

بررسی اثر حفاظتی عصاره برگ زیتون بر رفتارهای شبه اضطرابی در مدل حیوانی بیماری پارکینسون

سیده سعیده حسینی (MSc)^۱، اکبر حاجی زاده مقدم (PhD)^{۱*}

۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران

دریافت: ۹۳/۹/۹، اصلاح: ۹۳/۱۱/۱۵، پذیرش: ۹۴/۲/۱۶

خلاصه

سابقه و هدف: استرس اکسیداتیو یکی از عوامل اصلی بروز بیماری پارکینسون است. اختلالات خلقی مانند اضطراب در پارکینسون شایع است. عصاره برگ زیتون به دلیل ترکیبات فنلی فراوان، دارای خاصیت آنتی اکسیدانی و حفاظت نورونی قوی می باشد. هدف از این مطالعه، بررسی اثر حفاظتی عصاره برگ زیتون بر رفتارهای شبه اضطرابی در مدل بیماری پارکینسون با استفاده از تست ماز به علاوه ای شکل مرتفع است.

مواد و روشها: در این تحقیق تجربی، از ۴۲ سر موش صحرایی که به ۶ گروه ۷ تایی شامل گروه های کنترل، شم، بیمار، بیمار تیمار شده با عصاره تقسیم شدند، استفاده گردید. گروه کنترل با عصاره تیمار نشد. گروه های شم و بیمار حلال عصاره و گروه های بیمار تیمار شده دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره را به روش گاواژ به مدت ۷ هفته دریافت نمودند. تمام گروه ها به جز گروه کنترل و شم، از طریق جراحی با دستگاه استریوتاکسی، سم ۶-هیدروکسی دوپامین در ناحیه استریاتوم مغز به صورت یک طرفه دریافت کردند و مدل حیوانی بیماری پارکینسون ایجاد شد. سپس در پایان ۳ هفته متوالی بعد از تزریق سم، رفتارهای شبه اضطرابی با استفاده از تست ماز به علاوه ای شکل مرتفع ارزیابی شدند.

یافته ها: تزریق سم ۶-هیدروکسی دوپامین به سبب کاهش مدت زمان ورود به بازوی باز و تعداد دفعات ورود به بازوی باز گردید و بیمار با غلظت های مختلف عصاره سبب افزایش این فاکتورها در مقایسه با گروه بیمار شده است.

نتیجه گیری: نتایج نشان داد که مصرف خوراکی عصاره برگ زیتون می تواند موجب کاهش معنی دار رفتارهای شبه اضطرابی القاء شده با ۶-هیدروکسی دوپامین در مدل حیوانی بیماری پارکینسون شود.

واژه های کلیدی: پارکینسون، تست ماز به علاوه ای شکل مرتفع، رفتار شبه اضطرابی، عصاره برگ زیتون.

مقدمه

اضطراب از شایع ترین اختلالات روانی است که با علائم جسمی و بدنی مختلف همراه است (۱) و یکی از علل آن استرس اکسیداتیو در سیستم عصبی مرکزی است. استرس اکسیداتیو، به واسطه پراکسیداسیون لیپیدی منجر به کاهش سیالیت غشاء و آسیب پروتئین های غشاء نورون ها شده و در نتیجه موجب تغییر رهایی ناقلین عصبی و عملکرد کلی مغز می گردد (۲). همچنین استرس اکسیداتیو یکی از دلایل اصلی تحلیل نورون های دوپامینرژیک در بیماری پارکینسون است که این بیماری با بروز رفتارهای شبه اضطرابی همراه است (۳و۴). به طوری که بروز این رفتارها در بیش از ۴۰٪ از افراد پارکینسونی اثرات نامطلوبی بر توانایی حرکتی و کیفیت زندگی آن ها دارد (۵). تزریق سم ۶-هیدروکسی دوپامین (6-OHDA) (Sigma Aldrich) به هسته جسم سیاه و یا استریاتوم از طریق تخریب نورون های دوپامینی سبب القاء مدل حیوانی بیماری پارکینسونی می گردد (۶). این سم پس از ورود انتخابی از طریق انتقال دهنده های دوپامینی، با تولید گونه های فعال اکسیژن در نورون های مسیر نیکرواستریاتال، منجر به تخریب، التهاب و در نهایت مرگ نورونی می شود (۷و۸). مطالعات متعددی گزارش نمودند که مصرف مواد غذایی گیاهی و یا مکمل های غنی از پلی فنل احتمالاً موجب تأخیر در شروع

و پیشرفت بیماری هایی از قبیل آلزایمر، پارکینسون و اختلالات عصبی مرتبط با آن ها می شود (۹و۱۰). در میان آنتی اکسیدان های طبیعی، درخت زیتون به طور گسترده به عنوان یکی از گونه های با فعالیت آنتی اکسیدانی قوی در روغن، میوه و برگ خود در نظر گرفته شده است (۱۱). مطالعات نشان داده است که بیوفنل های زیتون دارای خواص ضد آتروژنیک، آنتی اکسیدانی و ضد التهاب هستند که موجب جلوگیری یا توقف فرآیندهای تخریب نورونی می شوند. اخیراً روغن زیتون نیز به عنوان یک آرام بخش پیشنهاد شده است (۱۲). از طرفی، مطالعاتی نیز اثرات پلی فنل های موجود در عصاره های گیاهی از قبیل چای سبز را گزارش نمودند که این ترکیب ها می توانند از تخریب نورون های دوپامینرژیک جسم سیاه در مدل حیوانی بیماری پارکینسون جلوگیری کنند (۱۳). عصاره برگ زیتون که غنی از فنل های مانند اولئوروپین، لوتئولین-۷-گلوکوزید، آپیزین-۷-گلوکوزید، ورباسکوزید و هیدروکسی تیروزول است که این ترکیبات خنثی کننده سوپراکسید و رادیکال هیدروکسیل در شرایط آزمایشگاهی هستند. در این شرایط عمدتاً هیدروکسی تیروزول، رادیکال های پیروکسل را در سطح غشا حذف می کند و اولئوروپین نیز روی زنجیره انتشار لیپیدی رادیکال های پیروکسل عمل می کند

این مقاله حاصل پایان نامه سیده سعیده حسینی دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری دانشگاه مازندران می باشد.

* مسئول مقاله: دکتر اکبر حاجی زاده مقدم

آدرس: پابلسر، دانشگاه مازندران، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی. تلفن: ۰۱۱-۳۵۳۰۲۴۵۳

E-mail: a.hajizadeh@umz.ac.ir

یک ماز چوبی به شکل بعلاوه است. این ماز دارای دو بازوی باز بدون دیواره و دو بازوی بسته با دیواره‌ای به ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر می‌باشد. طول و عرض بازوی باز به ترتیب ۵۰ و ۱۰ سانتی‌متر است که به صورت عمود به بازوهای بسته به ابعاد ۱۰ سانتی‌متر مربع در ناحیه مرکز، متصل می‌باشند. این مجموعه بر روی پایه‌ای به ارتفاع ۵۰ سانتی‌متر از سطح زمین قرار دارد. لامپ کم نوری در اتاق تست به عنوان منبع روشنایی در طول آزمایش وجود دارد (۱۵). قبل از شروع آزمایش، موش‌ها به مدت ۵ دقیقه در اتاقی که دستگاه در آن است، قرار گرفتند تا با محیط آشنا شوند. حیوانات در قسمت مرکز دستگاه و رو به بازوی باز قرار داده شدند و به مدت ۵ دقیقه اجازه داشتند تا در بازوهای باز و بسته حرکت کنند. درصد زمان گذراندن شده در بازوی باز (OAT%) و درصد ورود به بازوی باز (OAE%) به عنوان فاکتورهای استاندارد ارزیابی اضطراب (۲۰) به این شکل محاسبه شدند: $OAT\% = \frac{\text{زمان ورود به بازوی باز}}{\text{کل زمان بازوها}} \times 100$ ، $OAE\% = \frac{\text{دفعات ورود به بازوی باز}}{\text{کل دفعات ورود به بازوها}} \times 100$. در این مطالعه کل دفعات ورود به بازوها به عنوان فاکتور فعالیت حرکتی در نظر گرفته شد (۲۱). هر چه مدت زمان صرف شده در بازوی باز و تعداد دفعات ورود به آن کمتر باشد، رفتار شبه اضطرابی در آن بیشتر می‌باشد. برای تجزیه و تحلیل آماری و مقایسه بین گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد. تمامی محاسبات با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۶ انجام شد و $p < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد. برای رسم نمودارها نیز از نرم افزار سیگما پلات با ویرایش ۱۲/۵ استفاده گردید.

یافته ها

نتایج آزمون چرخشی با آپومورفین: نتایج آزمون چرخش القاء شده با آپومورفین نشان داد که تعداد چرخش‌های القایی در گروه کنترل و شم کمتر از ۳۰ چرخش بوده که تفاوت معنی داری در تعداد چرخش‌های خالص در این دو گروه مشاهده نشد. همچنین تعداد چرخش خالص در حیوانات گروه بیمار در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی داری یافت ($p < 0.001$). مصرف عصاره برگ زیتون نیز به طور قابل توجهی سبب کاهش چرخش به طرف مقابل در گروه‌های بیمار تیمار شده با دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن شده است ($p < 0.001$) (جدول ۱).

جدول ۱. میانگین تعداد کل دفعات چرخش القاء شده با تزریق داخل

صفافی آپومورفین در هفته سوم بعد از جراحی

گروه	میانگین چرخش خالص Mean±SE
کنترل	۱۲/۷۱±۳/۰۳
شم	۱۳/۷۱±۳/۰۳
بیمار (۱۰ میکروگرم بر رت)	۱۳۷/۸۵±۲۵/۷۵***
دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم	۵۰/۱۴±۹/۰۹***++
دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم	۱۷/۸۵±۳/۲۳***
دوز ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم	۱۵/۷۱±۴/۴۹***

***اختلاف معنی دار با گروه کنترل ($p < 0.001$), ++اختلاف معنی دار با گروه بیمار

($p < 0.001$). نتایج به صورت Mean±SE بیان شده است (n=۷)

(۱۴). در همین راستا اثرات پلی فنل‌ها در فرآیندهای شناختی و تخریب نورونی از طریق برهم‌کنش با مسیرهای سیگنالینگ عصبی و گلیال اعمال شده که موجب اختلال در بیان ژن و مرگ سلولی می‌شود (۹). این مطالعه به منظور بررسی اثر حفاظتی عصاره برگ زیتون بر رفتارهای شبه اضطرابی در مدل بیماری پارکینسون با استفاده از تست ماز به علاوهای شکل مرتفع انجام شد.

مواد و روش‌ها

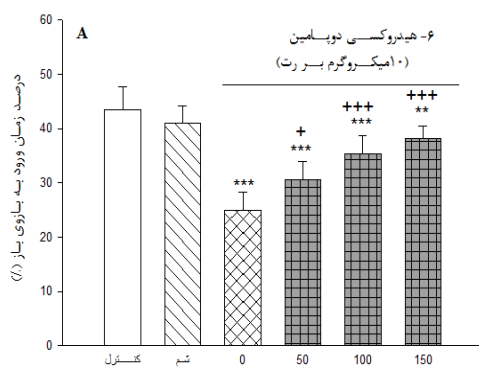
این مطالعه تجربی بر روی ۴۲ سر موش نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم وزن بدن انجام شد. حیوانات از پژوهشکده پاستور آمل خریداری و در قفس‌های جداگانه در سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و با دسترسی به آب و غذای کافی نگهداری شدند. کلیه آزمایشات مطابق آیین‌نامه اخلاقی کمیته اخلاق زیستی معاونت پژوهشی دانشگاه مازندران انجام شد. موش‌های صحرایی به ۶ گروه ۷ تایی: کنترل، شم، بیمار، بیمار تیمار شده با دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره برگ زیتون (۱۵ و ۱۶) تقسیم شدند. گروه‌های شم و بیمار با استفاده از روش گاواژ، حلال عصاره و گروه‌های بیمار تیمار شده، عصاره هیدروالکلی برگ زیتون را به صورت روزانه در بازه زمانی ۱۰-۱۲ صبح دریافت نمودند. سه هفته پس از تیمار، همه گروه‌ها به جزء گروه کنترل با تزریق درون صفاقی ۷۰ میلی گرم بر کیلوگرم کتامین و ۴ میلی گرم بر کیلوگرم زایلین بی‌هوش شده، سپس توسط دستگاه استریوتاکس جراحی شدند. کانول گذاری براساس اطلس Paxinos و Watson با مختصات قدامی-خلفی: ۱ میلی متر، خط جانبی: ۲/۵ میلی متر و عمقی نسبت به برگما: ۴/۵ میلی متر (۱۷) به صورت یک طرفه به داخل هسته استریاتوم نیمکره راست مغز انجام شد. بعد از چند روز، به موش‌های گروه بیمار و بیمار تیمار شده با عصاره، ۱۰ میکروگرم از 6-OHDA در ۲ میکرولیتر سالین حاوی ۰/۱ درصد آسکوربیک اسید از طریق سرنگ هامیلتون تزریق شدند. گروه شم نیز به کمک سرنگ هامیلتون، سالین دریافت کردند. تیمار با عصاره به مدت سه هفته بعد از جراحی نیز در گروه‌های بیمار تیمار شده ادامه یافت.

تست‌های رفتاری

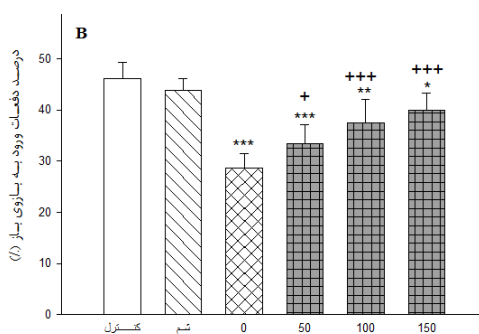
رفتار چرخشی القاء شده با آپومورفین: آپومورفین (Apomorphin hydrochloride: Sigma-Aldrich) آگونیستی برای دوپامین است که سبب چرخش به طرف مقابل ناحیه آسیب دیده با 6-OHDA در موش‌ها می‌شود (۱۸). رفتار چرخشی القاء شده با آپومورفین، ۲۱ روز پس از جراحی در تمامی گروه‌ها بررسی شد. حیوانات به مدت ۱۰ دقیقه برای آشنایی با محیط، درون یک محفظه استوانه‌ای به قطر ۲۸ و ارتفاع ۳۸ سانتی متر قرار گرفتند. سپس آپومورفین با غلظت ۵/۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت محلول در سالین حاوی اسید آسکوربیک ۰/۱ درصد به صورت درون صفاقی به موش‌ها تزریق شد (۱۹). یک دقیقه پس از تزریق، موش‌ها درون محفظه قرار گرفته و تعداد چرخش‌ها به سمت ناحیه آسیب دیده و ناحیه مقابل آن، به مدت یک ساعت ثبت شد. تعداد چرخش‌های خالص به صورت تفاضل بین چرخش‌ها در دو جهت محاسبه گردید.

تست ماز به علاوهای شکل مرتفع (Elevated plus-maze): در این مطالعه از تست رفتاری ماز به علاوهای شکل مرتفع (Elevated plus-Maze: EPM) برای بررسی رفتارهای شبه اضطرابی استفاده شد. دستگاه مورد استفاده

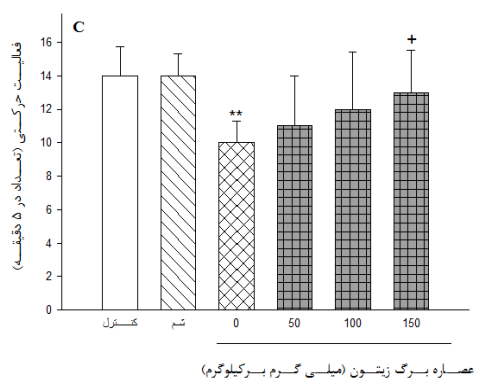
اثر مصرف عصاره بر رفتارهای شبه اضطرابی در پایان هفته دوم: کاهش معنی دار فاکتورهای OAT و OAE % گروه‌های تیمار شده با دوزهای مختلف عصاره برگ زیتون در پایان هفته دوم مشابه هفته اول در مقایسه با گروه کنترل وجود دارد. نتایج بررسی رفتارهای شبه اضطرابی در پایان هفته دوم نشان می‌دهد که مصرف خوراکی دوزهای مختلف عصاره برگ زیتون موجب کاهش معنی دار رفتارهای اضطرابی القاء شده با سم در مدل بیماری پارکینسون گردید (نمودار ۲).



نمودار A. درصد زمان گذرانده شده در بازوی باز



نمودار B. درصد دفعات ورود به بازوی بسته

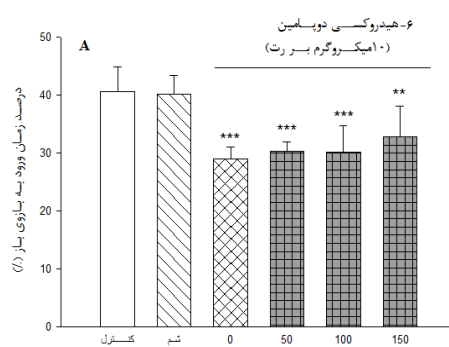


نمودار C. فعالیت حرکتی

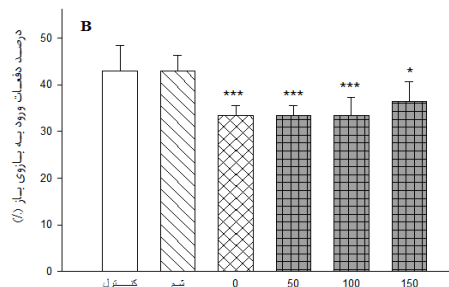
نمودار ۲. اثر مصرف دوزهای مختلف عصاره برگ زیتون بر رفتارهای شبه اضطرابی القاء شده با 6-OHDA در آزمون ماز به علاوه ای شکل مرتفع در هفته دوم. اختلاف معنی دار با گروه کنترل ($p < 0.05$), $^{*}p < 0.01$, $^{**}p < 0.001$, اختلاف معنی دار با گروه بیمار ($p < 0.05$), $^{+}p < 0.01$, $^{++}p < 0.001$, $^{+++}p < 0.0001$). نتایج به صورت $Mean \pm SE$ بیان شده است ($n=7$)

اثر تزریق سم 6-OHDA بر رفتارهای شبه اضطرابی: نتایج تزریق سم 6-OHDA بر رفتارهای شبه اضطرابی در طی سه هفته متوالی نشان داد که شاخص‌های OAT و OAE % کاهش معنی داری در مقایسه با گروه کنترل دارند ($p < 0.001$). این نتایج نشان‌دهنده بروز رفتارهای شبه اضطرابی در مدل حیوانی پارکینسون است که با گذشت زمان بر شدت آن‌ها افزوده می‌گردد.

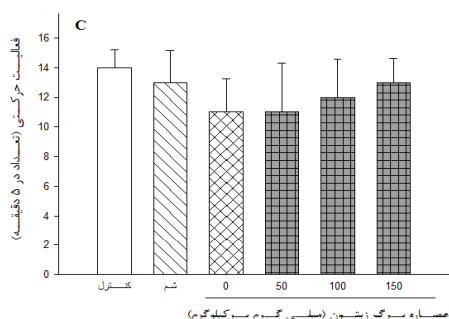
اثر مصرف عصاره برگ زیتون بر رفتارهای شبه اضطرابی در پایان هفته اول: فاکتورهای OAT و OAE % در گروه‌های تیمار با دوزهای مختلف عصاره برگ زیتون در پایان هفته اول همانند گروه بیمار کاهش معنی داری در مقایسه با گروه کنترل نشان می‌دهد. داده‌های مربوط به فعالیت حرکتی، تفاوت معنی داری را بین این گروه‌ها در مقایسه با گروه کنترل نشان ندادند (نمودار ۱).



نمودار A. درصد زمان گذرانده شده در بازوی باز



نمودار B. درصد دفعات ورود به بازوی بسته



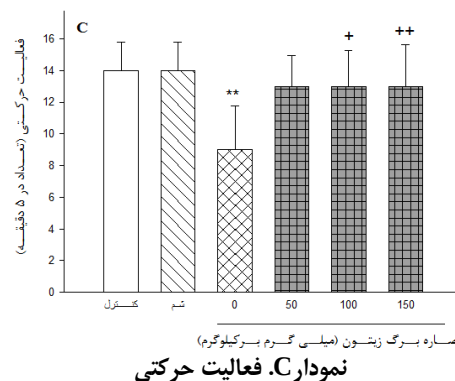
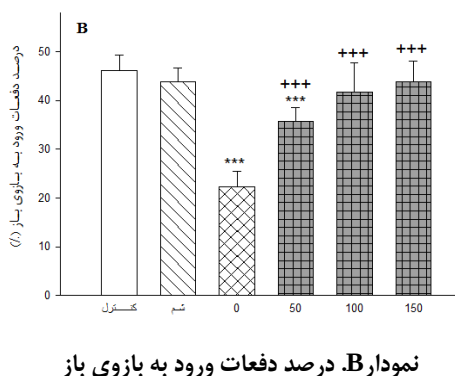
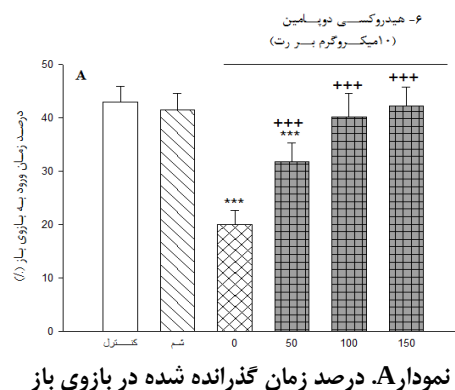
نمودار C. فعالیت حرکتی

نمودار ۱. اثر مصرف دوزهای مختلف عصاره برگ زیتون بر رفتارهای شبه اضطرابی القاء شده با 6-OHDA در آزمون ماز به علاوه ای شکل مرتفع در هفته اول. اختلاف معنی دار با گروه کنترل ($p < 0.05$), $^{*}p < 0.01$, $^{**}p < 0.001$, نتایج به صورت $Mean \pm SE$ بیان شده است ($n=7$)

بحث و نتیجه گیری

نتایج یافته‌های این تحقیق در هفته اول نشان داد که رفتارهای اضطرابی القا شده در مدل حیوانی پارکینسون بعد از یک ماه تیمار دوزهای مختلف عصاره تاثیر معنی داری نداشتند. تزریق 6-OHDA به مغز، به‌طور گسترده، برای ایجاد مدل حیوانی بیماری پارکینسون استفاده می‌گردد. مکانیسم اصلی سمیت 6-OHDA، به‌واسطه تولید گونه‌های رادیکال اکسیژن از طریق اتواکسیداسیون است. همچنین، تزریق درون استریاتومی این سم به‌تدریج سبب تحلیل نورون‌های دوپامینرژیک می‌گردد (۲۲). مطالعات نشان داده است که استرس اکسیداتیو عامل موثر در کاهش عملکرد شناختی در پیری به‌شمار می‌رود (۲۳). Deumens و همکارانش نیز نشان دادند که تزریق 6-OHDA می‌تواند مدل مناسبی برای بررسی علائم بیماری پارکینسون و آگاهی بیشتر به مکانیسم پاتولوژیکی این اختلالات عصبی باشد (۲۴). در همین راستا Tadaiesky و همکاران گزارش نمودند که ضایعه ایجاد شده با 6-OHDA در جسم مخطط موش، موجب افزایش پاسخ‌های اضطرابی در تست رفتاری ماز به‌علاوه‌ای شکل مرتفع می‌گردد (۲۵). پلی‌فنل‌های موجود در عصاره‌های گیاهی دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد استرس اکسیداتیو فراوانی هستند (۲۶ و ۲۷). Shrivastava و همکارانش پیشنهاد کردند که پیرین به‌دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی، از طریق مکانیسم ضدآپوپتوزی، دارای اثر حفاظتی در بیماری پارکینسون ناشی از 6-OHDA است (۱۷). همچنین برخی از مطالعات نیز تاثیر عصاره‌های گیاهی را بر اختلالات اضطرابی گزارش نمودند. ShahGagan و همکارانش اثرات ضد اضطرابی عصاره متانولی برگ *Cymbopogon citratus* را بررسی و وجود ترکیبات فلاونوئیدی را دلیل افزایش فاکتورهای OAT و OAE در تست ماز به‌علاوه‌ای شکل مرتفع پیشنهاد نمودند (۲۸). در مطالعه‌ای دیگر خاصیت آرام‌بخشی عصاره برگ گیاه *Passiflora actinia* گزارش شده است (۲۹). بر اساس مطالعات قبلی، عصاره برگ گیاه زیتون نیز غنی از ترکیبات پلی‌فنلی می‌باشند (۲۶ و ۳۰) و دارای فعالیت حفاظت نورونی قوی است که سبب بهبود استرس اکسیداتیو و آسیب عصبی در حیوانات می‌شود (۳۱). نتایج شاخص‌های رفتاری در پایان هفته‌های دوم و سوم نشان می‌دهند که با گذشت زمان و مصرف دوزهای مختلف عصاره، رفتارهای اضطرابی در گروه‌های بیمار تیمار شده با عصاره به‌طور معنی داری کمتر شده که در پایان شش هفته مصرف عصاره دوزهای بالاتر، رفتارهای شبه‌اضطرابی به سطح طبیعی خود برگشت نمود که احتمالاً نتیجه اثر حفاظتی این ترکیب بر آسیب القا شده در مدل پارکینسونی است. در همین راستا، مطالعاتی نشان داده که پیش‌تیمار با پلی‌فنل‌های موجود در برگ زیتون به‌طور قابل ملاحظه‌ای تولید آنیون سوپراکسید و نیتریک اکسید را بعد از ایسکمی کاهش می‌دهد و از پراکسیداسیون لیپیدها ممانعت می‌کند (۳۲). در واقع، فلاونوئیدهای این گیاه می‌توانند احتمالاً از طریق مکانیسم‌های مختلفی از قبیل تحریک بازسازی نورون‌های آسیب‌دیده و افزایش عملکرد نورون‌های باقیمانده، سبب محافظت از سلول‌های عصبی شوند. از طرفی فلاونوئیدها ممکن است بر مدولاسیون پروتئین و مسیرهای سیگنالینگ لیپید کیناز از طریق مهار آبشار سیگنالینگ MAPکیناز مانند P38 یا ERK1/2 اثر داشته باشند (۹). بنابراین نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که مصرف عصاره برگ زیتون در دراز مدت احتمالاً به‌واسطه خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن به‌طور چشم‌گیری سبب محافظت نورون در برابر آسیب ناشی از 6-OHDA و در نتیجه سبب کاهش رفتارهای القایی با این سم می‌گردد و محقق نقش حفاظتی مصرف این عصاره را در مورد

اثر مصرف عصاره بر رفتارهای شبه اضطرابی در پایان هفته سوم: مشابه هفته دوم افزایش معناداری در فاکتورهای OAT و OAE% در گروه‌های بیمار شده با عصاره در مقایسه با گروه بیمار مشاهده شده که بیانگر تاثیر مصرف عصاره بر کاهش رفتارهای اضطرابی القاء شده با 6-OHDA است. نتایج بررسی رفتارهای شبه‌اضطرابی در پایان هفته سوم نشان می‌دهد که مصرف خوراکی دوزهای مختلف عصاره برگ زیتون نه تنها موجب کاهش معنی دار رفتارهای اضطرابی القاء شده با سم در مدل بیماری پارکینسون گردیده، بلکه باعث برگشت رفتارهای اضطرابی به سطح نرمال شده است (نمودار ۳).



نمودار ۳. اثر مصرف دوزهای مختلف عصاره برگ زیتون بر رفتارهای شبه اضطرابی القاء شده با 6-OHDA در آزمون ماز به‌علاوه‌ای شکل مرتفع در هفته سوم. اختلاف معنی دار با گروه کنترل ($p < 0.01$ ، $***p < 0.001$). اختلاف معنی دار با گروه بیمار ($p < 0.05$ ، $++p < 0.01$ ، $+++p < 0.001$). نتایج به‌صورت $Mean \pm SE$ بیان شده است ($n=7$)

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از حمایت‌های مالی و معنوی معاونت پژوهشی دانشگاه مازندران و همچنین از همکاری خانم صدیقه خانجانی جلودار در اجرای این تحقیق تشکر و قدردانی می‌گردد.

اختلالات عصبی از جمله بیماری پارکینسون پیشنهاد نمودند. بر اساس یافته‌های این تحقیق، احتمالاً مصرف خوراکی دوزهای بالاتر عصاره برگ زیتون می‌تواند سبب افزایش مدت زمان و تعداد دفعات ورود به بازوی باز در تست ماز به‌علاوه‌ای شکل مرتفع شود که بیانگر بهبود آسیب ناشی از ۶-هیدروکسی دوپامین در مدل حیوانی بیماری پارکینسون می‌باشد.

Evaluation of the Protective Effect of Olive Leaf Extracts on Anxiety-like Behaviors in an Animal Model of Parkinson's Disease

S.S. Hosseini (MSc)¹, A. Hajizadeh Moghaddam (PhD)*¹

1. Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, I.R. Iran

J Babol Univ Med Sci; 17(7); Jul 2015; PP:36-43

Received: Nov 30th 2014, Revised: Feb 4th 2015, Accepted: May 6th 2015.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Oxidative stress is one of the main causes of Parkinson's disease. Mood disorders such as anxiety are commonly reported in these patients. Olive leaf extracts have strong antioxidative and neuroprotective properties due to the presence of various phenolic compounds. The aim of the present study was to investigate the effects of olive leaf extracts on anxiety-like behaviors in an animal model of Parkinson's disease, using elevated plus maze test.

METHODS: In this experimental study, 42 rats were divided into six groups (seven rats per group): control, sham, patient and treatment (receiving extracts at doses of 50, 100 and 150 mg/kg) groups. The control group did not receive any injections, whereas the sham and patient groups received saline solutions and the treatment group received 50, 100 and 150 mg/kg of olive leaf extracts via gavage for seven weeks. All groups, except the control and sham groups, were administered unilateral 6-hydroxydopamine in the striatum, using a stereotactic device, and an animal model of Parkinson's disease was established. Three weeks after toxin injections, anxiety-like behaviors were assessed, using the elevated plus maze test.

FINDINGS: The injection of 6-hydroxydopamine caused a reduction in the time of animals' entry into the open arm and the number of entries. Administration of different concentrations of the extract caused an increase in the mentioned parameters in all treatment groups, compared to the patient group.

CONCLUSION: The results showed that oral administration of olive leaf extracts caused a significant decrease in anxiety-like behaviors, induced by 6-hydroxydopamine in an animal model of Parkinson's disease.

KEY WORDS: *Parkinson, Elevated Plus Maze Test, Anxiety-like Behavior, Olive Leaf Extract.*

Please cite this article as follows:

Hosseini SS, Hajizadeh Moghaddam A. Evaluation of the Protective Effect of Olive Leaf Extracts on Anxiety-like Behaviors in an Animal Model of Parkinson's Disease. J Babol Univ Med Sci. 2015;17(7):36-43.

*Corresponding Author: A. Hajizadeh Moghaddam (PhD)

Address: Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, I.R. Iran

Tel: +98 11 35302453

Email: a.hajizadeh@umz.ac.ir

References

1. Bueno CH, Zangrossi Jr H, Viana MB. The inactivation of the basolateral nucleus of the rat amygdala has an anxiolytic effect in the elevated T-maze and light/dark transition tests. *Braz J Med Biol Res.* 2005;38(11):1697-1701 .
2. Bouayed J, Rammal H, Soulimani R. Oxidative stress and anxiety: relationship and cellular pathways. *Oxid Med Cell Longev.* 2009; 2(2):63-7.
3. Dissanayaka NN, Sellbach A, Matheson S, O'Sullivan JD, Silburn PA, Byrne GJ, et al. Anxiety disorders in Parkinson's disease: prevalence and risk factors. *Mov Disord.* 2010;25(7):838-45.
4. Dexter David T & Jenner Peter. Parkinson disease: from pathology to molecular disease mechanisms. *Free Radical Biology and Medicine.* 2013;62, 132-144 .
5. Pontone GM, Williams JR, Anderson KE, Chase G, Goldstein SR, Grill S, et al. Pharmacologic treatment of anxiety disorders in Parkinson disease. *The American Journal of Geriatric Psychiatry.* 2013; 21(6), 520-528 .
6. Jin F, Wu Q, Lu YF, Gong QH, Shi JS. Neuroprotective effect of resveratrol on 6-OHDA-induced Parkinson's disease in rats. *European journal of pharmacology.* 2008; 600(1), 78-82 .
7. Antunes MS, Goes AT, Boeira SP, Prigol M, Jesse CR. Protective effect of hesperidin in a model of Parkinson's disease induced by 6-hydroxydopamine in aged mice. *Nutrition .* 2014; 30, 1415-1422.
8. Bove J, Perier C. Neurotoxin-based models of Parkinson's disease. *Neuroscience.* 2012;211:51-76 .
9. Vauzour D, Rodriguez-Mateos A, Corona G, Oruna-Concha MJ, Spencer JP. Polyphenols and human health: prevention of disease and mechanisms of action. *Nutrients.* 2010;2(11):1106-31.
10. Pandey KB, Rizvi SI. Plantpolyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxid Med Cell Longev.* 2009;2(5):270-8.
11. Abo Ghanema II, Sadek KM. Olive leaves extract restored the antioxidant perturbations in red blood cells hemolysate in streptozotocin induced diabetic rats. *World Acad Sci, Engin Technol.* 2012;6(4):04-29.
12. Obied HK, Prenzler PD, Omar SH, Ismael R, Servili M, Esposto S. Pharmacology of olive biophenols, Chapter 6. In book: *Advances in Molecular Toxicology.* Elsevier; 2012.p.195.
13. Weinreb O, Mandel S, Amit T, Youdim MB.. Neurological mechanisms of green tea polyphenols in Alzheimer's and Parkinson's diseases. *J Nutr Biochem.* 2004;15(9):506-16.
14. Lockyer S, Yaqoob P, Spencer JPE, Rowland I. Olive leaf phenolics and cardiovascular risk reduction: Physiological effects and mechanisms of action. *Nutr Aging.* 2012;1(2):125-40.
15. Nekooeian AA, Dehghani GA, Mostafavi H, Khalili A. The effect of hydroalcoholic extract of olive leaves on blood pressure in rat model of two-kidney, one-clip goldblatt hypertension. *Int Cardiovasc Res J.* 2011;5(1):1-6.
16. Al-Attar AM, Shawush NA. Physiological investigations on the effect of olive and rosemary leaves extracts in male rats exposed to thioacetamide. *Saudi J Biol Sci.* 2014;21(5):473-80.
17. Shrivastava P¹, Vaibhav K, Tabassum R, Khan A, Ishrat T, Khan MM, et al. Anti-apoptotic and anti-inflammatory effect of piperine on 6-OHDA induced Parkinson's rat model. *J Nutr Biochem.* 2013;24(4):680-7.
18. Khan MM, Ahmad A, Ishrat T, Khan MB, Hoda MN, Khuwaja G, et al. Resveratrol attenuates 6-hydroxydopamine-induced oxidative damage and dopamine depletion in rat model of Parkinson's disease. *Brain Res.* 2010;1328,139-51.
19. Khuwaja G, Khan MM, Ishrat T, Ahmad A, Raza SS, Ashafaq M, et al. Neuroprotective effects of curcumin on 6-hydroxydopamine-induced Parkinsonism in rats: behavioral, neurochemical and immunohistochemical studies. *Brain Res.* 2011;1368:254-63.
20. Rodgers RJ, Johnson NJ. Factor analysis of spatiotemporal and ethological measures in the murine elevated plus-maze test of anxiety. *Pharmacol Biochem Behav.* 1995;52(2):297-303.

- 21.Rezayat M, Roohbakhsh A, Zarrindast MR, Massoudi R, Djahanguiri B. Cholecystokinin and GABA interaction in the dorsal hippocampus of rats in the elevated plus-maze test of anxiety. *Physiol Behav.* 2005;84(5):775-82.
- 22.Martí MJ, Saura J, Burke RE, Jackson-Lewis V, Jiménez A, Bonastre M, et al. Striatal 6-hydroxydopamine induces apoptosis of nigral neurons in the adult rat. *Brain Res.* 2002;958(1):185-91.
- 23.Rabiei Z, Alibabaei Z, Rafieian-Kopaei M. Effects of matricaria chamomilla extract on motor coordination impairment induced in rat and determination antioxidant properties of chamomile. *J Babol Univ Med Sci.* 2015;17(4):44-50. [In persian].
- 24.Deumens R, Blokland A, Prickaerts J. Modeling Parkinson's disease in rats: an evaluation of 6-OHDA lesions of the nigrostriatal pathway. *Exp Neurol.* 2002;175(2):303-17.
- 25.Tadaiesky MT, Dombrowski PA, Figueiredo CP, Cargnin-Ferreira E, Da Cunha C, Takahashi RN. Emotional, cognitive and neurochemical alterations in a premotor stage model of Parkinson's disease. *Neuroscience.* 2008;156(4):830-40 .
- 26.Sarbishegi M, Mehraein F, Soleimani M. Antioxidant role of oleuropein on midbrain and dopaminergic neurons of substantia nigra in aged rats. *Iran Biomed J.* 2014;18(1):16-22.
- 27.Vauzour D. Dietary polyphenols as modulators of brain functions :biological actions and molecular mechanisms underpinning their beneficial effects. *Oxid Med Cell Longev.* 2012;2012:914273.
- 28.Shah G, Shiri R, Dhabilitya F, Nagpal N, Mann AS. Anti-anxiety activity of cymbopogon citratus (dc.) stapf leaves extracts on the elevated plus-maze model of anxiety in mice. *Pharmac J.* 2010;2(15):45-50.
- 29.Santos Kely Cristina dos, Kurtz Stella Maris Tessaro Figura, Müller Simony, Biavatti DM, de Oliveira RM, de Moraes Santos CA. Sedative and anxiolytic effects of methanolic extract from the leaves of Passiflora actinia. *Braz Arch Biol Technol.* 2006;49(4):565-73.
- 30.Aytul KK. Antimicrobial and antioxidant activities of olive leaf extract and its food applications. izmir institute of technology. 2010.available at:<http://library.iyte.edu.tr/tezler/master/biyoteknoloji/T000831.pdf>.
- 31.Dekanski Dragana, Selaković Vesna, Piperski Vesna, Radulovic Zeljka, Korenic Andrej & Radenovic, Lidija. Protective effect of olive leaf extract on hippocampal injury induced by transient global cerebral ischemia and reperfusion in Mongolian gerbils. *Phytomedicine.* 2011; 18(13), 1137-1143 .
- 32.Johri A, Beal MF. Antioxidants in Huntington's disease. *Biochim Biophys Acta.* 2012;1822(5):664-74.