

اثر عصاره هیدروآتانولی مویز بر سطح اضطراب در موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر بالغ در مدل ماز صلیبی

سید ابراهیم حسینی^۱، یاسمن عوض پور^۱

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران. ebrahim.hossini@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۰/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۵/۲/۱۰

چکیده

زمینه و هدف: اضطراب یکی از شایع‌ترین اختلالات روانی است که باعث کاهش کیفیت زندگی و اختلالات عملکردی و بیماری‌های مزمن می‌گردد. با توجه به عوارض جانبی بیشتر داروهای شیمیایی این مطالعه با هدف بررسی اثر عصاره هیدروآتانولی مویز بر سطح اضطراب در موش‌های نر بالغ انجام گردید.

روش کار: در این مطالعه از ۴۰ سر موش کوچک آزمایشگاهی نر بالغ استفاده شد. حیوانات به ۵ گروه ۸ تایی شامل گروه‌های کنترل (فاقد تیمار)، شاهد (دریافت کننده آب مقطر) و سه دسته تجربی دریافت کننده دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن موش عصاره هیدروآتانولی مویز به صورت خوراکی تقسیم گردیدند. جهت سنجش اضطراب از تست ماز صلیبی استفاده و مدت زمان و تعداد دفعات حضور موش‌ها در بازوهای باز و بسته ماز مشخص و نتایج با استفاده از آزمون‌های آماری تجزیه واریانس یک طرفه و تست پیگیری توکی مورد ارزیابی قرار گرفتند.

یافته‌ها: نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که میانگین سطح اضطراب در گروه‌های دریافت کننده عصاره هیدروآتانولی مویز در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن موش نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافته است (P < ۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: با توجه به یافته‌های این مطالعه به نظر می‌رسد که عصاره مویز با داشتن ترکیبات فلاونوئیدی باعث کاهش میزان اضطراب در تست ماز صلیبی می‌شود که این اثر احتمالاً از طریق تحریک گیرنده‌های گابا و افزایش ترشح سروتونین انجام می‌گیرد.

واژه‌های کلیدی: مویز، اضطراب، ماز صلیبی، موش کوچک آزمایشگاهی.

مقدمه

بار بیشتر از جمعیت عادی به روانپزشک مراجعه نموده و ۶ بار بیشتر از سایرین در بیمارستان بستری می‌گردند اختلالات اضطرابی مستلزم استفاده زیاد از مراقبت‌های پزشکی و صرف هزینه‌های گزاف می‌گردد (۵). در بسیاری از مطالعات مضطرب بودن به عنوان صفتی جهت تبیین وضعیت خلق افراد مورد بررسی قرار می‌گیرد، ولی علاوه بر توصیف خلق، اضطراب به عنوان یک خصیصه نیز اندازه‌گیری می‌شود (۱۴). روشن شده است که در بروز اختلالات اضطرابی عوامل عصبی و هورمونی متعددی نظیر گابا، سروتونین، نوراپی‌نفرین، دوپامین،

اضطراب از شایع‌ترین اختلالات روانی است که همراه با یک احساس منتشر ناخوشایند و غالباً مبهم می‌باشد. دلواپسی همراه با چندین اختلال جسمانی و کاهش خواب و بی‌قراری همراه است (۱۹، ۲۱). افسردگی و اضطراب از طریق حوادث استرس‌زای زندگی به ویژه مشکلات طولانی مدت نظیر برخی بیماری‌های جسمانی آشکار می‌شوند و ادامه می‌یابند (۱۷). اضطراب باعث کاهش کیفیت زندگی و افزایش مشکلات جسمانی و اختلالات عملکردی یا بیکاری و بیماری‌های مزمن می‌گردد (۲۰). به دلیل آن که افراد مبتلا به اضطراب ۳ تا ۵

دوزهای بالا نیز کشنده بوده و در اکثر موارد در صورت قطع مصرف احتمال برگشت بیماری وجود دارد (۶)، استفاده از داروهای گیاهی خصوصاً گیاهان خوراکی برای درمان اختلالات اضطرابی مورد مطالعه بسیاری از پژوهشگران است. بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات عصاره مویز بر سطح اضطراب در موش‌های کوچک آزمایشگاهی با استفاده از تست ماز صلیبی انجام گردید.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر یک مطالعه تجربی است که در سال ۱۳۹۲ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات فارس انجام شد. در این پژوهش از ۴۰ سر موش سفید آزمایشگاهی نر بالغ با محدوده وزنی 2 ± 30 گرم که از مرکز پژوهش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه شده بودند استفاده گردید. در این مطالعه تمام حیوانات در درجه حرارت 2 ± 22 درجه سانتی‌گراد، شرایط نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی نگهداری شدند. موش‌ها به طور تصادفی به ۵ گروه ۸ تایی شامل گروه‌های کنترل، شاهد و سه دسته تجربی تقسیم شدند و در طول دوره آزمایش و قبل از آن با تنظیم دمای محیط و طول دوره‌های تاریک و روشن، تامین آب و غذای کافی، سکوت محیط آزمایشگاه و با در دست‌گیری و نوازش حیوانات سعی گردید که تا حد امکان استرسی بر حیوانات وارد نشود. در این بررسی حیوانات به طور نامحدود از آب لوله‌کشی شهر شیراز و غذای فشرده ساخت شرکت خوراک دام پارس تهران استفاده نمودند. پروتکل این تحقیق بر اساس قوانین بین‌المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی تنظیم در کمیته اخلاق دانشگاه به تصویب رسید.

تهیه عصاره هیدروآلکلی مویز

کوله سیستوکینین و مراکز عصبی مختلفی مانند آمیگدال و هیپوکامپ دخالت دارند (۱). در رابطه با مکانیسم‌های دخیل در ارتباط با اضطراب محققین علوم زیستی، اعصاب و روان شناختی تحقیقات زیادی را انجام داده‌اند و تاکنون نیز روش‌ها و داروهای متعدد شیمیایی و گیاهی زیادی را معرفی نموده‌اند (۸). امروزه از گیاهان دارویی در طب سنتی بسیاری از کشورهای جهان استفاده می‌شود و یکی از این گیاهان دارویی که در طب سنتی مورد استفاده قرار می‌گیرد، انگور می‌باشد. مویز و کشمش خشک شده میوه گیاه انگور با نام علمی *Vitis vinifera* از خانواده Vitaceae، حاوی مقادیر بالایی از آهن، مواد معدنی و ویتامین‌های A، B₁، B₂، B₃ و B₆ است (۳). عصاره انگور حاوی ترکیبات شیمیایی مختلفی نظیر آنتوسیانین‌ها، ترکیبات استیلین مانند ترانس رزوراتول، مشتقات فلاونوئیدی متعددی همانند کاتچین، پروسیانیدین، کوئرستین و مایرستین می‌باشد (۲۴). میوه انگور، تنظیم‌کننده سیستم ایمنی و دارای خواص ضدالتهابی، ضد عفونی‌کننده و ضد دیابتی است (۲۲). عصاره انگور باعث بهبود میگرن و مانع بروز حملات قلبی می‌شود و در موش‌های صحرایی باعث بروز اثرات محافظتی بر قلب و بهبود اثرات ناشی از ایسکمی بطنی و کاهش میزان سکتة قلبی می‌گردد (۷). عصاره هسته انگور از آسیب‌های اکسیداتیو نخاع و سایر نواحی دستگاه عصبی مرکزی جلوگیری نموده و از وقوع پراکسیداسیون چربی ناشی از رادیکال‌های آزاد، در سیستم عصبی مرکزی رت‌های پیر و آسیب‌های مغزی ناشی از شرایط ایسکمی و هیپوکسی، در نوزادان موش-های صحرایی جلوگیری می‌نماید، نیز دارای اثرات محافظتی بر آسیب‌های نورونی القا شده با ایسکمی در نواحی پیشانی و هیپوکامپ مغز می‌شود (۱۱). از آنجا که اکثر داروهای ضد اضطرابی نظیر بنزودیازپین‌ها و باربیتورات‌ها دارای خاصیت اعتیادآوری بوده و در

خاصی نداشت با دوربین فیلمبرداری ثبت و تعداد دفعات داخل شدن حیوانات بر بازوهای باز و بسته و هم چنین مجموع زمان صرف شده در بازوهای باز و بسته محاسبه گردید. در این تست افزایش مدت زمان حضور و تعداد دفعات ورود موش‌ها در بازوهای باز با سطح اضطراب رابطه منفی و مدت زمان و دفعات حضور موش‌ها در بازوهای بسته با سطح اضطراب رابطه مثبت دارد (۹). در این مطالعه نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS-18 و پس از اطمینان از نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون آماری کالموگراف-اسمیرنوف، با کمک آزمون‌های آماری تجزیه واریانس یک طرفه و تست پیگیری توکی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. لازم به ذکر است که مرز استنتاج آماری در سطح $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که در موش‌های کوچک آزمایشگاهی عصاره هیدروالکلی مویز در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم وزن موش باعث افزایش تعداد دفعات و مدت زمان حضور در بازوی باز ماز صلیبی در سطح $P < 0.05$ می‌گردد، در حالی که بین گروه‌های تجربی مختلف با یک دیگر اختلاف معناداری مشاهده نگردید (جدول ۱).

بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که عصاره هیدروالکلی مویز با دوز ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن باعث کاهش میزان اضطراب در موش‌های نر بالغ، در تست ماز صلیبی می‌گردد. در یک مطالعه نشان داده شده است که استفاده از آگونیست‌های نوروترانسمیترهای گابا و سروتونین و یا مهارکننده‌های باز جذب سروتونین در درمان اختلالات اضطرابی موثرند (۲۱، ۱۸). هم چنین روشن شده است که استفاده از myricetin موجود در عصاره انگور باعث افزایش

برای تهیه عصاره از روش پرکولاسیون استفاده شد و برای این کار به مقدار کافی انگور سیاه از باغات اطراف شیراز تهیه و پس از خشک نمودن و تولید مویز به مدت سه ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد در آب خیسانده و به کمک دستگاه هم زن به خوبی هم زده شد تا به حالت یکنواخت درآید و سپس ۱۰۰ گرم از مخلوط یکنواخت به دست آمده در ۳۲۰ میلی لیتر الکل ۷۰ درجه ریخته و در دمای آزمایشگاه به مدت ۴۸ ساعت و دور از نور به خوبی خیسانده و سپس به وسیله فیلتر صاف نموده و به وسیله دستگاه روتاری مخلوط حاصل تغلیظ گردید و به کمک دستگاه دسیکاتور تمام رطوبت مخلوط گرفته شد و عصاره ای با ویسکوزیته بالا به دست آمد (۱۰). در این تحقیق حیوانات گروه کنترل تحت هیچ تیماری قرار نگرفتند و حیوانات گروه شاهد نیز به مدت ۱۵ روز، روزانه یک میلی لیتر آب مقطر و گروه‌های تجربی نیز به طور مشابه با گروه شاهد از نظر زمانی دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره هیدروالکلی مویز از طریق گاواژ تیمار شدند (۱۰). برای اندازه‌گیری میزان اضطراب در نمونه از مدل تست ماز صلیبی که مدل استاندارد ارزیابی میزان اضطراب در جوندگان است استفاده شد. ماز صلیبی وسیله‌ای از جنس پلکسی گلاس است و دارای دو بازوی باز به ابعاد ۳۰×۵۰ سانتی متر و دو بازوی بسته ۱۵×۵×۳۰ سانتی متری می‌باشد که در مقابل هم قرار داشته و به وسیله‌ی یک صفحه مرکزی ۵×۵ سانتی متر با هم در ارتباط می‌باشند و به ارتفاع ۵۰ سانتی متری از سطح زمین قرار دارد. این مدل سنجش اضطراب، غیرشرطی است و نیازی به آموزش و یادگیری ندارد. در این مطالعه ۳۰ دقیقه پس از آخرین گاواژ موش‌ها به آرامی و به طوری که سرحیوان به سمت بازوی باز باشد در مرکز ماز قرار گرفتند و به مدت ۵ دقیقه تعداد رفت و برگشت موش‌ها به وسیله شخصی که نسبت به نوع مداخله اطلاعات

میزان سروتونین می‌گردد (۱۳)، به علاوه وجود ترکیباتی نظیر پروآنتوسیانیدین موجود در عصاره انگور باعث جدول ۱- اثر عصاره هیدروآکلکی مویز بر مدت زمان حضور (بر حسب ثانیه) و تعداد دفعات ورود به بازوی باز در گروه‌های مختلف در مدل ماز صلیبی (میانگین \pm انحراف معیار)

گروه‌ها	مدت زمان سپری شده در بازوی باز ماز صلیبی (بر حسب ثانیه)	تعداد دفعات ورود به بازوی باز صلیبی
کنترل	۸۴/۲۵ \pm ۱۰/۸۶	۳/۵۰ \pm ۰/۶۸۱
شاهد	۹۲/۲۲ \pm ۱۲/۴۷	۳/۱۳ \pm ۰/۴۷۹
تجربی ۱ (مویز با دوز ۱۰۰ mg/kg)	۱۲۴/۷۵ \pm ۱۰/۴۰*	۷/۷۵ \pm ۰/۹۴۰*
تجربی ۲ (مویز با دوز ۲۰۰ mg/kg)	۱۳۲/۱۷ \pm ۹/۱۲*	۹/۵۷ \pm ۱/۱۷۲*
تجربی ۳ (مویز با دوز ۴۰۰ mg/kg)	۱۵۸/۶۳ \pm ۱۱/۸۹*	۷/۵۰ \pm ۱/۰۶۹*

* نشان دهنده تفاوت معنادار در سطح $P < 0/05$ نسبت به گروه کنترل است.

گیاهان دارویی نظیر اپی ژنین که در مویز هم به مقدار زیادی وجود دارد میل فراوانی به اتصال به گیرنده‌های گابا A دارند (۲۳)، لذا مویز احتمالاً از طریق ترکیبات فلاونوئیدی خواص ضد اضطرابی و آرام‌بخشی خود را اعمال می‌نماید. در یک بررسی نشان داده شده است که عصاره انگور با داشتن ترکیبات پروسیانیدین و آنتوسیانیدین و از طریق مکانیسم‌های تولید نیتریک اکساید و کاهش گونه‌های فعال اکسیژن اثرات آرام بخشی خود را اعمال می‌نماید (۱۵). نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره هیدرو الکلی مویز منجر به کاهش میزان اضطراب در مدل تست ماز صلیبی در موش‌های کوچک آزمایشگاهی می‌شود که این اثر را احتمالاً از طریق تحریک گیرنده های گابا و افزایش ترشح سروتونین انجام می دهد. بنابراین با توجه به اثرات جانبی بسیاری از داروهای شیمیایی و به شرط انجام تحقیقات تکمیلی، از مویز نیز می توان در جهت کاهش میزان اضطراب و یا افزایش اثر داروهای ضد اضطرابی در انسان‌ها استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله بر خود واجب می‌دانند تا از مدیریت محترم آزمایشگاه بیمارستان مادر و کودک شیراز که امکانات و بودجه این پروژه تحقیقاتی را فراهم نمودند تشکر و قدردانی بنمایند.

از آن جا که نتایج حاصل از یک مطالعه نشان داده است که سروتونین از طریق اتصال به گیرنده‌های نوع IA5-HT باعث القاء سیگنال‌های درون سلولی می‌گردد که مانع بروز اختلالات اضطرابی می‌شود (۴). لذا احتمالاً عصاره مویز از طریق افزایش میزان سروتونین باعث کاهش میزان اضطراب در موش‌ها شده است. ترکیبات فلاونوئیدی که در انگور نیز به فراوانی دیده می‌شوند و هم چنین مشتقات دیگری از قبیل پروسیانیدین، Myricetin و Catechin موجود در عصاره انگور توانایی اتصال به گیرنده‌های بنزودیازپینی گابا در مغز را داشته و به عنوان آگونیست گیرنده های بنزودیازپینی به شمار می‌آیند و با توجه به اثرات ضد اضطرابی آگونیست های گیرنده های گابا (۱۶، ۱۲)، می‌توان اثرات ضد اضطرابی عصاره مویز را به وجود ترکیباتی از قبیل پروسیانیدین، Myricetin و Catechin نسبت داد. پروآنتوسیانین موجود در عصاره انگور باعث کاهش زمان بی حرکتی در تست شنای اجباری و با افزایش سطح دوپامین و سروتونین در کورتکس پیشانی، هیپوکامپ و هیپوتالاموس باعث کاهش میزان اضطراب می‌شود (۲). نتایج یک بررسی به اثرات ضد استرسی و ضد اضطرابی ترکیبات موجود در عصاره هسته انگور از طریق افزایش وانیل ماندلیک اسید و کاهش اسید اسکوربیک اشاره دارند (۱۳) و از آن جا که مواد فلاونوئیدی استخراجی از

منابع

1. Ali, B.H., Al-Qarawi, A.A. (2002). An elevation of drug used in the control of stressful stimuli in domestic animales. Acta Vet Brno, 71; 205-216.
2. Campbell, E.L., Chebib, M., Johnston, G.A. (2004). The dietary flavonoids apigenin and (-)-epigallocatechin gallate enhance the positive modulation by diazepam of the activation by GABA of recombinant GABA(A) receptors. Biochem Pharmacol, 68(8); 1631-1638.
3. Demir, B.S., Serindag, O. (2006). Determination of boron in grape (*Vitis vinifera*) by azomethine H spectrophotometric method. Eurasian J Anal Chem, 1(1); 11-18.
4. Dennis, L., Murphy Lesch, KP. (2008). Targeting the murine serotonin transporter: insights into human neurobiology. Nature reviews, neuroscience, 9(2); 85.
5. Ford, G.D., Trestman, R.L., Steinberg, K., Tennen, H., Allen, S. (2004). Prospective association of anxiety, depressive and addictive disorders with high utilization of primary, specialty and emergency medical cares. Soc Sci Med. 58(11); 2145-2148.
6. Griffiths, R.R., Johnson, M.W. (2005). Relative abuse liability of hypnotic drugs: a conceptual framework and algorithm for differentiating among compounds. J Clin Psychiatry, 66(9); 31-41.
7. Harshal, A., Pawar, N. M., Khutle, S. S., Apoorva, U., Saumya, V. (2011). Functional foods and their health benefits: an overview. International Journal of Advances in Pharmaceutical Research, 2(7); 397-404.
8. Hatano, V.Y., Torricelli, A.S., Giassi, A.C., Coslope, L.A., Viana, M.B. (2012). Anxiolytic effects of repeated treatment with an essential oil from Lippia alba and (R)-(-)-carvone in the elevated T-maze. Braz J Med Biol Res, 45(3); 238-243.
9. Holmes, A., Parmigiani, P.F., Ferrari, P.F., Palanza, P., Rodgers, R.J. (2000). Behavioral profile of wild mice in the elevated plus-maze test for anxiety. Physiology Behavior, 71(5); 509 - 16.
10. Hosseini, S.E., Mehrabani, D., Avazpour, Y., RafieiRad, M. (2014). Comparison of currant hydroalcoholic extract and diazepam on serum corticosterone levels in adult male mice. Journal of Experimental Animal Biology, 3(1); 49-56.
11. Hwang, I.K., Yoo, K.Y., Kim, D.S., Jeong, Y.K., Kim, J.D., Shin, H.K. (2004). Neuroprotective effects of grape seed extract on neuronal injury by inhibiting DNA damage in the gerbil hippocampus after transient forebrain ischemia. Life Sci, 75(16); 1989-2001.
12. Licata, S.C., Platt, D.M., Cook, J.M., Sarma, P.V., Griebel, G., Rowlett, J.K. (2005). Contribution of GABA A receptor subtypes to the anxiolytic-like, motor, and discriminative stimulus effects of benzodiazepines: studies with the functionally selective ligand SL651498 [6-fluoro-9-methyl-2-phenyl-4-(pyrrolidin-1-yl-carbonyl)-2,9-dihydro-1H-pyridol[3,4-b]indol-1-one]. J Pharmacol Exp Ther, 313(3); 1118-1125.
13. Mahalaxmi, M., Swati, S., Jadhav, V. S.K., Kasture, Sanjay. B. K. (2009). Effect of myricetin on behavioral paradigms of anxiety. Pharmaceutical Biology, 47(10); 927-931.
14. Muschalla, B., Linden, M., Olbrich, D. (2010). The relationship between job-anxiety and trait-anxiety-a differential diagnostic investigation with the job-anxiety-scale and the state-trait-anxiety-inventory. Journal of Anxiety Disorders, 24(3); 366-371.
15. Nassiri, M., Hosseinzadeh, H. (2009). Review of the Pharmacological effects of *Vitis vinifera* (Grape) and its bioactive compounds. Phytother Res, 23(9); 1197-1204.
16. Park, K.S., Han, J.Y., Moon, D.C., Hong, J.T., Oh, K.W. (2011). Epigallocatechin-3-O-gallate augments pentobarbital-induced sleeping behaviors through Cl⁻ channel activation. J Med Food, 14(11); 1456-1462.
17. Rebecca, A., Drayer, M.D. (2006). Characteristics of depression in hemodialysis patients: symptoms, quality of life and mortality Risk. Gen Hosp Psychiatry, 28(4); 306-312.
18. Ruillon, F. (2004). Long term therapy of generalized anxiety disorder. Eur Psychiatry, 19(2); 96-101.
19. Strine, T., Chapman, D., Kobau, R., Balluz, L., Mokdad, A. (2004). Depression, anxiety, and physical impairments and quality of life in the U.S. no institutionalized population. Am Psychiatr Assoc, 55(12); 1408-1413.
20. Sylvers, P., Lilienfeld, S.O., LaPrairie, J.L. (2011). Differences between trait fear and trait anxiety: Implications for psychopathology. Clin Psychol Rev, 31(1); 122-137.
21. Williams, T.P., Miller, B. (2003). Pharmacologic management of anxiety disorder in children and adolescents. Curr Opin Pediatr, 15(5); 483-490.
22. Xu, L., Li, B., Cheng, M. (2008). Oral administration of grape seed proanthocyanidin

extracts down regulate RAGE dependant nuclear factor-kappa BP65 expression in the hippocampus of strepto zotocin induced diabetic rats. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 116(4); 215-224.

23. Xu, Y., Li, S., Chen, R., Li, G., Barish, P.A., You, W. (2010). Antidepressant-like effect of low molecular proanthocyanidin in mice:

involvement of mono aminergic system. *Pharmacol Biochem Behav*, 94(3); 447-453.

24. Yadav, M., Jain, S., Bhardwaj, A., Nagpal, R., Puniya, M., Tomar, R. (2009). Biological and medicinal properties of grapes and their bioactive constituents. An Update. *J Med Food*, 12(3); 473-484.

