● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ دوازدهم، شمارهٔ ۴، ص ۲۵۱-۲٤٤، ۱۳۸٤

مقالهٔ پژوهشی

تأثیر عصاره گل نارنج در پیشگیری علائم شبه‌افسردگی ناشی از تزریق لیپوپلی‌ساکارید در موش صحرایی

دکتر مجید محمودی[*1]، دکتر منظومه شمسی‌میمندی[2]، دکتر علیرضا فرومدی[3]، شاهرخ رفتاری[4] و مجید اسدی شکاری[5]

خلاصه

مقدمه: بر اساس مدارک موجود در طب سنتی در مورد اثر درمانی گل درخت نارنج بر سیستم عصبی و استفاده از آن در درمان بیماری‌های عصبی، در این مطالعه تجربی اثر پیش‌درمانی عصاره گل این گیاه در جلوگیری و یا تعدیل روند علائم شبه افسردگی ایجاد شده در اثر تزریق سیستمیک لیپوپلی‌ساکارید (LPS) در موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت.

روش: این مطالعه بر روی موش‌های صحرایی بالغ، نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۵۰-۲۰۰ گرم و با استفاده از عصاره تهیه شده از گل‌های درخت نارنج به روش پرکوله انجام شد. قبل از تزریق LPS، حیوانات در گروه‌های مجزا، آب آشامیدنی حاوی عصاره یک درصد دریافت کردند. علائم شبه افسردگی شامل کاهش تمایل به مصرف محلول ساکارز، بی‌اشتهایی، کاهش وزن و ناتوانی از لذت بردن جنسی پس از تزریق LPS در آزمون‌های مجزا بررسی شد.

یافته‌ها: در گروهی از حیوانات که قبل از تزریق LPS با عصاره پیش درمان شده بودند، مصرف محلول ساکارز نسبت به گروه کنترل افزایش یافت اما این افزایش معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). میزان مصرف غذا در این گروه در روزهای دوم و سوم بعد از تزریق LPS نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌دار افزایش یافت (P<۰/۰۵). در بررسی اثر LPS بر میزان لذت بردن حیوان نر از حیوان ماده و اثر پیش‌درمانی عصاره، در گروه مورد که با عصاره پیش درمان شده بودند، در دو فاصله زمانی ۲ و ۲۴ ساعت بعد از تزریق LPS میزان این تمایلات به میزان قبل از تزریق رسید در حالی که در گروه کنترل میزان این تمایلات در این فواصل زمانی کاهش معنی‌داری نسبت به میزان قبل از تزریق داشت.

نتیجه‌گیری: با توجه به اثر LPS در کاهش میانجی‌های عصبی نظیر نوراپی‌نفرین و سرتونین در بعضی از قسمت‌های مغز و در نتیجه ایجاد علائم شبه افسردگی در موش صحرایی، ممکن است پیش‌درمانی طولانی مدت عصاره گل نارنج در ممانعت و یا تعدیل علائم شبه افسردگی از طریق جلوگیری از کاهش میزان این میانجی‌های عصبی باشد. تأیید این نظریه مستلزم مطالعات دیگر و بررسی اثرات فارماکولوژیک عصاره گل نارنج می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: گل نارنج ، شبه افسردگی ، لیپوپلی‌ساکارید

۱- متخصص ایمونولوژی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی کرمان و مرکز تحقیقات سرطان، انستیتو کانسر، دانشگاه علوم پزشکی تهران ۲- مربی، گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان ۳- دانشیار شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران ٤- کارشناس، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی کرمان ۵- مربی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان

* **نویسنده مسؤول:** تهران - مرکز تحقیقات سرطان- انستیتو کانسر، دانشگاه علوم پزشکی ● **آدرس پست الکترونیک:** majid_mahmoodi@yahoo.com

دریافت مقاله: ۱۳۸٤/۲/۸ **دریافت مقاله اصلاح شده:** ۱۳۸٤/۱۰/۲۰ **پذیرش مقاله:** ۱۳۸۴/۱۰/۲۸

مقدمه

بر اساس آمار گزارش شده حدود ۳۴۰ میلیون نفر از جمیعت دنیا به افسردگی مبتلا هستند و طبق برآورد سازمان جهانی بهداشت تا سال ۲۰۲۰ میلادی این بیماری بعد از نارسایی‌های قلبی به عنوان دومین بیماری جمیعت جهان خواهد بود (۱۷،۱۹). با وجود پیشرفت‌های علم پزشکی هنوز ۳۰ درصد مبتلایان به این بیماری بهره‌ای از داروهای موجود نمی‌برند (۱۲). یکی از علل عدم درمان این بیماری اجتناب افراد از مصرف داروهای شیمیایی به علت اثرات جانبی این داروها می‌باشد.

گزارشات چندی حاکی از اثرات درمانی گل درخت نارنج یا بهار نارنج *(Citrus aurantium L.)* چه در طب سنتی ایران و چه در منابع کشورهای دیگر ذکر شده است. در طب سنتی ایران گل‌های این گیاه در درمان بیماری‌های عصبی نظیر هیستری، تشنج و ضعف اعصاب استفاده می‌شده است. به علاوه این گیاه به عنوان آرام‌بخش، خواب‌آور، اشتهاآور و برطرف‌کننده طپش قلب خوانده شده است (۱). در مطالعه‌ای که بر روی ۸۰۲ بیمار سرپایی جهت تعیین گرایش آنها به استفاده از گیاهان دارویی صورت گرفته، نشان داده شده است که بیشتر این افراد از سرشاخه‌های جوان گیاه دارویی نارنج جهت درمان ناراحتی‌های مختلف از جمله ناراحتی‌های عصبی و دستگاه گوارش و همین‌طور به عنوان آرام‌بخش استفاده می‌کنند (۱۳). تاکنون در مورد مواد تشکیل‌دهنده گل‌ها و یا برگ‌های جوان این گیاه مطالعه اساسی صورت نگرفته و تنها یک منبع اشاره به تعیین درصدفلاونوئیدهای موجود در برگ‌ها و گل‌های این گیاه نموده که نشان‌دهنده بالا بودن این ترکیبات در گل‌ها نسبت به برگ‌هاست (۱۰).فلاونوئیدها (Flavonoids) ترکیبات بیوشیمیایی تقریباً ضروری برای سلول‌های بدن مهرداران می‌باشند که در بیشتر ترکیبات طبیعی یافت می‌شوند. به عنوان مثال Quercetin یک نوع فلاونوئید است که به طور وسیعی در گیاهان یافت می‌شوند (۱۸). بر اساس تحقیقات انجام یافته Quercetin و دیگرفلاونوئیدها تأثیرات فارماکولوژیک وسیعی، از جمله ممانعت از اکسیداسیون لیپوپروتئین‌های با وزن مولکولی پایین، جلوگیری از تجمع پلاکت‌ها و همچنین پایداری سلول‌های ایمنی را دارا هستند (۳). لذا در درمان ناراحتی‌های روانی نظیر افسردگی، عفونت‌های ویروسی، تورم و آلژری استفاده می‌شوند (۱۸). در یک مطالعه تجربی که بر روی گیاه دارویی *Hypericum perforatum* صورت گرفته، نشان داده شده است که فلونوئیدهای جدا شده از عصاره این گیاه در تعدیل و کاهش اثرات افسردگی ایجاد شده در موش صحرایی به طور معنی‌داری مؤثر است و این اثر کاملاً اختصاصی است (۷). در مطالعه دیگری که روی عصاره گیاه دارویی *Apocynum-Venetum* حاوی انواع فلاونوئیدها، صورت گرفته، نتایج مشابهی به دست آمده است (۸).

با توجه به گزارشات فوق دال بر وجودفلاونوئیدها در گل‌های گیاه نارنج و اثرات ضدافسردگی فلاونوئیدها، مطالعه حاضر صورت گرفت. در این کار تجربی از تزریق لیپوپلی‌ساکارید (LPS) جهت ایجاد علائم شبه‌افسردگی (depressive like symptoms) استفاده شد (۵). تزریق داخل صفاقی این اندوتوکسین که جزء ساختار دیواره سلولی باکتری‌های گرام منفی می‌باشد به موش صحرایی، منجر به ایجاد یک شبه عفونت در حیوان می‌گردد و علائمی به همراه دارد که مشابه علائم افسردگی است (۲۰). از جمله این علائم ناتوانی از لذت بردن، کاهش وزن، کمی تحرک، عدم تمایل به مصرف محلول ساکارز و بی‌اشتهایی می‌باشند (۲۰،۱۱). تمام این علائم با داروهای ضدافسردگی مانند ایمی‌پرامین از بین می‌رود (۴). در این مطالعه که بر روی گروه‌های مجزای موش‌های صحرایی انجام گردید، اثر پیش‌درمانی با عصاره گل‌های درخت نارنج به صورت حاد و طولانی مدت بر علائم شبه افسردگی ناشی از تزریق LPS ارزیابی شده و با گروه‌های کنترل مقایسه گردید.

روش بررسی

حیوانات، شرایط آزمایش و تزریق لیپوپلی‌ساکارید: در این مطالعه از موش‌های صحرایی بالغ، نژاد wistar به وزن تقریبی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم استفاده شد. موش‌ها (براساس نوع آزمایش جنس نر و یا ماده آنها به‌کار برده شد) در گروه‌های ۴ تایی در هر قفس و در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، دمای ۲۱ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد و دسترسی آزاد به آب و غذای آماده استاندارد نگهداری شدند. جهت ایجاد علائم شبه افسردگی از تزریق داخل صفاتی LPS استفاده شد (۱۱،۲۰).

جمع‌آوری گل‌های درخت نارنج و تهیه عصاره و محلول عصاره: در این مطالعه فقط از گل‌های درخت نارنج *Citrus aurantium L.* از خانواده مرکبات یا Rutaceae بدون مخلوط شدن با گل‌های سایر مرکبات استفاده شد. گل‌های این گیاه از شهرستان بم و از محل مناسب تهیه گردید. جمع‌آوری گل‌های درخت نارنج در این شهرستان از نیمه دوم اسفند ماه لغایت فروردین ماه و معمولاً در اوایل طلوع خورشید صورت می‌گیرد. روش عصاره‌گیری به

طریق پرکولاسیون انجام گردید (۲). به طور خلاصه در این روش گل‌های گیاه، با استفاده از هاون، خوب آسیاب شده و سپس به کمک الک مخصوص پودر آن جدا گردید. ۵۰ گرم از پودر تهیه شده داخل بشر بزرگی ریخته شد و به آن متانول ۸۰ درصد اضافه شد. پس از مدت ۲۴ ساعت محلول به درون پرکولاتور منتقل شد. بعد از اضافه نمودن متانول ۸۰ درصد، به عنوان حلال، شیر پرکولاتور تا حدی که سرعت جریان حلال ۲ تا ۳ قطره در دقیقه باشد باز نگه داشته شد. حدود ۷۲ ساعت بعد، محلول عصاره تهیه شده جدا و به کمک دستگاه تقطیر در خلأ در حرارت ۳۵ تا ۴۰ درجه سانتی‌گراد، تا حد خشک شدن تغلیظ گردید. از این عصاره خشک معطر بر اساس گرم در صد میلی‌لیتر آب آشامیدنی محلول عصاره تهیه گردید و با انجام مرحله پیش آزمون مشخص گردید، محلول یک گرم در صد میلی‌لیتر آب آشامیدنی آزمون شده مناسب‌تر است.

مطالعه در دو مرحله پیش آزمون و آزمون صورت گرفت. مرحله پیش آزمون جهت تعیین دوز مناسب و روش مناسب تجویز عصاره (تزریق داخل صفاقی و یا همراه با آب آشامیدنی) انجام گرفت. بر اساس نتایج حاصل از این مرحله موش‌های صحرایی در گروه‌های ۸ تا ۱۰ تایی با عصاره یک درصد در آب آشامیدنی پیش‌درمان شدند.

آزمون ۱: آزمون ترجیح حیوان به مصرف محلول ساکارز و اثر LPS بر روی این تمایل: این آزمون روی دو گروه ۸تایی موش صحرایی انجام شد. در هر قفس که متشکل از ۴ سر موش بود دو ظرف مشابه و مدرج که یکی حاوی محلول ساکارز (۱۰ mM) و دیگری حاوی آب معمولی بود قرار داده شد. بدین ترتیب همه موش‌ها به مدت ۴ ساعت طعم هر دو محلول را چشیدند. روز بعد آزمون اصلی انجام گرفت. در روز دوم ۴ ساعت قبل از شروع آزمون، به حیوانات گروه مورد (۸ سر موش) تزریق داخل صفاقی LPS به میزان ۵۰۰ µg/kg انجام گردید، در حالی که به حیوانات گروه کنترل (۸ سر موش) نرمال‌سالین تزریق گردید. سپس به مدت ۴ ساعت حیوانات به هیچ‌گونه محلول آشامیدنی دسترسی نداشتند، تا شروع آزمون که ظروف محلول ساکارز و آب در هر قفس گذاشته می‌شد. مدت این آزمون ۲۰ دقیقه بود و طی این مدت، مکان ظروف مزبور چندین مرتبه عوض شد تا حیوانات بتوانند طعم هر دو محلول را بچشند. در هر گروه از موش‌ها روزانه ۶ بار آزمون فوق طی دو روز متوالی صورت گرفت. میزان تمایل به مصرف آب یا محلول ساکارز در ۶ آزمون (روزانه) به صورت زیر محاسبه شد:

میزان محلول ساکارز مصرفی (به میلی‌لیتر) در هر گروه تقسیم بر مجموع محلول ساکارز و آب آشامیدنی مصرف شده در آن گروه و سپس این میزان در دوگروه مورد آزمون و کنترل مقایسه گردید.

آزمون ۲: اندازه‌گیری میزان مصرف محلول ساکارز: چهار گروه موش صحرایی انتخاب شد (۸ سر در هر گروه) و به مدت ۴۸ ساعت در قفس‌های دو گروه اول ظرف حاوی محلول ساکارز و در قفس‌های دو گروه دوم ظرف حاوی آب معمولی گذاشته شد. بعد از این مدت به مدت ۴۸ ساعت در قفس‌های همه گروه‌ها ظرف حاوی آب معمولی گذاشته شد. سپس به یک گروه از ۲ گروه اول و به یک گروه از ۲ گروه دوم LPS به میزان (500 µg/kg) به طریق داخل صفاقی تزریق گردید و به ۲ گروه باقیمانده نرمال‌سالین تزریق گردید. ۴ ساعت بعد از تزریق ظرف‌های حاوی ساکارز و یا آب معمولی مطابق ابتدای آزمون در هر قفس گذاشته شد و به مدت ۱۲ ساعت میزان محلول ساکارز و آب مصرف شده اندازه‌گیری شد.

آزمون ۳: اثر پیش‌درمانی حاد و طولانی مدت محلول عصاره بهار نارنج در تمایل موش‌های صحرایی شبه افسرده به محلول ساکارز: ۳۲ سر موش صحرایی نر انتخاب شدند (در چهار گروه ۸ تایی) و به مدت ۲۴ ساعت در قفس‌های ۲ گروه اول ظرف حاوی محلول عصاره بهار نارنج (یک درصد) و در قفس‌های ۲ گروه دوم ظرف حاوی آب معمولی گذاشته شد. بعد از این مدت به یک گروه از ۲ گروه اول و به یک گروه از ۲ گروه دوم LPS به میزان (۱۰۰۰ µg/kg) تزریق شد و به دو گروه باقیمانده نرمال‌سالین تزریق گردید. بعد از ۴ ساعت جهت اندازه‌گیری تمایل نوشیدن ساکارز در هر گروه، آزمون ۱ در آنها انجام گردید. سپس به مدت ۲ هفته، طبق ابتدای آزمون در قفس‌های ۲ گروه اول، ظرف حاوی محلول عصاره بهار نارنج (یک درصد) و در قفس‌های ۲ گروه دوم، ظرف حاوی آب معمولی گذاشته شد. بعد از این مدت، تزریق دوم LPS و یا نرمال‌سالین در هر گروه انجام شد و پس از۴ ساعت آزمون ۱ جهت اندازه‌گیری تمایل به نوشیدن محلول ساکارز و یا آب معمولی در هر چهار گروه انجام پذیرفت.

آزمون ٤: ارزیابی عصاره بر روی علائم دیگر شبه افسردگی ناشی از تزریق لیپوپلی ساکارید: ۳۲ سر موش صحرایی نر به چهار گروه ۸ تایی تقسیم شدند. به مدت دو هفته در قفس‌های دو گروه اول ظرف حاوی محلول عصاره بهار نارنج (۱٪) و در قفس‌های دو گروه دوم ظرف حاوی آب معمولی گذاشته شد. هر هفته

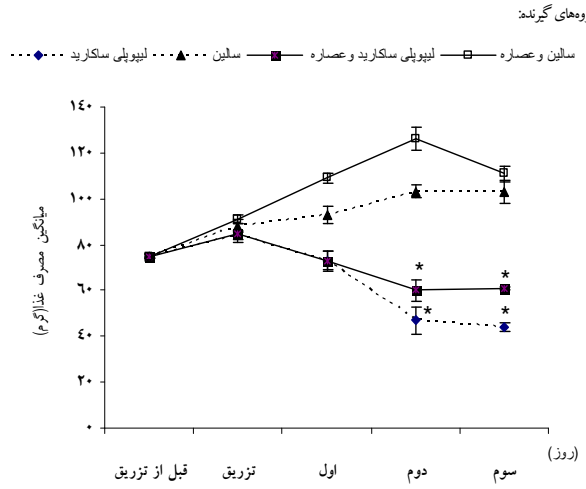
موش‌ها توزین شدند تا میانگین وزن موش مادر هر گروه قبل از تزریق LPS اندازه‌گیری شود. به همین ترتیب میزان مصرف غذای روزانه در هر گروه با توزین غذای مصرف شده در۲۴ ساعت اندازه‌گیری گردید تا میانگین مصرف غذای روزانه هر گروه قبل از تزریق LPS اندازه‌گیری شود. بعد از این مدت جهت اندازه‌گیری میزان تحرک و لذت بردن حیوان، هر یک از موش‌ها به تنهایی در یک محفظه روشن قرار داده شد. بعد از ۱۵ دقیقه که به محیط عادت نمود، یک موش جوان ماده در داخل محفظه گذاشته شد، مدت زمانی که موش نر مشغول بوئیدن و لیسیدن (تمیز نمودن) حیوان ماده در طول مدت ۳ دقیقه بود اندازه‌گیری شد (۱۳) و میانگین آن برای هر گروه قبل از تزریق LPS محاسبه شد (baseline).. سپس به موش‌های یک گروه از دو گروه اول و همین‌طور به حیوانات یک گروه از دو گروه دوم، LPS به میزان ۱۰۰۰µg/kg تزریق گردید و به دو گروه باقیمانده نرمال‌سالین تزریق شد. مصرف غذای روزانه هر گروه تا ۳ روز بعد از تزریق اندازه‌گیری شد و طرز برخورد هر یک ازآنها با جنس ماده با اندازه‌گیری مدت زمان بوییدن و لیسیدن موش ماده در مقاطع زمانی ۲ ساعت، ۶ ساعت و ۲۴ ساعت بعد از تزریق LPS اندازه‌گیری شد.

روش‌های آماری: تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS (Version:10) صورت گرفت. هر یک از متغیرها بر حسب میانگین±اختلاف معیار بیان گردید. مقایسه میانگین‌ها توسط independent samples t test انجام پذیرفت و سطح معنی‌داری در این آزمون کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

۱. اثر تزریق لیپوپلی‌ساکارید بر میزان ترجیح موش صحرایی به مصرف ساکارز: آزمون ترجیح در دو مقطع زمانی ۴ و ۱۲ ساعت بعد از تزریقLPS و نرمال‌سالین صورت گرفت. ۴ ساعت بعد از تزریق میزان ترجیح حیوانات به مصرف محلول ساکارز در گروه مورد (LPS تزریق شده) کمتر از گروه کنترل بود. اما این کاهش معنی‌دار نبود (۰/۰۱± ۰/۵۲ در مقابل ۰/۰۵±۰/۵۸). در حالی که ۱۲ ساعت بعد از تزریق این کاهش نسبت به گروه کنترل معنی‌دار شد (P<۰/۰۵، ۰/۰۲±۰/۶۴ در مقابل ۰/۰۱±۰/۸۴).

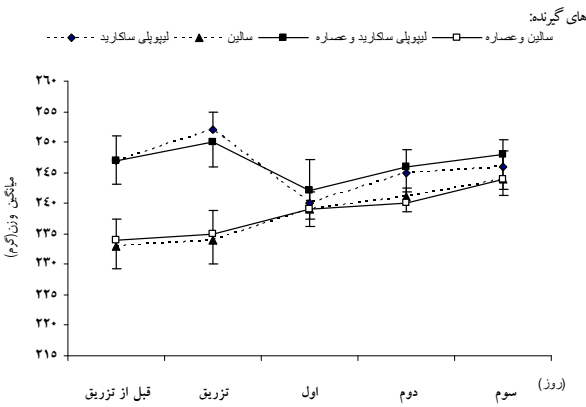
۲. اثر تزریق لیپوپلی‌ساکارید بر میزان مصرف ساکارز در موش صحرایی: تزریق LPS به موش صحرایی باعث کاهش مصرف ساکارز در حیوان گردید (P<۰/۰۵، ۰۴/۴ ± ۱۰۸/۳ در مقابل ۷۴/۶ ±۲۱۵/۱)، ولی تأثیر معنی‌داری بر مصرف آب آشامیدنی نداشت (P>۰/۰۵، ۰۴/۴ ± ۶۳/۳ در مقابل ۴۳/۳± ۶۵/۱).



نمودار ۱. *اثر پیش درمانی طولانی مدت عصاره بهار نارنج در مقایسه با عدم آن بر پیش‌گیری از کاهش اشتهای موش صحرایی ناشی از تزریق لیپوپلی‌ساکارید*

میانگین میزان مصرف غذای روزانه هر گروه از حیوانات قبل یا بعد از تزریق LPS یا نرمال‌سالین اندازه‌گیری گردید. تزریق LPS به تنهایی و یا با پیش درمانی عصاره موجب کاهش مصرف غذای روزانه شد.

* اختلاف معنی‌دار با قبل از تزریق P<۰/۰۵



نمودار ۲. *اثر پیش درمانی طولانی مدت عصاره بهار نارنج در مقایسه با عدم آن بر پیش‌گیری از کاهش وزن بدن موش صحرایی در اثر تزریق لیپوپلی‌ساکارید*

میانگین وزن بدن حیوانات هر گروه قبل (Baseline) و بعد از تزریق LPS و یا نرمال‌سالین اندازه‌گیری گردید. پیش درمانی با عصاره موجب کاهش معنی‌داری در وزن حیوان نشد.

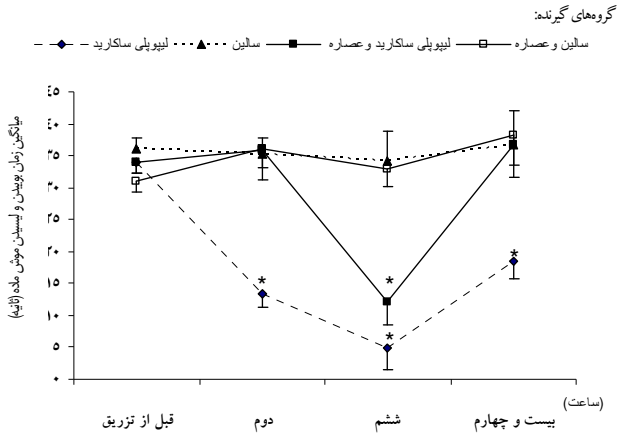
۳. اثر پیش‌درمانی حاد و طولانی مدت عصاره بهار نارنج در پیشگیری علایم شبه افسردگی ناشی از تزریق لیپوپلی ساکارید: در این آزمون، ترجیح حیواناتی که به صورت حاد و یا به صورت

طولانی مدت، پیش درمان گردیدند اندازه‌گیری شد. ترجیح حیوانات به مصرف محلول ساکارز در کلیه گروه‌های پیش‌درمانی شده نسبت به گروه کنترل و همچنین نسبت به گروهی که با عصاره پیش‌درمان نشده بودند و مورد تزریق LPS قرار گرفته بودند افزایش نشان داد، اما این افزایش معنی‌دار نبود (میزان ترجیح در مرحله پیش‌درمانی حاد: ۰/۸۷±۰/۱ P>۰/۰۵ در مقابل ۰/۷±۰/۰۳ و میزان ترجیح در مرحله پیش درمانی طولانی مدت: (P>۰/۰۵، ۰/۷۶±۰/۱۱در مقابل ۰/۶۵±۰/۱۰).

٤. اثر عصاره بر روی علائم دیگر شبه افسردگی (بی‌اشتهایی، کاهش وزن، ناتوانی از لذت بردن) ناشی از تزریق لیپوپلی‌ساکارید: کاهش اشتهای حیوانات در اثر تزریق LPS و اثر پیش درمانی طولانی مدت عصاره بر این کاهش در نمودار ۱ نشان داده شده است. همان‌طوری که مشاهده می‌گردد، در گروه کنترل تزریق LPS مصرف غذا را در این گروه کاهش داد و این کاهش در روزهای دوم و سوم بعد از تزریق نسبت به قبل از تزریق (baseline) معنی‌دار بود (P<۰/۰۵، ۴۵/۵±۲/۱ در مقابل۷۵/۵±۰/۷). پیش درمانی با عصاره باعث افزایش میانگین مصرف غذا گردید که تأثیر آن در روزهای دوم و سوم بعد از تزریق LPS به طور معنی‌دار نسبت به گروه کنترل بود (P<۰/۰۵، ۶۰/۵±۷ در مقابل ۴۵/۵±۲/۱).

کاهش وزن حیوانات در اثر تزریق LPS و اثر پیش‌درمانی طولانی مدت عصاره بر این کاهش در نمودار ۲ نشان داده شده است. همان‌طوری که مشاهده می‌گردد، اثر تزریق LPS در کاهش وزن چه در گروه کنترل (LPS تزریق شده) و چه در گروه مورد (پیش درمان شده با عصاره) در روزهای بعد از تزریق نسبت به قبل از تزریق معنی‌دار نمی‌باشد (P>۰/۰۵، ۲۴۵/۵±۰/۷ در مقابل ۲۴۹/۵±۳/۵). به علاوه کاهش وزن ایجاد شده در اثر تزریق LPS بین گروهی که با عصاره پیش درمان شده بودند و گروهی که عصاره دریافت نکرده بود اختلاف معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵).

اثر LPS بر میزان لذت بردن حیوان نر از حیوان ماده و پیش درمانی عصاره بر این اثر در نمودار ۳ نشان داده شده است. در گروه کنترل تزریق LPS موجب کاهش معنی‌دار این لذت در هر سه فاصله زمانی ۲، ۶ و ۲۴ ساعت در مقایسه با قبل از تزریق شد (P<۰/۰۵، ۱۴/۵±۲/۱ در مقابل۳۵/۵±۱/۷). در گروهی که با عصاره پیش‌درمان شده بودند فقط در فاصله زمانی ۶ ساعت این میزان تمایلات کاهش داشت و در دو فاصله زمانی دیگر (۲ و ۲۴ ساعت بعد از تزریق LPS) میزان تمایلات به حد طبیعی رسید.



نمودار ۳. *اثر پیش‌درمانی طولانی مدت عصاره بهار نارنج در مقایسه با عدم آن بر پیش گیری از کاهش میل جنسی ناشی از تزریق لیپوپلی‌ساکارید (LPS) در موش صحرایی*

میانگین زمان دفعات بوییدن و لیسیدن حیوانات هر گروه در طول مدت سه دقیقه یک روز قبل (Baseline) و ۲، ۶ و ۲۴ ساعت بعد از تزریق LPS و یا نرمال‌سالین اندازه‌گیری گردید.

در گروهی که با عصاره پیش درمان شده بودند میل جنسی فقط ٦ ساعت بعد از تزریق LPS کاهش معنی‌داری نشان داد. در حالی که تزریق LPS در تمامی ساعات مورد آزمون موجب کاهش میل جنسی شد.

*اختلاف معنی‌دار با قبل از تزریق P<۰/۰۵

بحث

افسردگی از ناراحتی‌های روانی می‌باشد که در همه جوامع، چه پیشرفته و چه در حال توسعه، از معضلات اجتماعی و اقتصادی به شمار می‌رود. افسردگی از کودکی و نوجوانی شروع شده و با بالا رفتن سن، میزان آن افزایش می‌یابد. مطالعه جهت یافتن دارویی مؤثر و بی‌خطر برای درمان این بیماری نه تنها شامل کشف داروهای شیمیایی جدید می‌گردد، بلکه داروهای گیاهی را نیز در بر می‌گیرد. در این مورد آن دسته از داروهای گیاهی که در طب سنتی به کار می‌رفته بیشتر مورد بررسی و تحقیق قرار گرفته‌اند.

مطالعه حاضر که به منظور بررسی اثر پیش‌درمانی عصاره متانولی گل‌های درخت نارنج در جلوگیری و یا کاهش اثرات شبه افسردگی ناشی از تزریق لیپوپلی‌ساکارید در موش صحرایی انجام گرفت، نشان داد که: ۱) تزریق LPS به موش صحرایی موجب بروز علائم شبه افسردگی می‌شودو از جمله این علائم کاهش تمایل حیوان به مصرف ساکارز و یا مواد قندی می‌باشد.

تزریق سیستمیک LPS باعث کاهش میزان آشامیدن حیوان نگردید، اما باعث کاهش معنی‌دار اشتها، وزن و تمایلات جنسی گردید. ۲) پیش‌درمانی با عصاره گل نارنج باعث تعدیل و یا کاهش معنی‌دار بعضی از اثرات ناشی از تزریق لیپوپلی‌ساکارید گردید در حالی که در سایر آثار شبه افسردگی تغییر معنی‌دار مشاهده نشد (نمودارهای ۱ تا ۳).

با توجه به اینکه داروهای موجود ضد افسردگی معمولاً چندین هفته پس از مصرف اثر درمانی خود را نشان می‌دهند و در زمان شروع مصرف تأثیری ندارند، دراین مطالعه پیش‌درمانی با عصاره، به دو صورت حاد و طولانی مدت انجام گرفت. نتایج حاصله نشان داد که هر گاه عصاره به صورت حاد (یک روز قبل از تزریق LPS) به حیوانات داده شود، تنها می‌تواند بر کاهش ترجیح حیوان به مصرف ساکارز اثر نماید و آن را افزایش دهد اما بر سایر آثار ناشی از تزریق LPS اثر محسوسی ندارد. زمانی که عصاره به صورت طولانی مدت پیش‌درمانی شود، بر روی بعضی از آثار ناشی از تزریق LPS از قبیل کاهش اشتها، کاهش لذت بردن حیوان نر از حیوان ماده اثر نموده و به‌طور معنی‌دار آنها را افزایش می‌دهد و تغییری در سایر آثار ناشی از تزریق LPS نمی‌دهد هر چند باعث افزایش و یا تعدیل این اثرات می‌گردد. در مجموع گروهی از حیوانات که با عصاره پیش درمان شده بودند سریع‌تر از گروه کنترل توانستند از علائم شبه افسردگی ایجاد شده ناشی از تزریق LPS خود را رهایی بخشند. در مطالعه‌ای که توسط Yirmiya صورت گرفته، نتایج مشابهی با نتایج تجربیات حاضر در موش صحرایی به دست آمده‌است. وی جهت پیش درمانی حیوانات، داروی ضدافسردگی ایمی‌پرامین و برای ایجاد علائم شبه افسردگی از تزریق LPS استفاده نموده و نتایجی از قبیل تغییر نیافتن میزان تمایلات جنسی و کاهش وزن گزارش نموده، در حالی که پیش‌درمانی حیوانات با ایمی‌پرامین باعث افزایش اشتها و افزایش ترجیح حیوان به مصرف ساکارز گردیده‌است (۲۰).

همان‌طوری که اشاره شد از جمله ترکیبات مهم یافت شده در عصاره تهیه شده از گل‌های بهار نارنج،فلاونوئیدها می‌باشند که میزان آن در گل نسبت به برگ‌های این گیاه بیشتر است (۱۰) از طرفی در مطالعاتی که روی عصاره گیاه دارویی *Hypericum perforatum* صورت گرفته نشان داده شده است که عصاره تهیه شده از گل‌های و سر شاخه‌های جوان این گیاه اثرات ضد افسردگی مشخص و معنی‌داری را چه در انسان و چه در مدل‌های آزمایشگاهی افسردگی در حیوانات ایجاد کرده است (۶،۷). از جمله ترکیبات یافت‌شده در عصاره این گیاه که اثرات ضدافسردگی داشته‌اند، فلاونوئیدها، هیپرفورین (hyperforin) و هیپریسین hypericin بوده‌اند (۷،۹). با این شواهد شاید بتوان گفت اثر ضدافسردگی عصاره بهار نارنج در مدل حیوانی مربوط به فلاونوئیدهای موجود در عصاره است. برای تأیید این نظریه نیاز به مطالعه بیشتر و جدا نمودن فلاونوئیدها و دیگر ترکیبات مؤثره و بررسی اثرات هر کدام از این ترکیبات می‌باشد.

تزریق LPS باعث کاهش میزان نوراپی‌نفرین، دوپامین و سروتونین در بعضی از قسمت‌های مغز از جمله هیپوتالاموس، هیپوکامپ و لایه قشری مغز می‌گردد (۱۵)، لذا ممکن است پیش‌درمانی طولانی مدت عصاره به نحوی از اثر LPS در کاهش میزان نوروترانسمیترهای فوق جلوگیری نماید.

از نقطه نظر مکانیسم اثر، عصاره گیاه *Hypericum perforatum* مانع جذب میانجی‌های عصبی از قبیل سروتونین، نورآدرنالین و دوپامین توسط استطاله‌های نورونی می‌گردد (۱۶)، با توجه به این امر که در بسیاری از موارد افسردگی به علت کمبود و یا حتی عدم تولید کاتکول‌آمین‌ها (catecholamines) خصوصاً نورآدرنالین می‌باشد (۱۴)، لذا اثر عصاره بهار نارنج ممکن است از طریق جلوگیری از جذب میانجی های عصبی نظیر سروتونین و یا نور آدرنالین صورت گیرد و یا به نحوی باعث افزایش فعالیت آنها گردد.

مطالعه حاضر یک مطالعه مقدماتی، جهت روشن شدن چگونگی اثر عصاره گیاه نارنج در جلوگیری از علائم شبه افسردگی در مدل حیوان آزمایشگاهی بود. با توجه به نتایج به دست آمده و با توجه به اینکه استفاده از گیاهان دارویی در مقایسه با داروهای شیمیایی آثار جانبی کمتری دارد، مطالعات فارماکولوژیک بیشتری جهت جداسازی ترکیبات مؤثر در عصاره و احتمالاً بررسی آثار جانبی و سمی آن توصیه می‌گردد، هر چند در این تحقیق حتی دوزهای بالای عصاره آثار سمی مشهودی در موش صحرایی ایجاد نکردند.

Summary

Antidepressant Effect of Sour Orange flowers Extract on Lipopolysaccharide-induced Depressive-like Behaviors in Rat

Mahmoodi M., Ph.D[1]., Shamsi-Meimandi M., Pharm. D[2]., Foroumadi A.R., Ph.D[3]., Raftari Sh, BSc.[4] and Asadi Shekari M., M.Sc.[5]

1. Immunologist, Neuroscience Research Center, Kerman University of Medical Sciences and Cancer Research Center, Cancer Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran 2. Instructor, Physiology and Pharmacology Department, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran. 3. Associate Professor of Pharmaceutics, School of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran 4. Technologist, Neuroscience Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran 5. Instructor, Neuroscience Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

Introduction: *Based on the documents in traditional medicine regarding the therapeutic effect of Sour orange flowers* ***(Citrus aurantium L.)*** *on the nervous system disorders, this experimental study was conducted to evaluate the pretreatment of Sour orange flowers extract in preventing or reducing depressive-like behaviors induced by systemic injection of lipopolysaccharide (LPS) in rats.*

Method: *To perform this study, percolated extract of sour orange flowers was used. Each experimental group of animals was pretreated with the extract along with drinking water before the injection of LPS. The depressive-like behaviors induced by the injection of LPS consisted of the reduction in the preference for sucrose solutions, food consumption, body weight and inability to pleasure.*

Results: *The LPS-injected rats that were chronically pretreated with the extract improved sucrose preference compared with control group, however this was not significant. Food consumption in extract-pretreated group was significantly increased on day 2 and 3 after the injection of LPS compared with control group ($P<0.05$). The effect of extract and LPS on social interaction (consisting of body sniffing and grooming) showed that in extract pretreated rats, the time spent for social interaction was equal to that before the injection (baseline). However in control group there was a significant reduction in the time spent for social interaction compared to the baseline.*

Conclusion: *Considering the effect of LPS in reduction of neurotransmitters such as serotonin and norepinephrine, the attenuation of Sour orange flowers extract on the effect of LPS might be the result of the effect of extract in increasing the level of these neurotransmitter at their site of the activity. To confirm this, more studies to evaluate the pharmacological effect of extract are required.*

Key words: *Sour orange flowers, Depressive-like behavior, Lipopolysaccharide*

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2005; 12(4): 244-251

منابع

۱. زرگری، علی: گیاهان دارویی. نشر مؤسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران. ۱۳۷۱ ، ج ۱: ص ٤٨٤.

۲. حیدری، محمودرضا؛ اسدپور، علی؛ سپهری، غلامرضا؛ عطاپور، نفیسه و اسمائیل‌زاده، فاطمه: بررسی اثر ضددردی عصاره گیاه انیسون به روش Tail-Flick و فرمالین در موش سوری. مجله داتشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی بابل، ۱۳۷۸، سال اول، شماره ۳، ص ۵۱-۴۲.

3. Ames BN. Micronutrients prevent cancer and delay aging. *Toxicol Lett* 1998; 102-103:5-18.
4. Barden N, Reul JM and Holsboer F. Do antidepressants stabilize mood through actions on the hypothalamic–pituitary adrenocortical system? *Trends Neurosci* 1995; 18(1): 6-11.
5. Bluthe RM, Lestage J, Rees G, Bristow A and Dantzer R. Dual effect of central injection of recombinant rat interleukin-4 on the lipopolysaccharide-induced sickness behavior in rats. *Neuropsychopharmacology* 2002; 26(1): 86-93.
6. Bomhardeli E and Morazzoni P. Hyporicum Perforatum. *Fitoterapia* 1995; 66: 43-68.
7. Butterweck V, Jurgenliemk G, Nahrstedt A and Winterhoff H. Flavonoids from Hypericum perforatum show antidepressant activity in the

forced swimming test. *Planta Med* 2000; 66(1):3-6.

8. Butterweck V, Nishibe S, Sasaki T and Uchida M. Antidepressant effects of apocynum venetum leaves in a forced swimming test. *Biol Pharm Bull* 2001; 24(7): 848-51.
9. Calapai G, Crupi A, Firenzuoli F, *et al.* Effects of Hypericum perforatum on levels of 5-hydroxytryptamine, noradrenaline and dopamine in the cortex, diencephalon and brainstem of the rat. *J Pharm Pharmacol* 1999; 51(6): 723-8.
10. Carnat A, Carnat AP, Fraisse D and Lamaison JL. Standardization of the Sour orange flower and Leaf. *Ann pharm Fr* 1999; 57(5): 410-414.
11. De La Garza R 2nd, Asnis GM, Fabrizio KR and Pedrosa E. Acute diclofenac treatment attenuates lipopolysaccharide-induced alterations to basic reward behavior and HPA axis activation in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 2005; 179(2): 356-65.
12. Doris A, Ebmeier K and Shajahan P. Depressive illness. *Lancet* 1999; 354(9187): 1369–1375.
13. Hernandez L, Munoz RA, Miro G, Martinez M, Silva-Parra J and Chavez PI. Use of medicinal plants by ambulatory patients in Puerto Rico. *Am J Hosp Pharm* 1994; 41(10): 2060-64.
14. Laruelle M, Frankle WG, Narendran R, Kegeles LS and Abi-Dargham A. Mechanism of action of antipsychotic drugs: from dopamine D(2) receptor antagonism to glutamate NMDA facilitation. *Clin Ther* 2005; 27 Suppl A:S16-24.
15. Masana MI, Heyes MP and Mefford IN. Indomethacin prevents increased catecholamine turnover in rat brain following systemic endotoxin challenge. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 1990; 14(4): 609-21.
16. Muller WE, Singer A, Wonnemann M, Hafner U, Rolli M and Schafer C. Hyperforin represents the neurotransmitter reuptake inhibiting constituent of hypericum extract. *Pharmacopsychiatry* 1998 Suppl 1:16-21.
17. Murray C and Lopez AD. The Global Burden of Disease. World Health Organisation, Geneva, 2001.
18. Riedel WJ and Jorissen BL. Nutrients, age and cognitive function. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 1998; 1(6):579-585.
19. Weissman MM, Bland RC, Canino GJ *et al.* Cross-national epidemiology of major depression and bipolar disorder. *JAMA* 1996; 276(4): 293-299.
20. Yirmiya R. Endotoxin produces a depressive-like episode in rats. *Brain Res* 1996; 711(1-2): 163-174.