

Effects of *Lavandula officinalis* hydroalcoholic extract on mouse reserpine induced depression

Banafsheh Bagheri¹, Batool Rahmati^{1,2*}, Faezeh Ghozatloo¹, Mehrdad Roghani^{1,2}

1. Department of Physiology, School of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran
2. Neurophysiology Research Center, Shahed University, Tehran, Iran

* Corresponding author e-mail: batrahmati@yahoo.com

Citation: Bagheri B, Rahmati B, Ghozatloo F, Roghani M. Effects of *Lavandula officinalis* hydroalcoholic extract on mouse reserpine induced depression. Daneshvar Medicine 2021; 28(6):24-36.

doi: 10.22070/DANESHMED.2021.12893.0

Abstract

Background and Objective: Depression is one of the five most common diseases in the world with a prevalence of 4.4%, and Ustokhoddu is recommended for its treatment. This study was designed to determine the effects of *Lavandula officinalis* extract on a mouse model of reserpine-induced depression.

Materials and Methods: Seventy-two mice were randomly divided into 9 groups: Normal saline, control extract (200 mg/kg), reserpine, fluoxetine (10 mg/kg or 20 mg/kg) + reserpine, fluoxetine (10 mg/kg) + extract (200 mg/kg) + reserpine, Three extract pretreated groups (100-200 and 400 mg/kg) + reserpine. Extract and fluoxetine were administered by gavage daily, for 10 days, 30 min before reserpine (0.5 mg/kg) injection intraperitoneally. Behavioral evaluations were done by forced swimming, tail suspension, elevated plus maze and open field tests.

Results: Immobility time was enhanced by reserpine (210.37 ± 2.43 as compared with normal saline 109.75 ± 3.13) and the extract decreased it, dose-dependently (140.75 ± 5.84 and 110.125 ± 6.46 , 200 and 400 mg/kg respectively) as the same as fluoxetine ($P < 0.05$), in forced swimming test. The combination of extract and fluoxetine caused a reduction of immobility time more effective than each one alone. The results obtained from tail suspension were similar to the forced swimming test.

Conclusion: *L. officinalis* hydroalcoholic extract improved the depression-like behavior caused by reserpine. The effect of the combination of the extract and fluoxetine was additive.

Keywords: Reserpine, *Lavandula officinalis*, Ustokhoddu, Depression

Received: 29 Nov 2020
Last revised: 07 Feb 2021
Accepted: 18 Feb 2021

اثرات عصاره آبی- الکی لوندولا آفیسینالیس (اسطوخودوس انگلیسی) در افسردگی القا شده توسط رزپین در موشهای کوچک آزمایشگاهی

نویسندگان: بنفشه باقری^۱، بتول رحمتی^{۱،۲*}، فائزه قضاة لو^۱، مهرداد روغنی^{۱،۲}

۱. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

۲. مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

Email: batrahmati@yahoo.com

*نویسنده مسئول: بتول رحمتی

چکیده

مقدمه و هدف: افسردگی یکی از پنج بیماری شایع در جهان با شیوع % ۴،۴ است و اسطوخودوس برای درمان آن پیشنهاد می شود. هدف از این مطالعه بررسی اثرات عصاره اسطوخودوس انگلیسی در مدل افسردگی ناشی از رزپین بر روی موش های کوچک آزمایشگاهی بوده است. **مواد و روش ها:** دو عدد موش کوچک آزمایشگاهی به طور تصادفی به نه گروه تقسیم بندی شدند: نرمال سالین، کنترل عصاره (200 mg/kg)، رزپین، فلوکستین (10 or 20 mg/kg) + رزپین، فلوکستین (10 mg/kg) + عصاره (200 mg/kg) + رزپین، سه گروه پیش درمان شده با عصاره (100-200 and 400 mg/kg) + رزپین. عصاره و فلوکستین توسط گاواژ روزانه به مدت ده روز، سی دقیقه قبل از تزریق داخل صفاقی رزپین (0.5 mg/kg) تجویز شده است. ارزیابی رفتاری توسط تست های شنای اجباری، تعلیق دم، ماز به علاوه ای مرتفع و open field انجام شده است.

نتایج: زمان بی حرکتی در تست شنای اجباری توسط رزپین افزایش یافت (210.37 ± 2.43) در مقایسه با نرمال سالین (109.75 ± 3.13) و عصاره مثل فلوکستین به طور وابسته به دوز این زمان را کاهش داد (به ترتیب 140.75 ± 5.84 و 110.125 ± 6.46 برای دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰) ($p < 0.05$). ترکیب عصاره و فلوکستین موثرتر از هر کدام به تنهایی عمل کرد. نتایج به دست آمده از تست تعلیق دم نیز مشابه تست شنای اجباری بود.

نتیجه گیری: عصاره ی آبی- الکی *L. officinalis* منجر به بهبود علائم شبه افسردگی ناشی از رزپین شد. در این مورد اثر ترکیب عصاره و فلوکستین قابل جمع شدن بود.

واژه های کلیدی: رزپین، *Lavandula officinalis*، اسطوخودوس، افسردگی

مقاله پژوهشی

دریافت: ۱۳۹۹/۰۹/۰۹

آخرین اصلاح ها: ۱۳۹۹/۱۱/۱۹

پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۳۰

مقدمه

افسردگی جزء پنج بیماری شایع در جهان است (۱). سازمان جهانی بهداشت نیز افسردگی را جزء پرهزینه ترین بیماری ها تا سال ۲۰۳۰ پیش بینی کرده است (۲). افسردگی یک اختلال ذهنی است که به صورت اختلال افسردگی شدید یا **major depressive disorder** نیز می تواند بروز کند و با علائم تشخیصی مثل ناراحتی، احساس پوچی، اضطراب، اختلال خواب و به طور کلی از دست دادن انگیزه برای شروع و انجام دادن فعالیت هاست. به علاوه، علائمی چون احساس گناه، ناامیدی، بی ارزشی، کاهش انرژی، مشکلات تمرکزی، علائم روانی و خودکشی ممکن است وجود داشته باشد (۳، ۴). طبق آخرین آمار منتشر شده توسط سازمان جهانی بهداشت در سال ۲۰۱۵ تعداد افراد مبتلا به افسردگی بالغ بر سیصد میلیون نفر یعنی حدود ۴٫۴ درصد از جمعیت جهان تخمین زده شده است. همچنین افسردگی یکی از مهم ترین علل خودکشی در جهان است. سالانه حدود هشتصد هزار نفر در جهان (۵). فاکتورهای بیولوژیکی مانند استرس، اختلال های ژنتیکی، تنظیم نادرست نوروترانسمیتری، اختلالات نورواندوکرین و نوروفیزیولوژی و تخریب در عملکردهای ایمونولوژیکی، در پاتوفیزیولوژی افسردگی دخالت دارند (۶). افراد مبتلا به افسردگی به طور منظم مداخلات درمانی را دریافت می کنند، مانند: مهارکننده های برداشت سروتونین **SSRIs**، مهارکننده های برداشت سروتونین و نوراپی نفرین **SNRIs**، مهارکننده های مونوآمین اکسیدازها **MAOIs** و ضدافسردگی های سه حلقه ای **TCA**; علیرغم پیشرفت هایی در توسعه ی داروهای جدید، در اکثر موارد نتایج درمانی پایین تر از حد مطلوب هستند (۶، ۷). فلوکستین یکی از اولین ضد افسردگی ها از دسته ی **SSRIs** (مهارکننده برداشت سروتونین) است که غلظت ۵- هیدروکسی تریپتامین **HT-۵**، را در مناطق مختلف مغز، بدون تأثیر بر روی رسپتورهای سایر نوروترانسمیترها افزایش می دهد. بعد از مصرف طولانی مدت، برخی

رسپتورهای **HT-۵** دچار عدم حساسیت یا **Desensitization** می شوند (۸). **SSRIs** عوارض جانبی متداولی دارند شامل: اشکالات معده-روده ای شامل اسهال، تهوع، بی اشتها، بی خوابی و اختلالات خشکی دهان، نگرانی، پریشانی، بی خوابی و اختلالات جنسی مانند کاهش میل جنسی و تأخیر در ارگاسم است (۹). عوارض جانبی نقش مهمی در عدم مصرف داروهای ضد افسردگی دارد (۱۰). علی رغم پیشرفت های حاصل شده در فارماکوتراپی، علائم بیماری در تعداد زیادی از افراد مبتلا به افسردگی که تحت درمان با داروهای متنوع قرار گرفته اند باقی می ماند. در نتیجه هم به دلیل عوارض جانبی نامطلوب و هم ناتوانی نسبتاً ناموفق در درمان با ضد افسردگی ها یافتن رویه ی درمانی مناسبی برای این بیماری ضروری است (۴). به طور کلی گیاهان نسبت به داروهای سنتتیک سمیت کمتری دارند (۱۱). درمان های گیاهی متنوعی به عنوان بخشی از طب سنتی در سراسر جهان، بالغ بر هزار سال استفاده شده است. برخی از این گیاهان برای سنجش اثرات قابل اندازه گیری شان در افسردگی مورد مطالعه قرار گرفته اند (۱۲).

جنس های **Lavender** یکی از مفید ترین گیاهان در دنیا هستند که عضوی از خانواده ی نعناعیان (**Lamiacea**) می باشند. یکی از گونه های مهم آن لوندولا آفیسینالیس (**Lavandula officinalis**)، گونه ی غیربومی ایران است که با نام هایی چون لوندرا انگلیسی نیز شناخته می شود (۱۲، ۱۴). بر طبق مطالعات آزمایشگاهی **L. officinalis** به عنوان آرام بخش، ضد افسردگی، ضد اسپاسم، ضد تهوع، ضد نفخ، مدر، ضد تشنج، آنتی باکتریال، مسکن و تقویت کننده عمومی مورد توجه قرار گرفته است. گونه های **Lavender** حاوی ترکیباتی چون: فلاونوئیدها (**flavonoids**) هستند که بر رسپتورهای بنزودیازپین (**benzodiazepine**) اثر می گذارند. این

رستپورها در واقع رستپورهای گابا (کانال های پنتامریک کلری) هستند (۱, ۱۵, ۱۶). مدل های حیوانی به طور گسترده ای برای مطالعه ی داروهای ضد افسردگی استفاده می شوند. زرزپین (Reserpine) که در گذشته درمانی برای فشار خون بالابوده است، یکی از اثرات جانبی اش شامل افسردگی است. زرزپین می تواند مونوآمین ها را با مهار فعالیت انتقال دهنده ی وزیکولی مونوآمین-۲ (VMAT-2) در مغز تخلیه کند و سندرومی شبیه افسردگی در حیوانات ایجاد کند؛ این اثر از برداشت مجدد مونوآمین ها به داخل وزیکول های سیناپسی جلوگیری می کند و آن ها را در معرض کاتابولیسیم اکسیداتیو توسط آنزیم های مونوآمین اکسیداز سیتوزولی قرار می دهد. تجویز دوزهای کم و تکراری زرزپین منجر به مدل فارماکولوژیکی قابل قبولی برای افسردگی و ارزیابی داروهای ضد افسردگی است (۱۷, ۱۸).

با توجه به مطالب بالا به دلیل افزایش روز افزون بیماری افسردگی و بروز عوارض جانبی نامطلوب و همچنین تأخیر اثرات درمانی و مصرف طولانی مدت داروهای ضد افسردگی نیاز به بررسی هر چه بیشتر برای یافتن دارویی با عوارض جانبی کمتر و مناسب تر برای مصرف بلند مدت هستیم. از آنجا که اثرات ضد افسردگی گونه های مختلف *Lavender* گزارش شده است و همچنین عدم وجود تحقیقات کافی بر روی اثر ضد افسردگی عصاره آبی- الکی گونه ی *L.officinalis* در مدل های مختلف افسردگی خصوصاً بررسی اثر توأم این گیاه به همراه فلوکستین، به بررسی اثر ضد افسردگی عصاره این گیاه در افسردگی ناشی از زرزپین مزمن می پردازیم.

مواد و روش ها

در این مطالعه ی تحقیقاتی که از نوع تجربی است، تعداد ۷۲ عدد موش کوچک آزمایشگاهی نر از نژاد NMRI در محدوده ی وزنی ۲۰ تا ۲۵ گرم (انستیتو پاستور، تهران)

خریداری شد و به طور تصادفی به نه گروه تقسیم بندی شدند. موش ها پس از گروه بندی به مدت ده روز در شرایط استاندارد (دمای حدود 2 ± 21 درجه ی سانتی گراد، رطوبت حدود ۳۰ تا ۴۰ درصد، دوره ی روشنایی ۱۲ ساعت و دوره تاریکی ۱۲ ساعت، دسترسی به غذای استاندارد جوندگان و آب شرب) به منظور سازگاری با محیط در مرکز حیوانات دانشگاه شاهد نگهداری شدند. همچنین در طی این ده روز سازگاری هیچ گونه آزمایشی انجام نشد. کد اخلاق پژوهش حاضر با شناسه IR.SHAHED.REC.1398.015 به تصویب کمیته ملی اخلاق در پژوهش های زیست پزشکی رسید. حیوانات به صورت تصادفی به ۹ گروه هشت تایی تقسیم شدند: ۱- گروه کنترل-سالین (این گروه عصاره و زرزپین دریافت نکردند). ۲- کنترل-عصاره لوندولا آفیسینالیس (این گروه زرزپین دریافت نکردند). ۳-زرزپین-فلوکستین دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم. ۴- زرزپین-فلوکستین دوز ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم (این دو گروه عصاره دریافت نکردند و داروی شیمیایی ضد افسردگی دریافت کردند و صرفاً برای مقایسه اثر ضد افسردگی با گروه های عصاره در نظر گرفته شدند) ۵- سالین-زرزپین (این گروه افسرده هستند و عصاره دریافت نکردند). ۶- عصاره دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم - زرزپین. ۷- عصاره دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم - زرزپین. ۸- عصاره دوز ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم-زرزپین. (سه گروه با دوزهای مختلف عصاره برای اندازه گیری اثر ضد افسردگی هر دوز و یافتن مؤثرترین دوز در نظر گرفته شدند). ۹-عصاره-فلوکستین-زرزپین (اثر توأم عصاره ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و داروی فلوکستین ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم بررسی شد).

به منظور فراهم ساختن گروه هایی با شرایط یکسان، تمامی نه گروه گاواژ و تزریق داخل صفاقی را تجربه کردند. به این صورت که گروه های دریافت عصاره و فلوکستین به مدت ۱۰ روز عصاره یا فلوکستین را به صورت خوراکی

حرکات کوچکی که برای بیرون نگه داشتن سر از آب انجام گرفت نادیده گرفته شد. کاهش در زمان بی حرکتی به عنوان مقیاسی برای اثرات ضد افسردگی داروها بود (۱۹،۲۰).

آزمون تعلیق دم Tail Suspension Test

آزمون تعلیق دم یکی از روش های متداول برای اندازه گیری تأثیر داروهای ضدافسردگی است. در این تست هر کدام از موش ها به صورت جداگانه ۱۵ سانتی متر بالاتر از کف دستگاه TST از قسمت ۱ سانتی متری نوک دم آویزان شدند. ضد افسردگی ها زمانی پاسخ داده اند که موجب افزایش رفتارهای تقلاگونه و میل به فرار در جوندگی شدند. مدت زمان بی حرکتی در طول ۴ دقیقه از ۶ دقیقه ی آزمایش اندازه گیری شد و کاهش در زمان بی حرکتی نشانه ای از اثر داروی ضد افسردگی بود (۲۰).

آزمون جعبه باز Open field test

برای اندازه گیری فعالیت لوکوموتور و رفتار شبه اضطرابی از این تست استفاده شد. هر موش به طور جداگانه در مرکز یکی از بخش های باز به اندازه ی (۵۰ در ۵۰ در ۴۰ سانتی متر) با دیواره های چوبی قرار داده شد. سپس موش در محفظه شروع به حرکت کرد و طی ۶ دقیقه فعالیتش بررسی شد. میزان حضور حیوان در مرکز محفظه و یا در کناره ها اندازه گیری شد. هر چه حیوان ترجیح به ماندن در لبه های محفظه داشته باشد نشان دهنده ی افزایش اضطراب در آن است. تعداد دفعات عبور حیوان از مرکز به محیط و برعکس و همچنین تعداد rearing (ایستادن موش بر روی دو پا) اندازه گیری شد. پس از انجام تست محفظه توسط اتانول ضدعفونی و تمیز شد (۲۰، ۲۱).

آزمون ماز به علاوه مرتفع Elevated plus maze test: اضطراب توسط این تست اندازه گیری شد. دستگاه شامل دو بازوی باز و دو بازوی بسته است و بازوها توسط یک مربع مرکزی ۱۰ در ۱۰ سانتی متر به هم متصل شده اند تا شبیه علامت به علاوه باشند. این دستگاه ۶۰ سانتی متر بالاتر از سطح زمین قرار گرفت. هر موش به طور جداگانه در مرکز مربع قرار گرفت و به هر کدام از بازوها وارد شد؛

با استفاده از سرنگ مخصوص گاواژ دریافت کردند و سایر گروه ها نرمال سالین را به شکل گاواژ دریافت کردند. موش های هر گروه نیم ساعت بعد از گاواژ، رزپین را به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند در واقع افسردگی در نتیجه تزریق روزانه ی ۰،۵ میلی گرم بر کیلوگرم رزپین به طور داخل صفاقی، طی ده روز القا شد؛ گروه های کنترل عصاره و کنترل نیز نرمال سالین را به شکل تزریقی دریافت کردند و در نهایت روز بعد از آخرین تزریق رزپین تست ها انجام شد.

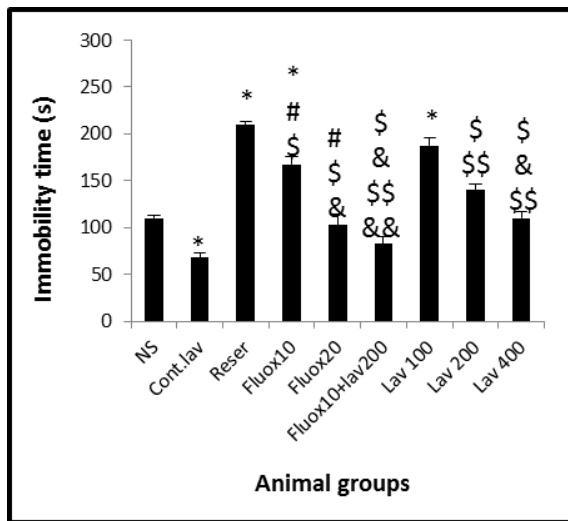
روش تهیه عصاره

L. officinalis از مرکز کشت معتبر در گرگان خریداری شد و به تائید بخش فارماکونوزی دانشگاه تهران با کد هرباریومی PMP-1338 قرار گرفت.

۱۰۰۰ گرم از سرشاخه های گلدار گیاه توسط آسیاب برقی پودر شد و داخل بشر ریخته شد، سپس ۴۸۰۰ میلی لیتر الکل ۷۰ درجه به پودر گیاه اضافه و مخلوط کردیم، سپس درب بشر را با سلفون مسدود کرده و به مدت ۴۸ ساعت بشر را در مکانی تاریک قرار دادیم. در نهایت توسط کاغذ صافی بخش مایع را کاملاً جدا کرده و داخل بشر ریخته و در بن ماری با دمای ۶۰ درجه، به مدت ۲ روز قرار دادیم تا اتانول تبخیر شده و عصاره ای غلیظ از گیاه تهیه شد که می توان غلظت های مورد نیاز را با استفاده از آن تهیه کرد. همچنین yield of extract عصاره ی به دست آمده ۱۰ درصد بود.

آزمون شنای اجباری Forced Swimming Test

آزمون شنای اجباری یکی از شناخته شده ترین تست های ناامیدی است. در طول تست، موش ها در یک محفظه پلاستیکی شفاف قرار داده شدند (ارتفاع: ۲۰ سانتی متر و قطر: ۱۰ سانتی متر) که با ۱۵ سانتی متر آب با دمای ۲۴ تا ۲۶ درجه سانتی گراد به مدت ۶ دقیقه قرار داده شد، بنابراین آن ها نمی توانند ته ظرف را لمس کنند یا فرار کنند، تمام مدت بی حرکتی (زمانی که توسط شناور بودن در سطح آب، بدون تقلا کردن سپری شد) در طول ۴ دقیقه ی آخر از کل ۶ دقیقه اندازه گیری شد. همچنین



نمودار ۱. مدت زمان بی حرکتی در تست شنای اجباری

ستون ها نشان دهنده ی $Mean \pm SEM$ است. تغییرات معنی دار در سطح $p < 0.001$ بوده است.

* $p < 0.001$ (در مقایسه با گروه نرمال سالین NS)

$p < 0.001$ (در مقایسه با گروه کنترل عصاره Cont.lav)

\$ $p < 0.001$ (در مقایسه با گروه زرزپین Reser)

& $p < 0.001$ (در مقایسه با گروه فلوکستین ۱۰ Fluox10)

\$\$ $p < 0.001$ (در مقایسه با گروه عصاره ۱۰۰ Lav100)

&& $p < 0.001$ (در مقایسه با گروه عصاره ۲۰۰ Lav200)

نمودار ۲ نتایج تست تعلیق دم نیز مشابه و تأیید کننده تست شنای اجباری می باشد که تست هایی اختصاصی برای سنجش میزان افسردگی می باشند. گروه افسرده با زرزپین افزایش معنی داری در مدت زمان بی حرکتی نسبت به گروه کنترل سالین را نشان می دهد که نشان دهنده ی رفتار شبه افسردگی است؛ همچنین گروه کنترل عصاره کاهش معنی داری را در مدت زمان بی حرکتی نسبت به گروه کنترل سالین نشان می دهد که نشان دهنده ی اثر ضد افسردگی عصاره می باشد. گروه های عصاره، فلوکستین و فلوکستین به علاوه ی عصاره نیز نسبت به گروه افسرده کاهش معنی داری را در مدت زمان بی حرکتی نشان می دهد. گروه عصاره ۴۰۰ نسبت به گروه عصاره ۲۰۰ کاهش معنی دار داشته و موثرتر بوده است. اما مؤثرترین گروه درمان، گروه فلوکستین به علاوه ی عصاره است که کاهش معنی داری را نسبت به گروه عصاره ۴۰۰ و فلوکستین ۲۰ نشان داده است. به عبارتی ترکیب عصاره لوندول ۲۰۰ با فلوکستین ۱۰ اثری بهتر از فلوکستین ۲۰ یا

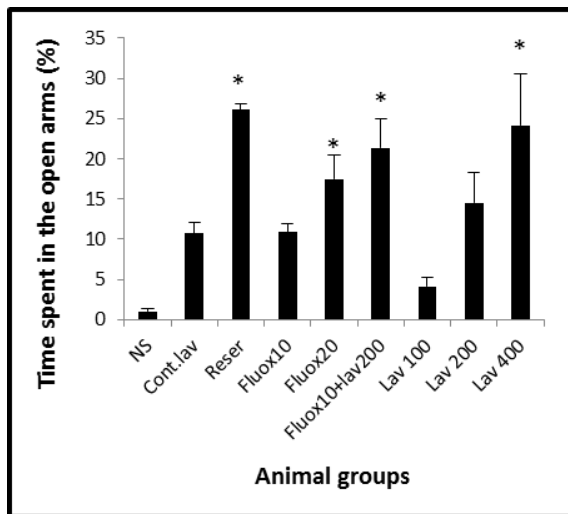
طی ۵ دقیقه رفت و آمد موش ثبت شد و زمانی که موش در بازوی باز سپری می کرد مقیاسی از رفتار ضد اضطرابی موش بود. همچنین مدت زمانی که موش در بازوی بسته سپری می کند و تعداد ورود به بازوها نیز ثبت شد (۲۲).

روش آنالیز آماری

داده ها بر اساس میانگین و انحراف معیار تعریف گردید. سپس نرمالیتی داده ها با آزمون های مربوطه انجام و در صورت پارامتریک بودن داده از آزمون ANOVA یک طرفه و پست آزمون کمکی Bonferoni استفاده شد. در صورت غیر پارامتریک بودن داده ها از آزمون Kuriskal-wallis و پست آزمون مربوطه آن استفاده شد.

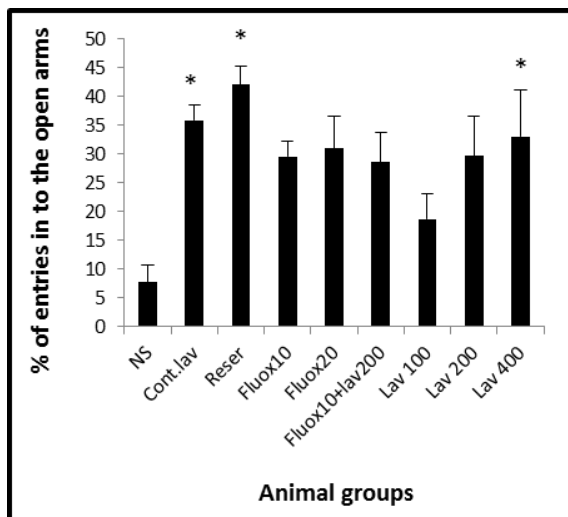
نتایج

نمودار ۱ میانگین مدت زمان بی حرکتی در تست شنای اجباری را به صورت نمودار ستونی نشان می دهد؛ مدت زمان بی حرکتی در گروه افسرده یا زرزپین نسبت به گروه کنترل سالین افزایش معنی داری داشته است، همچنین گروه کنترل عصاره نیز نسبت به گروه کنترل سالین کاهش معنی داری را در زمان بی حرکتی نشان می دهد که نشان دهنده ی تأثیر عصاره گیاهی می باشد. گروه های فلوکستین با دوز ۱۰ و ۲۰ و هر سه دوز عصاره گیاهی و همچنین گروه فلوکستین به همراه عصاره گیاهی کاهش معنی داری را در مدت زمان بی حرکتی نسبت به گروه افسرده نشان داده است. البته این کاهش در دو گروه فلوکستین و سه گروه عصاره وابسته به دوز بوده است. گروه فلوکستین ۱۰ به علاوه ی عصاره، مؤثرترین گروه می باشد. گروه مذکور بهتر از فلوکستین ۱۰ و عصاره ۲۰۰ به تنهایی اثر کرده و اثری مشابه فلوکستین ۲۰ و یا عصاره ۴۰۰ بر جای گذاشته است که نشان دهنده ی اثر افزایشی (Additive) است.



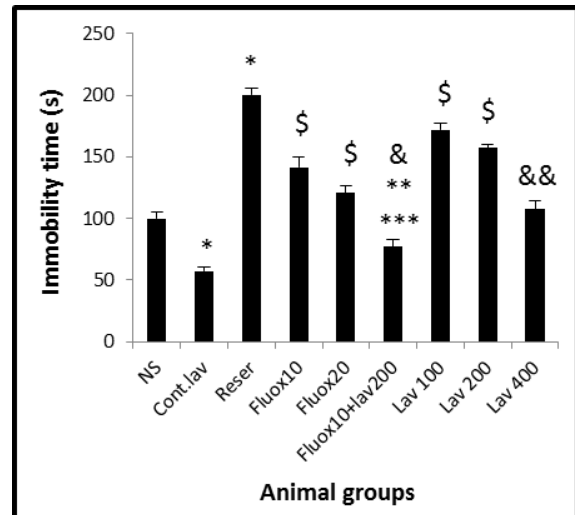
نمودار ۳. درصد زمان سپری شده در بازوهای باز در تست ماز به علاوه ای مرتفع ستون ها نشان دهنده ی $Mean \pm SEM$ است. * $p < 0.001$ (در مقایسه با گروه نرمال سالین NS)

نمودار ۴ درصد ورود به بازوهای باز در تست ماز به علاوه ای مرتفع به صورت نمودار ستونی نشان داده شده است. گروه های رزپین، کنترل عصاره و عصاره ۴۰۰ نسبت به گروه نرمال سالین افزایش معنی داری در سطح $p < 0.001$ نشان داده اند که بیانگر اثرات ضد اضطرابی آنها می باشد.



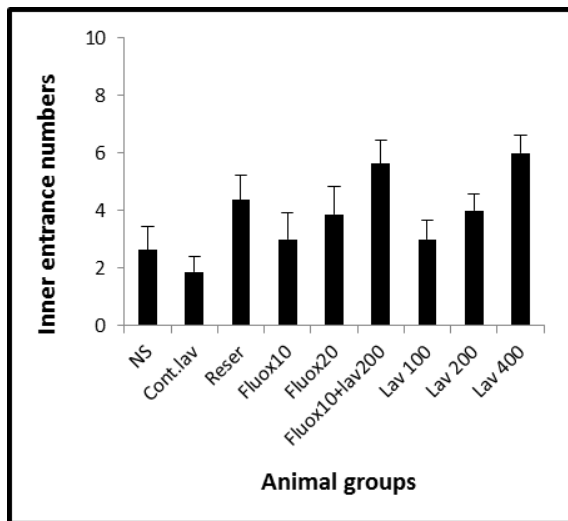
نمودار ۴. درصد ورود به بازوهای باز در تست ماز به علاوه ای مرتفع ستون ها نشان دهنده ی $Mean \pm SEM$ است. * $p < 0.001$ (در مقایسه با گروه نرمال سالین NS)

لوند ۴۰۰ به تنهایی نشان داده است. در حقیقت عصاره و فلوکستین اثرات همدیگر را تقویت کرده اند و اثر سینرژیسیم نشان داده اند.



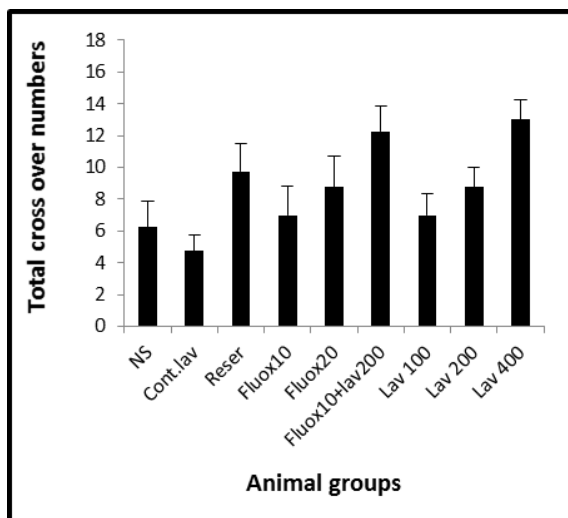
نمودار ۲. مدت زمان بی تحرکی در تست تعلیق دم ستون ها نشان دهنده ی $Mean \pm SEM$ است. تغییرات معنی دار در سطح $p < 0.001$ بوده است. * $p < 0.001$ (در مقایسه با گروه نرمال سالین NS) \$ $p < 0.001$ (در مقایسه با گروه رزپین Reser) & $p < 0.001$ (در مقایسه با گروه فلوکستین ۱۰ Fluox10) ** $p < 0.001$ (در مقایسه با گروه فلوکستین ۲۰ Fluox20) && $p < 0.001$ (در مقایسه با گروه عصاره ۲۰۰ Lav200) &&& $p < 0.001$ (در مقایسه با گروه عصاره ۴۰۰ Lav400)

در نمودار ۳ اثرات ضد اضطرابی عصاره و دیگر داروها مطالعه می شود که به صورت محاسبه درصد زمان سپری شده در بازوهای باز در تست ماز به علاوه ای مرتفع می باشد. گروه های افسرده، فلوکستین ۲۰، گروه فلوکستین ۱۰ به علاوه ی عصاره ۲۰۰ و عصاره ۴۰۰، افزایش معنی داری نسبت به گروه نرمال سالین دارد و اثر ضد اضطرابی نشان داده اند. رزپین نیز با افزایش معنی دار در اینجا اثر ضد اضطرابی نشان داده است.



نمودار ۶. تعداد ورود به مربع مرکز در تست جعبه باز
ستون ها نشان دهنده ی $Mean \pm SEM$ است

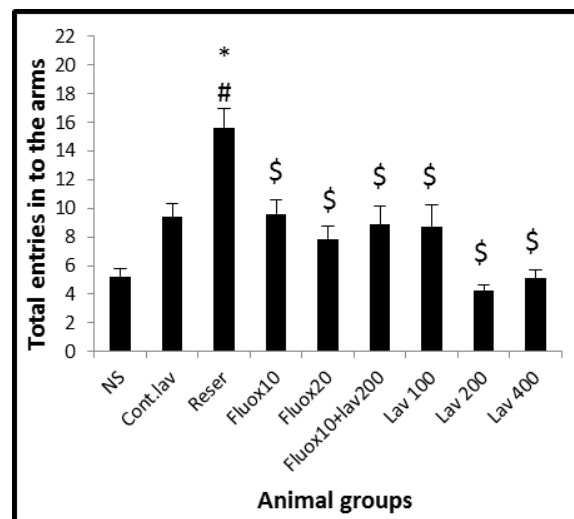
نمودار ۷: در تعداد کل عبورها که در تست جعبه باز نشان داده شده است نیز تفاوت معناداری میان هیچ کدام از گروه ها مشاهده نشده است.



نمودار ۷. تعداد کل عبورها در تست جعبه باز
ستون ها نشان دهنده ی $Mean \pm SEM$ است

نمودار ۸: میزان ایستادن روی دو پا در تست جعبه باز نشان داده شده است که تنها گروه فلوکستین ۲۰ کاهش معناداری را نسبت به گروه نرمال سالین و گروه کنترل عصاره نشان داده است که احتمالاً می تواند بیانگر این امر باشد که فلوکستین ۲۰ روحیه جستجوگری حیوان را کاهش داده است.

نمودار ۵: تعداد کل ورودها در تست ماز به علاوه ای مرتفع به صورت نمودار ستونی نشان می دهد. گروه افسرده افزایش معنی داری نسبت به گروه نرمال سالین و کنترل سالین داشت. همچنین گروه های فلوکستین ۱۰ و ۲۰، عصاره ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰، همچنین گروه فلوکستین ۱۰ به علاوه عصاره ۲۰۰ نیز کاهش معنی داری را نسبت به گروه رزپین نشان می دهد. تحرک کلی حیوانات در گروه رزپین زیادتز از کنترل و در بقیه گروه ها تقریباً در سطح گروه کنترل می باشد. با توجه به اینکه در تست جعبه باز تحرک کلی حیوان نسبت به گروه کنترل تغییر معنی داری نکرده است، لذا این اثر نیز می تواند بیانگر اثرات ضد اضطرابی باشد.

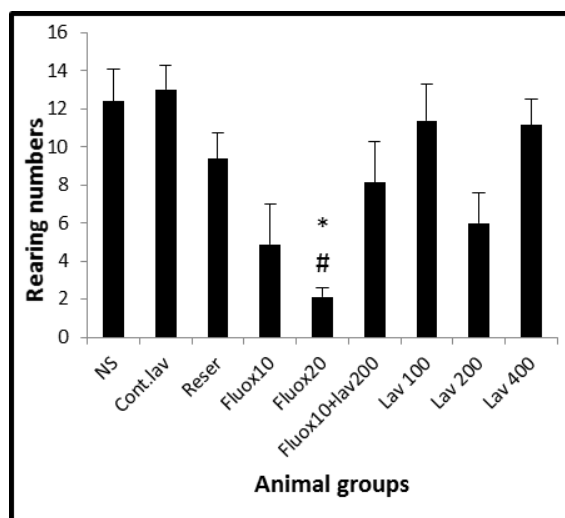


نمودار ۵. درصد کل ورود به بازوها در تست ماز به علاوه ای مرتفع
ستون ها نشان دهنده ی $Mean \pm SEM$ است.
* $p < 0.001$ (در مقایسه با گروه نرمال سالین NS)
\$ $p < 0.001$ (در مقایسه با گروه رزپین Reser)
$p < 0.001$ (در مقایسه با گروه کنترل عصاره Cont.lav)

نمودار ۶: که تعداد ورود به مربع وسط را در تست جعبه باز به صورت نمودار ستونی نشان داده شده است، بین هیچ کدام از گروه ها تفاوت معناداری دیده نمی شود.

گروه کنترل عصاره که دوز ۲۰۰ را دریافت کرده است نسبت به گروه نرمال سالین، اثر ضد افسردگی معنی داری را نشان داده و میزان بی حرکتی را کاهش داده است (طبق نمودارهای ۱ و ۲)، در نتیجه دوز متوسطی از عصاره بر روی موش های سالم که رزپین را نیز دریافت نکرده اند، اثر مثبتی داشته است و حتی می توان این عصاره را به عنوان پیشگیری کننده از افسردگی دانست که زمان بی حرکتی را به صورت معنی داری نسبت به گروه نرمال سالین کاهش داده است. طبق تحقیق سعید عباسی ملکی نیز اثر عصاره با دوز ۲۰۰ (مشابه گروه کنترل عصاره در پژوهش حاضر) دارای اثرات ضد افسردگی است و اثرات شبه فلوکستین دارد و منجر به کاهش معنی دار زمان بی حرکتی در تست شنای اجباری و تعلیق دم می شود (۱۳).

طبق نمودارهای ۱ و ۲ که نتایج آزمون شنای اجباری و تعلیق دم را نشان می دهند (تست های اختصاصی در اندازه گیری رفتار شبه افسردگی) عصاره *L. officinalis* به صورت وابسته به دوز، مدت زمان بی حرکتی را که مؤلفه ی افسردگی است کاهش داده است و عصاره با دوز ۴۰۰ مؤثرترین دوز می باشد و اثری تقریباً برابر فلوکستین با دوز ۲۰ دارد. در مطالعه *Kageyama Aya* و همکاران در سال ۲۰۱۲، اثرات ضد افسردگی عصاره *L. officinalis* با استفاده از آزمون شنای اجباری اندازه گیری شد و اثرات ضد افسردگی آن مشاهده شده است (۲۳). طبق مطالعه ی کوروش ساکی و همکاران در سال ۲۰۱۴ عصاره این گیاه دارای خاصیت ضد افسردگی به علت داشتن ماده مؤثره ی *linalool* با مکانیسم احتمالی تعدیل سیستم گابا یا *GABA modulation* است (۱۸). در مطالعه ی *Sarris* و همکاران نیز در سال ۲۰۱۱، به اثرات ضد افسردگی گونه های *Lavender* به علت وجود ترکیبات فعال *linalool* و *linalyl acetate* و تأثیر بر سیستم گاباژئیک در درمان افسردگی اشاره شده است (۲۴). البته مکانیسم های احتمالی دیگری نظیر کاهش استرس اکسیداتیو و تأثیر بر ترشح نوروترانسمیترها نیز مطرح می باشند (۲۵).



نمودار ۸. تعداد ایستادن روی دو پا (rearing) در تست جعبه باز

ستون ها نشان دهنده ی Mean ± SEM است .

* p<0.001 (در مقایسه با گروه نرمال سالین NS)

p<0.001 (در مقایسه با گروه کنترل عصاره Cont.lav)

بحث

به علت اهمیت روز افزون افسردگی، عوارض جانبی داروها و ناکارآمدی داروهای فعلی در مصرف طولانی مدت و یا در افراد مقاوم به درمان، پژوهش برای یافتن درمانی مؤثر و کارآمد همچنان ادامه دارد؛ یکی از این راهها می تواند یافتن دارویی در طبیعت باشد.

همچنین سنجش اثرات افسردگی زمانی با ارزش است که مدل بیماری ایجاد شده در حیوان به بیماری اصلی شباهت داشته باشد. سنجش اثرات ضد افسردگی در مدل افسردگی کرونیک که ناشی از تزریق دوز پایین رزپین به صورت تکراری است معتبرتر از مدل افسردگی حاد ناشی از تزریق دوز بالای رزپین به صورت تک دوز، می باشد و منجر به مدل فارماکولوژیکی قابل قبول تری برای افسردگی و ارزیابی داروهای ضد افسردگی است. در پژوهش حاضر تزریق رزپین نیم میلی گرم در هر کیلوگرم طی ده روز، به خوبی افسردگی را در حیوان ایجاد کرده است و مشابه تحقیق *park* در گروه رزپینه (افسرده) منجر به افزایش مدت زمان بی حرکتی در تست شنای اجباری و تعلیق دم شده است (۱۷).

گروه عصاره ۲۰۰ به علاوه ی فلوکستین ۱۰، حداکثر میزان اثر ضد افسردگی را نشان داده است، به طوریکه کاهش مدت زمان بی حرکتی مشابه با گروه دریافت کننده فلوکستین ۲۰ و گروه دریافت کننده عصاره ۴۰۰ بوده و همراهی دو دوز متوسط از عصاره و فلوکستین اثر دوز بالاتری از هر کدام را اعمال کرده است. همچنین سایر تحقیقاتی که اثر عصاره *L.officinalis* را به همراه داروی ضد افسردگی بررسی کرده اند، تأثیر بیشتر داروی ضد افسردگی را به همراه عصاره گزارش دادند. در مطالعه ی آخوندزاده در سال ۲۰۰۳، کولیوند سال ۲۰۱۳، هر کدام به صورت جداگانه، اثر درمانی عصاره *L.officinalis* و *Imipramine* را بسیار موثرتر از *Imipramine* به تنهایی گزارش کرده اند (۲۶، ۲۷).

در تست تعلیق دم نیز گروه عصاره ۲۰۰ به علاوه ی فلوکستین ۱۰، کاهش معنی داری در زمان بی تحرکی نسبت به گروه عصاره ۴۰۰ و گروه فلوکستین ۲۰ نشان داده اند که نشان دهنده ی تأثیر فزاینده عصاره و فلوکستین در کنار هم است و موثرتر از دوز بالای فلوکستین و یا عصاره ۴۰۰ به تنهایی است. تقویت اثر فلوکستین توسط لوندرا می تواند بیانگر این اثر باشد که به طور احتمال، بخشی از مکانیسم عمل فلوکستین و لوندرا در بهبود افسردگی مشترک می باشد که باید تحقیق شود.

تست ماز به علاوه ای مرتفع برای اندازه گیری اضطراب به کار می رود. در این تست افزایش مدت زمان حضور در بازوی باز و افزایش ورود به بازوی باز به عنوان فاکتوری نشان دهنده ی اثر ضد اضطرابی یا *anxiolytic* است. گروه زرزپین نسبت به گروه نرمال سالیین افزایش معنی داری را در درصد مدت زمان حضور در بازوی باز و درصد ورود به بازوی باز را داشته است و در اینجا اثر ضد اضطرابی نشان داده است. البته طبق مقاله ی *Kyzar*، زرزپین در بالین اثرات بحث برانگیزی را روی اضطراب نشان می دهد! بدین صورت که یا اثری بر روی اضطراب ندارد، یا اضطراب را افزایش می دهد و یا آن را کاهش

می دهد (۲۸). به نظر می رسد که زرزپین برای تست اضطراب مناسب نباشد. نتایج کلی حاصل از این تست، همچنین اثرات ضد اضطرابی کنترل عصاره، دوز ۴۰۰ عصاره، فلوکستین و ترکیب آن ها را نشان می دهد که این نتایج نیز همسو با سایر تحقیقات در این زمینه می باشد که به دلیل نامناسب بودن تست اضطراب در افسردگی ناشی از زرزپین از بحث در این مورد می پرهیزیم.

میزان ورود به خانه های مرکزی در تست جعبه باز نیز میزان اثر ضد اضطرابی را نشان می دهد. در اینجا گروه زرزپین و گروه عصاره ۴۰۰ حداکثر مدت زمان حضور در مرکز جعبه را نشان داده است که معنی دار نیست. کل عبور از خانه ها حرکت کلی حیوان و میزان ایستادن روی دو پا روحیه تجسس گری حیوان را نشان می دهد. این بخش از مطالعات نتایج معنی داری نداشت. طبق تحقیق *Manar Angrini* رفتار چند دارو از جمله زرزپین را که به صورت تک دوز تزریق نموده بود در تست جعبه باز مورد مطالعه قرار داد؛ سپس این گونه شرح داد که "تفسیر اثرات زرزپین در تست جعبه باز دشوار است و در این تست نیز تغییر معنی داری در ورود به مربع مرکزی و ایستادن روی دو پا مشاهده نشد" (۲۹). فلوکستین ۲۰ با کاهش تعداد *Rearing* روحیه تجسس گری حیوان را به طور معنی داری کاهش داد که برای بحث در این باره باید این اثر را در سایر مدل های حیوانی افسردگی مطالعه کرد.

نتیجه گیری

پژوهش حاضر اثر ضد افسردگی عصاره لوندولا آفیسینالیس را با تکیه بر تست های اختصاصی که مربوط به سنجش اثرات ضد افسردگی است، به طور وابسته به دوز تأیید می نماید و صحتی بر نتایج ضد افسردگی حاصل از تحقیقات گذشته است؛ همچنین مصرف توأم عصاره و فلوکستین منجر به تأثیر قوی تری نسبت به فلوکستین و یا عصاره به تنهایی می شود.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر با حمایت مالی کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه شاهد و معاونت پژوهش و فناوری به انجام رسیده است.

محدودیت های تحقیق

سختی در تهیه گیاه از یک مرکز کشت گیاه در گرگان، دشواری تهیه رزپین از خارج کشور و تامین بودجه تحقیق را می توان از محدودیت های تحقیق شمرد.

منابع

1. Rahmati B, Kiasalari Z, Roghani M, Khalili M, Ansari F. Antidepressant and anxiolytic activity of *Lavandula officinalis* aerial parts hydroalcoholic extract in scopolamine-treated rats. *Pharmaceutical Biology* 2017;55(1):958-965. doi: 10.1080/13880209.2017.1285320.
2. Greenwood R, Zhao J, Ludrick B, Golden T, Wu N. A practical animal model for depression by reserpine-administered mice. *Theranostics of Brain, Spine & Neural Disorders* 2018; 3(2): 26-28.
3. Garcia-Ceja E, Riegler M, Jakobsen P, Torresen J, Nordgreen T, Oedegaard KJ, et al., editors. Motor activity based classification of depression in unipolar and bipolar patients. 2018 IEEE 31st International Symposium on Computer-Based Medical Systems (CBMS). doi:10.1109/CBMS.2018.00062. Corpus ID: 50779937
4. Nikfarjam M, Rakhshan R, Ghaderi H. Comparison of effect of *Lavandula officinalis* and venlafaxine in treating depression: A double blind clinical trial. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2017;11(7):KC01 - KC04. doi: 10.7860/JCDR/2017/20657.10233.
5. WHO. Other common mental disorders: global health estimates. Geneva: World Health Organization. 2017:1-24. WHO reference number: WHO/MSD/MER/2017.2.
6. Amoateng P, Kukuia KKE, Mensah JA, Osei-Safo D, Adjei S, Eklemet AA, et al. An extract of *Synedrella nodiflora* (L) Gaertn exhibits antidepressant properties through monoaminergic mechanisms. *Metabolic Brain Disease* 2018;33(4):1359- 1368. doi: 10.1007/s11011-018-0244-0.
7. Zuckerman H, Pan Z, Park C, Brietzke E, Musial N, Shariq AS, et al. Recognition and treatment of cognitive dysfunction in major depressive disorder. *Frontiers in psychiatry*. 2018;9 :655. doi: 10.3389/fpsyt.2018.00655.
8. Perez-Caballero L, Torres-Sanchez S, Bravo L, Mico JA, Berrocoso E. Fluoxetine: a case history of its discovery and preclinical development. *Expert opinion on drug discovery* 2014;9(5):567-78. doi: 10.1517/17460441.2014.907790.
9. Latendresse G, Elmore C, Deneris A. Selective Serotonin Reuptake Inhibitors as First-Line Antidepressant Therapy for Perinatal Depression. *Journal of Midwifery & Women's Health*

- 2017;62(3):317-28. doi:
10.1111/jmwh.12607.
10. Rheker J, Winkler A, Doering BK, Rief W. Learning to experience side effects after antidepressant intake—Results from a randomized, controlled, double-blind study. *Psychopharmacology* 2017;234(3):329-38. doi:
10.1007/s00213-016-4466-8.
11. Ranjbar M, Salehi A, Rezaeizadeh H, Zarshenas MM, Sadeghniaat-Haghighi K, Mirabzadeh M, et al. Efficacy of a Combination of *Melissa officinalis* L. and *Nepeta menthoides* Boiss. & Buhse on Insomnia: A Triple-Blind, Randomized Placebo-Controlled Clinical Trial. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine* 2018;24(12):1197-203. doi: 10.1089/acm.2017.0153
12. Kim N-S, Lee D-S. Comparison of different extraction methods for the analysis of fragrances from *Lavandula* species by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 2002;982(1):31-47. doi:
10.1016/s0021-9673(02)01445-0.
13. Abbasi Maleki S, Bekhradi R, Asgharpanah J, Abbasi Maleki F, Maleki Ahanghari N. Antidepressant-Like effect of aqueous and hydroalcoholic extracts of *Lavandula angustifolia* Mill in forced swim test and tail suspension test in male mice. *Journal of Arak University of Medical Sciences* 2013;16(9):65-75.
14. Chen SL, Chen CH. Effects of Lavender tea on fatigue, depression, and maternal-infant attachment in sleep-disturbed postnatal women. *Worldviews on Evidence-Based Nursing* 2015;12(6):370-9. doi:
10.1111/wvn.12122.
15. Mahajan S, Engel WK. Assessment: symptomatic treatment for muscle cramps (an evidence-based review): report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee of the American Academy of Neurolog. *Neurology* 2010;75(15):1397-8. PMID: 20960612.
16. Nikfarjam M, Rakhshan R, Ghaderi H. Comparison of Effect of *Lavandula officinalis* and Venlafaxine in Treating Depression: A Double Blind Clinical Trial. *Journal of Clinical and Diagnostic Research* 2017;11(7):KC01-KC4. doi:
10.7860/JCDR/2017/20657.10233.
17. Park B-K, Kim YR, Kim YH, Yang C, Seo C-S, Jung IC, et al. Antidepressant-like effects of gyejibokryeong-hwan in a mouse model of reserpine-induced depression. *Biomed Research International* 2018; 5845491. doi:
10.1155/2018/5845491.
18. Saki K, Bahmani M, Rafieian-Kopaei M. The effect of most important medicinal plants on two important psychiatric disorders (anxiety and depression)-a review. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 2014;7:S34-S42. doi:
10.1016/S1995-7645(14)60201-7.
19. Xian Y-F, Fan D, Ip S-P, Mao Q-Q, Lin Z-X. Antidepressant-like effect of isorhynchophylline in mice. *Neurochemical Research* 2017;42(2):678-685. doi:
10.1007/s11064-016-2124-5.

20. Wang Y, Gao S-M, Li R, Zhang M, Gao S, Yu C-Q. Antidepressant-like effects of the Radix Bupleuri and Radix Paeoniae Alba drug pair. *Neuroscience Letters* 2016;633:14-20. doi: 10.1016/j.neulet.2016.09.001
21. Seibenhener ML, Wooten MC. Use of the Open Field Maze to measure locomotor and anxiety-like behavior in mice. *Journal of Visualized Experiments* 2015(96):e52434. doi: 10.3791/52434.
22. Page CE, Shepard R, Heslin K, Coutellier L. Prefrontal parvalbumin cells are sensitive to stress and mediate anxiety-related behaviors in female mice. *Scientific Reports* 2019;9(1):1-9. doi: 10.1038/s41598-019-56424-9.
23. Kageyama A, Ueno T, Oshio M, Masuda H, Horiuchi H, Yokogoshi H. Antidepressant-like effects of an aqueous extract of lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) in rats. *Food Science and Technology Research*. 2012;18(3):473-9. doi.org/10.3136/fstr.18.473.
24. Sarris J, Panossian A, Schweitzer I, Stough C, Scholey A. Herbal medicine for depression, anxiety and insomnia: a review of psychopharmacology and clinical evidence. *European neuropsychopharmacology*. 2011;21(12):841-60. doi: 10.1016/j.euroneuro.2011.04.002.
25. Abuhamdah S, Chazot PL. Lemon Balm and Lavender herbal essential oils: Old and new ways to treat emotional disorders?. *Current Anaesthesia & Critical Care*. 2008;19(4):221-6. doi.org/10.1016/j.cacc.2008.05.005.
26. Akhondzadeh S, Kashani L, Fotouhi A, Jarvandi S, Mobaseri M, Moin M, et al. Comparison of *Lavandula angustifolia* Mill. tincture and imipramine in the treatment of mild to moderate depression: a double-blind, randomized trial. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 2003; 27(1):123-7. doi: 10.1016/s0278-5846(02)00342-1.
27. Koulivand PH, Khaleghi Ghadiri M, Gorji A. Lavender and the nervous system. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2013; 2013:681304. doi: 10.1155/2013/681304.
28. Kyzar E, Stewart AM, Landsman S, Collins C, Gebhardt M, Robinson K, et al. Behavioral effects of bidirectional modulators of brain monoamines reserpine and d-amphetamine in zebrafish. *Brain research*. 2013;1527:108-16. doi: 10.1016/j.brainres.2013.06.033.
29. Angrini M, Leslie JC, Shephard RA. Effects of propranolol, buspirone, pCPA, reserpine, and chlordiazepoxide on open-field behavior. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 1998;59(2):387-97. doi: 10.1016/s0091-3057(97)00457-7.