مقـاله تحقیقی

بررسی اثر رزمارینیک‌اسید بر افسردگی توسط آزمون‌های شنای اجباری و آویزان کردن از دم در مدل موش کوچک آزمایشگاهی در مقایسه با سیتالوپرام

حسن امانپور [۱]، مهدی صابری[۲]،
فاطمه سالم[۲]، مهدی مشهدی اکبربوجار[۲*]

[۱] کمیته تحقیقات و فناوری دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران، ایران

[۲] گروه فارماکولوژی و سم شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران، ایران.

* نشانی نویسنده مسئول:
تهران، میدان ونک، خیابان ملاصدرا، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا.. (عج)، دانشکده داروسازی

نشانی الکترونیک:
mahdimashhadi@yahoo.com

چکیده:

داروهای ضدافسردگی رایج دارای عوارض گوناگون و گاه جدی می‌باشند که می‌توانند سبب عدم تحمل و قطع خودسرانه مصرف دارو از سوی بیمار شوند. در این تحقیق اثرات ضدافسردگی رزمارینیک‌اسید در موش‌های سوری به کمک آزمون شنای اجباری(FST) و آزمون آویزان کردن از دم (TST) بررسی شد.

روش‌کار: به این منظور تزریق داخل صفاقی رزمارینیک‌اسید با دوزهای ۵۰، ۲۰، ۱۰ و 5mg/kg، در ۵ گروه از موش‌ها و همچنین گاواژ سوسپانسیون سیتالوپرام با دوزهای ۱۵mg/kg در ۲ گروه و تزریق نرمال‌سالین در گروه کنترل به مدت ۷ روز انجام و سپس آزمون‌های FST و TST انجام شد. میانگین ± خطای استاندارد داده‌های بدست آمده از هر گروه بطور جداگانه با یکدیگر توسط آزمون ANOVA یک طرفه تجزیه و تحلیل شده و در هر تست مقدار $P<0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: رزمارینیک‌اسید در دوزهای ۵، ۱۰و ۲۰mg/kg در هر دو آزمون FST و TST دارای اثرات ضدافسردگی معنی‌داری در مقایسه با گروه دریافت کننده نرمال‌سالین بود ($P<0.05$) و همچنین در گروه دریافت کنندهٔ سیتالوپرام ۱۵mg/kg به همراه ۵۰mg/kg رزمارینیک‌اسید تفاوت معنی‌داری در اثرات ضدافسردگی در مقایسه با گروه دریافت کننده نرمال‌سالین مشاهده گردید ($P<0.01$). دوز ۵۰mg/kg رزمارینیک‌اسید اثرات ضدافسردگی قابل توجهی در مقایسه با گروه کنترل نداشت.

نتیجه‌گیری: یافته‌ها حاکی از آن است که رزمارینیک‌اسید در دوزهای کم و متوسط دارای اثرات مشهود و قابل توجه ضدافسردگی در مقایسه با گروه کنترل نرمال‌سالین بوده اما برتری مشهودی در مقایسه با سیتالوپرام ندارد. دردوز بالای رزمارینیک‌اسید اثر ضدافسردگی مشاهده نگردید که می‌تواند از غلبهٔ اثرات آرامبخش آن نشأت گرفته باشد. لذا می‌توان نتیجه گرفت که اثرات ضدافسردگی این ماده، وابسته به دوز نبوده و از منحنی دوز-پاسخ U شکل پیروی می‌کند.

واژگان کلیدی: رزمارینیک‌اسید، موش سوری، افسردگی، سیتالوپرام، Forced Swimming test، Tail Suspension Test.

مقدمه:

افسردگی یک بیماری رایج ناتوان‌کننده و خطرناک می‌باشد که زندگی شخص و رفتار او را متأثر می‌کند و بسیاری از مردم در اقصی نقاط دنیا (بیش از ۳۵۰ میلیون نفر) از آن رنج می‌برند (۱). داروهای ضدافسردگی سه‌حلقه‌ای مانند آمی‌تریپتلین و همچنین مهارکننده‌های انتخابی بازجذب سروتونین نظیر سیتالوپرام، پرکاربردترین داروهای ضدافسردگی در درمان این بیماری اند که عوارض شناخته‌شده بسیاری به ویژه اثرات ضدموسکارینی، افت فشار خون وضعیتی، اختلالات خواب، دیس‌ریتمی قلبی و اختلالات جنسی به همراه دارند (۲و۳). با توجه به عوارض جانبی متعدد داروهای رایج ضدافسردگی که می‌توانند موجب قطع مصرف دارو توسط بیمار شوند و همچنین هزینه‌های گزاف برای تهیهٔ آن‌ها، محققان در پی یافتن داروهای جدیدی در زمینهٔ درمان این بیماری هستند تا پذیرش بهتر و عوارض کمتری نسبت به داروهای موجود داشته باشند (۴و۵).

گیاهان دارویی و داروهای مشتق شده از آنها از دیرباز به عنوان منابع مهم درمانی به وسیلهٔ بشر شناخته شده اند. امروزه نیز با توجه به پذیرش بهتر و سهولت دسترسی به این داروها، تمرکز زیادی بر استفاده و تحقیق در مورد خواص آنها خصوصاً در درمان افسردگی وجود دارد (۶).گیاهان، غنی از متابولیت‌های ثانویه و فیتوشیمیایی هستند که از هر دو منابع غذایی و دارویی به دست می‌آیند (۷). در این میان، شناسایی و بررسی اثرات اجزای شیمیایی اصلی و مؤثر گیاهان در بروز این اثرات، تلاش برای جداسازی و تقویت آنها از طریق انجام مطالعات ساختمان - اثر، فرمولاسیون بهینه و به‌کارگیری روش‌های تجویز مناسب، اهمیت اساسی دارد. بدیهی است که آشنایی با مکانیسم‌های مولکولی دخیل در عملکرد اجزای مؤثر آنها نیز به این روند کمک بسزایی خواهد کرد (۸ و ۹).

رزمارینیک‌اسید به عنوان یک ترکیب خالص فنولی (استر متشکل از کافئیک اسید و ۳و۴- دی‌هیدروکسی فنیل لاکتیک اسید) از گیاه رزماری و اغلب گیاهان خانواده Boraginaceae و زیر خانواده Nepetoideae و همچنین پوست سیب جدا شده است (۱۰). این ترکیب به جهت دارا بودن خواص زیستی متعدد مانند اثر ضدویروسی و ضدباکتریایی، اثر ضدتب و ضدالتهاب، خصلت آنتی‌اکسیدانی و ضداضطراب در مطالعات فارماکولوژیک مختلف مورد توجه بوده است (۱۱). مطالعه حیوانی صورت گرفته توسط Jin و همکاران نشان داده است که اثرات افزایش دهنده بیان BDNF توسط رزمارینیک‌اسید در رت می‌تواند در درمان افسردگی کمک‌کننده باشد (۱۲). اثرات ضداضطراب رزمارینیک‌اسید در دوزهای مختلف بصورت متفاوت بروز می‌کند، به طوری که منحنی دوز – پاسخ آن در این مورد U شکل خواهد بود و دوزهای بالای آن (۸mg/kg) در موش اثرات محرک روانی داشته است (۱۳و۱۴).

هدف از مطالعهٔ حاضر بررسی اثر ضدافسردگی رزمارینیک‌اسید در موش کوچک آزمایشگاهی با دو آزمون شنای اجباری (FST) و آویزان کردن از دم (TST) در مقایسه با سیتالوپرام خواهد بود.

مواد و روش‌ها

وسایل و مواد شیمیایی

وسایل و مواد بکار رفته در این پژوهش شامل: ماده استاندارد رزمارینیک اسید با خلوص بالای ۹۰ درصد

جدول۱. دوز دریافتی گروه‌های مطالعه

گروه	Control	Sham	۱	۲	۳	٤	٥	٦
دوز داروی دریافتی	1ml solvent	-	0.5ml RA (50mg/kg)	0.25ml RA (20mg/kg)	0.125ml RA (10mg/kg)	0.05ml RA (5mg/kg)	0.05ml Citalopram (15mg/kg)	0.05ml Citalopram (15mg/kg) + 0.5ml RA (50mg/kg)

*RA: Rosmarinic acid

خریداری شده از شرکت سیگما-آلدریش (آمریکا)، سیتالوپرام هیدروبروماید خریداری شده از شرکت داروسازی سبحان‌دارو (ایران)، سرنگ انسولین، قفس‌های نگهداری حیوانات با اندازه ۲۴×۱۳/۵×۱۳ سانتی‌متر ساخت شرکت تجهیز گستر امید ایرانیان، ترازوی دیجیتال ساخت شرکت نوآوران تجهیز ایران بود.

جمعیت (حیوانات) مورد آزمایش

برای انجام این تحقیق از موش‌های سفید سوری نر از نژاد NMRI در محدودهٔ وزنی ۲۰-۳۰ گرم استفاده شد. موش‌های مورد استفاده از حیوان‌خانه دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج) تهیه و در آزمایشگاه فارماکولوژی دانشکده داروسازی نگهداری شدند. حیوانات در ۸ گروه ۶تایی در قفس‌های مخصوص نگهداری و موش‌ها پیش از آزمایش توزین شدند. لازم به ذکراست تمام آزمایش‌ها در طول دوره روشنایی انجام گرفت.

مطابق با مطالعات مشابه قبلی که با آزمون FST انجام گرفته‌است (۱۵)، آزمایش در ۸ گروه که در هر گروه، ۶ موش سوری نر جهت انجام آزمایش وجود داشت، انجام گرفت. موش‌های سوری تحت تزریق داخل صفاقی رزمارینیک‌اسید و گاواژ سیتالوپرام قرار گرفتند. تزریقات داخل صفاقی و گاواژ به شرح جدول ۱ بود.

دوزهای رزمارینیک اسید از حدود $0.1LD_{50}$ آغاز شده (گروه ۱) و در هر گروه دوزها به نصف کاهش داده شد تا زمانی که دیگر اثر ضدافسردگی مشاهده نگردید (گروه ۵) (۱۶ و ۱۷).

آزمون‌های ارزیابی افسردگی

آزمون شنای اجباری (Forced swimming test, FST)

در این آزمون زمان بی‌حرکتی (Immobility time) معادل افسردگی و کاهش آن به عنوان اثر ضدافسردگی درنظر گرفته می‌شود. موش‌ها بعد از تزریق یا گاواژ دارو، به طور جداگانه در ظروفی به ابعاد ۸×۱۲× ۲۵سانتی‌متر که حاوی آب با دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد می‌باشد، قرار داده شدند. به صورت قراردادی، قطع حرکات دست و پا به عنوان زمان بی‌حرکتی در نظر گرفته شد. کل آزمون ۶ دقیقه بوده که ۲ دقیقه اول برای تطابق حیوان با محیط در نظر گرفته شد و در ۴ دقیقه بعد نیز زمان بی‌حرکتی ثبت گردید (۱۸).

رفتار شناکردن (Swimming) توسط کورنومتر با حرکات دورانی حیوان در استوانه شیشه ای برحسب ثانیه ثبت و ضبط گردید. رفتار صعود (Climbing) نیز همان صعود حیوان از دیواره‌های استوانه بود که توسط کورنومتر و بر حسب ثانیه ثبت شد (۱۹).

آزمون معلق ماندن از دم (Tail suspension test, TST)

از این آزمون به عنوان تستی تکمیلی از آزمون FST استفاده شد، بدین صورت که از پایه‌های فلزی به ارتفاع ۷۰ سانتی‌متر دم موش توسط یک تکه چسب کاغذی تثبیت گردید. سپس آزمون با یک حرکت شدید موش آغاز شده و بدنبال آن موش که از دم آویخته شده کاملا بی‌حرکت، غیرفعال و بدون عکس‌العمل گردید. زمان بی‌حرکتی با کرنومتر به مدت ۴ دقیقه ثبت شد و کل زمان معلق بودن ۶ دقیقه بوده و زمانی که حیوان هیچ حرکتی از خود نشان ندهد به کمک کرنومتر ثبت گردید (۲۰).

گروه‌های آزمایش

گروه ۱: گروه اول رزمارینیک‌اسید یا بیشینه دوز رزمارینیک‌اسید

موش‌ها به مدت ۷ روز، روزانه ۵۰mg/kg رزمارینیک‌اسید به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

گروه ۲: گروه دوم رزمارینیک‌اسید

موش‌ها به مدت ۷ روز، روزانه ۲۰mg/kg رزمارینیک‌اسید به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

گروه ۳:گروه سوم رزمارینیک‌اسید

موش‌ها به مدت ۷ روز، روزانه ۱۰mg/kg رزمارینیک‌اسید به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

گروه ۴: گروه چهارم رزمارینیک‌اسید یا کمینه دوز رزمارینیک‌اسید

موش‌ها به مدت ۷ روز، روزانه 5mg/kg رزمارینیک‌اسید به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

گروه ۵: گروه سیتالوپرام یا کنترل مثبت

موش‌ها به مدت۷روز، روزانه 15mg/kgسیتالوپرام (سوسپانسیون) به صورت خوراکی(گاواژ) دریافت کردند.

گروه ۶:گروه ترکیب سیتالوپرام و بیشینه دوز رزمارینیک‌اسید (Mix)

موش‌ها به مدت ۷ روز، روزانه ۵۰mg/kg رزمارینیک‌اسید به صورت داخل صفاقی و به علاوه ۱۵mg/kg سیتالوپرام (سوسپانسیون) به صورت خوراکی (گاواژ) دریافت کردند.

گروه ۷: گروه شم(Sham)

تعداد ۶ موش سوری نر نژاد NMRI بدون مداخلهٔ خاصی در آزمون‌ها شرکت داده شدند و تمام سایر شرایط نگهداری آنها با سایر گروه‌ها یکسان بوده‌است.

گروه ۸: گروه کنترل دریافت‌کننده نرمال‌سالین یا شاهد

تعداد ۶ موش سوری نر نژاد NMRI به مدت ۷ روز، روزانه ۱ml نرمال‌سالین به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

تجزیه و تحلیل آماری

تمام داده‌ها بصورت میانگین ± خطای استاندارد (SE) از موش‌های مورد آزمایش در هر گروه بیان شد و برای تجزیه و تحلیل آماری نیز از آزمون واریانس یکطرفه (One-way ANOVA) با post hoc LSD استفاده شد.

در این مطالعه از برنامهٔ SPSS نسخه ۲۴ و Microsoft Excel 2016 جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها و ترسیم نمودارها استفاده گردید و در هر مورد ارزش P کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار محسوب گردید.

ملاحظات اخلاقی

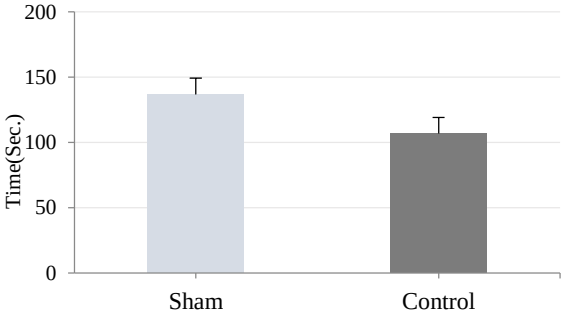
دسترسی آزادانه و مداوم حیوانات به آب و غذا، دوره ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت مناسب از آغاز تا پایان آزمایشات رعایت شد. تعداد حیوانات در هر قفس حدود ۱۰ عدد و سایر پروتکل‌های اخلاقی مصوب کمیته اخلاق دانشگاه

بقیه ا.. (عج) در نگهداری و حمل و نقل حیوانات رعایت شد. این طرح با کد اخلاقی IR.BMSU.REC.1398.345 مورد تأیید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا.. (عج) قرار گرفته است.

نتایج

مقایسهٔ گروه کنترل دریافت‌کنندهٔ نرمال‌سالین و گروه شم از نظر مدت زمان شناکردن در آزمون شنای اجباری

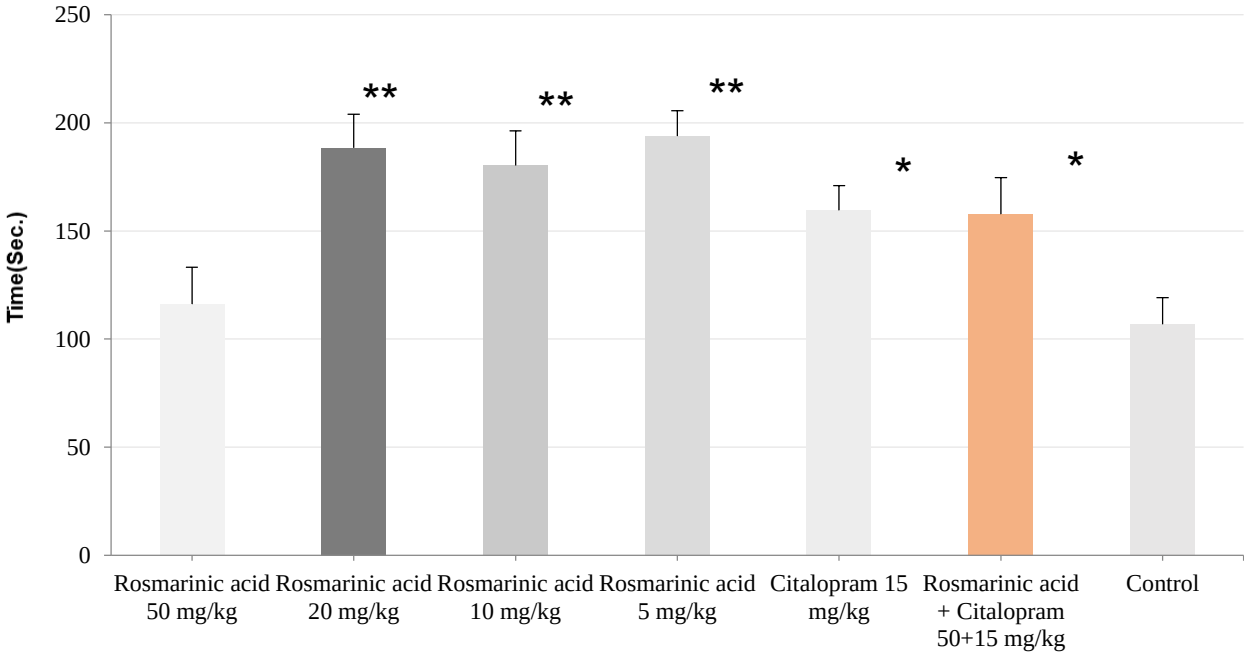
نتایج مطالعه حال حاضر نشان داد که گروه کنترل نرمال‌سالین (دریافت روزانه ۱ میلی‌لیتر نرمال‌سالین درون صفاقی به مدت ۷ روز) در مقایسه با گروه شم در زمان شناکردن تفاوت معنی داری ندارند (نمودار ۱). ازاین رو در مقایسه‌ها تنها گروه کنترل دریافت‌کننده نرمال‌سالین، ملاک خواهد بود و از گروه شم صرف نظر گردید.



نمودار ۱. مقایسهٔ مدت زمان شناکردن با استفاده از تست شنای اجباری در طی ۶ دقیقه در گروه کنترل دریافت کننده یک میلی‌لیتر نرمال‌سالین داخل صفاقی بطور روزانه و گروه شم در موش کوچک آزمایشگاهی نر. نتایج به صورت Mean±SE بیان شده است.

تاثیر دوزهای مختلف رزمارینیک‌اسید بر مدت زمان شناکردن در آزمون شنای اجباری

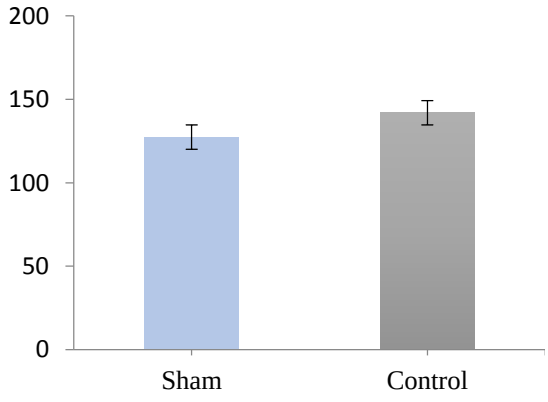
نتایج این مطالعه نشان داد که دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰mg/kg رزمارینیک‌اسید در مقایسه با گروه کنترل به شکل معنی‌داری سبب افزایش مدت زمان شناکردن می‌شوند ($P<0.01$). اما این سه دوز در مقایسه با یکدیگر و نیز در مقایسه با گروه دریافت کننده ۱۵mg/kg سیتالوپرام، تفاوت معنی‌داری در افزایش مدت زمان شناکردن در آزمون شنای اجباری نداشته‌اند. دوز ۵۰ میلی‌گرم رزمارینیک‌اسید به همراه سیتالوپرام ۱۵ mg/kg نیز توانست بصورت معنی‌داری مدت زمان شناکردن را در مقایسه با گروه کنترل افزایش دهد ($P<0.05$). اما در مقایسه با گروه دریافت کننده ۱۵mg/kg سیتالوپرام و نیز دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰mg/kg و حتی دوز ۵۰mg/kg رزمارینیک‌اسید تفاوت معنای‌داری در مدت زمان شناکردن ایجاد نکرد. همچنین نتایج نشان داد دوز ۵۰mg/kg رزمارینیک‌اسید سبب افزایش معنی‌داری در مدت زمان شناکردن در مقایسه با گروه کنترل نگردید اما درمقایسه با گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰mg/kg رزمارینیک‌اسید ($P<0.01$) و همچنین گروه دریافت‌کننده ۱۵mg/kg سیتالوپرام ($P<0.05$) دارای تفاوت معنی‌داری در مدت زمان شناکردن بود. در گروه‌های دریافت کننده رزمارینیک‌اسید بهمراه سیتالوپرام، تفاوت معنی‌داری در مقایسه با گروه دریافت کننده سیتالوپرام و یا اثر هم‌افزایی مشاهده نگردید. (نمودار ۲).



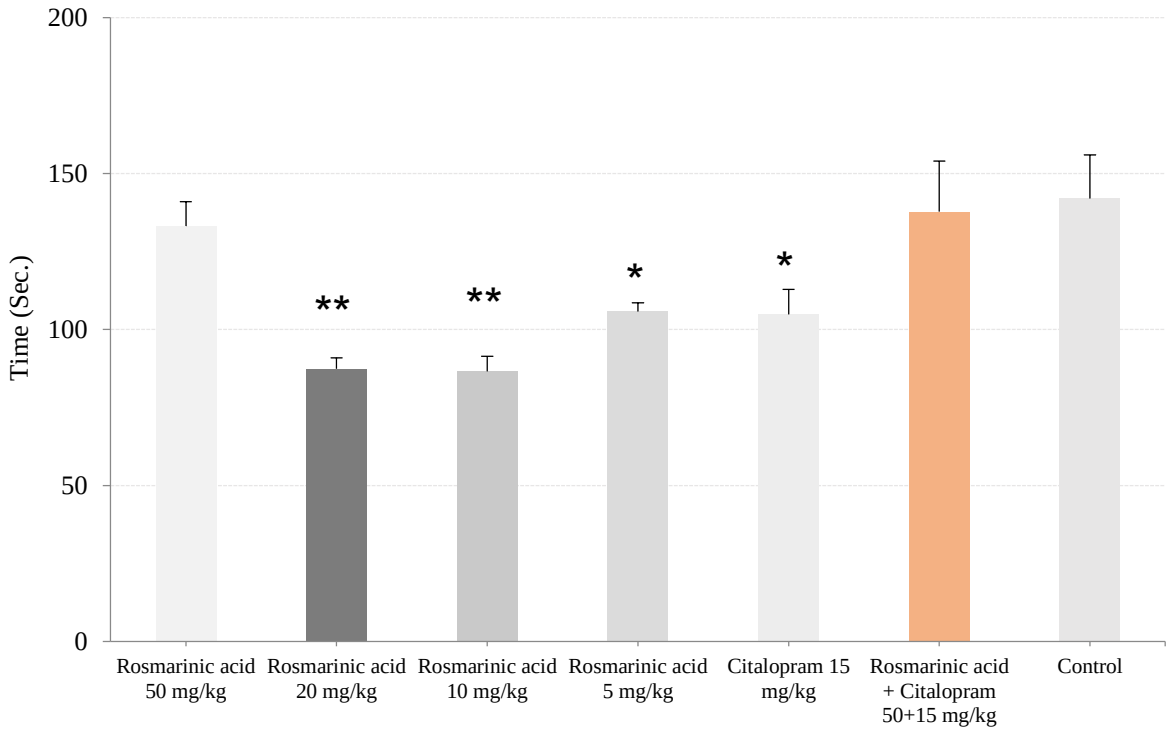
نمودار ۲. مقایسه دوزهای مختلف رزمارینیک‌اسید داخل صفاقی بطور روزانه و رزمارینیک‌اسید به همراه سیتالوپرام خوراکی بطور روزانه بر مدت زمان شناکردن با استفاده از آزمون شنای اجباری در موش کوچک آزمایشگاهی نر (n=6) در مدت زمان ۶ دقیقه. داده‌ها به صورت Mean±SE بیان شده‌اند.
* و ** به ترتیب، $P<0.05$ و $P<0.01$ در مقایسه با گروه کنترل مثبت و دریافت‌کنندهٔ نرمال‌سالین.

مقایسه گروه کنترل دریافت‌کنندهٔ نرمال‌سالین و گروه شم از نظر مدت زمان بی‌حرکتی در آزمون آویزان کردن از دم

نتایج مطالعهٔ حال حاضر نشان داد که گروه کنترل دریافت‌کنندهٔ نرمال‌سالین (دریافت روزانه ۱ میلی‌لیتر نرمال‌سالین درون صفاقی به مدت ۷ روز) در مقایسه با گروه شم در مدت زمان بی‌حرکتی تفاوت معناداری ندارند (نمودار ۳). از این‌رو در مقایسه‌ها تنها گروه کنترل دریافت‌کننده نرمال‌سالین مدنظر قرار گرفت و از گروه شم صرف نظر گردید.



نمودار ۳. مقایسه مدت‌زمان بی‌حرکتی با استفاده از آزمون آویزان کردن از دم در طی ۶ دقیقه در گروه کنترل دریافت کنندهٔ یک میلی‌لیتر نرمال‌سالین داخل صفاقی بطور روزانه و گروه شم در موش کوچک آزمایشگاهی نر. نتایج به صورت Mean±SE بیان شده است.



نمودار ٤. مقایسهٔ دوزهای مختلف رزمارینیک‌اسید و رزمارینیک‌اسید بعلاوه سیتالوپرام خوراکی بر مدت زمان بی‌حرکتی با استفاده از تست آویزان کردن از دم در موش کوچک آزمایشگاهی نر در مدت زمان ۶ دقیقه (n=6).

* و ** به ترتیب نشانگر $P<0.05$ و $P<0.01$ در مقایسه با گروه کنترل مثبت و دریافت‌کننده نرمال‌سالین به شکل Mean±SE بیان شده است.

تأثیر دوزهای مختلف رزمارینیک‌اسید بر مدت زمان بی‌حرکتی در تست آویزان کردن از دم

نتایج این مطالعه نشان داد که دوزهای ۱۰ و ۲۰mg/kg رزمارینیک‌اسید در مقایسه با گروه کنترل به شکل معنی‌داری سبب کاهش مدت زمان بی‌حرکتی در تست آویزان کردن از دم می‌شوند ($P<0.01$) اما این سه دوز در مقایسه با یکدیگر و نیز در مقایسه با گروه دریافت کنندهٔ ۱۵mg/kgسیتالوپرام، تفاوت معنی‌داری در کاهش مدت زمان بی‌حرکتی در این آزمون نداشته‌اند. دوز ۵۰ mg/kg رزمارینیک‌اسید به همراه سیتالوپرام خوراکی با دوز ۱۵mg/kg نیز توانست بصورت معناداری مدت زمان بی‌حرکتی را درمقایسه با گروه کنترل کاهش دهد ($P<0.05$)، اما در مقایسه با گروه دریافت‌کننده ۱۵mg/kgسیتالوپرام خوراکی و نیز دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰mg/kg و حتی دوز ۵۰mg/kg رزمارینیک‌اسید تفاوت معنی‌داری در مدت زمان بی‌حرکتی ایجاد نکرد. همچنین نتایج نشان داد دوز ۵۰mg/kg رزمارینیک‌اسید سبب کاهش معنی‌داری در مدت‌زمان بی‌حرکتی در مقایسه با گروه کنترل نگردید اما با گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰mg/kgرزمارینیک‌اسید ($P<0.01$) و همچنین گروه دریافت‌کننده ۱۵mg/kgسیتالوپرام ($P<0.05$) دارای تفاوت معنی‌داری در مدت زمان بی‌حرکتی بود (نمودار ۴).

بحث و نتیجه گیری

افسردگی و اضطراب شایع‌ترین اختلالات عصبی روانپزشکی هستند که به عنوان یکی از نگرانی‌های بهداشت جهانی درنظر گرفته شده‌اند. داروهای ضداضطراب و ضدافسردگی مانند بنزودیازپین‌ها، مهارکننده‌های انتخابی بازجذب سروتونین، مهارکننده‌های مونوآمین اکسیداز و داروهای ضدافسردگی سه‌حلقه‌ای، اولین خط مورد استفاده در درمان اختلالات اضطرابی و افسردگی هستند. البته این داروها در برخی موارد فاقد اثربخشی هستند و زمان پاسخ درمانی آنها تأخیری بوده و علی‌رغم عوارض جانبی متعدد و سوء مصرف گسترده، بازار تجویز و فروش آنها همچنان در حال رشد است (۲۱).

با گذشت زمان، شیوه‌های سنتی استفاده از مواد شیمیایی طبیعی و گیاهی به عنوان درمان‌های جایگزین برای داروهای شیمیایی برای درمان بسیاری از شرایط پاتولوژیک، از جمله اضطراب و دیگر اختلالات روانپزشکی پدیدار شده است. مطالعات پیش بالینی اخیر نشان داده است که ترکیبات فنولی مانند رزمارینیک‌اسید، در درمان اختلالات عصبی-روانی گوناگون از جمله اضطراب و افسردگی مؤثر است. علاوه براین، رزمارینیک‌اسید در بسیاری از مطالعات اثرات فارماکولوژیک مختلفی از جمله اثرات محافظتی قلبی، کبدی، محافظ ریه، آنتی اکسیدانی، ضدالتهاب و درد و محافظت‌کننده عصبی نشان داده است (۲۲-۲۴).

هدف از این مطالعه بررسی اثرات ماده رزمارینیک‌اسید بر افسردگی در مدل موش کوچک آزمایشگاهی و مقایسهٔ اثرات آن با اثرات سیتالوپرام خوراکی با استفاده از دو آزمون شنای اجباری و تست آویزان‌کردن از دم بوده است. در این آزمون‌ها مولفه‌های گوناگونی دخیل هستند که مهمترین آن‌ها عبارتند از فاکتور مورد بررسی (بطور مثال زمان آغاز بی‌حرکتی یا مدت زمان شنا یا صعود و ...) و جنس مدل آزمایشگاهی (موش صحرایی یا موش کوچک آزمایشگاهی) و حتی نژاد آن (موش‌های کوچک سوئیسی، NMRI و ...) و بازه زمانی مورد بررسی (کل زمان آزمون یا چهار دقیقه آخر یا دو دقیقه نخست و...) و نیز مکانیسم اثر ماده مورد مطالعه که البته هرچهار عامل یاد شده بطور درهم تنیده‌ای با یکدیگر در ارتباطند (۲۵).

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که در آزمون شنای اجباری، رزمارینیک‌اسید در دوزهای کم و متوسط بطور روزانه، نسبت به گروه کنترل دریافت کنندهٔ نرمال‌سالین و گروه سیتالوپرام، مدت زمان شناکردن را بطور معنی‌داری افزایش می‌دهد. اما دوز بالای رزمارینیک‌اسید، علی‌رغم انتظار اولیه مبنی بر اثرات مشهود و بارزتر، تفاوت معنی‌داری با گروه سیتالوپرام و نرمال‌سالین نداشت. تجویز روزانه رزمارینیک‌اسید داخل صفاقی در دوزهای کم و متوسط در موش کوچک آزمایشگاهی در چهار دقیقه پایانی آزمون FST، بطور معنی‌داری سبب افزایش مدت زمان شناکردن در مقایسه با گروه دریافت کننده نرمال‌سالین داخل صفاقی گردید.

با این حال این پارامتر در مقایسه با سیتالوپرام که یک مهارکننده انتخابی بازجذب سروتونین (SSRI) است بطور معنی‌داری تغییر نیافت که البته اثر تمامی داروهای ضدافسردگی بر این مولفه مشابه است و هدف از مطالعه

نیز تمایز بین مکانیسم داروها و مادهٔ مورد مطالعه نبوده‌است (۲۶).

در آزمون آویزان کردن از دم نیز نتایج مشابهی مشاهده شد. دوزهای کم و متوسط رزمارینیک‌اسید نسبت به گروه دریافت‌کننده نرمال‌سالین و گروه سیتالوپرام، مدت زمان تحرک و تقلا را بطور معنی‌داری افزایش دادند. اما دوز بالای رزمارینیک‌اسید، با اینکه انتظار می‌رفت اثر مشهود و بارزتری داشته باشد، تفاوت معنی‌داری با گروه سیتالوپرام و نرمال‌سالین نداشت. به تازگی، مطالعه رفتاری Yu و همکاران نشان داده است که رزمارینیک اسید می‌تواند به طور موثر رفتارهای حاصل از آسیب عصبی ناشی از التهاب عصبی را کاهش دهد و اثرات محافظتی آن از مسیر پیام‌رسانی Nrf2، که استرس اکسیداتیو سلولی، التهاب، آسیب عملکرد تنفسی میتوکندری و عدم تعادل اتوفاژی را کاهش می‌دهد، حاصل می‌شود (۲۷).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد اثرات ضدافسردگی رزمارینیک‌اسید در دوز کم و متوسط طی تجویز داخل صفاقی و بطور روزانه در موش کوچک آزمایشگاهی با سیتالوپرام قابل توجه و مشهود است. البته در این مدل دوزهای بالای رزمارینیک‌اسید اثر ضدافسردگی نداشت. با توجه به یافته‌های قبلی، این ماده بر سیستم گابائرژیک و گیرنده‌های آدنوزین اثرات تقویت‌کننده داشته و خواب‌آوری و آرام‌بخشی حاصل از آن در دوزهای بالا، احتمالاً بر مولفه‌هایی که بیانگر اثرات ضدافسردگی آن هستند، غلبه کرده و از این رو اثر مشهود ضدافسردگی در این دوزها مشاهده نگردیده است (۳۰و۳۱). مطالعه رفتاری و حیوانی مشابه صورت گرفته توسط Takeda و همکاران نشان داد که مشتقات کافئیک اسید از جمله رزمارینیک اسید می‌توانند ناهنجاری‌های عاطفی ناشی از استرس را مهار کنند (۳۲).

درمجموع می‌توان گفت اثرات ضدافسردگی رزمارینیک اسید، وابسته به دوز نبوده و از منحنی دوز-پاسخ U شکل پیروی می‌کند.

پیشنهادات

۱- برای بررسی دقیق‌تر مکانیسم عمل رزمارینیک‌اسید می‌توان از آنتاگونیست‌های اختصاصی سروتونین و یا دوپامین و یا نوراپی‌نفرین که سبب القای اثرات افسردگی می‌شوند و یا حتی تخلیه کننده‌های ذخایر کاتکول‌آمین مانند رزرپین نیز در مطالعاتی مشابه بهره برد.

۳- برای بررسی دقیق تر مکانیسم عمل رزمارینیک اسید می‌توان از گروه‌های کنترل دیگر دریافت کننده داروهای ضدافسردگی مهارکننده آنزیم مونوآمین‌اکسیداز انتخابی و یا غیر انتخابی بهره برد.

۴- برای بررسی اینکه کدامیک از متابولیت‌های رزمارینیک‌اسید تاثیر ضدافسردگی بهتری دارند و یا اینکه آیا تاثیر ضدافسردگی رزمارینیک‌اسید با تاثیر متابولیت‌های آن تفاوت مشهودی دارد، بهتر است در مطالعاتی مشابه، گروه‌های دریافت کننده متابولیت‌های رزمارینیک‌اسید (مانند کافئیک اسید، ۳و۴-دی هیدروفنیلاکتیک اسید، فرولیک اسید، متاکوماریک اسید، پارا-کوماریک اسید، ۳-o-متیل رزمارینیک‌اسید و حتی سینامیک اسید) مورد بررسی و مقایسه قرار گیرند.

۵- برای بررسی تفاوت اثر ایزومرهای فضایی مختلف رزمارینیک‌اسید می‌توان ایزومر R-(+) و نیز S-(-) این ماده و یا حتی ایزومر E و Z (سیس و ترانس نسبت به پیوند دوگانه در قسمت مولد کافئیک‌اسید) بطور جداگانه مورد بررسی قرار گیرند.

قدردانی و تشکر

بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا.. (عج) به دلیل حمایت مالی جهت انجام این مطالعه در قالب پایان نامه دوره دکتری عمومی داروسازی تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع:

1- Massart R MR, Lanfumey L. Beyond the monoaminergic hypothesis: Neuroplasticity and epigenetic changes in a transgenic mouse model of depression. Philos. Trans R Soc Lond B Biol Sci 2012; 367(1601): 2485-94.
2- Tripathi Adarsh AA, Avinash Desousa, Dipesh Bhagabati, Nilesh Shah, Roy Abraham Kallivayalil. Prescription pattern of antidepressants in five tertiary care psychiatric centres of India. Indian J Med Res 2016; 143(4): 507-13.
3- Edinoff AN, Akuly HA, Hanna TA, Ochoa CO, Patti SJ, Ghaffar YA, et al. Selective Serotonin Reuptake Inhibitors and Adverse Effects: A Narrative Review. Neurology International. 2021;13(3):387-401.
4- Luo L, Nong Wang, J., Kong, L.D., Jiang, Q.G., Tan, R.X., 2000. Antidepressant effects of Banxia Houpu decoction, a traditional Chinese medicinal empirical formula. J. Ethnopharmacol. 73, 277–281. 23(9): 1336-8.
5- Fishback JA RM, Xu YT, Matsumoto RR. Sigma receptors: potential targets for a new class of antidepressant drug. Pharmacology & therapeutics. 2010;127(3):271-82.
6- Yeung KS, Hernandez M, Mao JJ, Haviland I, Gubili J. Herbal medicine for depression and anxiety: A systematic review with assessment of potential psycho-oncologic relevance. Phytotherapy Research. 2018;32(5):865-91.
7- Rawat D SS, Naik RA, Chhonker SK, Mehrotra A, Koiri RK. An overview of natural plant products in the treatment of hepatocellular carcinoma. Anticancer Agents Med Chem; 2018.
8- Amawi H ACJ, Tiwari AK. Cancer chemoprevention through dietary flavonoids: What's limiting? Chin J Cancer; 2017. 19: 50.
9- Wang Y, Shi YH, Xu Z, Fu H, Zeng H, Zheng GQ. Efficacy and safety of Chinese herbal medicine for depression: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Journal of psychiatric research. 2019;117:74-91.
10- Luo C, Zou L, Sun H, Peng J, Gao C, Bao L, Ji R, Jin Y, Sun S. A review of the anti-inflammatory effects of rosmarinic acid on inflammatory diseases. Frontiers in pharmacology. 2020;11:153.
11- Amoah SK SL, Kratz JM, Biavatti MW. Rosmarinic acid–pharmaceutical and clinical aspects. Planta medica. 2016 Mar;82(05):388-406.
12- Jin X LP, Yang F, Zhang YH, Miao D. Rosmarinic acid ameliorates depressive-like behaviors in a rat model of CUS and Up-regulates BDNF levels in the hippocampus and hippocampal-derived astrocytes. Neurochemical research. 2013;38(9):1828-37.
13- Pereira P TD, Oliveira P, da Silva Brum FL, Nascimento Picada J, Ardenghi P. Neurobehavioral and genotoxic aspects of rosmarinic acid. Pharmacol Res 2005;52: 199-203.
14- Takeda H TM, Inazu M, Egashira T, Matsumiya T. Rosmarinic acid and caffeic acid produce antidepressive-like effect in the forced swimming test in mice. Eur J Pharmacol 2002; 449: 261-7.
15- Abbasi MS, Bekhradi R, Asgharpanah J, Abbasi MF, Maleki AN. Antidepressant effect of aqueous and hydroalcoholic extracts of Lavandula officinalis in forced swim test and tail suspension test in male mice. Arak Medical University Journal. 2013; 16(9).
16- Baranauskaite J, Sadauskiene I, Liekis A, Kasauskas A, Lazauskas R, et al. Natural compounds rosmarinic acid and carvacrol counteract aluminium-induced oxidative stress. Molecules. 2020;25(8):1807.
17- Grigoletto J, de Oliveira CV, Grauncke AC, de Souza TL, Souto NS, de Freitas ML, et al. Rosmarinic acid is anticonvulsant against seizures induced by pentylenetetrazol and pilocarpine in mice. Epilepsy & Behavior. 2016;62:27-34.
18- Can A, Dao DT, Arad M, Terrillion CE, Piantadosi SC, Gould TD. The mouse forced swim test. Journal of Visualized Experiments. 2012; 29(59):e3638.
19- Costa AP, Vieira C, Bohner LO, Silva CF, da Silva Santos EC, et al. A proposal for refining the forced swim test in Swiss mice. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. 2013;45:150-5
20- Can A, Dao DT, Terrillion CE, Piantadosi SC, Bhat S, Gould TD. The tail suspension test. Journal of Visualized Experiments. 2012; 28(59):e3769.
21- Lawrence PJ, Murayama K, Creswell C. Systematic review and meta-analysis: anxiety and depressive disorders in offspring of parents with anxiety disorders. Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry. 2019;58(1):46-60.
22- Moradi M, Mashhadi Akbar Boojar M, Saberi M, Salkuyeh HR, Ghorbani M, Amanpour H, Salem F. Comparison of Analgesic Effect of Rosmarinic Acid With Piroxicam in Mice. International Journal of Basic Science in Medicine. 2022;7(1):28-33.

23- Guo C, Liu F. Cardioprotective effect of rosmarinic acid against myocardial ischaemia/reperfusion injury via suppression of the NF-jB inflammatory signalling pathway and ROS production in mice. Pharmaceutical Biology. 2021;59(1):220-9.
24- Fachel FN, Schuh RS, Veras KS, Bassani VL, Koester LS, et al. An overview of the neuroprotective potential of rosmarinic acid and its association with nanotechnology-based delivery systems: A novel approach to treating neurodegenerative disorders. Neurochemistry International. 2019;122:47-58.
25- Petit-Demouliere B, Chenu F, Bourin M. Forced swimming test in mice: a review of antidepressant activity. Psychopharmacology. 2005;177(3):245-55.
26- Dahchour A. Anxiolytic and antidepressive potentials of rosmarinic acid: A review with focus on antioxidant and anti-inflammatory effects. Pharmacological Research. 2022; 9:106421.
27- 26. Yu Y, Li Y, Qi K, Xu W, Wei Y. Rosmarinic acid relieves LPS-induced sickness and depressive-like behaviors in mice by activating the BDNF/Nrf2 signaling and autophagy pathway. Behavioural Brain Research. 2022; 433:114006.
28- Arunrut T, Alejandre H, Chen M, Cha J, Russo-Neustadt A. Differential behavioral and neurochemical effects of exercise, reboxetine and citalopram with the forced swim test. Life sciences. 2009;84(17-18):584-9.
29- Kuœmider M, Solich J, Pasach P, Dziedzicka-Wasylewska M. Effect of citalopram in the modified forced swim test in rats. Pharmacological reports. 2007;59(785):785-8.
30- Kim TH, Bormate KJ, Custodio RJ, Cheong JH, Lee BK, Kim HJ, Jung YS. Involvement of the adenosine A1 receptor in the hypnotic effect of rosmarinic acid. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2022;146:112483.
31- Grigoletto J, de Oliveira CV, Grauncke AC, de Souza TL, Souto NS, de Freitas ML, Furian AF, Santos AR, Oliveira MS. Rosmarinic acid is anticonvulsant against seizures induced by pentylenetetrazol and pilocarpine in mice. Epilepsy & Behavior. 2016;62:27-34.
32- Takeda H, Tsuji M, Miyamoto J, Matsumiya T. Rosmarinic acid and caffeic acid reduce the defensive freezing behavior of mice exposed to conditioned fear stress. Psychopharmacology. 2002;164(2):233-5.