



بررسی اثرات محافظتی عصاره هیدروالکلی گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis*) بر رفتارهای شبه اضطرابی القاء شده توسط تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین در موش صحرایی نر

سهیلا شهسوار کله‌سر^۱، کتانه ابراری^{۲*}، اکبر حاجی‌زاده مقدم^۳، فهیمه محسنی^۴

۱- کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی عمومی، دانشکده زیست‌شناسی، دانشگاه دامغان، دامغان، سمنان، ایران.

۲- دکتری فیزیولوژی، گروه آموزشی علوم جانوری، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، حصارک کرج، استان البرز، ایران.

۳- دکتری فیزیولوژی، گروه علوم جانوری، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابل، استان مازندران، ایران.

۴- دکتری مطالعات اعتیاد، دپارتمان مطالعات اعتیاد، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهروود، شهروود، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۲۹، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۵/۱۰

چکیده

مقدمه: هدف مطالعه حاضر بررسی اثر مریم گلی بر رفتارهای اضطرابی القاء شده توسط تزریق داخل بطن مغزی استرپتوزوتوسین در موش‌های نر ویستار است.

مواد و روش‌ها: حیوانات به گروه‌های کنترل، Vehicle و درمان با عصاره مریم گلی دوزهای (۵۰، ۲۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) تقسیم شدند. گروه کنترل مداخله‌ای دریافت نکرد. گروه Vehicle سالین را به‌طور داخل صفاقی و داخل بطنی دریافت کرد. گروه استرپتوزوتوسین و گروه‌های استرپتوزوتوسین + مریم گلی ۱۴ روز متوالی به‌ترتیب سالین و عصاره آبی الکی مریم گلی به‌طور داخل صفاقی دریافت کردند. سپس بر روی حیوانات جراحی کانول‌گذاری داخل بطن طرفی انجام شد. یک هفته بعد از بهبودی، به گروه استرپتوزوتوسین، داروی استرپتوزوتوسین (۳ میلی‌گرم/کیلوگرم) و به گروه‌های استرپتوزوتوسین+مریم گلی، عصاره مریم گلی به‌صورت داخل بطنی تزریق شد. رفتارهای اضطرابی به کمک ماز بلاوه‌ای شکل مرتفع در دو زمان (۵ دقیقه و یک هفته بعد از تزریق استرپتوزوتوسین) ارزیابی شد.

نتایج: مریم گلی در دوز بالا (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) هر دو شاخص درصد زمان حضور در بازوی باز و درصد تعداد دفعات ورود به بازوی باز را نسبت به گروه استرپتوزوتوسین افزایش داد ($P < 0.05$)، درحالی‌که دوز متوسط (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تنها درصد زمان حضور در بازوی باز را افزایش داد ($P < 0.05$) و دوز پایین (۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) کمکی به کاهش اضطراب ناشی از استرپتوزوتوسین نکرد. **نتیجه‌گیری:** عصاره گیاه مریم گلی به شکل وابسته به دوز دارای اثرات محافظتی بر اضطراب القاء شده به‌واسطه تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین در موش‌های صحرایی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: اضطراب، مریم گلی، استرپتوزوتوسین.

*نویسنده مسئول: گروه علوم جانوری، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، حصارک کرج، استان البرز، ایران، تلفن: ۰۹۱۲۷۹۰۹۵۶۳، نمابر: ۰۲۶۳۴۵۱۳۰۰۹، Email: k.abrari@khu.ac.ir

ارجاع: شهسوار کله‌سر سهیلا، ابراری کتانه، حاجی‌زاده مقدم اکبر، محسنی فهیمه. بررسی اثرات محافظتی عصاره هیدروالکلی گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis*) بر رفتارهای شبه اضطرابی القاء شده توسط تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین در موش صحرایی نر. مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی ۱۹:۱۴۰۳ (۳): ۲-۹.



مقدمه

استرپتوزوتوسین دارویی متعلق به دسته آنتی‌بیوتیک‌هاست که در طی عمل تخمیر توسط یک باکتری گرم مثبت به نام *Streptomyces achromogene* به دست می‌آید (۱ و ۲). این دارو برای اولین بار در سال ۱۹۵۹ توسط محققان شرکت دارویی به نام Upjohn واقع در جنوب غربی ایالت میشیگان ایالات متحده آمریکا کشف شد (۳). محققان مذکور پس از چند سال بررسی در سال ۱۹۶۷ توانستند توصیف کاملی از خواص شیمیایی آن ارائه دهند (۴). فرمول مولکولی این دارو $C_8H_{15}N_3O_7$ و وزن مولکولی آن ۲۶۶ گرم بر مول است (۴). اولین گزارش از فواید درمانی استرپتوزوتوسین در یک گزارش موردی از یک بیمار مبتلا به سرطان جزایر لانگرهانس در سال ۱۹۶۸ منتشر شد. در مرحله بعد، به منظور بررسی بیشتر اثرات ضد سرطانی استرپتوزوسین مطالعه‌ای از نوع کارآزمایی بالینی بروی ۵۲ بیمار داوطلب که مبتلا به تومور جزایر لانگرهانس بودند انجام شد. نتایج این پژوهش حاکی از تأثیرات درمانی استرپتوزوتوسین بر روی این نوع از سرطان لوزالمعده بود (۵). نتایج حاصل از تحقیقات گسترده بعدی همسو با مطالعات اولیه بود و اثرات درمانی استرپتوزوتوسین را تأیید کرد (۶-۸). از آن زمان تاکنون این دارو به‌عنوان یک داروی ضد سرطان دارای تأییدیه از سازمان غذا و داروی ایالات متحده آمریکا (FDA) معرفی شده و تجویز می‌شود (۹). در واقع استرپتوزوتوسین از طریق ایجاد آسیب به DNA سلول‌های متاستاتیک اثرات ضدسرطانی خود را اعمال می‌کند (۱۰). علاوه بر این، استرپتوزوتوسین با فعال‌سازی پلاسمینوژن سبب تجزیه فیبرین شده و به‌عنوان یک عامل ترومبولیتیک در درمان انفارکتوس حاد میوکارد نیز کاربرد دارد (۱۱). علاوه بر کاربردهای درمانی استرپتوزوتوسین در دوزهای امن و درمانی برای انسان، در دوزهای بالای غیر درمانی، به دلیل ایجاد اثرات سیتوتوکسیک بر سلول‌های بتای غده پانکراس در ایجاد مدل حیوانی دیابت به شکل گسترده مورد استفاده محققین قرار می‌گیرد (۱۲). همچنین، تجویز داخل مغزی استرپتوزوتوسین در جوندگان سبب ایجاد مقاومت انسولینی در سلول‌های مغزی می‌شود که از پیامدهای اولیه بیماری زوال مغزی از نوع آلزایمر است. به دنبال ایجاد مقاومت انسولینی، هیپرفسفروریلاسیون تاو و تجمع بتا آمیلوئید اتفاق می‌افتد که این اثرات، استرپتوزوتوسین را به‌عنوان دارویی جهت ایجاد مدل حیوانی بیماری آلزایمر مناسب کرده است (۱۳). در کنار گزارشات مبنی بر بروز اختلالات شناختی، حافظه و یادگیری، مطالعات متعددی ظهور رفتارهای اضطرابی را نیز به دنبال تجویز استرپتوزوتوسین گزارش کرده‌اند (۱۴). به‌طور مثال، روی و همکاران در سال ۲۰۲۲ گزارش کردند که تجویز مغزی استرپتوزوتوسین به شکل داخل بطنی علاوه بر

از دست دادن تدریجی حافظه فضایی، اپیزودیک و اجتنابی با افزایش اضطراب در یک بازه زمانی ۲ ماهه همراه می‌شود (۱۴). این تظاهرات رفتاری شبه اضطرابی مرتبط با تخریب عصبی در ناحیه هیپوکامپ، کاهش اتصالات سیناپسی، رسوب پلاک آمیلوئید در مغز به شکل منتشر و از بین رفتن خارهای دندربیتی در شکنج دندانهای بود (۱۴). همچنین بررسی بیکری و همکاران در سال ۲۰۲۱ حاکی از اضطراب افزایش‌یافته در موش‌های صحرایی دریافت‌کننده استرپتوزوتوسین نسبت به حیوانات گروه کنترل بود که شاخص اضطراب با آزمون‌های رفتاری ماز بلاوه مرتفع و میدان باز سنجیده شده بود. این افزایش رفتارهای اضطرابی مرتبط با افزایش مارکر استرس اکسیداتیوی مالون دی‌آلدئید در نواحی مغزی هیپوکامپ و پری فرونتال کورتکس به دنبال تجویز استرپتوزوتوسین بود (۱۵). مطالعات بسیاری مؤید این موضوع است که ترکیبات طبیعی موجود در برخی از گیاهان دارویی دارای خاصیت محافظتی در برابر استرس و اضطراب هستند (۱۶). گیاه مریم گلی (*Salvia Officinalis*) از گیاهان دارویی مهم و با ارزش تیره نعناع و غنی از ترکیبات فلاونوئیدی و مواد فنلی است (۱۷). مصرف این گیاه به شکل عصاره و دمنوش قادر است اثرات آرامبخشی، ضدافسردگی و ضداضطرابی ایجاد نماید (۱۸). اثرات ضداضطرابی این گیاه را مرتبط با خاصیت ضدالتهایب و افزایش‌دهندگی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن دانسته‌اند (۱۸). با توجه به این اثرات، در این مطالعه قصد داریم به بررسی اثر حفاظتی عصاره این گیاه بر روی اضطراب القاء شده ناشی از تزریق درون بطنی در موش‌های صحرایی بپردازیم.

مواد و روش‌ها

تعداد ۳۶ سر موش صحرایی بالغ نر با نژاد ویستار و دارای وزن حدود ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم از موسسه رازی تهران خریداری شدند. حیوانات تحت شرایط استاندارد از نظر دوره روشنایی تاریکی (۱۲ ساعت - ۱۲ ساعت) و در دمای ۲۲-۲۴ درجه سانتیگراد به مدت یک هفته پیش از انجام آزمایش در حیوان‌خانه نگهداری شدند. سپس حیوانات به شکل تصادفی به ۶ گروه ۶ تایی تقسیم و در قفس‌های جداگانه قرار داده شدند. محور زمانی و مراحل انجام آزمایشات در شکل ۱ نشان داده شده است.

گروه‌های آزمایش بشرح زیر می‌باشند:

گروه اول - گروه کنترل (Control): در این گروه هیچ دارویی به شکل داخل صفاقی یا داخل بطنی تزریق نشد.

گروه دوم - گروه (Vehicle): به حیوانات این گروه به مدت چهارده روز، به شکل روزانه یک دوز سالیین داخل صفاقی (i.p) تزریق شد.

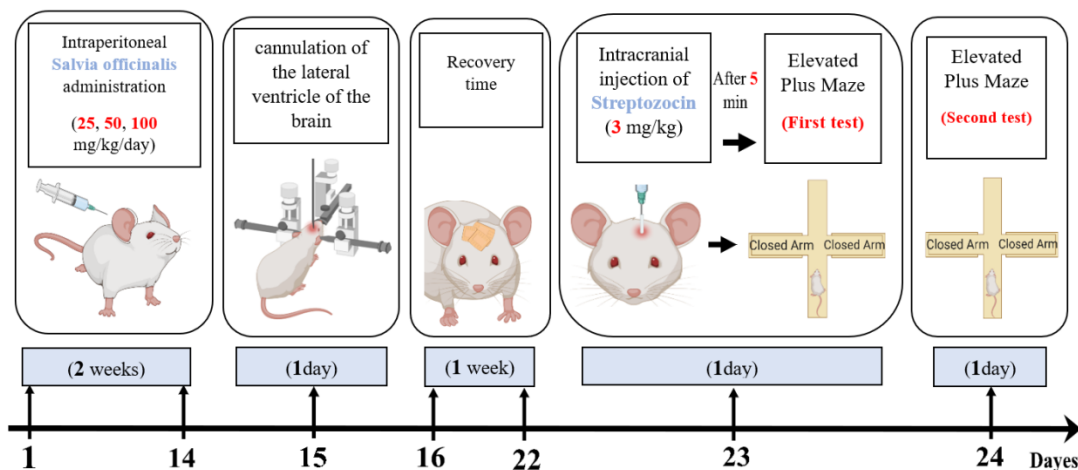
سپس در روز پانزدهم آزمایش، کانول‌گذاری به شکل درون بطنی (دو طرفه) برای آنها انجام شد. یک هفته بعد از کانول‌گذاری (روز

گروه چهارم تا ششم- مریم گلی (۲۵ و ۵۰ و ۱۰۰) + استرپتوزوتوسین: به حیوانات این گروه به مدت چهارده روز، به شکل روزانه عصاره هیدروالکلی مریم گلی (گیاه کالا، ایران) در دوزهای ۲۵ یا ۵۰ یا ۱۰۰ میلی‌گرم به کیلوگرم و به شکل داخل صفاقی (i.p) تزریق شد. سپس در روز پانزدهم آزمایش، کانول گذاری به شکل درون بطنی برای آنها انجام شد. یک هفته بعد از کانول گذاری (روز بیست و سوم آزمایش) یک دوز استرپتوزوتوسین به حجم ۲۰ میکرولیتر در غلظت ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم از طریق کانول به صورت داخل بطنی (i.c.v) به مغز رت تزریق شد. سپس آزمون سنجش اضطراب به وسیله ماز بعلاوه‌ای مرتفع به فاصله ۵ دقیقه و هفت روز از تزریق استرپتوزوتوسین داخل بطنی انجام شد. مراحل انجام آزمایش در شکل ۱ آورده شده است.

بیست و دوم آزمایش) یک دوز سالین از طریق کانول به صورت داخل بطنی (i.c.v) به مغز موش تزریق شد. سپس آزمون سنجش اضطراب به وسیله ماز بعلاوه مرتفع ۵ دقیقه و هفت روز پس از تزریق سالین داخل بطنی انجام شد (۱۹ و ۲۰).

گروه سوم - گروه استرپتوزوتوسین:

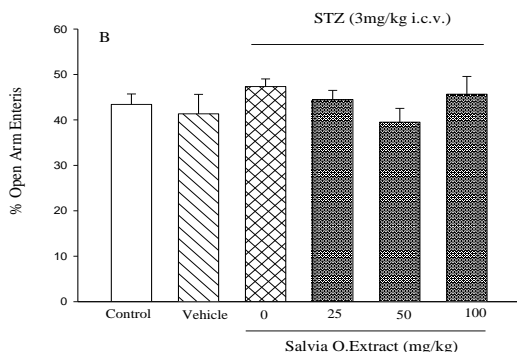
به حیوانات این گروه به مدت چهارده روز، به شکل روزانه یک دوز سالین داخل صفاقی (i.p) تزریق شد. سپس در روز پانزدهم آزمایش، کانول گذاری به شکل درون بطنی برای آنها انجام شد. یک هفته بعد از کانول گذاری (روز بیست و دوم آزمایش) یک دوز استرپتوزوتوسین (Newlife science; USA) به حجم ۲۰ میکرولیتر در غلظت ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم از طریق کانول به صورت داخل بطنی (i.c.v) به مغز رت تزریق شد (۲۱). سپس آزمون سنجش اضطراب به وسیله ماز بعلاوه‌ای مرتفع به فاصله ۵ دقیقه و هفت روز از تزریق استرپتوزوتوسین داخل بطنی انجام شد.



شکل ۱- محور زمانی و مراحل انجام آزمایشات

همان‌طور که گفته شد جهت القای اضطراب ۲۰ میکرولیتر از محلول استرپتوزوتوسین (۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به وسیله جراحی استرئوتاکسیک و پس از کانول گذاری به درون هر کدام از بطن‌های جانبی مغز حیوانات تزریق شد. حیوانات برای کانول گذاری بطنی، تحت بیهوشی عمیق در دستگاه استرئوتاکس قرار داده شدند. پس از فیکس کردن جمجمه در دستگاه در خط وسط پشت سر حیوان یک برش ایجاد شد. بعد از تمیز کردن سطح جمجمه و یافتن نقطه برگما به عنوان مرجع، با استفاده از اطلس پاکسینوس و واتسون محل مورد نظر (مختصات ۰/۵ میلی‌متر خلفی نسبت به برگما، ۱/۲ میلی‌متر جانبی نسبت به خط ساژیتال و ۳/۲ میلی‌متر عمقی) (۲۲-۲۴) در دو طرف سر نشانه گذاری گردید. در محل نشانه گذاری شده بر روی سطح جمجمه، دو سوراخ به کمک دریل دندانپزشکی ایجاد و کانول گذاری انجام شد.

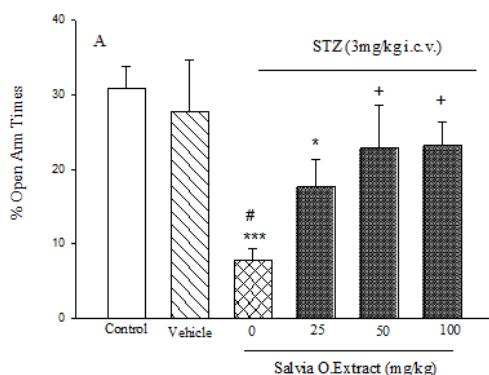
پس از یک هفته فرصت برای بهبودی، استرپتوزوتوسین به شکل درون بطنی تزریق شد و پنج دقیقه بعد از تزریق، اولین آزمون ماز بعلاوه مرتفع انجام شد. آزمون اضطرابی دوم هفت روز پس از تزریق استرپتوزوتوسین انجام شد. آزمون ماز بعلاوه مرتفع یکی از معتبرترین ابزارهای سنجش اضطراب در جوندگان است. این وسیله در ارتفاع ۱ متری از سطح زمین قرار دارد و دارای چهار عدد بازو (راهرو) و به شکل بعلاوه است که دو بازوی آن باز و دو بازوی دیگر بسته هستند. برای شروع تست موش صحرایی را در قسمت مرکزی و رو به بازوی باز قرار می‌دهیم. حیوان به مدت ۵ دقیقه آزادانه در بازوها در حالی تردد می‌کند که حرکاتش توسط دوربین نصب شده در بالای ماز ضبط می‌شود. تجزیه و تحلیل اطلاعات توسط کامپیوتری که دوربین به آن متصل است



شکل ۳- درصد دفعات ورود به بازوی باز، ۵ دقیقه بعد از تزریق دو طرفه استرپتوزوتوسین به بطن، در گروه‌های مختلف

با استفاده از آزمون ماز بعلاوه‌ای مرتفع فعالیت حرکتی حیوانات ارزیابی گردید. آنالیز داده‌ها نشان داد که تزریق درون بطنی استرپتوزوتوسین و تزریق محیطی دوزهای مختلف عصاره‌ی مریم‌گلی اثر معنی‌داری بر روی فعالیت حرکتی حیوان‌ها نسبت به گروه کنترل نداشته است [F (۵,۳۰) = ۰/۹۱۹ و P = ۰/۴۸۲].

اشکال ۴ و ۵ اثرات تزریق محیطی دوزهای مختلف عصاره‌ی مریم‌گلی، یک هفته بعد از تزریق درون بطنی استرپتوزوتوسین بر روی فاکتورهای مدنظر در ماز بعلاوه‌ای مرتفع را نشان می‌دهد. آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که گروه‌های مختلف از نظر درصد زمان گذرانده شده در بازوی باز و تعداد دفعات ورود به بازوی باز، با یکدیگر تفاوت معنادار دارند، به ترتیب [F (۵,۳۰) = ۲/۲۰۷ و P = ۰/۰۸۰] و [F (۵,۳۰) = ۰/۸۹۴ و P = ۰/۴۹۸].



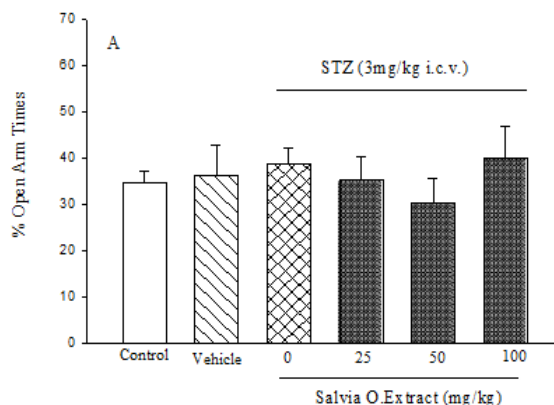
شکل ۴- اثر دوزهای متفاوت عصاره‌ی مریم‌گلی بر فاکتور درصد زمان حضور در بازوی باز، ۷ روز بعد از تزریق درون بطنی استرپتوزوتوسین در مقایسه با گروه کنترل. # P < ۰/۰۵، در مقایسه با گروه vehicle. * P < ۰/۰۵، در مقایسه با گروه کنترل. + P < ۰/۰۵، در مقایسه با گروه STZ.

انجام می‌شود. نتایج به شکل شاخص درصد ورود به راهروی باز و درصد زمان گذرانده شده در راهروی باز در یک فایل اکسل برای استفاده بعدی ذخیره می‌گردد. لازم به ذکر است که افزایش معنادار در این دو شاخص نشان‌دهنده کاهش اضطراب در این آزمون است (۲۵). بعد از به دست آوردن داده‌ها در گروه‌های آزمایشی مختلف محاسبات از طریق انجام روش آنالیز واریانس یک طرفه و دو طرفه به کمک نرم‌افزار SPSS صورت گرفت. بعد از یک F معنی‌دار به کمک post hoc tukey ادامه یافت. از لحاظ آماری P کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار فرض شد.

نتایج

به منظور بررسی اثر تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین بر رفتارهای شبه اضطرابی و همین‌طور بررسی اثرات تزریق محیطی عصاره‌ی مریم‌گلی بر این رفتار، از ماز بعلاوه مرتفع استفاده شد. معیارهای اصلی ارزیابی رفتار اضطرابی، درصد زمانی است که حیوان در طول آزمون در بازوی باز باقی می‌ماند و درصد تعداد دفعاتی است که حیوان در طول آزمون وارد بازوی باز می‌شود. آزمون‌های رفتاری در دو دوره‌ی زمانی، ۵ دقیقه بعد از تزریق استرپتوزوتوسین و یک هفته بعد از تزریق آن انجام شدند.

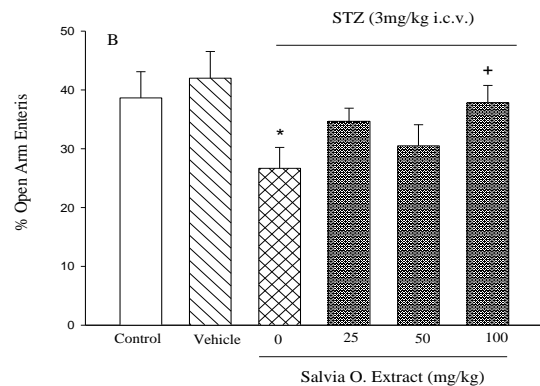
اشکال ۲ و ۳ اثرات تزریق محیطی دوزهای مختلف عصاره‌ی مریم‌گلی، ۵ دقیقه بعد از تزریق درون بطنی استرپتوزوتوسین را بر روی درصد زمان گذرانده شده در بازوی باز و درصد دفعات ورود به آن را نشان می‌دهد. آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که گروه‌های مختلف از نظر درصد زمان گذرانده شده در بازوی باز و تعداد دفعات ورود به بازوی باز، با یکدیگر تفاوت معنادار ندارند، به ترتیب [F (۵,۳۰) = ۲/۲۰۷ و P = ۰/۰۸۰] و [F (۵,۳۰) = ۰/۸۹۴ و P = ۰/۴۹۸].



شکل ۲- درصد زمان حضور بازوی باز، ۵ دقیقه بعد از تزریق دو طرفه استرپتوزوتوسین به بطن، در گروه‌های مختلف

اختلال در حافظه کوتاه مدت و بلند مدت دچار نقص شده بود. درحالی که با گذشت شش هفته اختلال در حافظه کوتاه مدت و بلند مدت نیز پدیدار شد (۲۸). در مطالعه دیگری، تجویز استرپتوزوتوسین منجر به کاهش شناختی قابل توجه پس از ۸ هفته شد (۲۹). علاوه بر جنبه‌های شناختی، حافظه و یادگیری، برخی از مطالعات القای تأخیری رفتارهای شبه اضطرابی به دنبال مصرف استرپتوزوتوسین را عنوان کرده‌اند. به‌طور مثال مطالعه‌ی چهار هفته‌ای که دامیان و همکاران در سال ۲۰۱۴ بر روی موش‌های نوع CD1 انجام دادند بروز رفتارهای اضطرابی در آزمون میدان باز شامل کاهش عمل ایستادن روی دو پا و افزایش رفتار نظافت بدن و همچنین کاهش شاخص درصد ورود به بازوی باز در آزمون ماز بعلاوه‌ای دو هفته پس از تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین با دوز ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دیده شد (۳۰). همچنین یوان و همکاران در سال ۲۰۱۹ گزارش کردند سنجش رفتارهای شبه اضطرابی به‌وسیله دستگاه آزمون اضطراب جعبه تاریک و روشن، ماز بعلاوه‌ای مرتفع و همچنین کاهش شاخص مدت زمان حضور در مرکز نسبت به محیط در آزمون میدان باز حاکی از ظهور اضطراب در موش سوری نوع C57BL/6J دریافت‌کننده استرپتوزوتوسین نسبت به حیوانات گروه کنترل پس از تأخیری سه هفته‌ای بود (۳۰). در حالی که نتایج پژوهش ما ظهور رفتارهای اضطرابی را تنها یک هفته پس از مصرف داخل بطنی استرپتوزوتوسین نشان داد. دلیل تفاوت در بروز رفتارهای شبه اضطرابی پژوهش حاضر با مطالعاتی که پیشتر به آنها اشاره شد ممکن است مربوط به نحوه مصرف استرپتوزوتوسین، دوز مصرفی آن و یا تفاوت نژادی حیوانات باشد. به‌هرحال نتیجه مشترک در بین مطالعات پیشین و مطالعه حاضر وجود تأخیر در ایجاد اثرات شبه اضطرابی به‌دنبال تجویز استرپتوزوتوسین است. براساس نتایج پژوهش حاضر عصاره آبی الکلی گیاه مریم گلی به شکل وابسته به دوز دارای اثرات پیشگیری‌کننده بر اضطراب القا شده به‌واسطه تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین در موش‌های صحرایی می‌باشد. در واقع تجویز عصاره مریم گلی در دوز بالا (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) هر دو شاخص سنجش کاهش اضطراب شامل درصد زمان حضور در بازوی باز و درصد تعداد دفعات ورود به بازوی باز را افزایش داد که حاکی از اثرات کاهش‌ی این دارو بر اضطراب است. در حالی که دوز متوسط آن (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تنها شاخص درصد زمان حضور در بازوی باز را افزایش داد و تجویز دوز پایین این دارو (۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) هیچ کمکی به کاهش اضطراب ناشی از استرپتوزوتوسین نکرد.

ویژگی‌های ضد اضطرابی و تسکین‌دهندگی قوی گیاه مریم گلی به‌عنوان یک ترکیب طبیعی در مطالعات مختلف حیوانی و انسانی مورد



شکل ۵- اثر دوزهای متفاوت عصاره‌ی مریم‌گلی بر فاکتور درصد تعداد ورود به بازوی باز، ۷ روز بعد از تزریق استرپتوزوتوسین
 $P < 0.05$ در مقایسه با گروه STZ و $P < 0.05$ در مقایسه با گروه کنترل

بحث

براساس نتایج پژوهش حاضر اثر تخریبی استرپتوزوتوسین ۵ دقیقه بعد از تزریق دیده نشده و میزان اضطراب حیوانات این گروه با سایر گروه‌ها تفاوت معناداری نداشت. درحالی که نتایج آزمون اضطراب یک هفته پس از تزریق استرپتوزوتوسین حاکی از افزایش میزان اضطراب بود که میزان این اضطراب در گروه درمان با مریم گلی به شکل معناداری در مقایسه با گروه دریافت‌کننده استرپتوزوتوسین پایین تر بود. نتایج ما نشان داد که به نظر می‌رسد داروی استرپتوزوتوسین نیاز به زمان برای القای اثرات خود بر رفتارهای اضطرابی دارد. اثرات تأخیری اما پایدار استرپتوزوتوسین در زمینه‌های مختلف به‌طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است. براساس گزارش سان و همکاران در سال ۲۰۱۵، یک ماه پس از تزریق داخل بطنی استرپتوزوسین نورون‌ز و تکثیر سلولی در هیپوکمپ تغییری نکرد در حالی که با گذشت سه ماه از تزریق، تولید نورون‌های بالغ و نابالغ در هیپوکمپ به‌طور قابل توجهی کاهش یافت (۲۶). همچنین گزارش شده است که علاوه بر تغییر تدریجی شاخص‌های الکتروکاردیوگرام، کاهش ضربان قلب و دمای بدن موش‌های صحرایی مدل دیابت در طی بازه زمانی یک تا دو هفته‌ای به‌دنبال تجویز استرپتوزوتوسین ایجاد می‌شود (۲۷). تحقیقات نشان داده‌اند که استرپتوزوتوسین نه تنها اثرات تأخیری بر روی شاخص‌های متابولیک دارد بلکه چنین اثری بر روی رفتارهای مرتبط با حافظه و یادگیری نیز نشان می‌دهد. به‌طور مثال بررسی شاخص‌های یادگیری، حافظه کوتاه مدت، بلند مدت و حافظه‌کاری که به‌ترتیب به‌وسیله ماز آبی موریس و آزمون تشخیص شیء جدید در مدل حیوانی هیپیرگلیسمی ناشی از القای استرپتوزوتوسین سنجش شده بود نشان داد که با گذشت سه هفته پس از القای مدل، حافظه‌کاری بدون

جمع‌آوری داده‌ها: سهیلا شهسوار کله سر
تحلیل داده‌ها: کتانه ابراری و اکبر حاجی‌زاده مقدم
نگارش و بازبینی مقاله: کتانه ابراری و فهیمه محسنی
نظارت بر مطالعه: اکبر حاجی‌زاده مقدم

حمایت مالی

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه مازندران و دانشگاه دامغان انجام شده است.

کد اخلاق

این پژوهش دارای کد اخلاق IR.UMZ.REC. 1400.012 از دانشگاه مازندران است.

References

- Siedlecka D, Micał W, Krzewicka-Romaniuk E. Streptozotocin-an antibiotic used to induce diabetes on experimental animals. *Journal of Education, Health and Sport* 2020;10:906-9. doi: 10.12775/JEHS.2020.10.09.110
- Voronkov D, Stavrovskaya A, Stelmashook E, Genrikhs E, Isaev N. Neurodegenerative changes in rat brain in streptozotocin model of Alzheimer's disease. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 2019;166:793-6. doi: 10.1007/s10517-019-04442-y
- Herr RR, Eble TE, Bergy ME, Jahnke HK. Isolation and characterization of streptozotocin. *Antibiot Annu* 1959;7:236-40.
- Herr RR, Jahnke HK, Argoudelis AD. Structure of streptozotocin. *Journal of the American Chemical Society* 1967;89:4808-9. doi: 10.1021/ja00994a053
- Broder LE, CARTER SK. Pancreatic islet cell carcinoma: II. Results of therapy with streptozotocin in 52 patients. *Annals of Internal Medicine* 1973;79:108-18. doi:10.7326/0003-4819-79-1-108
- Duprriest Jr RW, Huntington MC, Massey WH, Weiss AJ, Wilson WL, Fletcher WS. Streptozotocin therapy in 22 cancer patients. *Cancer* 1975;35:358-67. doi: 10.1002/1097-0142(197502)35:2<358::aid-cnrcr2820350210>3.0.co;2-g
- Moertel CG, Hanley JA, Johnson LA. Streptozocin alone compared with streptozocin plus fluorouracil in the treatment of advanced islet-cell carcinoma. *New England Journal of Medicine* 1980;303:1189-94. doi: 10.1056/NEJM198011203032101
- Moertel CG, Lefkopoulo M, Lipsitz S, Hahn RG, Klaassen D. Streptozocin-doxorubicin, streptozocin-fluorouracil, or chlorozotocin in the treatment of advanced islet-cell carcinoma. *New England Journal of Medicine* 1992;326:519-23. doi: 10.1056/NEJM199202203260804
- Capdevila J, Ducreux M, García Carbonero R, Grande E, Halfdanarson T, Pavel M, et al. Streptozotocin, 1982-2022: Forty Years from the FDA's Approval to treat pancreatic neuroendocrine tumors. *Neuroendocrinology* 2022;112:1155-67. doi: 10.1159/000524988
- Nakai K, Umehara M, Minamida A, Yamauchi-Sawada H, Sunahara Y, Matoba Y, et al. Streptozotocin induces renal proximal tubular injury through p53 signaling activation. *Sci Rep* 2023;13:8705. doi: 10.1038/s41598-023-35850-w
- Banerjee A, Chisti Y, Banerjee UC. Streptokinase—a clinically useful thrombolytic agent. *Biotechnology Advances* 2004;22:287-307. doi: 10.1016/j.biotechadv.2003.09.004
- Ghasemi A, Jeddi S. Streptozotocin as a tool for induction of rat models of diabetes: a practical guide. *Excli J* 2023;22:274-94. doi: 10.17179/excli2022-5720

توجه زیادی قرار گرفته است. اخیراً یک کارآزمایی بالینی سه سو کور اثرات ضداضطرابی چشمگیر عصاره مریم گلی را در زنان یائسه بررسی کرده است. در این تحقیق شاخص اضطراب از طریق نمره‌گذاری پرسشنامه وضعیت اضطراب اسپیلبرگر سنجیده شده بود. نتایج این مطالعه نشان داد که اضطراب در گروه درمان با مریم گلی نسبت به گروه کنترل که این درمان را دریافت نکرده بودند به شکل معناداری کمتر بود (۳۱). مطالعه دیگری از نوع متقاطع دو سوکور کنترل شده با دارو نما بر روی ۳۰ شرکت‌کننده داوطلب مشخص کرد استفاده از عصاره مریم گلی منجر به بهبود وابسته به دوز در رتبه‌بندی خلق و خوی اندازه‌گیری شده با پرسشنامه بوند - لدر می‌شود. مریم گلی با دوز پایین‌تر ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اضطراب را کاهش می‌دهد و مصرف دوز بالاتر ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث افزایش شاخص هوشیاری، آرامش و رضایت می‌شود (۳۲). علاوه بر این، مطالعه بر روی موش‌های صحرایی مدل آسیب هیپوکمپ نشان داد که عصاره مریم گلی نه تنها قابلیت تقویت حافظه را داراست بلکه خواص ضداضطرابی و ضدافسردگی بالایی دارد که این ویژگی‌ها به ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیب فیتوشیمیایی آن خصوصاً فنولیک، فلاونوئید و تانن موجود در این گیاه نسبت داده شده است (۳۳). مجموع یافته‌های مطالعه حاضر در کنار مطالعات پیشین که به آنها اشاره شد بر نقش امیدوارکننده گیاه مریم گلی در کاهش علائم اضطراب تأکید می‌کنند. مریم گلی نه تنها می‌تواند جایگزینی طبیعی و مؤثر برای مدیریت ناشی از مواجهه با شرایط استرس‌زا باشد بلکه ممکن است بتوان آن را به‌عنوان ترکیبی با نقش محافظت‌کنندگی در برابر عوارض اضطراب زایی ناشی از مصرف برخی داروها معرفی کرد، هرچند که در این زمینه تحقیقات بیشتر در آینده موردنیاز است.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از گروه علوم جانوری دانشکده علوم پایه دانشگاه مازندران که با در اختیار قرار دادن امکانات، ما را در انجام این تحقیق یاری کردند قدردانی می‌شود.

ملاحظات اخلاقی

نویسندگان اعلام می‌دارند که نتایج گزارش شده در تحقیق حاضر، در هیچ محله دیگری منتشر نشده است و کلیه ملاحظات اخلاقی مرتبط با نگارش و تحقیق رعایت شده است.

تعارض منافع

هیچ تعارض منافی در ارتباط با این تحقیق وجود ندارد.

مشارکت نویسندگان

نویسندگان به شرح زیر در تهیه و تدوین این مقاله نقش داشته‌اند: طراحی پژوهش: کتانه ابراری و اکبر حاجی‌زاده مقدم

13. Wan Chik M, Ramli NA, Mohamad Nor Hazalin NA, Surindar Singh GK. Streptozotocin mechanisms and its role in rodent models for Alzheimer's disease. *Toxin Reviews* 2023;42:491-502.
14. Roy A, Sharma S, Nag TC, Kataly J, Gupta YK, Jain S. Cognitive Dysfunction and Anxiety Resulting from Synaptic Downscaling, Hippocampal Atrophy, and Ventricular Enlargement with Intracerebroventricular Streptozotocin Injection in Male Wistar Rats. *Neurotox Res* 2022;40:2179-202. doi: 10.1007/s12640-022-00563-x
15. Bikri S, Aboussaleh Y, Berrani A, Louraghi I, Hafid A, Chakib S, et al. Effects of date seeds administration on anxiety and depressive symptoms in streptozotocin-induced diabetic rats: biochemical and behavioral evidences. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology* 2021;32:1031-40. doi: 10.1515/jbcpp-2020-0225
16. Khan A, Akram M, Thiruvengadam M, Daniyal M, Zakki SA, Munir N, et al. Anti-anxiety properties of selected medicinal plants. *Current pharmaceutical Biotechnology* 2022;23:1041-60. doi: 10.2174/1389201022666210122125131
17. Ghorbani A, Esmailizadeh M. Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. *Journal of Traditional and Complementary Medicine* 2017;7:433-40. doi: 10.1016/j.jtcme.2016.12.014
18. Miraj S, Kiani S. A review study of therapeutic effects of *Salvia officinalis* L. *Der Pharmacia Lettre* 2016;8:299-303.
19. Mohseni F, Khaksari M, Rafeaie R, Rahimi K, Norouzi P, Garmabi B. Apelin 13 improves anxiety and cognition via hippocampal increases BDNF expression and reduction cell death in neonatal alcohol exposed rats. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics* 2021;27:1351-62. doi: 10.1007/s10989-021-10173-4
20. Rezaeian L, Kalalian-Moghaddam H, Mohseni F, Khaksari M, Rafeaie R. Effects of berberine hydrochloride on methamphetamine-induced anxiety behaviors and relapse in rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences* 2020;23:1480. doi: 10.22038/ijbms.2020.47285.10884
21. C Correia S, X Santos R, S Santos M, Casadesus G, C LaManna J, Perry G, et al. Mitochondrial abnormalities in a streptozotocin-induced rat model of sporadic Alzheimer's disease. *Current Alzheimer Research* 2013;10:406-19. doi: 10.2174/1567205011310040006
22. Lester-Coll N, Rivera EJ, Soscia SJ, Doiron K, Wands JR, De la Monte SM. Intracerebral streptozotocin model of type 3 diabetes: relevance to sporadic Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease* 2006;9:13-33. doi: 10.3233/jad-2006-9102
23. Sodhi RK, Singh N. All-trans retinoic acid rescues memory deficits and neuropathological changes in mouse model of streptozotocin-induced dementia of Alzheimer's type. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 2013;40:38-46. doi: 10.1016/j.pnpbp.2012.09.012
24. Esmaeili MH, Mafe-Esmaeili M. The effect of metformin on memory retention of inhibitory avoidance learning in streptozotocin-induced rat model of alzheimer's disease. *Feyz Journal of Kashan University of Medical Sciences* 2015;19.
25. Mohseni F, Behnam SG, Rafeaie R. A Review of the historical evolutionary process of dry and water maze tests in rodents. *Basic and Clinical Neuroscience* 2020;11:389. doi: 10.32598/bcn.11.4.1425.1
26. Sun P, Knezovic A, Parlak M, Cuber J, M Karabeg M, Deckert J, et al. Long-term effects of intracerebroventricular streptozotocin treatment on adult neurogenesis in the rat hippocampus. *Current Alzheimer Research* 2015;12:772-84. doi: 10.2174/1567205012666150710112147
27. Howarth F, Jacobson M, Shafiullah M, Adeghate E. Long-term effects of streptozotocin-induced diabetes on the electrocardiogram, physical activity and body temperature in rats. *Experimental Physiology* 2005;90:827-35. doi: 10.1113/expphysiol.2005.031252
28. Ahmed A, Zeng G, Jiang D, Lin H, Azhar M, Farooq AD, et al. Time-dependent impairments in learning and memory in Streptozotocin-induced hyperglycemic rats. *Metabolic Brain Disease* 2019;34:1431-46. doi: 10.1007/s11011-019-00448-7
29. Jamali-Raoufi N, Keimasi S, Baluchnejadmojarad T. Isorhamnetin mitigates learning and memory disturbances in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Basic and Clinical Pathophysiology* 2018;6:37-42. doi: 10.22070/jbcp.2018.2769.1084
30. Damián JP, Acosta V, Da Cuiña M, Ramírez I, Oddone N, Zambrana A, et al. Effect of resveratrol on behavioral Performance of Streptozotocin-induced diabetic mice in Anxiety tests. *Experimental Animals* 2014;63:277-87. doi: 10.1538/expanim.63.277
31. Zeidabadi A, Emamghoreishi M, Tayebi N, Akbarzadeh M. Comparison of the effect of *Salvia officinalis* extract and *Vitex agnus-castus* extract on anxiety in postmenopausal women: A randomized, triple-blind, placebo-controlled trial. *Bulletin of Pharmaceutical Sciences Assiut* 2022;45:119-28. doi: 10.21608/bfsa.2022.239367
32. Kennedy DO, Pace S, Haskell C, Okello EJ, Milne A, Scholey AB. Effects of cholinesterase inhibiting sage (*Salvia officinalis*) on mood, anxiety and performance on a psychological stressor battery. *Neuropsychopharmacology* 2006;31:845-52. doi: 10.1038/sj.npp.1300907
33. El Gabbas Z, Bezza K, Laadraoui J, Makbal R, Aboufatima R, Chait A. *Salvia officinalis* induces antidepressant-like effect, anxiolytic activity and learning improvement in hippocampal lesioned and intact adult rats. *Bangladesh Journal of Pharmacology* 2018;13:367-78. doi: 10.3329/bjpp.v13i4.38375



Protective Effects of Hydroalcoholic Extract of *Salvia Officinalis* on Anxiety-Like Behaviors Induced by Intraventricular Administration of Streptozotocin in Male Rats

Soheila Shahsavari Kalehsar (M.Sc.)¹, Kataneh Abrari (Ph.D.)^{2*}, Akbar Hajizadeh Moghaddam (Ph.D.)³, Fahimeh Mohseni (Ph.D.)⁴

1- Dept. of Biology, Faculty of Biology, Damghan University, Damghan, Semnan, Iran.

2- Dept. of Animal Sciences, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Hesarek Karaj, Alborz Province, Iran.

3- Dept. of Animal Sciences, Faculty of Basic Sciences, Mazandaran University. Babolsar, Mazandaran Province, Iran.

4- Dept. of Addiction, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.

Received: 18 June 2024, Accepted: 31 July 2024

Abstract:

Introduction: The present study aimed to investigate the effect of *Salvia officinalis* on anxiety-like behaviors triggered by intracerebroventricular injection of streptozotocin in male Wistar rats.

Methods: The animals were divided into four groups: control, vehicle, streptozotocin, and streptozotocin with *Salvia officinalis* treatment, which included dosages of 50, 25, and 100 mg/kg. The control group received no treatment. The Vehicle group received saline intraperitoneally and intracerebroventricularly. The streptozotocin group and the streptozotocin + *Salvia officinalis* treatment groups received saline intraperitoneally and hydroalcoholic extract of *Salvia officinalis*, respectively, for 14 days. Intracerebroventricular cannulas were then implanted into the animals' brains. One week after recovery, the streptozotocin group was administered streptozotocin (3 mg/kg), while the streptozotocin+ *Salvia officinalis* group was administered *Salvia officinalis* extract intraventricularly. Anxiety-like behavior was evaluated at two time points: 5 minutes and one week after streptozotocin administration, using the Elevated Plus Maze.

Results: *Salvia officinalis* at the high dose (100 mg/kg) significantly increased both the percentage of open arm times and the percentage of open arm entries compared to the streptozotocin group ($P < 0.05$). The medium dose (50 mg/kg) only resulted in a significant increase in the percentage of open arm times ($P < 0.05$), while the low dose (25 mg/kg) did not result in a reduction of streptozotocin-induced anxiety.

Conclusion: The plant extract of *Salvia officinalis* shows a dose-dependent protective effect against anxiety induced by intracerebroventricular administration of streptozotocin in rats.

Keyword: Anxiety, *Salvia officinalis*, Streptozotocin.

Conflict of Interest: No

*Corresponding author: K. Abrari, Email: k.abrari@khu.ac.ir

Citation: Soheila Shahsavari Kalehsar, Kataneh Abrari, Akbar Hajizadeh Moghaddam, Fahimeh Mohseni. Protective effects of hydroalcoholic extract of *Salvia officinalis* on anxiety-like behaviors induced by intraventricular administration of streptozotocin in male rats. Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences 2024;19(3):2-9.

