

مقاله پژوهشی

بررسی اثرات اولئوروپین بر افسردگی ناشی از اسکوپولامین در موش های سوری نر بالغ

اعظم مشفق^۱، گلاویژ محمودی^{۲*}

۱- گروه زیست‌شناسی، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران

۲- گروه زیست‌شناسی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران

*مسئول مکاتبات: g.mahmoudi@iauksh.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۷/۰۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۳/۱۳

چکیده

افسردگی هنوز هم یکی از اختلالات چالش برانگیز است و به طور گسترده با عوامل پیچیده روبرو است. نقش رژیم غذایی سالم و اولئوروپین در بهبود افسردگی ادعا شده است. این مطالعه به منظور بررسی اثرات اولئوروپین بر افسردگی ناشی از اسکوپولامین طراحی شده است. در تحقیق حاضر، تعداد سی و پنج سر موش سوری نر به طور تصادفی به پنج گروه ۷ تایی تقسیم شدند. گروه کنترل نرمال سالیین دریافت کرد. گروه تجربی SCO به مدت سه هفته اسکوپولامین با دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی دریافت کرد. گروه‌های درمانی اولئوروپین را با سه دوز ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کردند. در پایان تست‌های رفتاری، نمونه خون و بافت مغز حیوانات برای تعیین معیارهای بیوشیمیایی برداشته شد. نتایج بدست آمده نشان داد که، در گروه‌های دریافت کننده ی اولئوروپین با دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به طور معنی داری مدت زمان بی حرکتی در مقایسه با گروه اسکوپولامین کاهش یافت. تجویز اولئوروپین با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث کاهش معنی دار یتریک اکسید (NO) سرم و بافت مغز شد. اولئوروپین اثرات ضدافسردگی معنی‌داری در موش سوری دریافت کننده ی اسکوپولامین نشان می‌دهد که احتمالاً به دلیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن است.

کلمات کلیدی: اولئوروپین، افسردگی، اسکوپولامین، موش سوری.

مقدمه

و نیتراتیو، نورودژنراسیون و مهار نوروزنز در پاتوژنز افسردگی نقش دارد. داروهای گوناگونی جهت درمان افسردگی به بازار معرفی شده است که از جمله می‌توان به مهارکننده‌های بازجذب انتخابی سروتونین (SSRI)، ضدافسردگی‌های سه‌حلقه‌ای (TCA)، مهارکننده‌های بازجذب سروتونین و نوراپی‌نفرین (SNRI) و مهارکننده‌های منوآمینواکسیداز (MAOI) اشاره کرد (۲). با توجه به عوارض متعدد داروهای شیمیایی و تجربیات بالینی به دست آمده، نشان داده

طبق تحقیقاتی که در ایران انجام گرفته است، حدود ۷ میلیون نفر از مردم از افسردگی رنج می‌برند و حدود ۱۵-۲۵ درصد جمعیت کشور افسردگی را در حد خفیف تا شدید تجربه می‌کنند. بعلاوه افسردگی موجب افزایش خطر خودکشی می‌شود. میزان خطر خودکشی در افسردگی بیش از سایر اختلالات اضطرابی می‌باشد (۱). تغییرات سطوح مونوآمین‌ها، اختلال در عملکرد محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال، فرایندهای ایمنی- التهابی، استرس اکسیداتیو

اسیدها، پروتئین‌ها و لیپیدهای غشای سلول‌های عصبی سبب کاهش نفوذپذیری غشا سلولی، غیرفعال شدن رسیپتورها، آنزیم‌ها و کانال‌های یونی و آسیب سلول‌های عصبی می‌گردد (۷).

مطالعات نشان داده است که رابطه نزدیکی بین بیان ژن‌های دخیل در متابولیسم آنتی‌اکسیدانی و فنوتیپ‌های مربوط به اضطراب وجود دارد (۸). علاوه بر این بیان شده است که مصرف رژیم غذایی غنی شده با اکسیدان‌ها منجر به ایجاد چاقی، افزایش اکسیداسیون پروتئین‌ها و لیپیدها در قشر فرونتال و بروز رفتار شبه اضطرابی می‌گردد (۹).

در مطالعه حاضر، به بررسی اثرات بهبود دهندگی اولئوروپین در مدل افسردگی ناشی از اسکوپولامین پرداخته ایم.

مواد و روش‌ها

حیوانات آزمایشگاهی: حیوانات در این مطالعه تجربی، ۳۵ سرموش سوری، با محدوده وزنی ۲۰-۳۰ گرم، از موسسه انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. حیوانات در قفس‌های ویژه با شرایط دوره روشنایی - تاریکی ۱۲/۱۲ ساعته و دمای 23 ± 2 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. هیچ گونه محدودیت برای دسترسی به غذا و آب، برای حیوانات وجود نداشت. **گروه‌های مورد آزمایش:** حیوانات در این آزمایش، جهت بررسی اثر غلظت‌های مختلف اولئوروپین بر موش‌های تیمار شده با اسکوپولامین، به طور تصادفی به ۵ گروه ۷ تایی تقسیم شدند:

- (۱) گروه شاهد که سالین دریافت کرد.
- (۲) گروه درمانی با سه زیرگروه، که به ترتیب دریافت کننده غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اولئوروپین همراه با اسکوپولامین با دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم بودند.

شده است که برخی بیماران به دلیل عوارض جانبی یا ترس از مصرف داروهای شیمیایی همکاری مناسبی جهت مصرف دارو ندارند و در برخی مطالعات داروهای موجود تنها در نیمی از موارد مؤثر بوده است (۳)، بنابراین یافتن درمان‌های موثر برای افسردگی که دارای کفایت اثر بالاتر نسبت به دارونما بوده و عوارض جانبی کمتری داشته باشد و از منظر اقتصادی نیز مقرون به صرفه باشد از جمله زمینه‌های فعال تحقیقات است. به همین دلیل طی سالیان اخیر، تحقیقات جهت یافتن ترکیبات به عنوان داروی مکمل و حتی جایگزین جهت درمان افسردگی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار شده است (۴).

در تحقیقات بعمل آمده بر روی زیتون معلوم گردید که مشخصه اصلی تلخی در میوه زیتون، اولئوروپین می‌باشد. اولئوروپین یکی از ترکیبات زیست فعال موجود در گیاه *Olea europaea* یا درخت زیتون است (۵).

اولئوروپین در مقادیر بالا در میوه و برگ‌های زیتون فراوری نشده یافت می‌شود. در طول رسیدن میوه یا فراوری زیتون (مانند تولید روغن)، واکنش‌های شیمیایی و آنزیمی رخ می‌دهد که غلظت اولئوروپین را کاهش و غلظت هیدروکسی تیروزول را که محصول اصلی تخریب اولئوروپین است، افزایش می‌دهد. مولکول اولئوروپین دارای سه زیر واحد ساختاری است که شامل یک پلی‌فنول بنام هیدروکسی تیروزول، سیکوایرودوئید به نام اسیداولنولیک و یک مولکول گلوکز است (۶).

اخیرا نقش استرس اکسیداتیو در پاتوزنز بیماری‌های نورودژنراتیو و عصبی-روانی همانند اسکیزوفرنی و اختلال افسردگی و اضطراب نشان داده شده است. مصرف بالای اکسیژن، حضور مقادیر بالای اسیدهای چرب غیراشباع و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی نسبتا ضعیف مغز را نسبت به استرس اکسیداتیو بسیار حساس ساخته است. آسیب اکسیداتیو نوکلئیک

کالریمتریک صورت گرفت. ابتدا توسط آنزیم نیترات ردوکتاز، نیترات به نیتريت تبدیل و سپس با اندازه‌گیری نیتريت با معرف گریس در طول موج ۵۷۰ نانومتر میزان نیتريك اکساید تعیین شد (۱۱).

تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده‌های مطالعه از طریق نرم-افزار SPSS 16 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. آزمون‌های آنالیز واریانس یک‌طرفه و به دنبال آن آزمون تعقیبی توکی جهت آنالیز داده‌ها استفاده شد. داده‌ها بصورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شد و مقادیر $p < 0/05$ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

مدت زمان بی حرکتی در تست شنای اجباری در گروه دریافت‌کننده ی اسکوپولامین در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری بیشتر بود. در گروه‌های دریافت‌کننده ی اولئوروپین با دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به طور معنی‌داری مدت زمان بی حرکتی در مقایسه با گروه اسکوپولامین کاهش یافت (نمودار ۱).

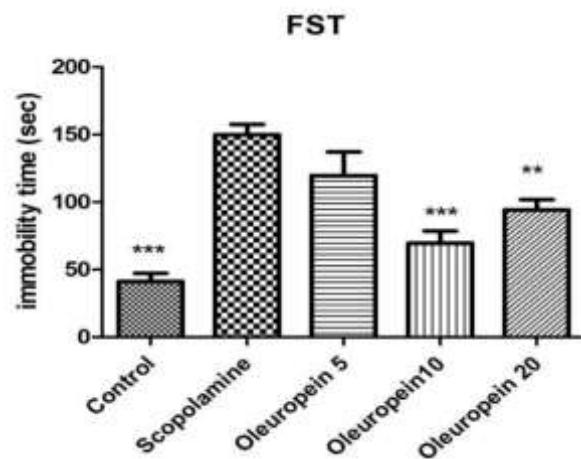
تجویز اسکوپولامین به موش‌های سوری باعث افزایش معنی‌دار سطح NO سرم و بافت مغز در مقایسه با گروه کنترل می‌شود. تجویز اولئوروپین با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث کاهش معنی‌دار NO سرم و بافت مغز شد (نمودار ۲).

۳) گروهی که اسکوپولامین با میزان ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کردند.

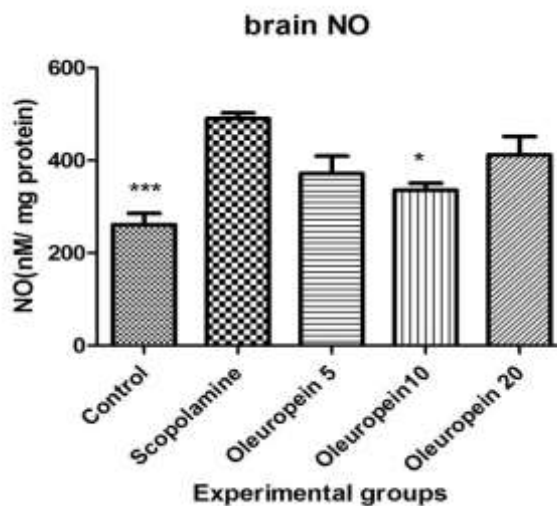
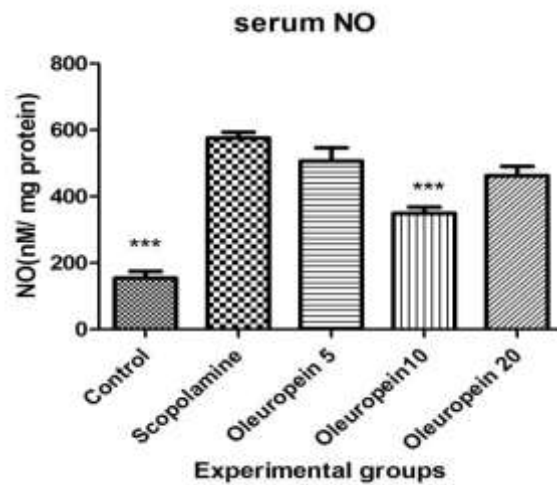
اولئوروپین و اسکوپولامین پس از حل شدن در سالیان ۰/۹ به روش درون صفاقی به مدت ۲۱ روز به حیوانات داده شد. پس از طی دوره تیمار آزمون‌های رفتاری انجام شد. سپس، موش‌ها تحت بی‌هوشی عمیق قرار گرفته و نمونه خون و همچنین بافت مغز تهیه شد.

تست شنای اجباری: برای اندازه‌گیری زمان بی‌حرکتی مجموعه‌ی زمان‌هایی که جانور بی‌حرکت می‌ماند را طی یک محدوده‌ی زمانی مشخص ثبت می‌نمایند. روش آزمایش به این صورت است که ظرف شیشه‌ای به طول ۲۵ سانتی‌متر و عرض ۱۲ سانتی‌متر با ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر از آب ۲۵ درجه پر و حیوان از ارتفاع ۲۰ سانتی‌متری و به ملایمت درون آب قرار داده می‌شود به طور قراردادی، قطع حرکات دست و پای موش به عنوان بی‌حرکت شدن محسوب می‌گردد. تمام نمونه‌ها به وسیله یک فرد زمان‌گیری می‌شود. کل آزمایش شنای اجباری ۷ دقیقه است و دو دقیقه نخست که برای تطابق حیوان با شرایط موجود در نظر گرفته شده است و زمان بی‌حرکتی ثبت نمی‌گردد بلکه زمان بی‌حرکتی برای ۵ دقیقه بعدی اندازه‌گیری شد (۱۰).

اندازه‌گیری میزان نیتريك اکساید سرم و بافت مغز: میزان نیتريك اکساید با اندازه‌گیری محصولات آن یعنی نیترات و نیتريت سرم با استفاده از کیت



نمودار ۱: اثر اسکوپولامین و دوزهای مختلف اولئوروپین بر پارامتر مدت زمان بی‌حرکتی در تست شنای اجباری. ** نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $p < 0/01$ ، *** نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $p < 0/001$.



نمودار ۲ (A,B). مقایسه سطح NO سرم (A) و بافت مغز (B) بین گروه دریافت‌کننده اسکوپولامین و اولئوروپین. *** نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $p < 0/001$ ، * نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $p < 0/05$.

بحث

در مطالعه‌ی بدر و همکاران اثرات اولئوروپین بر رفتارهای شبه افسردگی ناشی از تزریقات متوالی کورتیکواسترون در موش سوری مورد بررسی قرار گرفته و نتایج نشان داده اولئوروپین به طور چشمگیری میزان بی حرکتی را در تست های شنای اجباری و معلق ماندن از دم کاهش می‌دهد و اثرات ضد افسردگی آن ناشی از کاهش پارامترهای استرس اکسیداتیو است استرس اکسیداتیو با اختلالات سیستم عصبی مرکزی شامل بیماری‌های نورودژنراتیو همانند آلزایمر و پارکینسون و برخی از اختلالات روحی-روانی همانند اسکیزوفرنی، اختلال افسردگی و اضطراب در ارتباط می‌یابد (۱۷، ۱۸) افزایش تولید گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن و نیتروژن و به دنبال آن استرس اکسیداتیو و نیتراتیو سبب پراکسیداسیون لیپیدهای غشا، آسیب DNA، پروتئین‌ها و میتوکندری-های سلول‌های عصبی می‌گردد. استرس اکسیداتیو و نیتراتیو ایجاد شده به دنبال مدل‌های مختلف افسردگی سبب تخریب آنتی‌اکسیدان‌های کلیدی مانند کوآنزیم Q10، روی، ویتامین E، گلوتاتیون و گلوتاتیون پراکسیداز می‌گردد. این وقایع سبب تسریع ورود ژنراسیون، آپوپتوز و کاهش نوروزن و پلاستیسیته مغزی می‌گردد (۱۹).

در بررسی حاضر اولئوروپین در آزمون شنای اجباری اثرات ضدافسردگی نشان داد که با کاهش نیتریک اکساید سرم و بافت مغز همراه بود. اثرات ضد استرس اکسیداتیو اولئوروپین در تعدادی از مطالعات پیشین نشان داده شده است. در مطالعه Ai-Azzawie و همکاران، تیمار خرگوش‌های دیابتی شده توسط آلوکسان با اولئوروپین خوراکی در غلظت ۲۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۱۲ ماه سبب کاهش معنی‌دار پراکسیداسیون لیپیدها و افزایش معنی‌دار آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی شد (۲۰).

بیماری آلزایمر (AD) یک اختلال عصبی کشنده است که با اختلال عملکرد شناختی اولیه همراه است و بعداً با زوال رفتاری و اجتماعی همراه است. هیپوکامپ منطقه آسیب‌پذیر نورونی اولیه است که در پاتوفیزیولوژی بیماری نقش دارد (۱۲). از این رو هدف از مطالعه حاضر، روشن شدن نقش محافظت نورونی احتمالی اولئوروپین در مدل حیوانی AD ناشی از اسکوپولامین بود. علائم نورو سایکوتریک مانند افسردگی، پرخاشگری و جنون اکنون به عنوان ویژگی‌های اصلی AD شناخته شده اند و شدت بیشتر علائم با کاهش سریع‌تر شناختی، از دست دادن استقلال و حتی بقای کوتاه تر همراه است (۱۳).

اسکوپولامین خاصیت توکسیستی مختلفی را بر روی سیستم عصبی اعمال می‌کند. این سمیت بر روی جمعیت و توسعه دندریت‌های نورون‌های تازه ایجاد شده و سلول‌های گرانول نابالغ در شکنج دندانی نشان می‌دهد که به طور مستقیم منجر به آسیب مدارهای نورونی در هیپوکامپ می‌شود که عمدتاً مسئول نواقص شناختی و حافظه هستند (۱۴).

در موش‌هایی که فقط اسکوپولامین دریافت می‌کنند مدت زمان بی تحرکی به طور چشمگیری افزایش یافته است و اولئوروپین با دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم توانسته به طور معنی‌داری مدت زمان بی حرکتی را کاهش دهد. و این نتایج حاکی از این است که اولئوروپین اثرات ضدافسردگی قوی در مدل فراموشی ناشی از اسکوپولامین دارد. نتایج مطالعات قبلی نیز همراستا با این مطالعه است (۱۵).

در مطالعه‌ی ربیعی و همکاران در مدل افسردگی ناشی از رزروپین، اولئوروپین اثرات بهبود دهنده قوی داشته و به طور معنی‌داری مدت زمان بی‌حرکتی در تست شنای اجباری و تست معلق ماندن از دم را در موش‌های سوری کاهش داده است (۱۶).

University of Medical Sciences and Health Services, 21(86): 56-64. [In Persian]

6. Soler-Rivas C, Espín JC, Wichers HJ. Oleuropein and related compounds., 2000. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7):1013-1023.

7. Black CN., Bot M., Scheffer PG., Cuijpers P., Penninx BW., 2015. Is depression associated with increased oxidative stress? A systematic review and meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology*, 51:164-75.

8. Moylan S., Berk M, Dean OM., Samuni Y., Williams LJ., O'Neil A., 2014. Oxidative and nitrosative stress in depression: why so much stress? *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 45:46-62.

9. Sulakhiya K., Patel VK., Saxena R., Dashore J., Srivastava AK., Rathore M., 2016. Effect of Beta vulgaris Linn. leaves extract on anxiety-and depressive-like behavior and oxidative stress in mice after acute restraint stress. *Pharmacognosy Research*, 8(1):1.

10. Rabiei Z., Movahedi E., Rafieian-Kopaei M., Lorigooini Z., 2016. Antidepressant effects of Trifolium pratense hydroalcoholic extract in mice. *Iranian Journal of Physiology and Pharmacology*.,2(1):33-24. [In Persian]

11. Daneshkhah M, Setorki M. 2019. Protective Effects of Artemisia persica Essential Oil Against Pentylene-tetrazol-Induced Seizure in Male Mice with Emphasizing Its Mechanism of Action. *Iranian Red Crescent Medical Journal*, 21(2): e85021.

12. Ionita R., Postu PA., Mihasan M., Gorgan DL., Hancianu M., Cioanca O., et al, 2018. Ameliorative effects of Matricaria chamomilla L. hydroalcoholic extract on scopolamine-induced memory impairment in rats: A behavioral and molecular study. *Phytomedicine*, 47:113-20.

در مطالعه Sarbishegi و همکاران، تیمار موش‌های مسن توسط اولئوروپین خوراکی در غلظت ۲۲ میلی-گرم بر کیلوگرم اولئوروپین به مدت ۶ ماه با کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلووتاتیون پراکسیداز در مغز و سرم همراه بود(۲۱).

نتیجه‌گیری

اولئوروپین با کاهش پارامترهای استرس اکسیداتیو و نیتراتیو علایم افسردگی را در موش‌های دریافت‌کننده اسکوپولامین کاهش می‌دهد، هرچند مطالعات بیشتری جهت بررسی اثرات ضدافسردگی اولئوروپین در سایر مدل‌های افسردگی و همچنین شناسایی دقیق مکانیسم اثرگذاری آن نیاز است.

منابع

1. Rabiei Z., Gholami M., Rafieian-Kopaei M., 2016. Antidepressant effects of Mentha pulegium in mice. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 11(3): 711-715.
2. Arborelius L., Owens M., Plotsky P., Nemeroff CB., 1999. The role of corticotropin-releasing factor in depression and anxiety disorders. *The Journal of Endocrinology*, 160(1): 1-12.
3. Carek PJ., Laibstain SE., Carek SM., 2011. Exercise for the treatment of depression and anxiety. *The International Journal of Psychiatry in Medicine*, 41(1): 15-28.
4. Rafieian-Kopaei M., Rabiei Z., Naderi S., 2017. Study of antidepressant effects of grape seed oil in male mice using tail suspension and forced swim tests. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 12(4): 397-402.
5. Rabiei Z., Bigdeli M., Asadi-Samani M., 2013. The effect of dietary virgin olive oil on brain lipid levels and brain edema in rat stroke models. *Journal of Zanjan*

Effect on Biogenic Amines. *Scientific Reports*, 10(1): 1-10.

18. Praticò D., Clark CM., Liun F., Lee VY-M., Trojanowski JQ., 2002. Increase of brain oxidative stress in mild cognitive impairment: a possible predictor of Alzheimer disease. *Archives of Neurology*, 59(6): 972-976.

19. Liu B., Xu C., Wu X., Liu F., Du Y., Sun J., 2015. Icariin exerts an antidepressant effect in an unpredictable chronic mild stress model of depression in rats and is associated with the regulation of hippocampal neuroinflammation. *Neuroscience*, 294:193-205.

20. Al-Azzawie H.F., Alhamdani M.S.S., 2006. Hypoglycemic and antioxidant effect of oleuropein in alloxan-diabetic rabbits. *Life Sciences*, 78(12): 1377-1381.

21. Sarbishegi M., Mehraein F., Soleimani M., 2014. Antioxidant role of oleuropein on midbrain and dopaminergic neurons of substantia nigra in aged rats. *Iranian Biomedical Journal*, 18(1):16. [In Persian]

13. Chen W., Cheng X., Chen J., Yi X., Nie D., Sun X., et al, 2014. Lycium barbarum polysaccharides prevent memory and neurogenesis impairments in scopolamine-treated rats. *PLoS One*, 9(2): e88076.

14. Kotani S., Yamauchi T., Teramoto T., Ogura H., 2008. Donepezil, an acetylcholinesterase inhibitor, enhances adult hippocampal neurogenesis. *Chemico-Biological Interactions*, 175(1-3): 227-230.

15. Rabiei Z., Jahanbazi S., Alibabaei Z., Rafieian-Kopaei M., 2018. Antidepressant effects of oleuropein in male mice by forced swim test and tail suspension test. *World Fam Med J Middle East J Fam Med*, 16:132-144.

16. Rabiei Z., Jahanbazi S., Alibabaei Z., Rafieian-Kopaei M., 2018. Antidepressant effects of oleuropein in male mice by forced swim test and tail suspension test. *World Family Medicine Journal: Incorporating the Middle East Journal of Family Medicine*, 99(5804): 1-13.

17. Badr AM., Attia HA., Al-Rasheed N., 2020. Oleuropein Reverses Repeated Corticosterone-Induced Depressive-Like Behavior in mice: Evidence of Modulating

