، پروتئین‌ها و کربوهیدرات وارد واکنش می‌شوند. آسیب اکسیداتیو لیپیدهای غشا سبب کاهش نفوذپذیری غشا سلولی و آسیب پروتئین‌ها سبب غیرفعال شدن رسپتورها، آنزیم‌ها و کانال‌های یونی می‌شود. در نتیجه، استرس اکسیداتیو می‌تواند انتقال‌های عصبی، عملکرد نورون‌ها و فعالیت مغز را به طور کلی

References:

- Leichsenring F, Leweke F. Social anxiety disorder. *New England J Med*. 2017;376(23):2255-64.
- Jazayeri S, Keshavarz SA, Tehrani-Doost M, Djalali M, Hosseini M, Amini H, et al. Effects of eicosapentaenoic acid and fluoxetine on plasma cortisol, serum interleukin-1beta and interleukin-6 concentrations in patients with major depressive disorder. *Psychiatry Res*. 2010;178(1):112-5.
- Tsigos C, Chrousos GP. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *J Psychosom Res*. 2002;53(4):865-71.
- Jankord R, Herman JP. Limbic regulation of hypothalamo-pituitary-adrenocortical function during acute and chronic stress. *Ann N Y Acad Sci*. 2008;1148(1):64-73.
- Dallman MF. Stress update: adaptation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis to chronic stress. *Trends Endocrinol Metab*. 1993;4(2):62-9.
- Kawabata K, Kawai Y, Terao J. Suppressive effect of quercetin on acute stress-induced hypothalamic-pituitary-adrenal axis response in Wistar rats. *J Nutr Biochem*. 2010;21(5):374-80.
- Unno K, Fujitani K, Takamori N, Takabayashi F, Maeda K-I, Miyazaki H, et al. Theanine intake improves the shortened lifespan, cognitive dysfunction and behavioural depression that are induced by chronic psychosocial stress in mice. *Free Radic Res*. 2011;45(8):966-74.
- Rahimi N, Delfan B, Motamed-Gorji N, Dehpour AR. Effects of oleuropein on pentylenetetrazol-induced seizures in mice: involvement of opioidergic and nitrenergic systems. *J Nat Med*. 2017;71(2):389-96.
- Pourkhodadad S, Alirezaei M, Moghaddasi M, Ahmadvand H, Karami M, Delfan B, et al. Neuroprotective effects of oleuropein against cognitive dysfunction induced by colchicine in hippocampal CA1 area in rats. *J Physiol Sci*. 2016;66(5):397-405.
- Rabiei Z, Bigdeli MR, Rasouljan B, Ghassempour A, Mirzajani F. The neuroprotection effect of pretreatment with olive leaf extract on brain lipidomics in rat stroke model. *Phytomedicine*. 2012;19(10):940-6.
- Dekanski D, Selaković V, Piperski V, Radulović Ž, Korenić A, Radenović L. Protective effect of olive leaf extract on hippocampal injury induced by transient global cerebral ischemia and reperfusion in Mongolian gerbils. *Phytomedicine*. 2011;18(13):1137-43.
- De La Cruz JP, Del Río S, Arrebola MM, López-Villodres JA, Jebrouni N, González-Correa JA. Effect of virgin olive oil plus acetylsalicylic acid on brain slices damage after hypoxia-reoxygenation in rats with type 1-like diabetes mellitus. *Neuroscience letters*. 2010;471(2):89-93.
- Kuem N, Song SJ, Yu R, Yun JW, Park T. Oleuropein attenuates visceral adiposity in high-fat diet-induced obese mice through the modulation of WNT10b-and galanin-mediated signalings. *Mol Nutr food Res*. 2014;58(11):2166-76.
- Asgharzade S, Rabiei Z, Rabiei S, Bijad E, Rafieian-Kopaei M. Therapeutic effects of oleuropein in improving seizure, oxidative stress and cognitive disorder in pentylenetetrazole kindling model of epilepsy in mice. *Iranian J Pharm Res*. 2020;19(1):98.
- Khalatbary A, GhR Z. Anti-inflammatory effect of oleuropein in experimental rat spinal cord trauma. *Iranian Red Crescent Med J*. 2012;2012(4, Apr):229-34.
- Khalatbary AR, Ghaffari E, Mohammadnegad B. Protective Role of Oleuropein against Acute Deltamethrin-Induced Neurotoxicity in Rat Brain. *Iranian Biomed J*. 2015;19(4):247.
- Khalatbary AR. Olive oil phenols and neuroprotection. *Nutr Neurosci*. 2013;16(6):243-9.
- Rabiei Z, Rafieian-Kopaei M, Heidarian E, Saghaei E, Mokhtari S. Effects of Zizyphus jujube extract on memory and learning impairment induced by bilateral electric lesions of the nucleus Basalis of Meynert in rat. *Neurochem Res*. 2014;39(2):353-60.
- Salehi A, Rabiei Z, Setorki M. Effect of gallic acid on chronic restraint stress-induced anxiety and memory loss in male BALB/c mice. *Iranian J Basic Med Sci*. 2018;21(12):1232.
- Rabiei Z, Setorki M. Effect of ethanol Adiantum capillus-veneris extract in experimental models of anxiety and depression. *Brazilian J Pharm Sci*. 2019;55.
- Mahmoudi T, Lorigooini Z, Rafieian-Kopaei M, Arabi M, Rabiei Z, Bijad E, et al. Effect of Curcuma zedoaria hydro-alcoholic extract on learning, memory deficits and oxidative damage of brain tissue following seizures induced by pentylenetetrazole in rat. *Behav Brain Funct*. 2020;16(1):1-12.
- Marais L, Van Rensburg SJ, Van Zyl JM, Stein DJ, Daniels WM. Maternal separation of rat pups increases the risk of developing depressive-like behavior after subsequent chronic stress by altering corticosterone and neurotrophin levels in the hippocampus. *Neurosci Res*. 2008;61(1):106-12.
- Pereira AM, Tiemensma J, Romijn JA. Neuropsychiatric disorders in Cushing's syndrome. *Neuroendocrin*. 2010;92(Suppl. 1):65-70.
- Johnson SA, Fournier NM, Kalynchuk LE. Effect of different doses of corticosterone on depression-like behavior and HPA axis responses to a novel stressor. *Behav Brain Res*. 2006;168(2):280-8.
- Bhattacharya A, Ghosal S, Bhattacharya S. Anti-oxidant effect of Withania somnifera glycowithanolides in chronic footshock stress-induced perturbations of oxidative free radical scavenging enzymes and lipid peroxidation in rat frontal cortex and striatum. *J Ethnopharmacol*. 2001;74(1):1-6.
- Eren İ, Nazıroğlu M, Demirdaş A. Protective effects of lamotrigine, aripiprazole and escitalopram on depression-induced oxidative stress in rat brain. *Neuroch Res*. 2007;32(7):1188-95.
- Lucca G, Comim CM, Valvassori SS, Réus GZ, Vuolo F, Petronilho F, et al. Effects of chronic mild stress on the oxidative parameters in the rat brain. *Neurochem Int*. 2009;54(5-6):358-62.
- Rizzo M, Ventrice D, Giannetto F, Cirinnà S, Santagati NA, Procopio A, et al. Antioxidant activity of oleuropein and semisynthetic acetyl-derivatives determined by measuring malondialdehyde in rat brain. *J Pharm Pharmacol*. 2017;69(11):1502-12.

29. Shibani F, Sahamsizadeh A, Fatemi I, Allahtavakoli M, Hasanshahi J, Rahmani M, et al. Effect of oleuropein on morphine-induced hippocampus neurotoxicity and memory impairments in rats.

Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 2019;392(11):138-91-3.

The effect of oleuropein on the anxiety caused by acute stress via reducing oxidative stress in mice

Nashmil Rostami¹, Zahra Houshmandi^{2*}, Gelavij Mahmoodi³

Received: 2023.02.23

Revised: 2023.05.18

Accepted: 2023.08.26

1. Msc Student, Department of Biology, Sannandaj Branch, Islamic Azad University, Sannandaj, Iran
2. Assistant Professor, Department of Biology, Sannandaj Branch, Islamic Azad University, Sannandaj, Iran
3. Assistant Professor, Department of Biology, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.20, No.1, Spring 2022

Pars J Med Sci 2022; 20(1):40-49

Abstract:

Introduction:

Severe stressful events are associated with the risk of mental disorders such as depression and anxiety. Due to the negative effects of anti-anxiety drugs, researcher's attention have been focused on finding natural ingredients. The aim of the present study was to investigate the effect of oleuropein on anxiety induced by acute stress in male rats.

Materials and Methods:

To induce Acute restraint stress (ARS) mice immobilized in restrainer 2 hours for one time; then an electric shock (2 minutes 0.5mA) were used. Mice under acute stress were randomly divided into 5 groups including control group (under acute stress receiving normal saline), intervention groups (under acute stress receiving oleuropein at doses of 7.5, 15 and 30 mg/kg and positive control (under acute stress receiving diazepam 10mg/kg).

Results:

In ARS mice treated with 30mg/kg of oleuropein significantly increased the time spent in the open arms and decreased the time spent in the closed arms of elevated plus maze (EPM) ($p < 0.05$). Administration of different doses of oleuropein increase the capacity of anti-oxidants and decreased levels of serum malondialdehyde in rat brain and in ARS mice ($p < 0.05$).

Conclusion:

It seems that, the effectiveness of oleuropein on anxiety in rats under acute stress may via reducing oxidative stress.

Keywords: Oleuropein, Oxidative Stress, Acute Stress, Mice

* Corresponding author Email: zhoushmand@yahoo.com