

اثر ضد اضطرابی و بهبود حافظه ناشی از اولئوروپین در مدل حیوانی ایسکمی

شهربانو عالمی رستمی*

گروه زیست‌شناسی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران

*مسئول مکاتبات: sh_alemi_r@yahoo.com

DOI: 10.22034/ascij.2022.1942053.1321

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۸/۲۰

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۷/۱۴

چکیده

ایسکمی مغزی حالتی است که به تمام یا بخش‌هایی از مغز، خون و در نتیجه اکسیژن کافی نمی‌رسد. با توجه به خاصیت آنتی‌اکسیدانی اولئوروپین، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر این ماده موثره بر اضطراب و بهبود حافظه در مدل حیوانی ایسکمی صورت گرفت. در این تحقیق ۵۰ سر موش صحرایی نژاد ویستار در محدوده‌ی وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم به‌طور تصادفی در ۵ گروه شامل: گروه کنترل؛ گروه ایسکمی با انسداد هر دو شریان کاروتید مشترک و سه گروه ایسکمی که اولئوروپین با دوزهای (۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به روش گاواژ به مدت ۱۴ روز دریافت کردند تقسیم شدند. برای ایجاد ایسکمی شریان‌های کاروتید عمومی دو طرفه جدا شده، از دو قسمت مسدود و از بخش میانی قطع شدند. ارزیابی حافظه با استفاده از آزمون یادگیری اجتنابی غیر فعال (شاتل باکس) و برای ارزیابی میزان اضطراب از دستگاه ماز بعلاوه ای شکل مرتفع استفاده شد. داده‌ها با استفاده از آزمون‌های تجزیه واریانس یک‌طرفه و پشتیبانی LSD تجزیه و تحلیل شدند. ایسکمی باعث کاهش حافظه ($p < 0/001$) و کاهش اضطراب شد ($p < 0/001$) و تجویز دوزهای ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اولئوروپین به ویژه دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم منجر به بهبود نقایص ایجاد شده در حافظه ($p < 0/001$) و اضطراب ($p < 0/001$) گردید. براساس نتایج این مطالعه به نظر می‌رسد اولئوروپین به واسطه‌ی خاصیت آنتی‌اکسیدانی و مهار رادیکال‌های آزاد، از شدت اختلالات شناختی و رفتاری ناشی از ایسکمی هیپوپرفیوژن

کلمات کلیدی: اضطراب، حافظه، اولئوروپین، ایسکمی مغزی، موش صحرایی.

مقدمه

التهاب و آپوپتوز سبب مرگ سلول‌ها می‌شود. در مرحله بعد که خون‌رسانی مجدد است، اختلال در کارایی میتوکندری، آزاد شدن گلوتامات و واسطه‌های التهابی، تولید گونه‌های فعال اکسیژنی و پراکسیداسیون لیپیدها رخ می‌دهد. واقعه اصلی طی ایسکمی مغزی، تولید رادیکال‌های آزاد و گونه‌های واکنشی اکسیژن و نیتروژن است که به‌خاطر واکنش‌پذیری زیاد سبب آسیب به لیپیدها، پروتئین‌ها و اسید دزوکسی ریبونوکلیئیک و مرگ نورونی می‌شود. رادیکال‌های آزاد در شکستن سد خونی-

سکته مغزی به‌عنوان پنجمین علت مرگ و دلیل اصلی ناتوانی جسمی و روحی در جهان شناخته شده است. سکته مغزی با عوارض مختلفی همچون اختلالات حرکتی و شناختی همراه است. طی ایسکمی، کاهش موقت یا دائم جریان خون به مغز سبب کاهش یا عدم انتقال گلوکز و اکسیژن موردنیاز برای تأمین هموستازی سلولی می‌شود (۳۲). در این مرحله فرایندهایی همانند سمیت سلولی ناشی از تحریک، اسیدوز، به‌هم‌خوردن تعادل یون‌ها، استرس اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدها،

اکسیداسیون برای سلامتی ضروری به نظر می‌رسند و استرس عاملی است که با اثر بر موجودات زنده منجر به واکنش‌هایی می‌شود که سبب تطابق و تنظیم محیط داخلی بدن می‌گردند (۳۰). با این وجود زمانی که استرس طولانی و یا تکراری می‌شود می‌تواند بسیار مضر باشد (۴). اولئوروپین که یک ترکیب فنلی است به لحاظ فارماکولوژیکی فعال‌ترین بخش روغن زیتون می‌باشد (۲۱). مولکول اولئوروپین داری سه زیر واحد ساختاری است که شامل یک پلی‌فنول بنام هیدروکسی تیروزول، سیکلوپروپان و اسید اولئولیک و یک مولکول گلوکز است (۱۸) که دارای خواص فارماکولوژیک متعددی است. تاکنون دیده شده است که این ترکیب دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، آنتی‌آرتریتیک، ضد میکروبی و ضد ویروسی است و قادر است در شرایط *in vitro* از اکسیداسیون لیپیدی جلوگیری نماید (۱۱). هم‌چنین این ترکیب‌های پلی‌فنولی طبیعی، موجب فعال‌سازی آبشار سیگنالینگ پروتئین کیناز و لیپید کیناز می‌باشند و به احتمال می‌توانند تاثیری قابل توجه، روی شکل‌پذیری سیناپسی و جریان خون عروق مغزی داشته باشند. توانایی ترکیب‌های فنولی با فعال‌سازی کیناز تنظیم‌کننده سیگنالینگ سلولی که عامل افزایش بیان نوروتروفین بوده، در تثبیت حافظه موثرند و از این طریق، سبب بهبود حافظه می‌شود (۱۳). Manna و همکاران طی مطالعه‌ای نشان داده‌اند که اولئوروپین آسیب‌میکاردی ایجاد شده توسط ایسکمی را بهبود می‌بخشد (۱۷). بنابراین در مطالعه حاضر، اثر اولئوروپین در مدل حیوانی هیپوپرفیوژن ایسکمی مغزی از طریق بررسی اثر آن بر اضطراب و حافظه مورد ارزیابی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از ۵۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با محدوده‌ی وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم استفاده شد. حیوانات در شرایط استاندارد 21 ± 2 درجه سانتیگراد و سیکل روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته (روشنایی از ۷ صبح آغاز می‌شود) و دسترسی کافی به غذا در درون قفس‌های

مغزی و ایجاد ادم مغزی نقش دارند (۸). در طول دهه گذشته، درمان‌های بالینی باعث کاهش مرگ‌ومیر در مراحل اولیه سکته مغزی شده است؛ اما اختلالات شناختی همچنان عواقب نامطلوبی را بر کیفیت زندگی بیماران می‌گذارد. سلول‌های ناحیه هیپوکامپ که نقش مهمی در شکل‌گیری حافظه ایفا می‌کنند، نسبت به ایسکمی مغزی بسیار آسیب‌پذیرند.

سیتوکین‌های تولیدشده در ایسکمی مغزی به ازدست‌رفتن سلول‌های هرمی در بخش CA1 هیپوکامپ منجر می‌شود. همچنین خون‌رسانی مجدد باعث تولید گونه‌های واکنش‌دهنده اکسیژن (ROS) و آسیب سلول‌های نورونی می‌شود. اختلال حافظه و یادگیری ممکن است ناشی از افزایش ROS و کاهش سطح آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی در هیپوکامپ باشد (۲۳). با گذشت زمان، ایسکمی عوارض مختلفی از جمله اختلالات یادگیری و حافظه، برخی از انواع درد، اضطراب، ترس، اختلالات تولید مثل و افسردگی ایجاد می‌کند (۳). اضطراب طبیعی یک پاسخ سازشی هیجانی به محرک تنش زای متعدد فیزیولوژیکی، روانی و اجتماعی می‌باشد. اضطراب پاتولوژیک شایع‌ترین اختلالات روحی و روانی است که باعث اختلال در زندگی بیمار و رنج آن می‌شود (۱۴). هیپوکامپ، یکی از اجزای سیستم لیمبیک و از مناطق بسیار مهم مغز است که نه تنها در عملکردهای شناختی نقش دارد، بلکه ساختار کلیدی در مغز عاطفی نیز می‌باشد. این ساختار (هیپوکامپ) نقش عمده‌ای در تنظیم حالات عاطفی به خصوص در ارتباط با تنظیم حالات اضطرابی ایفاء می‌کند (۲۹). کاهش عوارض ایسکمی با استفاده از داروهای ضد ایسکمی گیاهی و ضد اکسیدان فعال مواد تشکیل‌دهنده از اهمیت بالینی بالایی برخوردار است (۲۶). رادیکال‌های آزاد از طریق تخریب بیومولکول‌ها اثرات زیان‌بار خود را بر بدن اعمال می‌نمایند، در حالی که آنتی‌اکسیدان‌ها با به دام انداختن رادیکال‌های آزاد، موجب سم‌زدایی بدن می‌شوند (۱۵). استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها به منظور کند کردن سرعت

گردش کنند، سپس حیوان درون جعبه روشن قرار می‌گرفت و به محض ورود حیوان به محفظه تاریک، درب گیوتینی بسته و شوک الکتریکی به کف پای موش اعمال می‌شد. ۲۴ ساعت بعد، مدت زمان تأخیر ورود موش‌ها به محفظه تاریک (که قبلاً شوک داشت، ولی این بار فاقد شوک بود) به‌عنوان حافظه اجتنابی غیرفعال برحسب ثانیه اندازه‌گیری می‌شد. این عمل برای همه موش‌ها در تمام گروه‌های مورد تحقیق انجام گرفت (۲۰).

سنجش با ماز بعلاوه‌ای مرتفع: برای ارزیابی میزان اضطراب از دستگاه ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع Elevated Plus Maze که مدل استاندارد برای ارزیابی سطح اضطراب در جوندگان است، استفاده شد. این دستگاه از چوب ساخته شده بازوی باز (هر یک ۵۰*۱۰ سانتی‌متر همراه با یک لبه پنج میلی‌متری) و دو بازوی بسته (هر یک ۴۰*۵۰*۱۰ سانتی‌متر) و یک کفه مرکزی (۱۰*۱۰ سانتی‌متر). ارتفاع دستگاه از زمین ۷۰ سانتی‌متر است. نحوه قرار گرفتن حیوان در دستگاه طوری بود که در محوطه مرکزی و رو به یک بازوی باز باشد. در مدت ۵ دقیقه‌ای که حیوان آزادانه در دستگاه حرکت می‌کند، تعداد ورود به بازوهای باز و بسته و کل زمان گذرانده شده در بازوهای باز و بسته مورد اندازه‌گیری قرار می‌گیرند. منظور از ورود به بازوی باز یا بسته هنگامی است که هر چهار پای حیوان در بازوی مورد نظر قرار گیرد. درصد زمان گذرانده شده در بازوهای باز و درصد ورود به بازوهای باز به‌عنوان اندکس‌های اضطراب استاندارد هستند و به صورت زیر محاسبه می‌شوند (۲۵):

۱. OAT : نسبت زمان گذرانده شده در بازوهای باز به کل زمان گذرانده شده در هر یک از بازوها*۱۰۰
۲. OAE : نسبت ورودها به بازوی باز به کل ورود به هر دو بازو*۱۰۰

تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده‌های این تحقیق به صورت $Mean \pm SEM$ ارائه و سپس با روش‌های مناسب آماری در محیط‌های نرم‌افزارهای Excel و SPSS17 و با استفاده

استاندارد نگهداری شدند. برای آسان شدن کار و سازش با شرایط محیط و آزمایش کننده، حیوانات از قبل روزانه به مدت چند دقیقه دست آموز می‌شدند. حیوانات به طور تصادفی به گروه‌های ۱۰ تایی زیر تقسیم شدند: گروه کنترل؛ گروه ایسکمی با انسداد هر دو شریان کاروتید مشترک و سه گروه ایسکمی که اولتوروپین را با دوزهای (۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به روش گاوآژ به مدت ۱۴ روز دریافت کردند (۲). پروتکل این تحقیق بر اساس قوانین بین‌المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی تنظیم و در کمیته اخلاق دانشگاه به تصویب رسید.

روش جراحی ایسکمی: پس از یک روز محرومیت غذایی به حیوانات، بیهوشی با کتامین/زیلازین (۱۰۰ میلی‌گرم/۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) القاء گردید. شکافی در وسط بخش شکمی پوست گردن ایجاد شد و بافت چربی زیر پوستی برداشته شده و از تیروئید دور می‌شود. و شریان کاروتید پس از مشاهده و آشکار شدن از بافت‌های اطراف جدا شده و به وسیله ابزارهای بخیه‌ی پوستی با دو گره محکم در حول رگ (بالا و پایین) مسدود و سپس شریان‌ها به طور 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 (۱).

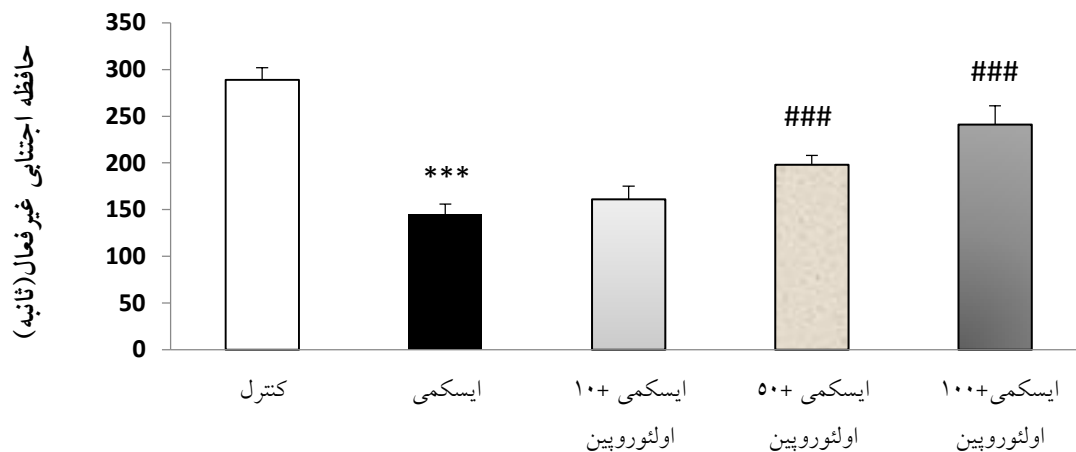
تست حافظه اجتنابی غیرفعال (زمان تأخیر رفتن حیوان به جعبه تاریک) با استفاده از دستگاه shuttle-box
با استفاده از دستگاه شاتل باکس (مدل ST-۵۵۰۰) شامل دو محفظه یکی تاریک و دیگری روشن که کف آن‌ها از مفتول‌های فلزی استیل با قطر ۲-۱ میلی‌لیتر و فواصل یک سانتی‌متر پوشیده شده است؛ به‌وسیله یک دستگاه تولید جریان الکتریکی، شوک خفیفی به میزان ۷۵ ولت، ۰/۳ میلی‌آمپر به مدت ۳ ثانیه جریان متناوب در محفظه تاریک و تنها یک‌بار به کف پای موش‌ها وارد شد. برای انجام این عمل، ابتدا موش‌ها هرکدام برای مدت ۱۰ دقیقه، به‌منظور آشنایی با دستگاه (آموزش) درون شاتل‌باکس با درب گیوتینی باز قرار داده شدند تا آزادانه در محفظه

معنی داری کاهش یافت ($p < 0/001$). از طرف دیگر تجویز ۱۴ روزه دوزهای ۵۰ ($p < 0/001$) و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اولئوروپین سبب افزایش درصد زمان گذرانده در بازوی باز شد و در دوزهای فوق از نظر آماری افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه ایسکمی نشان داد ولی دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اولئوروپین اختلاف معناداری را نشان نداد. باتوجه به نمودار ۳ درصد تعداد ورود به بازوی باز در گروه ایسکمی در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌دار یافت ($p < 0/001$). از طرف دیگر تجویز ۱۴ روزه دوزهای ۱۰ ($p < 0/05$)، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اولئوروپین سبب افزایش معنی‌دار درصد تعداد ورود به بازوی باز نسبت به گروه ایسکمی شد.

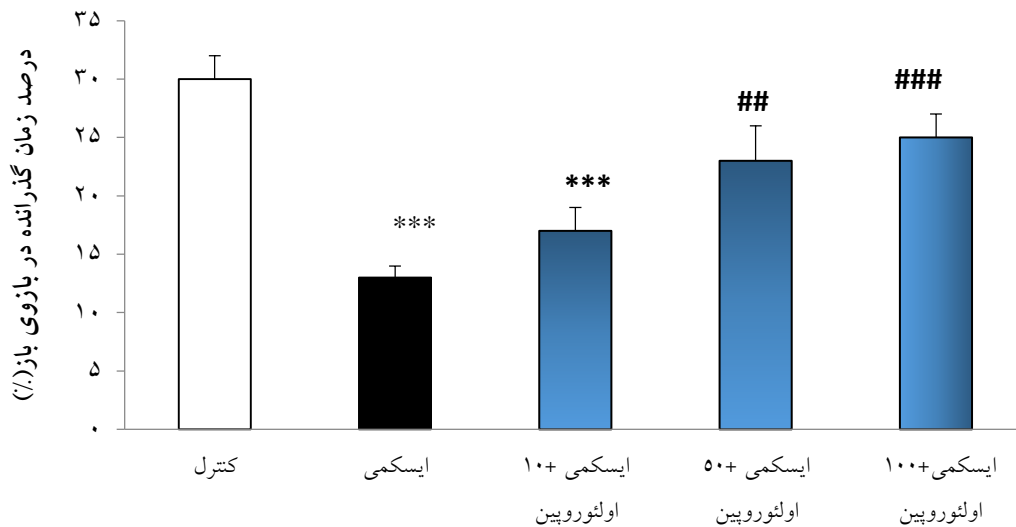
از روش‌های ANOVA، تست پشتیبان LSD آنالیز گردید و تفاوت نتایج بین گروه‌های مختلف با حداقل $p < 0/05$ معنی‌دار تلقی شد.

نتایج

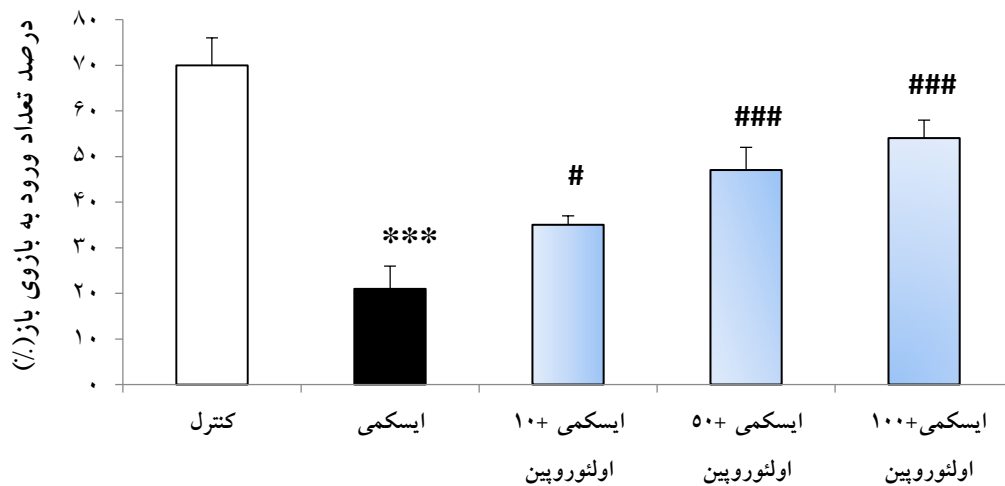
با توجه به نمودار ۱، حافظه اجتنابی در گروه ایسکمی نسبت به گروه کنترل، به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p < 0/001$). همچنین حافظه اجتنابی در گروه‌های دریافت‌کننده اولئوروپین (دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نسبت به گروه ایسکمی، افزایش معنی‌داری نشان داد ($p < 0/001$) ولی دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اولئوروپین افزایش معنی‌داری را نشان نداد. با مراجعه به نمودار ۲ مشاهده می‌شود درصد زمان گذرانده در بازوی باز در گروه ایسکمی در مقایسه با گروه کنترل به طور



نمودار ۱- مقایسه میانگین \pm انحراف معیار از میانگین حافظه اجتنابی غیرفعال بین گروه‌های کنترل، ایسکمی، گروه ایسکمی دریافت‌کننده اولئوروپین (۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) علامت *، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه ایسکمی با گروه کنترل می‌باشد. علامت #، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه ایسکمی دریافت‌کننده اولئوروپین (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با گروه ایسکمی است.



نمودار ۲- مقایسه میانگین \pm انحراف معیار از میانگین درصد زمان گذرانده در بازوی باز در آزمون ماز بعلاوه ای شکل مرتفع بین گروه های کنترل، ایسکمی، گروه ایسکمی دریافت کننده اولتوروپین (۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم برکیلوگرم) علامت *، نشان دهنده اختلاف معنی دار بین گروه ایسکمی با گروه کنترل می باشد. علامت #، نشان دهنده اختلاف معنی دار بین گروه ایسکمی دریافت کننده اولتوروپین (۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم برکیلوگرم) با گروه ایسکمی است.



نمودار ۳- مقایسه میانگین \pm انحراف معیار از میانگین درصد تعداد ورود به بازوی باز در آزمون ماز بعلاوه ای شکل مرتفع بین گروه های کنترل، ایسکمی، گروه ایسکمی دریافت کننده اولتوروپین (۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم برکیلوگرم) علامت *، نشان دهنده اختلاف معنی دار بین گروه ایسکمی با گروه کنترل می باشد. علامت #، نشان دهنده اختلاف معنی دار بین گروه ایسکمی دریافت کننده اولتوروپین (۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم برکیلوگرم) با گروه ایسکمی است.

بحث

خون‌رسانی مجدد را کاهش داده و اختلالات عصبی- حرکتی را بهبود می‌بخشد؛ همچنین روغن زیتون به‌عنوان عامل محافظت‌کننده عصبی، قادر است از تخریب نورونی در ایسکمی مغزی موضعی گذرا و مرحله اولیه خون‌رسانی مجدد جلوگیری نماید (۲۴). تحقیقات اثر چهار هفته تمرین شنا و مکمل دهی اولئوروپین بر اختلال حافظه و درد ناشی از ۶-هیدروکسی دوپامین در موش‌های صحرایی نر بالغ مورد بررسی قرار دادند و نتایج نشان داده تمرین شنا همراه با مصرف اولئوروپین و هم-چنین مصرف هرکدام به تنهایی می‌تواند اختلال‌های یادگیری در مدل حیوانی پارکینسونی را بهبود ببخشد و آستانه درد را کاهش دهد (۷). فار و همکارانش گزارش کردند که زیتون، تاثیرهای مفید روی حافظه و یادگیری در بیماری‌های وابسته به سن مانند آلزایمر دارد و باعث بهبود استرس اکسایشی القا شده با پروتئین آمیلوئید بتا از طریق افزایش سطح گلووتاتیون و افزایش فعالیت گلووتاتیون ردوکتاز و فعالیت سوپر اکسیددسموتاز می‌شود (۶). در تحقیقات اخیر رابطه‌ی نزدیکی میان استرس اکسیداتیو و اضطراب هم در انسان‌هایی که از اختلالات اضطرابی رنج می‌برند (اختلال وسواس فکری عملی و اختلال وحشت زدگی) و هم در حیوانات و انسان‌هایی که اضطراب اختصاصی بالائی را نشان داده‌اند مشاهده شده است. گفته شده است که اختلال استرس اکسیداتیو مغز سیستم عصبی می‌تواند عوامل بیماریزای احتمالی و عامل خطر برای بیماری‌های متعدد و خاص سیستم عصبی مثل اختلالات و مشکلات رفتاری باشد (۳). درحالی‌که تولید گونه‌های اکسین و اکسین ROS بر سیستم‌های دفاعی مغز غالب می‌شود، ساختار غنی از لیپید مغز می‌تواند برای پراکسیداسیون لیپید مستعد باشد که یک واکنش زنجیره‌ای رادیکال آزاد را به وجود آورد که می‌تواند باعث کاهش سیالیت غشا و آسیب به پروتئین‌های غشا شود که باعث عدم فعالیت گیرنده‌ها، آنزیم‌ها و کانال‌های یونی می‌شود و یکپارچگی غشا را نیز از بین

نتایج این مطالعه نشان داد حافظه اجتنابی به شکل معنی‌داری در گروه ایسکمی نسبت به گروه کنترل کاهش می‌یابد. باتوجه به مطالعات گذشته و نیز یافته‌های سرکاکای و همکارانش در سال ۲۰۱۲ کاهش جریان خون در اثر انسداد عروق کاروتید باعث بروز استرس اکسیداتیو و در نهایت ایسکمی شده و متعاقب آن باعث بروز اختلالاتی در حافظه اجتنابی غیرفعال و آستانه درد گردید (۲۷) که یافته‌های ما تاییدی بر این مطالعات می‌باشد. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که ایسکمی مغزی می‌تواند با آسیب نورون‌های مغز سبب اختلال در حافظه کوتاه مدت، حافظه احترازی و تعادل حرکتی موش‌های صحرایی گردد (۱۹).

Hong و همکاران گزارش کردند که القای ایسکمی در موش صحرایی سبب افزایش میزان مرگ سلولی در قشر گیجگاهی هیپوکامپ و در نتیجه ایجاد اختلالات حافظه و یادگیری می‌گردد (۱۰). رادیکال‌های آزاد تولید شده در جریان فرآیند ایسکمی/خون‌رسانی قادرند با آسیب نورون‌های ناحیه هیپوکامپ سبب اختلال در یادگیری و حافظه احترازی و کوتاه مدت شوند (۳۱). نتایج مطالعه حاضر حاکی از آن بود که اولئوروپین در غلظت‌های ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم قادر است، حافظه اجتنابی غیرفعال موش‌های صحرایی تحت ایسکمی را به طور معنی‌دار افزایش دهد. احتمالاً اولئوروپین به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی با حذف رادیکال‌های آزاد سبب بهبود آسیب نورونی و در نتیجه بهبود حافظه اجتنابی می‌شود. زمانی و همکارانش (۲۰۱۳) در مطالعه‌ای گزارش کردند که مصرف خوراکی روغن زیتون به مدت یک هفته قبل از درمان و مصرف مجدد آن یک هفته پس از القای ایسکمی فراگیر (گلوبال) در موش سوری، می‌تواند میزان مرگ سلولی را در قشر گیجگاهی و ناحیه CA1 هیپوکامپ کاهش دهد و همچنین اختلال حافظه را بهبود بخشد (۳۳). رثوف و همکاران (۲۰۱۴) نیز بیان داشتند روغن زیتون، به‌طور مؤثری آسیب‌های ایسکمی/

اثرات ضد اضطرابی مانند علائم رفتاری و بیوشیمیایی مشابه علائم مشاهده شده در بیماران مبتلا به اختلال استرس پس از سانحه است (۱۶).

نتیجه گیری

ایسکمی دائمی مغز با تولید مواد اکسیدانی و رادیکال‌های آزاد موجب اضطراب و نیز اختلال معنی‌دار حافظه‌ی اجتنابی غیرفعال در موش‌های صحرایی نر می‌گردد. تجویز خوراکی دوزهای مختلف اولئوروپین به مدت ۱۴ روز توانست اختلالات شناختی و رفتاری ناشی از ایسکمی مغزی را به طور معنی‌داری بهبود ببخشد.

تشکر و قدردانی

از زحمات معاونت و مدیریت محترم پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی گرگان در اعطای تسهیلات لازم جهت اجرای این پروژه صمیمانه قدردانی می‌شود.

منابع

1. Alami-Rostami S., Rafieirad M. 2018. The hypoperfusion ischemia effect of hydro-alcoholic *Ferulago angulata* extract on locomotor activity and anxiety caused by hypoperfusion ischemia in adult male rats. *Journal of Herbmmed Pharmacology*, 7(1):51-55. [In persian]
2. Baharvand B., Esmailidehaj M., Alihosaini J., Bajoovand S., Esmailidehaj S., Hafizi Barjin Z. 2016. Prophylactic and Therapeutic Effects of Oleuropein on Reperfusion-Induced Arrhythmia in Anesthetized Rat. *IranianBiomedical Journal*, 20(1) :41-48. [In persian]
3. Bouayed J., Rammal H., Soulimani R. 2009. Oxidative stress and anxiety: Relationship and cellular pathways. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(2): 63-67.
4. Chan P.H. 2001. Reactive oxygen radicals in signaling and damage in the ischemic brain. *Journal of cerebral blood flow and metabolism: official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 21(1): 2-14.

می‌برد که نهایتاً باعث مرگ سلولی می‌شود علاوه بر آسیب اکسایشی پروتئین‌ها و لیپیدهای غشای یافته‌های عصبی (نورونی) اکسیداسیون بر دیگر بخش‌های حساس اسیدنوکلئیک و انتقال دهنده‌های زیستی نیز می‌تواند روی دهد. در نتیجه استرس اکسیداتیو می‌تواند انتقال عصبی، عملکرد نورونی و کل فعالیت مغز را تغییر دهد (۵). بنابراین تغییر اکسایشی مغز می‌تواند یک عامل بیماریزای احتمالی برای بیماری‌های عصب شناختی چند فاکتوری خاص نیز باشد که مشکلات روانپزشکی را نیز شامل می‌شود. وضعیت استرس اکسیداتیو اخیراً با دیگر اختلالات رفتاری مثل رفتار پرخاشگرانه و افسردگی مرتبط است و همچنین باعث آسیب به حافظه فضائی کوتاه مدت می‌شود (۹). در مطالعات پیشین دخالت انتقال دهنده ی عصبی گابا در میانجی‌گری اضطراب به خوبی ثابت شده است (۱۲). کاهش در سیگنالینگ گیرنده‌ی گابا A باعث اختلالات عصبی مانند بیخوابی، اضطراب و صرع می‌گردد (۲۸). نتایج به دست آمده در تست سنجش میزان اضطراب در موش صحرایی مورد آزمایش نشان داد که در گروه ایسکمی درصد تعداد ورود به بازوی باز و درصد زمان گذرانده شده در بازوی باز نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. از طرف دیگر گروه ایسکمی دریافت‌کننده اولئوروپین با دوزهای ۱۰ و ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث افزایش درصد تعداد ورود به بازوی باز و درصد زمان گذرانده شده در بازوی باز نسبت به گروه ایسکمی شد و به عبارتی دیگر سبب کاهش اضطراب گردیده است.

نتایج مطالعات حسینی و همکاران نشان داد مصرف خوراکی عصاره برگ زیتون می‌تواند موجب کاهش معنی‌دار رفتارهای شبه‌اضرابی القاء شده با ۶- هیدروکسی‌دوپامین در مدل حیوانی بیماری پارکینسون شود (۹). همچنین در پژوهشی گزارش کردند اولئوروپین باعث کاهش مهار استرس طولانی مدت منفرد در بیان سروتونین هیپوکامپ و نوروپپتید Y در هیپوکامپ می‌شود. این یافته‌ها حاکی از آن است که اولئوروپین دارای

13. Kovacsova M., Bart A., Parohova J., Vrankova S., Pechanova O. 2010. Neuroprotective mechanisms of natural polyphenolic compounds. *Activitas Nervosa Superior Rediviva*, 52(3): 181-186.
14. Komaki A., Hoseini F., Shahidi S., Baharlou N. 2016. Study of the effect extract of *Thymus vulgaris* on anxiety in male rats. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 6: 257-261.
15. Kumaran A., Karunakaran R.J. 2006. Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food Chemistry*, 97(1):109-14.
16. Lee B., Shim I., Lee H., Hahm D.H. 2018. Oleuropein reduces anxiety-like responses by activating of serotonergic and neuropeptide Y (NPY)-ergic systems in a rat model of post-traumatic stress disorder. *Animal Cells Systems*, 22(2): 109-117.
17. Manna C., Migliardi V., Golino P., Scognamiglio A., Galletti P., Chiariello M. 2004. Oleuropein prevents oxidative myocardial injury by ischemia and reperfusion. *Journal of Nutrition and Biochemistry*, 15(8): 461-466.
18. Moshfeg A., Moshfegh G. 2020. Investigation of the Effects of Oleuropein on Depression Induced by Scopolamine in Adult Mice. *Journal of Animal Biology*, 13(1): 101-107.
19. Mohagheghi F., Bigdeli M.R., Rasoulia B., Zeinanloo A.A., Khoshbaten A. 2010. Dietary virgin olive oil reduces blood brain barrier permeability, brain edema, and brain injury in rats subjected to ischemia-reperfusion. *Scientific World Journal*, 10: 1180-1191.
20. Nozari K., Rafieirad M. 2019. Comparison of Alphapinene and Donepezil Effects on Passive Avoidance Memory in Adult Male Rats. *Journal of Qom University of Medical Sciences*, 13(4) :1-10. [In persian]
21. Omar S.H. 2010. Oleuropein in olive and its pharmacological effects. *Scientia Pharmaceutica*, 78(2): 133-154.
22. Peng Z., Xiao P., Guo H., Liu Q. 2009. Effect of early hyperbaric oxygen on neuronal
5. Dean O.M., Van den Buuse M., Bush A.I., Copolov D.L, Ng F., Dodd S., Berk M. 2009. A role for glutathione in the pathophysiology of bipolar disorder and schizophrenia? Animal models and relevance to clinical practice. *Current Medicinal Chemistry*, 16: 2965-2976.
6. Farr S.A., Price T.O., Dominguez L.J., Motisi A., Saiano F., Niehoff M.L., Morley J.E., Banks W.A., Ercal N., Barbagallo M. 2012. Extra virgin olive oil improves learning and memory in SAMP8 mice. *Journal of Alzheimers Disease*, 28(1):81-92.
7. Ghasemzadeh Dehkordi S., Doulah A., Rafieirad M. 2019. The Effect of Four Weeks Swimming Practice and Oleuropein Supplementation on Memory Impairment and Parkinson's Pain in Adult Male Rats. *Journal of Animal Physiology and Development*, 4(47): 13-22. [In persian]
8. Hosseinzadeh H., Parvardeh S., Asl M.N., Sadeghnia H.R., Ziaee T. 2007. Effect of thymoquinone and *Nigella sativa* seeds oil on lipid peroxidation level during global cerebral ischemia-reperfusion injury in rat hippocampus. *Phytomedicine*, 14(9): 621-627 .
9. Hosseini S., Hajizadeh A. 2015. Evaluation of the Protective Effect of Olive Leaf Extracts on Anxiety-like Behaviors in an Animal Model of Parkinson's Disease. *Journal of Babol University of Medical Sciences*, 17(7): 36-43. [In persian]
10. Hong J.T., Ryu S.R., Kim H.J., Lee J.K., Lee S.H., Kim D.B. 2000. Neuroprotective effect of green tea extract in experimental ischemia-reperfusion brain injury. *Brain Research Bulletin*, 53(6): 743-749.
11. Karabag-Coban F., Hazman O., Bozkurt M.F., Ince S. 2017. Antioxidant status and anti-inflammatory effects of oleuropein in streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats. *European Journal of Medicinal Plants*, 18(2): 1-10.
12. Khosravi H., Rahnema M., Asle-Rousta M. 2017. Anxiolytic and antidepressant effects of tarragon (*Artemisia dracuncululus* L.) hydro-alcoholic extract in male rats exposed to chronic restraint stress. *Nova Biologica Reperta*, 4: 1-8. [In persian]

28. Subash S., Braidy N., Essa M.M., Zayana A.B., Ragini V., Al-Adawi S., Al-Asmi Guillemain G.J. 2015. Long-term (15 mo) dietary supplementation with pomegranates from Oman attenuates cognitive and behavioral deficits in a transgenic mice model of Alzheimer's disease. *Nutrition*, 31: 223-229.
29. Tamaddonfard E., Farshid A.A., Asri-Rezaee S., Javadi S., Khosravi V., Rahman B. 2013. Crocin improved learning and memory impairments in streptozotocin-induced diabetic rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 16(1): 91-100. [In persian]
30. Tsigos C., Chrousos G.P. 2002. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *Journal of Psychosomatic Research*, 53(4): 865-871.
31. Warner D.S., Sheng H., Batinic-Haberle I. 2004. Oxidants, antioxidants and the ischemic brain. *Journal of Experimental Biology*, 207 (Pt 18): 3221-3231.
32. Xing B., Chen H., Zhang M., Zhao D., Jiang R., Liu X. 2008. Ischemic postconditioning inhibits apoptosis after focal cerebral ischemia/reperfusion injury in the rat. *Stroke*, 39(8): 2362-2369.
33. Zamani M., Hassanshahi J., Soleimani M., Zamani F. 2013. Neuroprotective effect of olive oil in the hippocampus CA1 neurons following ischemia: Reperfusion in mice. *Journal of Neurosciences in Rural Practice*, 4(2): 164-170.
- apoptosis and learning and memory of cerebral ischemia-reperfusion injury in rats. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 34(6): 468-475 .
23. Rammal H., Bouayed J., Falla J., Boujedaini N., Soulimani R. 2010. The Impact of high anxiety level on cellular and humoral immunity in mice. *Neuroimmunomodulation*, 17: 1-8.
24. Raouf Sarshoori J., Asadi M.H., Mohammadi M.T. 2014. Effect of olive oil on the cerebral reperfusion following ischemia injuries in rat. *Journal of Birjand University of Medical Sciences*, 21(1): 56-67. [In persian]
25. Saeedipour S., Rafieirad M. 2020. Anti-anxiety effect of Alpha-pinene in comparison with Diazepam in adult male rats. *Feyz*, 24(3): 253-245. [In persian]
26. Sarkaki A., Farbood Y., Hashemi S., Rafiei Rad M. 2015. Pomegranate seed hydroalcoholic extract improves memory deficits in ovariectomized rats with permanent cerebral hypoperfusion /ischemia. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 5(1): 43-55. [In persian]
27. Sarkaki A., Rafieirad M., Farbood Y., Mansouri S., Moatamedi F. 2012. Cognitive deficiency induced by cerebral hypoperfusion/ischemia improves by exercise and grape seed extract. *Healthmed Journal*, 6: 1097-1105.

The Effect of Anxiety and Oleuropein-induced Memory Improvement in an Animal Model of Ischemia

Shahrbanoo Alami Rostami

Department of Biology, Islamic Azad University, Gorgan Branch, Gorgan, Iran

Abstract

Cerebral ischemia is a condition not reaching all or part of the brain, blood, and therefore oxygen. According to the property oleuropein antioxidant, the current study was performed aiming at using this substance to affect anxiety and improve memory in ischemic animals. In this study, 50 Wistar rats in the weight range of 200 to 250 g were randomly assigned to 5 groups including: control group; the ischemia group was divided by occlusion of both common carotid arteries and the three ischemia groups that received oleuropein at doses (10, 50, and 100 mg/kg) by gavage for 14 days. To cause ischemia, bilateral carotid arteries were isolated, blocked in two, and severed in the middle. Memory assessment was performed using the passive avoidance learning test (shuttle box) and the elevated plus maze device was used to assess anxiety. Data were analyzed using one-way analysis of variance (ANOVA) and LSD support. Ischemia decreased memory ($p < 0.001$). Anxiety was reduced ($p < 0.001$) and administration of doses of 10, 50, 100 mg/kg oleuropein, especially 100 mg/kg, led to improvement in memory deficits ($p < 0.001$) and anxiety ($p < 0.001$). Based on the results of this study, it seems that oleuropein reduces the severity of cognitive and behavioral disorders caused by hypoperfusion ischemia due to its antioxidant properties and inhibition of free radicals.

Keywords: Anxiety, Memory, Oleuropein, Cerebral Ischemia, Male Rat.