

مقاله پژوهشی

اثر اولئوروپین بر اضطراب ناشی از استرس مزمن: نقش احتمالی استرس اکسیداتیو و کورتیکواسترون سرم

مائده جعفری^۱، زهرا هوشمندی^{۲*}، گلاویژ محمودی^۲

۱- گروه زیست‌شناسی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران
۲- گروه زیست‌شناسی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران
*مسئول مکاتبات: zhoushmandi@yahoo.com

DOI: 10.22034/ascij.2022.1936837.1281

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۰۶

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۵/۰۹

چکیده

استرس مزمن با پاتوفیزیولوژی اختلالات روانپزشکی مختلف، از جمله اختلالات اضطرابی و افسردگی مرتبط است. هدف مطالعه حاضر ارزیابی اثربخشی اولئوروپین بر اضطراب در موش‌های سوری تحت استرس مزمن بود. جهت القاء استرس مزمن (CRS) موش‌ها به مدت دو هفته روزانه ۲ ساعت در معرض استرس بی‌حرکتی در دستگاه Restrainer و سپس دو دقیقه شوک الکتریکی با قدرت نیم میلی‌آمپر قرار گرفتند. موش‌های تحت استرس مزمن در پنج گروه، شامل کنترل (دریافت کننده حلال دارو)، درمان (اولئوروپین در دوزهای ۷/۵، ۱۵، ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و کنترل مثبت (دیازپام) قرار گرفتند. در موش‌های CRS اولئوروپین در دوز ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سبب افزایش دفعات ورود و زمان سپری شده در بازوهای باز EPM شد ($p < 0/05$). تجویز اولئوروپین در موش‌های CRS دوز ۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم آن دفعات در حاشیه بودن را در تست صفحه باز کاهش داد ($p < 0/05$). تجویز دوزهای مختلف اولئوروپین سبب کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مغز و سرم در موش‌های CRS شد ($p < 0/05$). اولئوروپین همچنین سبب کاهش کورتیکواسترون سرم در موش‌های CRS شد. اثربخشی اولئوروپین بر رفتارهای اضطراب در موش‌های تحت استرس مزمن از طریق کاهش استرس اکسیداتیو می‌باشد.

کلمات کلیدی: اولئوروپین، اضطراب، استرس مزمن، استرس اکسیداتیو، کورتیکواسترون.

مقدمه

تقریباً در زندگی همه افراد روزهایی وجود دارد که احساس بی‌حوصلگی، غمگینی، ناامیدی، دل‌سردی، تنهایی و نارضایتی بر آنها چیره شده است که همگی از تجربه‌های رایج افسردگی به شمار می‌رود اما چیزی که موجب می‌شود چنین احساس‌هایی به صورت اختلالات روانی متجلی شوند نوع و تعداد

اضطراب طبق نظریه فروید حالتی احساسی است که دلهره، تنش، عصبانیت، نگرانی، برانگیختگی‌های فیزیولوژیک را شامل می‌شود (۲۲). استرس با واژه اضطراب تفاوت دارد؛ استرس، پاسخ کافی و لازم بدن به تهدیدی واقعی و نیرویی تغییر دهنده شرایط بدن است ولی اضطراب علت واقعی ندارد (۱).

نشانه‌ها، شدت و طول مدت و همچنین میزان آسیبی است که به جریان بهنجار زندگی روزمره وارد می‌شود. این احساس‌ها و شیوه‌ی ادراک آنها در قلمرو زندگی بهنجار و در زمینه تجربه‌ی آسیب‌شناختی با مفهوم اضطراب ارتباط یافته‌اند. اضطراب به عنوان شایع‌ترین علت شناخته شده ایجاد درد و رنج عاطفی در زندگی و علت کاهش قابل توجه کیفیت زندگی مطرح می‌شود (۱۶). سیستم نورآدرنژیک و سروتونرژیک در مغز نقش مهمی در تعدیل احساسات، رفتار، یادگیری و تفکر دارند. انتقال دهنده‌های این سیستم شامل نوروترنسمیترهای مونوآمین همانند سرتونین (۵-HT) و نوروآدرنالین (NA) و دوپامین نقش مهمی در میانجیگری رفتارهای اضطرابی دارند. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که عمده علائم اضطراب در اثر کاهش عملکرد این ناقل‌های عصبی ایجاد می‌شود. آنزیم مونوآمین اکسیداز A (MAOA) نیز یک آنزیم کلیدی وابسته به متابولیسم نوروترنسمیترها است و پیشنهاد شده که میزان فعالیت آن یکی از شاخصه‌های حساسیت به آسیب‌های روحی روانی می‌باشد. مهار فعالیت این آنزیم نیز قادر است سبب ایجاد اثرات آرام‌بخشی در شخص شود (۵).

استرس‌های مختلف می‌توانند باعث استرس اکسیداتیو و رفتارهای وابسته به اضطراب شوند. استرس‌های اکسیداتیو که توسط رادیکال‌های آزاد اکسیژن ایجاد می‌شود اولین فاکتور موثر جهت ایجاد بیماری‌های دژنراتیو مختلف در سیستم اعصاب مرکزی می‌باشد که می‌تواند موجب تسریع روند پیری شود (۹، ۲۱).

اولئوروپین مهم‌ترین ترکیب فنلی برگ زیتون است و عامل مزه تلخ خاص میوه زیتون می‌باشد که دارای خواص فارماکولوژیک متعددی است. تاکنون دیده شده است که این ترکیب دارای خاصیت آنتی-اکسیدانی، ضد التهابی، آنتی‌آتروژنیک، ضد میکروبی و

ضد ویروسی است. اولئوروپین فعال‌ترین ماده فعال فنلی در روغن زیتون در نظر گرفته می‌شود. اولئوروپین دارای فعالیت‌های فارماکولوژیکی متنوعی است، از جمله فعالیت‌های ضد التهابی، ضد آترواسکلروتیک، ضد سرطان، ضد ویروس و ضد میکروبی (۲).

اولئوروپین دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی و وابسته به دوز نیز می‌باشد، این ماده توانایی پاک کردن اکسید نیتریک، کاهش سطح ROS و RNS و کاهش سطح پراکسیداسیون لیپیدها را در مدل‌های مختلف ایسکمی دارد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی اولئوروپین را می‌توان از نظر توانایی آن در شلاته کردن یونهای فلزی، مهار آنزیم‌های التهابی، مانند لیبوکسیژنازها و کاهش واسطه‌های التهابی، مانند فاکتور نکروز تومور- α ، فاکتور هسته‌ای-kB و ایتیلوئوکین (IL-1 β) و ایتیلوئوکین ۶ توضیح داد (۶).

با توجه به اینکه تا کنون اثرات ضد اضطراب اولئوروپین بررسی نشده است، مطالعه حاضر با هدف ارزیابی اثرات حفاظتی اولئوروپین بر اضطراب ناشی از استرس مزمن طراحی شد.

مواد و روش‌ها

ارزیابی فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH: در آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH، توانایی به دام انداختن این رادیکال توسط غلظت‌های ppm ۱۰۰-۴۰۰ از اولئوروپین انجام شد. برای این منظور درون لوله آزمایش، غلظت‌های مختلف از اولئوروپین با ۵ میلی لیتر محلول متانولی DPPH (۱/۰ mM) به-طور کامل هم‌زده شد و پس از ۲۰ دقیقه نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد میزان جذب آن در طول موج ۵۱۷ نانومتر تعیین گردید. برای نمونه کنترل، از محلول ۸۰ درصد متانول به جای اولئوروپین استفاده شد (۱۸).

زمان سپری شده در بازوهای باز و بسته و تعداد ورود به بازوهای باز و بسته ثبت گردید (۱۹).
آزمون زمینه باز: این آزمون معمولاً برای مطالعات رفتاری، نقص حرکتی، اضطراب و افسردگی در حیوانات آزمایشگاهی مانند موش سوری و رت به کار می‌رود. این تست در مطالعه و ارزیابی اثرات داروهای ضد اضطراب و افسردگی و عکس العمل اعضای حرکتی به موادی مانند مواد مخدر و همچنین واکنش‌های رفتاری، بسیار مفید و کارا است. این ابزار از یک مربع خالی (و گاهی دایره خالی) و معمولاً به رنگ روشن با دیواره‌های بلند (برای جلوگیری از فرار حیوان) تشکیل یافته است. معمولاً حیوان رادر مرکز این ابزار قرار می‌دهند و رفتار حیوان را در یک بازه زمانی ثبت می‌کنند (بسته به پروتکل آزمون از ۳ تا ۱۵ دقیقه و حتی گاهی بیشتر). تا بعداً آنرا آنالیز کنند. کار این دستگاه مطالعه میزان مقابله حیوان بر ترس ذاتی خود برای کشف بیشتر دنیای جدیدش است. زمانی که حیوان مضطرب است گرایش طبیعی اینست که کنار دیواره‌های بلند محیط باشد و از رفتن به مرکز محیط و جستجو در آنجا خودداری میکند و زمانی که اضطرابش از بین رود برای شناختن بیشتر دنیای پیرامون خود به هر طرف از آن قدم می‌گذارد. لذا در این زمینه رفتارهای مرتبط با اضطراب توسط درجه اجتناب حیوان از رفتن به مرکز محیط بررسی و اندازه‌گیری می‌شود (۴، ۱۰).

اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم و مغز: روش Strain, Beniz جهت سنجش مورد استفاده قرار گرفت. معرف FRAP حاوی ۲/۵ میلی لیتر از یک محلول ۱۰ میلی‌مولار 2,4,6-tripyridyl-s- TPTZ (triazine) در ۴۰ میلی‌مولار HCL به اضافه ۲/۵ میلی‌لیتر از FeCl₃ و ۲/۵ میلی‌لیتر از بافر استات ۰/۳ مولار با PH= ۳/۶ به طور تازه آماده و به دمای ۳۷ درجه سانتیگراد رسانده شد. مقادیر FRAP با استفاده

حیوانات آزمایشگاهی و گروه‌بندی: تعداد ۴۰ موش سوری نر در محدوده سنی ۸-۶ هفته و محدوده وزنی ۲۵-۳۰ گرم از انستیتو پاستور تهران، ایران تهیه و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد 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 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 ۲ دقیقه (هردفعه ۱ ثانیه با ۱۰ ثانیه استراحت بین هرکدام) داده شد. جهت ایجاد استرس مزمن این روند روزانه به مدت ۲ هفته تکرار شد. تجویز دارو یک ساعت قبل از القای استرس صورت گرفت. در نهایت دو ساعت بعد از آخرین القای استرس، آزمون‌های رفتاری صورت گرفت. موش‌ها در گروه استرس مزمن در ۵ گروه ۸تایی شامل گروه کنترل (دریافت کننده حلال دارو) و گروه‌های دریافت کننده اولئوروپین در دوزهای ۷/۵، ۱۵، ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و دیاپام قرار گرفتند (۲۰).

آزمون ماز صلیبی شکل مرتفع: برای ارزیابی میزان اضطراب از دستگاهی به نام ماز به‌علاوه‌ای شکل مرتفع که مدل استاندارد برای ارزیابی سطح اضطراب در جوندگان است، استفاده شد. این دستگاه شامل دو بازوی باز و دو بازوی بسته و یک کفه مرکزی است، به طوری که بازوهای باز رو به روی هم و بازوهای بسته هم روبه‌روی یکدیگر قرار دارند و حدود ۵۰ سانتی‌متر از کف اتاق بالاتر قرار می‌گیرد. آزمون در یک اتاق نیمه تاریک و ساکت انجام شد، موش‌ها به آرامی در قسمت مرکزی دستگاه به‌صورتی که حیوان به سمت یکی از بازوهای باز باشد قرار داده شد و

نتایج

فعالیت آنتی‌اکسیدانی اولئوروپین در محیط *In vitro* توسط تست DPPH تعیین شد. اولئوروپین فعالیت قابل ملاحظه‌ای در حذف رادیکال‌های DPPH با ۵۰ درصد IC (غلظت مورد نیاز برای مهار ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد DPPH) برابر با ۱۱/۳۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر نشان داد. اثر دپازپام و دوزهای مختلف اولئوروپین بر دفعات ورود و مدت زمان سپری شده در بازوهای باز و بسته دستگاه EPM در موش‌های تحت استرس مزمن در شکل ۱ نشان داده شده است. در موش‌های تحت استرس مزمن اولئوروپین در دوزهای ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم سبب افزایش دفعات ورود به بازوهای باز و در دوزهای ۷/۵ و ۳۰ میلی‌گرم سبب افزایش معنی‌دار مدت زمان سپری شده در بازوهای باز EPM شد ($p < 0/05$). اولئوروپین در دوز ۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم دفعات ورود به بازوهای بسته EPM را در موش‌های تحت استرس مزمن به‌طور معنی‌داری کاهش داد ($p < 0/05$).

با توجه به نتایج شکل ۲ در موش‌های تحت استرس مزمن دوز ۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم اولئوروپین سبب کاهش معنی‌دار دفعات در حاشیه بودن شد. اثر دپازپام و دوزهای مختلف اولئوروپین بر TAC (total antioxidant capacity) سرم و مغز در موش‌های تحت استرس مزمن در شکل ۳ نشان داده شده است. تیمار موش‌های تحت استرس مزمن توسط اولئوروپین در هر سه دوز سبب افزایش معنی‌دار TAC مغز و سرم شد ($p < 0/001$). دپازپام اثر معنی‌داری بر TAC سرم و مغز در موش‌های تحت استرس مزمن نداشت.

اثر دپازپام و دوزهای مختلف اولئوروپین بر MDA سرم و مغز در موش‌های تحت استرس مزمن در شکل ۴ نشان داده شده است. تجویز اولئوروپین در دوزهای ۷/۵، ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به

از دستگاه اسپکتروفتومتر و در طول موج ۵۹۳ نانومتر خوانده شد (۱۸).

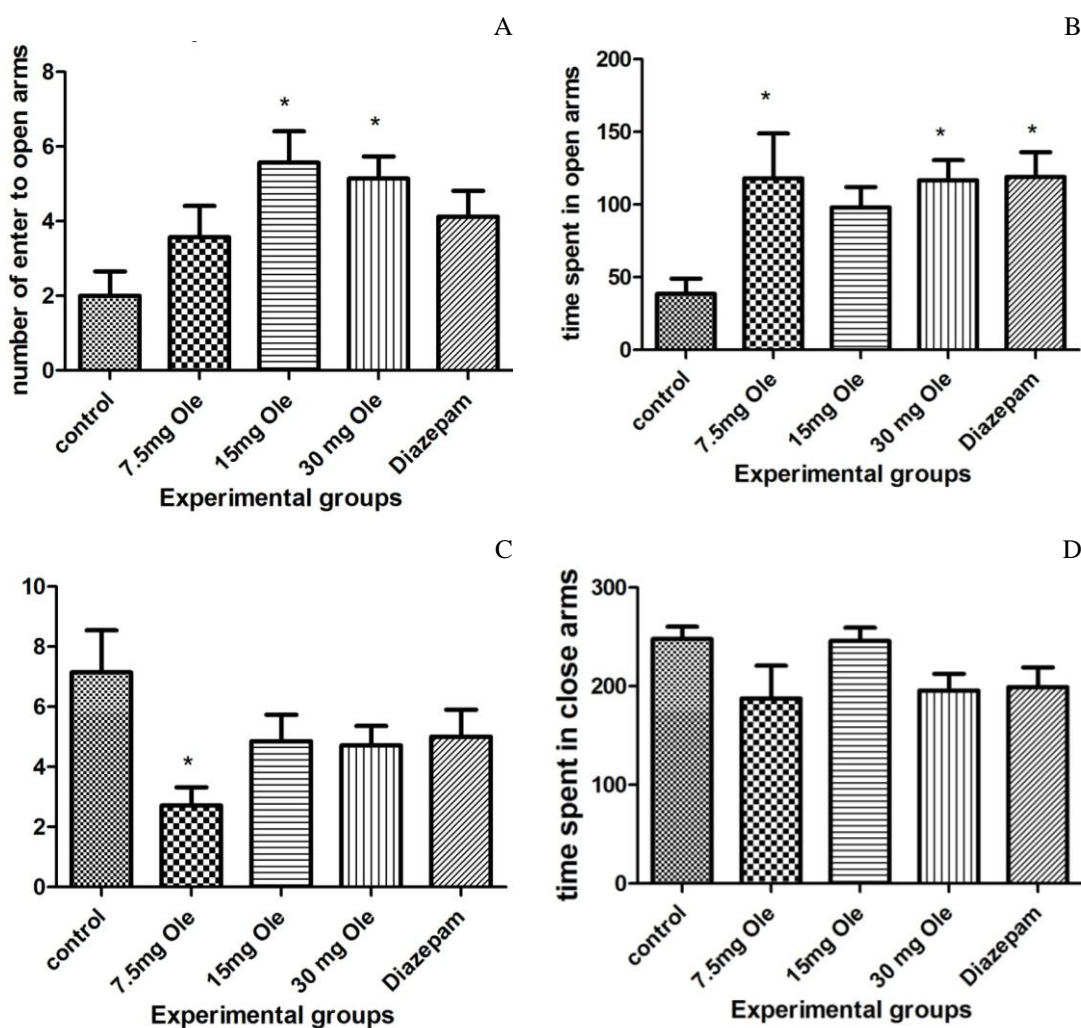
اندازه‌گیری میزان مالون‌دی‌آلدهید کل: ۲۰۰ میکرولیتر از سرم/هموژنه بافت مغز با ۱/۵ میلی‌لیتر اسید استیک ۲۰ درصد، ۱/۵ میلی‌لیتر تیوباریتوریک اسید (TBA) ۰/۸ و ۲۰۰ میکرولیتر محلول SDS ۸/۱ درصد مخلوط شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۶۰ دقیقه در بن‌ماری آب جوش قرار گرفتند. سپس نمونه‌ها خنک شده و ۱ میلی‌لیتر آب مقطر و ۵ میلی‌لیتر مخلوط ان-بوتانول-پیریدین به آن‌ها اضافه گردید و شیک شد. سپس مخلوط حاضر در دور ۴۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد و جذب نوری محلول رویی در طول موج ۵۲۳ نانومتر ثبت شد (۷).

اندازه‌گیری سطح کورتیکواسترون سرم: در پایان تست‌های رفتاری از قلب همه موش‌ها خون‌گیری تحت بی‌هوشی عمیق انجام شد. نمونه‌های خون به مدت ۱۵ دقیقه در درجه حرارت اتاق نگهداری و سپس در ۱۰۰۰g به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شدند و سرم جدا شده تا زمان اندازه‌گیری در دمای -۸۰ درجه سانتیگراد نگهداری شد. سطح کورتیکواسترون توسط کیت سنجش اختصاصی-ab108821 Corticosterone ELISA kit به روش الایزا و بر اساس پروتکل مربوط سنجیده شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS۲۰ انجام شد. جهت تعیین اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه (One way ANOVA) و جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون توکی استفاده گردید. داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد ثبت شدند و $p < 0/05$ از نظر آماری معنی‌دار فرض شد.

در موش‌های تحت استرس مزمن میزان تیمار توسط اولئوروپین در دوزهای مختلف سبب کاهش کورتیکواسترون سرم شد و این کاهش در دوز ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم معنی‌دار بود ($p < 0/05$) شکل (۵).

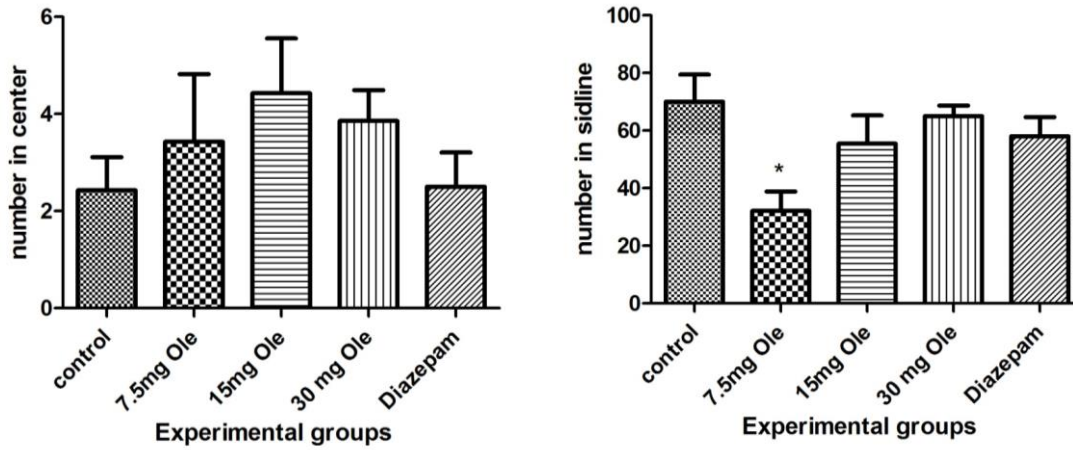
موش‌های تحت استرس مزمن سبب کاهش معنی‌دار مالون‌دی‌آلدهید مغز و سرم شد ($p < 0/001$). دیازپام در موش‌های تحت استرس مزمن سبب کاهش معنی‌دار MDA سرم و مغز شد ($p < 0/001$).



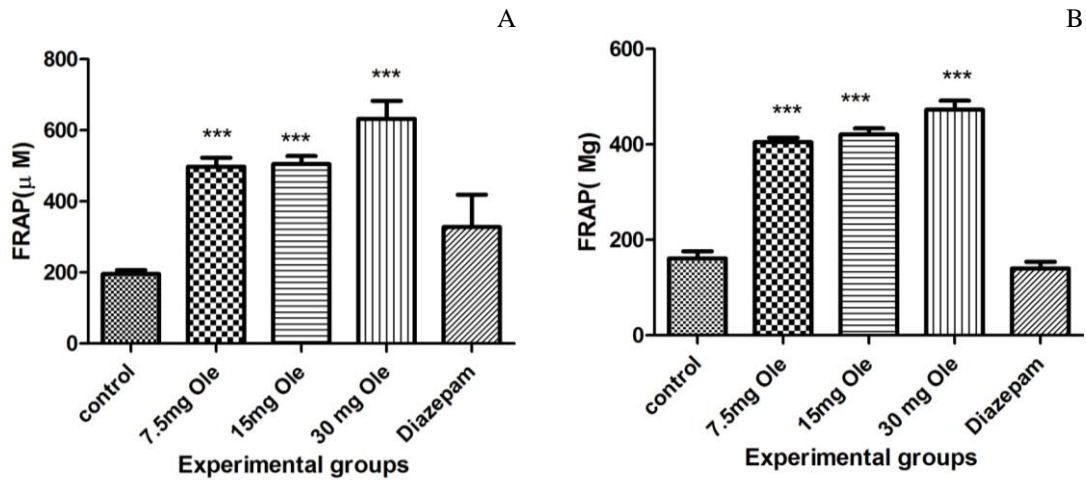
شکل ۱- اثر دیازپام و دوزهای مختلف اولئوروپین بر دفعات ورود به بازوهای باز (A)، مدت زمان سپری شده در بازوهای باز (B)، دفعات ورود به بازوهای بسته (C) و مدت زمان سپری شده در بازوهای بسته (D) دستگاه ماز بعلاوه‌ای مرتفع در موش‌های تحت استرس مزمن. *نشان دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه تحت استرس ($p < 0/05$)

A

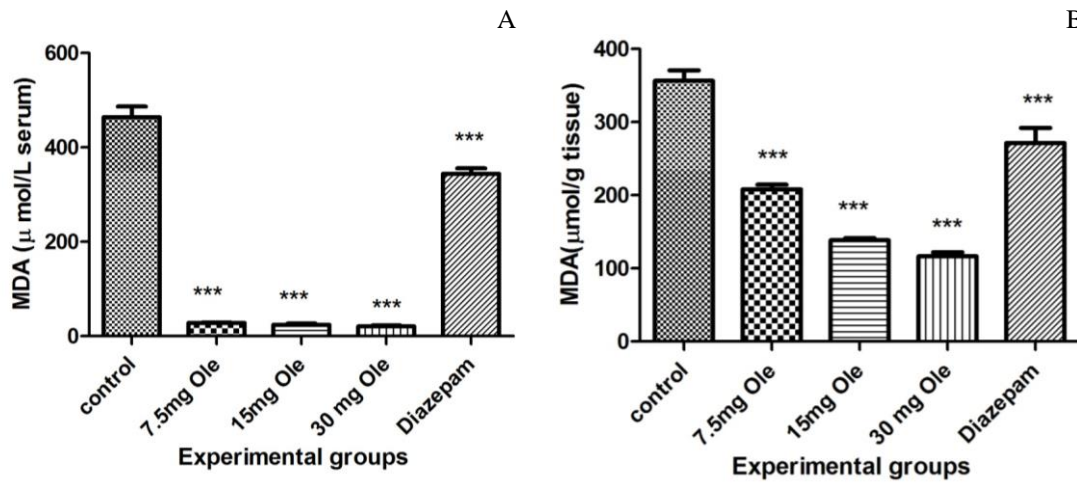
B



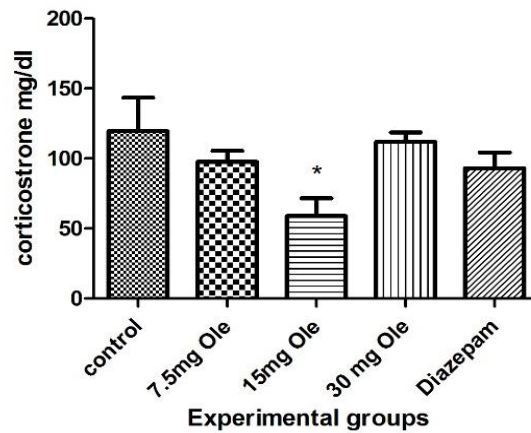
شکل ۲- اثر دیازپام و دوزهای مختلف اولئوروپین بر دفعات در مرکز (a) و حاشیه (b) بودن در موش‌های تحت استرس مزمن در آزمون صفحه باز. * نشان دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه تحت استرس ($p < 0.05$)



شکل ۳- اثر دوزهای مختلف اولئوروپین و دیازپام بر TAC سرم (A) و مغز (B) در موش‌های تحت استرس مزمن. * نشان دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه تحت استرس ($p < 0.001$)



شکل ۴- اثر دیازپام و دوزهای مختلف الئوروپین بر مالون‌دی‌آلدهید سرم (A) و مغز (B) در موش‌های تحت استرس مزمن. *نشان دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه تحت استرس (***) ($p < 0/001$).



شکل ۵- اثر دوزهای مختلف اولئوروپین و دیازپام بر کورتیکواسترون سرم در موش‌های تحت استرس مزمن. *نشان دهنده اختلاف معنی‌دار با گروه تحت استرس ($p < 0/05$ *, $p < 0/01$ **, و $p < 0/001$ ***).

بحث

آزادسازی هورمون آزادکننده کورتیکوتروپین (CRH) است که نتیجه آن افزایش مزمن سطوح گوکوکورتیکوئیدها است. گوکوکورتیکوئیدها (از جمله کورتیزول در بدن انسان و کورتیکواسترون در بدن جوندگان) با گیرنده اختصاصی خود تداخل کرده و تغییرات متعددی را در سطح نورون‌ها به وجود می‌آورند و زمینه را برای ابتلا به اختلالات روانی مانند افسردگی و اضطراب فراهم می‌کنند (۱۵). در تایید این مطلب می‌توان به استفاده از آنالوگ‌های کورتیزول (یا کورتیکواسترون) مانند دکزامتازون و پردنیزولون در بیماری‌های خودایمنی و یا سندرم کوشینگ اشاره کرد که از جمله عوارض شایع تماس طولانی مدت با کورتیزول و این داروها اختلال حافظه و افسردگی بیمار است (۱۷). بنابراین، از آنجا که رفتار در آزمون EPM و OFT به اختلال روانی مرتبط با محور HPA مربوط است، این نتایج نشان می‌دهد که مهار توسط اولئوروپین ممکن است فعالیت محور HPA را کاهش دهد.

در بررسی حاضر در موش‌های تحت استرس مزمن دوزهای ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم اولئوروپین، سبب افزایش دفعات ورود به بازوهای باز و دوزهای ۷/۵ و ۳۰ میلی‌گرم آن سبب افزایش معنی‌دار مدت زمان سپری شده در بازوهای باز گردید. از سوی دیگر، اولئوروپین در دوز ۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم دفعات ورود به بازوهای بسته EPM را در موش‌های تحت استرس مزمن به‌طور معنی‌داری کاهش داد. بعلاوه تجویز دوزهای متفاوت اولئوروپین به موش‌های تحت استرس مزمن سبب کاهش معنی‌دار مالون‌دی‌آلدهید مغز و سرم و نیز کاهش کورتیکواسترون سرم شد. نتایج تحقیقات رفتاری ما اثرات ضد اضطراب اولئوروپین را در مدل حیوانی اضطراب نشان می‌دهد. تجویز اولئوروپین پس از القای استرس مزمن به‌طور قابل توجهی باعث کاهش رفتارهای اضطراب مانند در آزمون EPM و صفحه باز می‌شود.

به‌طور کلی در پاسخ به استرس مدارهای متعددی در مغز فعال می‌شوند که یکی از این مسیرها هیپوتالاموس، هیپوفیز، غده آدرنال در پاسخ به

اولئوروپین در موش‌های دچار ضایعه نخائی اثرات ضد استرس اکسیداتیو نشان می‌دهد و سبب کاهش معنی‌دار پراکسیداسیون لیپیدها و تقویت دفاع آنتی‌اکسیدانی سلول‌های عصبی می‌شود (۱۲).

در مطالعه‌ی Lee و همکاران در سال ۲۰۱۸ تجویز روزانه اولئوروپین ۷۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به طور قابل توجهی تعداد و مدت زمان سپری شده در بازوی باز را در آزمون ماز به‌علاوه (EPM) افزایش داد و شاخص اضطراب را در آزمون EPM کاهش داد (۱۳).

نتیجه‌گیری

در بررسی حاضر تجویز دوزهای مختلف اولئوروپین به موش‌های تحت استرس مزمن سبب کاهش رفتارهای شبه اضطرابی شد. اولئوروپین همچنین سبب افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مغز و سرم موش‌های تحت استرس مزمن شد. لذا به نظر می‌رسد که اثرات ضد اضطراب اولئوروپین به دلیل کاهش استرس اکسیداتیو باشد.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر حاصل از پایان نامه کارشناسی ارشد دانشجوی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج می‌باشد، لذا نویسندگان مقاله از تمام کسانی که در انجام مراحل مختلف کار کمک رسانده‌اند تشکر می‌نمایند.

منابع

1. Bahmaie N.M., Vaezi G., Abbaspour H., 2013. The effects of inhalation pepper spray on anxiety-like behavior in male rat after inhalation for 30, 60, 90, and 120 seconds. *Research in Medicine*, 37(1): 23-29 [In Persian].
2. Barbaro B., Toietta G., Maggio R., Arciello M., Tarocchi M., Galli A., 2014. Effects of the olive-derived polyphenol oleuropein on human health. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(10): 18508-18524.
3. Bhattacharya A., Ghosal S., Bhattacharya S., 2001. Anti-oxidant

مکانیسم‌های متعددی در رابطه با افزایش سطح 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 (۱۱). 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، گلوکاتایون پراکسیداز و کاتالاز) و غیر آنزیمی (ویتامین C و گلوکاتایون) در مغز می‌شود و بنابراین سلول‌های عصبی به اثرات مخرب ROS و RNS حساس می‌شوند (۳). 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 غشای سلولی و آسیب پروتئین‌ها سبب غیرفعال شدن ریسپتورها، آنزیم‌ها و کانال‌های یونی می‌گردد. در نتیجه، استرس اکسیداتیو می‌تواند انتقال‌های عصبی، عملکرد نورون‌ها و فعالیت مغز را به طور کلی تغییر دهد و در نهایت سبب نقصان حافظه و یادگیری و بروز اختلالات خلقی از قبیل اضطراب و افسردگی گردد (۸، ۱۴). در بررسی حاضر اثرات حفاظتی اولئوروپین در برابر اضطراب ناشی از استرس مزمن می‌تواند به دلیل مقابله با اثرات مخرب استرس اکسیداتیو و تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی باشد، به‌طوری‌که در موش‌های تحت استرس، اولئوروپین سبب افزایش معنی‌دار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم و مغز شد. هم‌سو با یافته‌های حاضر Khalatbary و همکاران نیز مشاهده کردند که

behavioural comparison between spontaneously hypertensive (SHR) and Wistar-Kyoto (WKY) rats and the effects of chlorthalidopoxide. *Behavioural Brain Research*, 25(2): 101-107.

11. Johnson S.A., Fournier N.M., Kalynchuk L.E., 2006. Effect of different doses of corticosterone on depression-like behavior and HPA axis responses to a novel stressor. *Behavioural Brain Research*, 168(2): 280-288.

12. Khalatbary A.R., Ahmadvand H., 2012. Neuroprotective effect of oleuropein following spinal cord injury in rats. *Neurological Research*, 34(1): 44-51.

13. 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 and Systems*, 22(2): 109-117.

14. Lucca G., Comim C.M., Valvassori S.S., Réus G.Z., Vuolo F., Petronilho F., 2009. Effects of chronic mild stress on the oxidative parameters in the rat brain. *Neurochem International*, 54(5-6): 358-362.

15. Marais L., Van Rensburg S.J., Van Zyl J.M., Stein D.J., Daniels W.M., 2008. 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. *Neuroscience Research*, 61(1):106-12.

16. Nuval J.A., 2010. The relationship of depression with intrinsic and extrinsic components of religiosity in the older adult female. Ph.D Thesis, Indiana state University, Terre Haute, Indiana.

17. Pereira A.M., Tiemensma J., Romijn J.A., 2010. Neuropsychiatric disorders in Cushing's syndrome. *Neuroendocrinology*, 92(Suppl. 1): 65-70.

18. Rabiei Z., Rafieian-Kopaei M., Heidarian E., Saghaei E., Mokhtari S.,

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. *Journal of Ethnopharmacology*, 74(1): 1-6.

4. Carola V., D'Olimpio F., Brunamonti E., Mangia F., Renzi P., 2002. Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice. *Behavioural Brain Research*, 134(1-2): 49-57.

5. Colla A.R., Machado D.G., Bettio L.E., Colla G., Magina M.D., Brighente I.M., et al., 2012. Involvement of monoaminergic systems in the antidepressant-like effect of *Eugenia brasiliensis* Lam.(Myrtaceae) in the tail suspension test in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 143(2): 720-731.

6. de la Puerta R., Gutierrez V.R., Hoult J.R.S., 1999. Inhibition of leukocyte 5-lipoxygenase by phenolics from virgin olive oil. *Biochemical Pharmacology*, 57(4): 445-449.

7. El-Sherbiny D.A., Khalifa A.E., Attia A.S., Eldenshary EE-D.S., 2003. Hypericum perforatum extract demonstrates antioxidant properties against elevated rat brain oxidative status induced by amnestic dose of scopolamine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 76(3): 525-533.

8. Eren İ., Nazıroğlu M., Demirdaş A., 2007. Protective effects of lamotrigine, aripiprazole and escitalopram on depression-induced oxidative stress in rat brain. *Neuroch Research*, 32(7): 1188-1195.

9. Furukawa S., Fujita T., Shimabukuro M., Iwaki M., Yamada Y., Nakajima Y., 2017. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *The Journal of Clinical Investigation*, 114(12): 1752-1761.

10. Gentsch C., Lichtsteiner M., Feer H., 1987. Open field and elevated plus-maze: a

male BALB/c mice. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 21(12): 1232.

21. Schutzendubel A., Polle A., 2002. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization. *Journal of Experimental Botany*, 53(372): 1351-1365.

22. Xiao X., Shang X., Zhai B., Zhang H., Zhang T., 2018. Nicotine alleviates chronic stress-induced anxiety and depressive-like behavior and hippocampal neuropathology via regulating autophagy signaling. *Neurochemistry International*, 114:58-70.

2014. Effects of Zizyphus jujube extract on memory and learning impairment induced by bilateral electric lesions of the nucleus Basalis of Meynert in rat. *Neurochemical Research*, 39(2): 353-360.

19. Rabiei Z., Setorki M., 2019. Effect of ethanol Adiantum capillus-veneris extract in experimental models of anxiety and depression. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 55: e18099.

20. Salehi A., Rabiei Z., Setorki M., 2018. Effect of gallic acid on chronic restraint stress-induced anxiety and memory loss in

The Effect of Oleuropein on Chronic Stress-induced Anxiety: Possible Role of Oxidative Stress and Serum Corticosterone

Maede Jafari¹, Zahra Houshmandi^{2*}, Gelavij Mahmoodi²

1- Department of Biology, Sannandaj Branch, Islamic Azad University, Sannandaj, Iran
2- Department of Biology, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran

Abstract

Chronic stress is associated with the pathophysiology of various psychiatric disorders, including anxiety disorders and depression. The aim of the present study was to evaluate the effectiveness of oleuropein on anxiety in mice under chronic stress. In order to induce chronic stress (CRS), rats were subjected to immobility stress for 2 hours daily in the Restrainer device for two weeks and then to electric shock with a power of half milliamperes for two minutes. Rats under chronic stress were divided into five groups, including control (receiver of drug solvent), treatment (oleuropein at doses of 7.5, 15, 30 mg/kg) and positive control (diazepam). In CRS rats, oleuropein at a dose of 30 mg/kg increased the number of entries and the time spent in the open arms of the EPM ($p < 0.05$). The administration of oleuropein in CRS rats at a dose of 7.5 mg/kg decreased the frequency of being on the edge in the open page test ($p < 0.05$). Administering different doses of oleuropein decreased lipid peroxidation and increased antioxidant capacity of brain and serum in CRS rats ($p < 0.05$). Oleuropein also decreased serum corticosterone in CRS rats. The effectiveness of oleuropein on anxiety behaviors in mice under chronic stress is through reducing oxidative stress.

Keywords : Oleuropein, Anxiety, Chronic Stress, Oxidative Stress, Corticosterone.

