

## اثر ضدافسردگی کوئرتستین و نانوکریستال کوئرتستین در مدل حیوانی بیماری اسکیزوفرنی با استفاده از تست شنای اجباری



سپیده محمدنژاد بازکیایی، اکبر حاجی‌زاده مقدم\* و فرهاد ولی زادگان

بابلسر، دانشگاه مازندران، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی

تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۲۳

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۰/۶

### چکیده

اسکیزوفرنی از جمله بیماری‌های تحلیل‌نورونی می‌باشد که باعث بروز علائم مثبت رفتاری نظیر توهم و علائم منفی نظیر گوشه‌گیری اجتماعی و افسردگی می‌گردد. افسردگی سندرمی مهمی است که همزمان با بیماری اسکیزوفرنی رخ می‌دهد. یکی از عوامل پیشرفت این بیماری، عدم تعادل بین رادیکال‌های آزاد و سیستم آنتی‌اکسیدانی است. کوئرتستین به‌عنوان آنتی‌اکسیدانی طبیعی در بسیاری از میوه‌ها و سبزیجات وجود دارد. هدف از این مطالعه بررسی اثر حفاظتی کوئرتستین و نانوکریستال کوئرتستین بر اختلالات افسردگی و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز در مدل کنامینی بیماری اسکیزوفرنی است. در این مطالعه تجربی ۴۹ سر موش سوری به‌طور تصادفی به گروه‌های کنترل، شم، بیمار و چهار گروه بیمار تیمار شده با کوئرتستین و نانوکریستال آن با غلظت‌های ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم تقسیم شدند. برای ایجاد مدل بیماری اسکیزوفرنی، کنامین به مدت ۱۰ روز و به‌صورت درون‌صفاقی تزریق شد. اختلالات افسردگی با استفاده از تست شنای اجباری و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز اندازه‌گیری شد. تزریق کنامین بطور معناداری باعث افزایش مدت‌زمان بی‌حرکتی و کاهش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز در مقایسه با گروه کنترل می‌شود ( $P \leq 0/001$ ) و تیمار با کوئرتستین و نانوکریستال آن موجب کاهش معنی‌دار زمان بی‌حرکتی و افزایش فعالیت این آنزیم‌ها در گروه‌های بیمار تیمار شده می‌گردد ( $P \leq 0/001$ ). نتایج این مطالعه نشان داد که مصرف نانوکریستال کوئرتستین اختلالات افسردگی و استرس اکسیداتیو القاء شده با کنامین را در مدل اسکیزوفرنی کاهش می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: افسردگی، بیماری اسکیزوفرنی، کنامین، نانوکریستال کوئرتستین

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۱۱۳۵۳۰۲۴۵۳، پست الکترونیکی: a.hajizadeh@umz.ac.ir

### مقدمه

می‌شود که این اختلال در افراد مبتلا به افسردگی نیز وجود دارد (۱ و ۴۳).

افسردگی به دنبال افزایش فاکتورها پیش‌تهابی و سایتوکین‌ها و عوامل اکسیداتیو بوجود می‌آید (۲۲). یکی از عوامل آسیب‌رسان به سیستم عصبی مرکزی و ایجاد بیماری عصبی اسکیزوفرنی، استرس اکسیداتیو می‌باشد. طی استرس اکسیداتیو گونه‌های واکنشی فعال از جمله گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و گونه‌های فعال نیتروژن

اسکیزوفرنی بیماری همراه با تحلیل‌نورونی است که مردان و زنان را به‌طور یکسان تحت تأثیر قرار می‌دهد و دارای علائم مثبت رفتاری نظیر توهم و علائم منفی نظیر گوشه‌گیری اجتماعی و افسردگی می‌باشد (۴، ۳۳ و ۴۱). میزان شیوع افسردگی در بیماران مبتلا به اسکیزوفرنی به‌طور میانگین حدود ۲۲ تا ۷۵ درصد است. در واقع در بیماران مبتلا به اسکیزوفرنی اختلال در عملکرد لوب فرونتال دیده

(RNS) تشکیل می‌شود که به آسانی با تمام مولکول‌های زیستی شامل DNA، RNA، پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها واکنش می‌دهند و این آسیب اکسیداتیو موجب از دست دادن عملکرد آنزیم‌ها، تخریب سیگنالینگ سلولی و در نهایت آپاپتوز می‌گردد. برای حفاظت از مرگ سلولی که توسط گونه‌های واکنشی رخ می‌دهد، موجودات زنده خط دفاعی آنتی‌اکسیدانی دارند که شامل آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی می‌باشد. آنتی‌اکسیدان‌ها با رادیکال‌های آزاد یا دیگرگونه‌های واکنشی، واکنش می‌دهند و باعث جلوگیری از اکسید شدن ترکیبات سلولی می‌گردند که خطر ابتلا به بیماری‌های ناشی از استرس اکسیداتیو همانند اسکیزوفرنی را کاهش می‌دهند (۱۳ و ۲۰).

اسکیزوفرنی به دلیل اختلال در سیستم‌های نورو-ترانسمیتری، استرس اکسیداتیو و عدم تعادل بین رادیکال‌های آزاد و سیستم آنتی‌اکسیدانی به وجود می‌آید (۳). تغییر در عملکرد گیرنده‌های NMDA گلوتامات در ایجاد اسکیزوفرنی نقش مهمی دارد (۹ و ۳۱). مطالعات پیشین نشان داده که با تزریق آنتاگونیست‌های گیرنده‌ی NMDA، از جمله کتامین می‌توان این بیماری را مدل‌سازی نمود (۳ و ۱۲). کتامین باعث افزایش سطوح سیتوکین پیش‌التهابی ایترلوکین ۶ در مغز می‌شود که می‌تواند منجر به القاء علائم اسکیزوفرنی شود (۴۲ و ۴۳). آزادسازی این فاکتورها و نیز گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن می‌تواند در شروع و پیشرفت بیماری‌های عصبی نقش دارد. در مطالعات اخیر مشاهده شده است که مصرف حاد کتامین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز را در قشر پیش‌پیشانی کاهش می‌دهد (۸، ۱۳، ۲۶ و ۴۰).

مطالعات متعدد نشان می‌دهد که فنول‌های گیاهی از قبیل فلاونوئیدها و اسیدهای فنلیک می‌توانند به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی عمل کنند (۴۴). در پژوهش‌های مختلف گزارش شده است که پلی‌فنول‌های گیاهی دارای

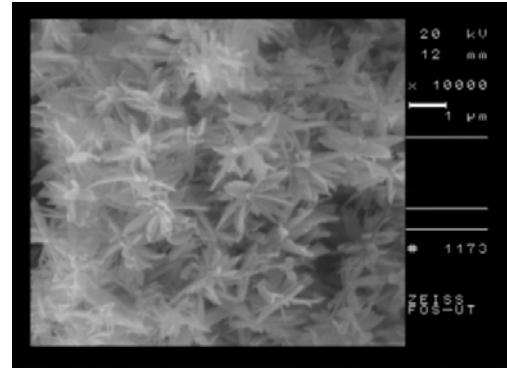
فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی بواسطه حذف ROS می‌باشند. این ترکیبات ممکن است اثرات آنتی‌اکسیدانی خود را از طریق آبشارهای سیگنالینگ پروتئین کیناز و لیپید کیناز اعمال کنند (۲، ۲۱ و ۳۴). کوئرستین فلاونوئیدی متشکل از ۳ حلقه و ۵ گروه هیدروکسیل است و در سیب، چای، توت و پیاز یافت می‌شود. مطالعاتی نیز نشان دادند که کوئرستین می‌تواند باعث افزایش میزان فعالیت کاتالاز و گلوکاتایون شود و تعادل بین سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز را به حالت طبیعی برگرداند (۳۵).

با این حال کوئرستین حلالیت ضعیفی دارد و به مقدار کم در آب حل می‌شود، بنابراین جذب آن در بدن نیز محدود می‌باشد (۲۸). علاوه بر این، داروهای کم‌محلول در آب اثر تجمعی دارند و استفاده از آن‌ها می‌تواند باعث ایجاد عوارض جانبی مانند نارسایی شدید تنفسی گردد. امروزه برای حل این مشکل و افزایش حلالیت ترکیبات فنلی از تکنیک نانو کردن ذرات استفاده می‌شود. نانوکریستال‌ها مزایایی از جمله افزایش حلالیت دارند (۲۴). هدف از این مطالعه بررسی اثر ضدافسردگی و آنتی‌اکسیدانی کوئرستین و نانوکریستال کوئرستین در مدل کتامینی بیماری اسکیزوفرنی است.

### مواد و روشها

**روش تهیه نانوکریستال کوئرستین:** نانوکریستال کوئرستین به روش رسوب‌گذاری تبخیری نانوسپانسیون تهیه شد. در این روش به‌طور خلاصه ۵ میلی‌گرم کوئرستین خالص در یک میلی‌لیتر حلال اتانول حل و نانوکریستال کوئرستین با اضافه کردن سریع ۲۵ میلی‌لیتر ضد حلال هگزان تشکیل شد. ذرات کریستاله شده با پراندن حلال و ضد حلال بوسیله دستگاه روتاری بدست آمد. مورفولوژی و سایز ذرات نانوکریستال کوئرستین بوسیله میکروسکوپ الکترونی روبشی مورد بررسی قرار گرفت.

شیمیایی و گیاهی مختلف در موش کوچک آزمایشگاهی می‌باشد و یکی از معتبرترین آزمون‌ها برای سنجش افسردگی حیوانات است (۱ و ۲۵). به منظور بررسی میزان افسردگی، تمامی گروه‌ها در روزهای پنجم، دهم و پانزدهم پس از تزریق، میزان افسردگی آنها با تست شنای اجباری سنجیده شد. در صورتی که حیوان تحت استرس مداوم قرارگیرد، رفته‌رفته تحرک و فعالیت خود را از دست می‌دهد و بی‌حرکت می‌گردد. در این آزمایش از سیلندر شیشه‌ای استوانه‌ای به ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر و قطر ۱۰ سانتی‌متر استفاده شد که حاوی آب ۲۵ درجه سانتی‌گراد به ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر بود و موش‌ها به صورت انفرادی به ملایمت درون آب قرار داده می‌شدند. در این شرایط حیوانات برای جلوگیری از غرق شدن، شنا می‌کردند. پس از مدتی، موش‌ها از فعالیت بازمی‌ماندند که به طور قراردادی به آن بی‌حرکت شدن می‌گویند. بعد از قرارگیری موش در آب برای سازگاری آن با محیط، یک دقیقه صبر کرده سپس به مدت ۵ دقیقه مدت زمان بی‌حرکت ماندن را اندازه‌گیری شد. بی‌حرکتی به زمانی قلمداد می‌شد که هیچ فعالیت حرکتی اضافی مشاهده نشود. افزایش زمان بی‌حرکتی علامتی بسیار مهم در بروز افسردگی و کاهش آن به معنای اثربخشی درمان ضدافسردگی در نظر گرفته شد. جهت سازگاری بیشتر حیوان با محیط، روز قبل از تست، موش را به مدت ۵ دقیقه در آب قرار می‌گرفتند (۱۹). بعد از انجام آزمایش‌های بالینی، موش‌ها سربریده و برش‌گیری از مغز انجام شد. ۱۵۰ میلی‌گرم از بافت مغز در یک میلی‌لیتر بافر شامل ۰/۳۲ مول در لیتر ساکارز، یک میلی‌مول در لیتر EDTA و ۱۰ نانومول در لیتر تریس هیدروکلراید با PH=7.4 هموژن شدند. محلول هموژن با سرعت ۱۳۶۰۰ به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و محلول روئی برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز مورد استفاده قرار گرفت. غلظت پروتئین با استفاده از روش برادفورد و استاندارد آلبومین سرم گاوی مورد سنجش قرار گرفت.

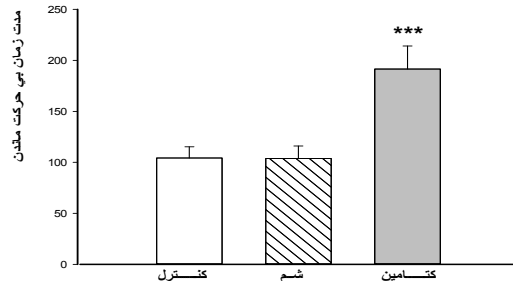


شکل ۱- تصویر میکروسکوپ الکترونی رویی نانوکریستال کوئرتستین

در این مطالعه تجربی از ۴۹ سر موش سوری (تهیه شده از پژوهشکده انیستیتوپاستورآمل) در محدوده وزنی ۲۰-۳۰ گرم استفاده گردید. حیوانات در شرایط استاندارد (۱۲ ساعت روشنایی ۱۲ ساعت تاریکی و دمای  $33 \pm 2$  °C) و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. کلیه آزمایشات مطابق آیین‌نامه کمیته اخلاق زیستی معاونت پژوهشی دانشگاه مازندران انجام گردید. حیوانات به طور تصادفی به هفت گروه هفت‌تایی کنترل، شام، بیمار، دوگروه بیمار تیمار شده با کوئرتستین و دوگروه بیمار تیمار شده با نانوکریستال کوئرتستین تقسیم شدند. موش‌ها در گروه شام به مدت ۱۰ روز حلال کتامین (سالین) را به صورت درون صفاقی دریافت کردند. موش‌های گروه بیمار و چهار گروه تیمار شده نیز به مدت ۱۰ روز به صورت درون صفاقی کتامین را دریافت نمودند. سپس گروه‌های شام و بیمار، حلال کوئرتستین (آب مقطر) را به صورت گاوژ و گروه‌های بیمار تیمار شده با کوئرتستین و بیمار تیمار شده با نانوکریستال کوئرتستین به ترتیب غلظت‌های ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن کوئرتستین و نانوکریستال آن را به صورت گاوژ به مدت ۳۰ روز در ساعت ۱۰ تا ۱۲ صبح دریافت کردند (۱۱، ۱۵ و ۳۷).

**آزمون شنای اجباری:** آزمون شنای اجباری ( Forced Swimming Test) از جمله مدل‌های فارماکولوژیک حیوانی بسیار رایج جهت ارزیابی اثرات ضدافسردگی ترکیبات

منفی اسکیزوفرنی می‌باشد، در موش‌های گروه بیمار که ۱۰ روز کتامین دریافت کرده بودند، در مقایسه با گروه کنترل، به‌طور معنی‌داری افزایش نشان داد ( $P \leq 0/001$ ).



نمودار ۱- اثر کتامین بر آزمون‌های اجباری در روز دهم پس از تزریق کتامین. تزریق کتامین موجب افزایش معنی‌داری بر مدت زمان بی‌حرکت ماندن در گروه بیمار در مقایسه با گروه کنترل شد. گروه‌ها هفت‌تایی هستند. ( $n=7$ ) در مقایسه با گروه کنترل ( $P \leq 0/001$ ): \*\*\*

فعالیت حرکتی در تمامی گروه‌ها پنج روز بعد از آخرین تزریق کتامین مورد بررسی قرار گرفت. فعالیت حرکتی در گروه‌هایی که کوئرتستین با غلظت ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۵ روز دریافت کردند، افزایش معنی‌داری در مقایسه با گروه بیمار نشان داد ( $P \leq 0/001$ ). فعالیت حرکتی در گروه‌هایی که نانوکریستال کوئرتستین در غلظت‌های ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند نیز در مقایسه با گروه بیمار بطور معنی‌داری افزایش نشان داد ( $P \leq 0/001$ ), (نمودار ۲).

فعالیت حرکتی ۱۵ روز بعد از آخرین روز تزریق کتامین نیز انجام شد. فعالیت حرکتی در گروه‌هایی که کوئرتستین با غلظت ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۱۵ روز دریافت کردند، افزایش معنی‌داری در مقایسه با گروه بیمار نشان داد ( $P \leq 0/001$ ).

هم‌چنین فعالیت حرکتی در گروه‌هایی که نانوکریستال کوئرتستین با غلظت ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند نیز در مقایسه با گروه بیمار بطور معنی‌داری افزایش نشان داد و در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

**فعالیت سوپراکسیددسموتاز:** فعالیت این آنزیم به روش جنت و همکارانش انجام گرفت. به این صورت که مخلوط سنجش نهایی در حجم کل ۱ میلی‌لیتر حاوی ۵۰ میلی-مولار بافر سدیم فسفات، ۱/۰ میلی‌مولار EDTA، ۴۸ میلی-مولار پیروگالال و ۲۰ میکرولیتر عصاره‌ی آنزیمی می‌باشد. تغییر جذب نوری در ۴۲۰ نانومتر در مدت ۴ دقیقه در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد در مقایسه با محلول بلانک که حاوی همه موارد به‌غیر از بافت هموژن شده بود، اندازه‌گیری شده است. یک واحد از آنزیم طبق تعریف مقدار آنزیمی است که موجب مهار نصف اتواکسیداسیون پیروگالال می‌شود.

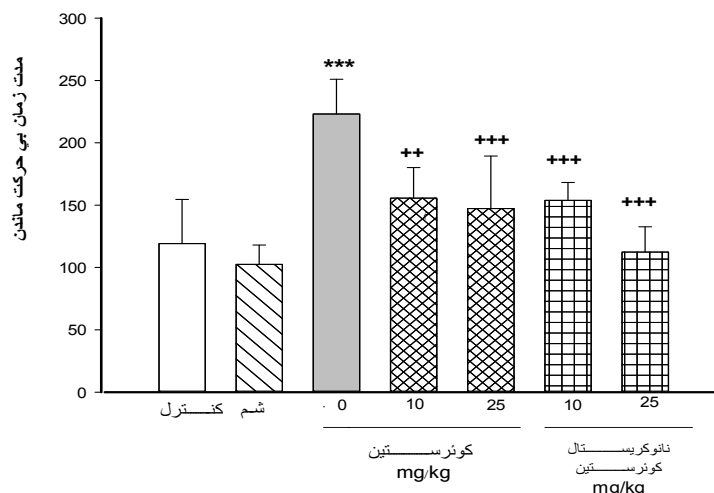
**فعالیت آنزیم کاتالاز:** فعالیت این آنزیم نیز به روش جنت و همکارانش انجام شد. مخلوط سنجش نهایی در حجم کل ۱ میلی‌لیتر حاوی ۵۰ میلی‌مولار بافر سدیم فسفات، ۱۰ میلی‌مولار هیدروژن پراکسید و ۲۰ میکرولیتر عصاره‌ی آنزیمی می‌باشد. تغییر جذب نوری در ۲۴۰ نانومتر در مدت زمان ۲ دقیقه در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد در مقایسه با محلول بلانک حاوی همه‌ی مواد به‌غیر از بافت هموژن شده، اندازه‌گیری شده است. یک واحد از آنزیم طبق تعریف، مقدار آنزیمی است که برای تجزیه‌ی ۱ میکرومولار  $H_2O_2$  در ۱ میلی‌گرم پروتئین در مدت زمان ۱ دقیقه لازم است.

برای تجزیه و تحلیل آماری و مقایسه بین گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس یکطرفه (ANOVA) و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. تمامی محاسبات با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۶ انجام شد و سطح معنی‌دار آزمون‌ها  $P$  کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

## نتایج

مورفولوژی و سایز ذرات نانوکریستال کوئرتستین بوسیله میکروسکوپ الکترونی روبشی مورد بررسی قرار گرفت. میانگین سایز ذرات حدود ۱۲۰ نانومتر می‌باشد. توجه به نمودار ۱ شاخص مدت زمان بی‌حرکت ماندن که از علائم

کتامین (ده میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)



نمودار ۲- اثر کوئرسیتین و نانوکریستال آن بر مدت زمان بی‌حرکتی در آزمون شنای اجباری در روز پانزدهم پس از تزریق کتامین. کوئرسیتین و نانوکریستال آن باعث کاهش معنی‌داری در مدت زمان بی‌حرکت ماندن در گروه بیمار تیمار شده با غلظت ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم کوئرسیتین و نانوکریستال آن در مقایسه با گروه بیمار شد. ( $n=7$ ) در مقایسه با گروه کنترل ( $P \leq 0.001$ ),  $***$ ، در مقایسه با گروه بیمار ( $P \leq 0.001$ ),  $+++$ ,  $+++$  ( $P \leq 0.001$ )

سطح آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گروه‌هایی که ۱۰ روز کتامین دریافت کرده بودند در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌دار نشان داد ( $P=0/000$ ). این آنزیم در گروه شم نسبت به گروه کنترل تغییر معنی‌دار نشان نداد. سطح کاتالاز در گروه‌های دریافت‌کننده نانوکریستال کوئرسیتین و کوئرسیتین با غلظت ۲۵ در مقایسه با گروه بیمار اختلاف معنی‌دار نشان داد. علاوه بر این سطح کاتالاز در گروه دریافت‌کننده نانوکریستال کوئرسیتین با غلظت‌های ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در مقایسه با گروه‌های دریافت‌کننده کوئرسیتین با همین غلظت اختلاف معنی‌دار نشان داد ( $P=0/000$ ).

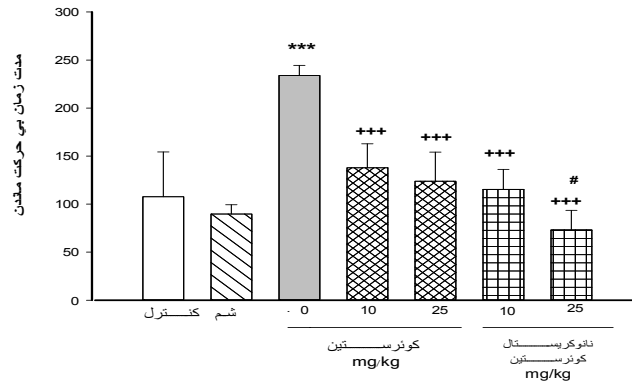
### بحث

بررسی نتایج حاضر نشان داد که تزریق کتامین با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۱۰ روز متوالی باعث افزایش افسردگی و کاهش فعالیت حرکتی و کاهش در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در مغز موش کوچک آزمایشگاهی گردید.

همچنین فعالیت حرکتی در موش‌هایی که کوئرسیتین با غلظت ۲۵ دریافت کردند در مقایسه با گروهی که نانوکریستال کوئرسیتین با غلظت ۲۵ دریافت نمودند، کاهش معنی‌دار نشان داد ( $P=0/01$ )، (نمودار ۳).

سطح کاتالاز در گروه‌هایی که ۱۰ روز کتامین دریافت کرده بودند در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌دار نشان داد ( $P=0/000$ ). سطح این آنزیم در گروه‌هایی که کوئرسیتین و نانوکریستال آنرا با غلظت ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت کرده بودند در مقایسه با گروه بیمار افزایش معنی‌دار نشان داد. همچنین در گروه‌های بیمار تیمار با کوئرسیتین و نانوکریستال کوئرسیتین با غلظت ۱۰ اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل مشاهده می‌گردد. علاوه بر این سطح کاتالاز در گروه بیمار تیمار شده با نانوکریستال کوئرسیتین با غلظت ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در مقایسه با گروه بیمار دریافت‌کننده کوئرسیتین هم غلظت اختلاف معنی‌دار نشان داد ( $P=0/000$ ).

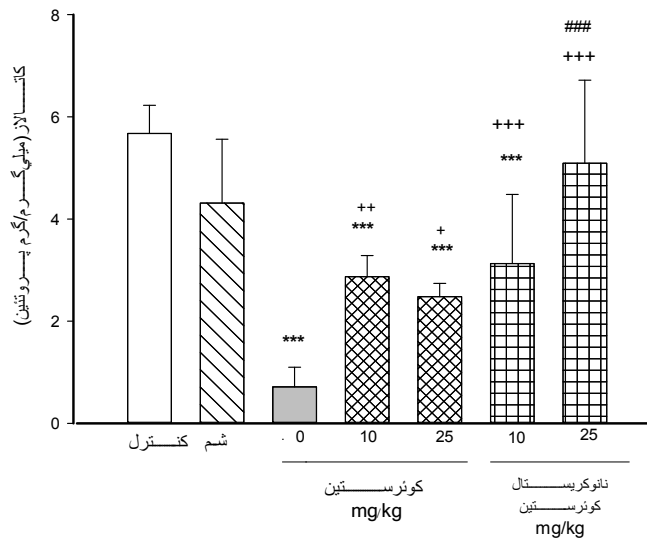
کتامین (ده میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)



نمودار ۳- اثر کوئرستین و نانوکریستال آن برآزمون شنای اجباری در روز بیست و پنجم پس از تزریق کتامین. کوئرستین و نانوکریستال آن باعث کاهش معنی‌دار مدت زمان بی‌حرکت ماندن در گروه بیمار تیمار شده با غلظت ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در مقایسه با گروه کنترل شدند. مدت زمان بی‌حرکت ماندن در گروه نانوکریستال کوئرستین با غلظت ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن نسبت به گروه کوئرستین هم غلظت کاهش معنی‌داری نشان داد. در مقایسه با گروه کنترل ( $P \leq 0/001$ ): \*\*\*, در مقایسه با گروه بیمار ( $P \leq 0/001$ ): +++, در مقایسه با گروه ۲۵ کوئرستین  $P \leq 0/05$

#:

کتامین (ده میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)

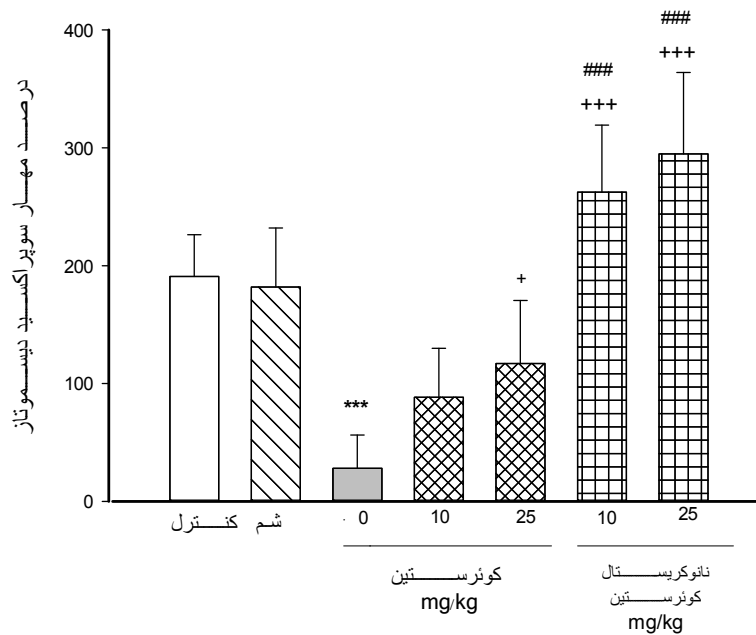


نمودار ۴- اثر کوئرستین و نانوکریستال آن بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز. سطح کاتالاز در موش‌های گروه بیمار کاهش معنی‌دار نشان داد. کوئرستین و نانوکریستال آن باعث افزایش فعالیت کاتالاز شدند. گروه‌ها هفت‌تایی هستند ( $n=7$ ). در مقایسه با گروه کنترل ( $P \leq 0/001$ ): \*\*\*, در مقایسه با گروه بیمار ( $P \leq 0/001$ ): +++, در مقایسه با گروه بیمار ( $P \leq 0/05$ ): +, در مقایسه با گروه بیمار ( $P \leq 0/01$ ): ++, در مقایسه با گروه ۲۵ نانوکریستال کوئرستین  $P \leq 0/001$ : ###

سینگولا و قشر مغز انجام می‌دهند. کتامین به علت واکنش با سیستم کاتکول آمین ممکن است سبب تشدید فعالیت دوپامین شود و خاصیت خود اکسیداسیونی دوپامین سبب تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود (۱۴).

در راستای این تحقیق، در مطالعات پیشین نیز تزریق درون‌صفافی کتامین برای ایجاد مدل حیوانی بیماری اسکیزوفرنی گزارش شد (۲۹). کتامین نقش خود را با مسدود کردن گیرنده‌های گلوتاماتی نوع NMDA، تولید ROS و تغییرات نورونی برگشت‌پذیر در ناحیه خلفی

کتامین (ده میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)



نمودار ۵- اثر کوئرستین و نانوکریستال آن بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز. کتامین باعث کاهش سطح SOD در موش‌های گروه بیمار گردید. کوئرستین و نانوکریستال آن باعث افزایش فعالیت آنزیم SOD شدند. گروه‌ها هفت‌تایی هستند (n=7). در مقایسه با گروه کنترل (P≤0/001) در مقایسه با گروه بیمار (P≤0/001): \*\*\* در مقایسه با گروه بیمار (P≤0/001): +++ در مقایسه با گروه بیمار (P≤0/05): + در مقایسه با گروه ۲۵ نانوکریستال کوئرستین (P≤0/001): #### در مقایسه با گروه ۱۰ نانوکریستال کوئرستین (P≤0/001): ####

از اثر کتامین بر اینترنورون‌های مهارتی در قشر جلویی مغز جلوگیری کند. در بیماری اسکیزوفرنی تولید ROS افزایش یافته و از طرفی سطح آنتی‌اکسیدان‌ها در پلاسما و فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بیماران مبتلابه اسکیزوفرنی نیز کاهش می‌یابد (۳۴). علی و همکاران در سال ۲۰۱۴ گزارش نمودند که استرس اکسیداتیو از طریق القای رادیکال‌های آزاد باعث کاهش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی کاتالاز می‌گردد (۲). بوسکوویچ و همکارانش نشان دادند که تزریق کتامین می‌تواند مدل مناسبی برای بررسی علائم بیماری اسکیزوفرنی است (۶). در همین راستا هانت و همکاران پیشنهاد نمودند تزریق درون‌صفافی کتامین سبب بروز افسردگی در موش صحرائی می‌شود (۲۲). افسردگی ناشی از تزریق کتامین می‌تواند توسط استرس اکسیداتیو ایجاد شده به وسیله

پژوهش‌های اخیر نشان دادند که استرس اکسیداتیو نیز عامل مؤثری در ایجاد بیماری اسکیزوفرنی است (۵ و ۳۴). همچنین اولیوئیرا و همکارانش در سال ۲۰۰۹ گزارش دادند که کتامین موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در تمام نواحی مغز و پراکسیداسیون لیپیدها، آسیب‌های اکسیداتیو پروتئین و DNA می‌شود (۱۶). مطالعات پیشین نشان می‌دهد که تزریق درون‌صفافی کتامین با غلظت ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۸ روز متوالی باعث کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در هیپوکامپ می‌گردد (۲۵). نتایج پژوهش رادونجیچک و همکارانش در سال ۲۰۱۰ نیز پیشنهاد نمود که تزریق ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن فن‌سیکلیدین می‌تواند باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز گردد. کاهش تولید سوپراکسید می‌تواند از طریق مهار NADPH اکسیداز

رادیکال‌های قوی و یا احتمالاً از طریق فعال شدن گیرنده NMDA ایجاد شود.

نتایج این مطالعه نشان داد که تیمار با کوئرستین و نانوکریستال آن باعث افزایش میزان فعالیت حرکتی و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در مغز می‌گردد. در راستای این مطالعه نتایج پژوهش‌های پیشین نیز نشان داد که مصرف کوئرستین در غلظت‌های ۵۰ و ۸۰ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن به مدت ۴۵ روز باعث می‌شود، فعالیت کاهش‌یافته کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز به حالت اولیه خود برگردد و در نتیجه باعث بهبود آسیب ناشی از استرس اکسیداتیو شود (۳۰).

ادوارد و همکارانش در سال ۲۰۰۷ نشان دادند که مصرف ۷۳۰ میلی‌گرم از کوئرستین به مدت ۲۸ روز متوالی باعث کاهش فشارخون در افراد دارای فشارخون بالا گردید. همچنین در مطالعه ای دیگر گزارش شد که کوئرستین باعث کند شدن رشد سلول‌های سرطانی می‌شود (۱۸ و ۲۳). پژوهش‌های پیشین پیشنهاد می‌کنند در مدل بیماری پارکینسون تیمار کوئرستین، ۳ ساعت قبل از تزریق ۱-متیل-۴-فیل پریدینوم (MPP) می‌تواند باعث کاهش آپاتوز القا شده توسط MPP شود. همچنین کوئرستین می‌تواند در مدل آلزایمری القا شده با پپتید بتا-آمیلوئید اثر محافظتی داشته باشد (۷). تزریق کوئرستین با غلظت ۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن به صورت درون صفاقی با مهار تولید ROS باعث از بین بردن اثرات استرس اکسیداتیو و افزایش میزان سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در موش صحرائی نر می‌شود (۱۷). مصطفوی پور و همکاران در سال ۲۰۰۸ به منظور بررسی اثرات درمانی کوئرستین و ویتامین E بر استرس اکسیداتیو ناشی از سیکلوسپورین و سمیت کبدی پیشنهاد نمودند که تجویز همزمان کوئرستین و ویتامین E می‌تواند باعث افزایش سطح کاهش‌یافته کاتالاز ناشی از مصرف سیکلوسپورین در کبد موش صحرائی شود. کاهش فعالیت‌های آنزیم

سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون القاء شده توسط سیکلوسپورین منجر به پراکسیداسیون لیپیدی و مرگ سلول‌های کبدی می‌شود. استفاده از کوئرستین و ویتامین E در کشت سلول‌های کبدی استرس اکسیداتیو را کاهش می‌دهد و از پراکسیداسیون لیپید جلوگیری می‌کند. در نتیجه باعث افزایش میزان فعالیت کاتالاز و سطح گلوتاتیون می‌شود بطوریکه میزان فعالیت‌های آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز را به حالت طبیعی برمی‌گرداند (۳۲).

در این پژوهش، مقایسه درمان با کوئرستین و نانوکریستال آن در غلظت ۲۵ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن نشان داد که فعالیت حرکتی و همچنین میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در مغز موش‌هایی که نانوکریستال کوئرستین را دریافت نمودند نسبت به موش‌های درمان شده با کوئرستین با همین غلظت، به طور معنی‌داری افزایش یافته است.

گزارش‌های متعددی حلالیت ضعیف کوئرستین در آب و جذب خوراکی محدود آن را گزارش نمودند. داروهایی که براساس نانوذرات طراحی می‌شوند، حلالیت بیشتر و در نتیجه اثر درمانی بهتر و سمیت کمتری را به دنبال خواهند داشت (۵ و ۲۸). در راستای تأیید این مطالعه ساهو و همکاران در سال ۲۰۱۱ گزارش نمودند که انحلال نانوکریستال کوئرستین بیشتر از کوئرستین می‌باشد. همچنین خواص آنتی‌اکسیدانی نانوکریستال کوئرستین نسبت به کوئرستین افزایش می‌یابد (۳۸). همچنین در آزمایشی که به منظور بررسی تفاوت میان اثربخشی کوئرستین و نانوکپسول کوئرستین بر موش صحرائی انجام گرفت نشان دادند که نانوکپسول کوئرستین از آنجایی که فراهمی زیستی بیشتری نسبت به کوئرستین دارد، اثربخشی بهتری نیز نسبت به آن در بهبودی علائم زخم معده دارد (۱۰ و ۴۲). مطالعات دیگر نیز تأیید می‌کنند که کوچک شدن ذرات کوئرستین در حد ۸۰ نانومتر باعث بالا رفتن



نانوکریستال کوئرستین نسبت به موش‌های تیمار شده با کوئرستین با همین غلظت، به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است که این احتمالاً به علت افزایش حلالیت و جذب زیستی نانوکریستال کوئرستین نسبت به کوئرستین می‌باشد.

### سپاسگزاری

این مقاله تحت حمایت حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه مازندران انجام شد. بدین‌وسیله از این حوزه قدردانی به عمل می‌آید.

میزان انتشار آن و همچنین افزایش فراهمی زیستی می‌شود (۲۰ و ۳۶).

نتایج این آزمایش نشان داد که مصرف کوئرستین و نانوکریستال آن احتمالاً می‌تواند از طریق خاصیت آنتی-اکسیدانی و افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز باعث بهبود علائم افسردگی ناشی از تزریق کتامین شود. همچنین مقایسه‌ی درمان با کوئرستین و نانوکریستال آن در غلظت ۲۵ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن نشان داد که فعالیت حرکتی و آنزیم کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز در موش‌هایی دریافت کننده

### منابع

- Abbasi, M. S., Bekhradi, R., Asgharpanah, J., Abbasi, M. F., and Maleki, A. N. 2013. Antidepressant effect of aqueous and hydroalcoholic extracts of *Lavandula officinalis* in forced swim test and tail suspension test in male mice, *J Arak Univ Med Sci*, 16, 65-75.
- Ali, H. A., Afifi, M., Abdelazim, A. M., and Mosleh, Y. Y., 2014. Quercetin and omega 3 ameliorate oxidative stress induced by aluminium chloride in the brain. *Journal of Molecular Neuroscience*, 53(4), PP: 654-660.
- Berridge, M. J., 2013. Dysregulation of neural calcium signaling in Alzheimer disease, bipolar disorder and schizophrenia. *Prion*, 7(1), PP: 2-13.
- Birchwood, M., Iqbal, Z., and Upthegrove, R., 2005. Psychological pathways to depression in schizophrenia. *European archives of psychiatry and clinical neuroscience*, 255(3), PP: 202-212.
- Boots, A. W., Haenen, G. R., and Bast, A., 2008. Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical. *European journal of pharmacology*, 585(2), PP: 32-337-405.
- Bošković, M., Vovk, T., Plesničar, B. K., and Grabnar, I., 2011. Oxidative stress in schizophrenia. *Current neuropharmacology*, 9(2), 301 p.
- Bournival, J., Quessy, P., and Martinoli, M. G., 2009. Protective effects of resveratrol and quercetin against MPP<sup>+</sup>-induced oxidative stress act by modulating markers of apoptotic death in dopaminergic neurons. *Cellular and molecular neurobiology*, 29(8), PP: 1169-1180.
- Bozorgi, N. D., Khezri, S., and Rahmani, F., 2016. The Effect of Caffeine on the Myelin Repair Following Experimental Demyelination Induction in the Adult Rat Hippocampus. *Journal of Cell and Molecular Research (JCMR)*, 8(1), PP: 15-24.
- Bubeníková-Valešová, V., Horáček, J., Vrajová, M., and Höschl, C., 2008. Models of schizophrenia in humans and animals based on inhibition of NMDA receptors. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 32(5), PP: 1014-1023.
- Chakraborty, S., Stalin, S., Das, N., Choudhury, S. T., Ghosh, S., and Swarnakar, S., 2012. The use of nano-quercetin to arrest mitochondrial damage and MMP-9 upregulation during prevention of gastric inflammation induced by ethanol in rat. *Biomaterials*, 33(10), PP: 2991-3001.
- Chan, S. T., Lin, Y. C., Chuang, C. H., Shiau, R. J., Liao, J. W., and Yeh, S. L., 2014. Oral and intraperitoneal administration of quercetin decreased lymphocyte DNA damage and plasma lipid peroxidation induced by TSA in vivo. *BioMed research international*. Article ID 580626, 9 pages.
- Chatterjee, M., Singh, S., Kumari, R., Verma, A. K., and Palit, G., 2011. Effect of 'chronic' versus 'acute' ketamine administration and its 'withdrawal' effect on behavioural alterations in mice: implications for experimental psychosis.

- Behavioural brain research, 216(1), PP: 247-254.
- 13- Da Silva, F. C. C., De Oliveira Cito, M. D. C., Da Silva, M. I. G., Moura, B. A., De Aquino Neto, M. R., Feitosa, M. L., De Castro Chaves, R., Silveira Macedo, D., De Vasconcelos, S. M. M., De França Fonteles, M. M., and De Sousa, F. C. F., 2010. Behavioral alterations and pro-oxidant effect of a single ketamine administration to mice. *Brain research bulletin*, 83(1), PP: 9-15.
  - 14- Da Silva Oliveira, G. L., and De Freitas, R. M., 2014. Potential involvement of oxidative stress in induction of neurodegenerative diseases: Actions, mechanisms and neurotherapeutic potential of natural antioxidants. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 8(25), PP: 685-700.
  - 15- Davis, J. M., Murphy, E. A., Carmichael, M. D., and Davis, B., 2009. Quercetin increases brain and muscle mitochondrial biogenesis and exercise tolerance. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 296(4), PP: R1071-R1077.
  - 16- De Oliveira, L., Spiazzi, C. M. D. S., Bortolin, T., Canever, L., Petronilho, F., Mina, F. G., Dal-Pizzol, F., Quevedo, J., and Zugno, A. I., 2009. Different sub-anesthetic doses of ketamine increase oxidative stress in the brain of rats. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 33(6), PP: 1003-1008.
  - 17- Dong, Y. S., Wang, J. L., Feng, D. Y., Qin, H. Z., Wen, H., Yin, Z. M., Gao, G. D., and Li, C., 2014. Protective effect of quercetin against oxidative stress and brain edema in an experimental rat model of subarachnoid hemorrhage. *International journal of medical sciences*, 11(3), 282 p.
  - 18- Edwards, R. L., Lyon, T., Litwin, S. E., Rabovsky, A., Symons, J. D., and Jalili, T., 2007. Quercetin reduces blood pressure in hypertensive subjects. *The Journal of nutrition*, 137(11), PP: 2405-2411.
  - 19- Farzin, D., Fathiazad, F., and Fazellian, M., 2013. Antidepressant Effect of Methanolic Ginger Extract in Diabetic Mice Using Forced-Swim Test. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*, 23(98), pp.208-220.
  - 20- Gonzalez-Liencre, C., Tas, C., Brown, E. C., Erdin, S., Onur, E., Cubukoglu, Z., Aydemir, O., Esen-Danaci, A., and Brüne M. 2014. Oxidative stress in schizophrenia: a case-control study on the effects on social cognition and neurocognition. *BMC psychiatry*, 14(1), 268 p.
  - 21- Hajhashemi, V., Ghannadi, A., Sharif, B., and Ahadi, A. M., 2003. Anti-inflammatory and analgesic properties of the leaf extracts and essential oil of *Lavandula angustifolia* Mill. *Journal of ethnopharmacology*, 89(1), PP: 67-71.
  - 22- Hunt, M. J., Kessal, K., and Garcia, R., 2005. Ketamine induces dopamine-dependent depression of evoked hippocampal activity in the nucleus accumbens in freely moving rats. *The Journal of neuroscience*, 25(2), PP: 524-531.
  - 23- Jaimand, K., Ahrabi, A. H., and Monfared, A., 2011. Extraction and determination of quercetin in *achillae millefolium* L, *Achillea biebersteinii* afan. And *achillea tenuifolia* lam, PP: 529-539.
  - 24- Kakran, M., Shegokar, R., Sahoo, N. G., Gohla, S., Li, L., and Müller, R. H., 2012. Long-term stability of quercetin nanocrystals prepared by different methods. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 64(10), PP: 1394-1402.
  - 25- Kawaura, K., Koike, H., Kinoshita, K., Kambe, d., Kaku, A., Karasawa, J., Chaki, S. h., and Hikichi, H., 2015. Effects of a glycine transporter-1 inhibitor and D-serine on MK-801-induced immobility in the forced swimming test in rats. *Behavioural Brain Research*, 278, PP: 186-192.
  - 26- Kim, S. C., Kim, O. S., Kim, O. J., Kim, Y. J., and Chung, H. J., 2010. Antioxidant profile of whole saliva after scaling and root planing in periodontal disease. *Journal of periodontal & implant science*, 40(4), PP: 164-171.
  - 27- Kirkman, H. N., and Gaetani, G. F., 1984. Catalase: a tetrameric enzyme with four tightly bound molecules of NADPH. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 81(14), PP: 4343-4347.
  - 28- Lakhnopal, P., and Rai, D. K., 2007. Quercetin: a versatile flavonoid. *Internet Journal of Medical Update*, 2(2), PP: 22-37.
  - 29- Li, Q., Clark, S., Lewis, D. V., and Wilson, W. A., 2002. NMDA receptor antagonists disinhibit rat posterior cingulate and retrosplenial cortices: a potential mechanism of

- neurotoxicity. *The Journal of neuroscience*, 22(8), PP: 3070-3080.
- 30- Mahesh, T., and Menon, V. P., 2004. Quercetin allievates oxidative stress in streptozotocin - induced diabetic rats. *Phytotherapy research*, 18(2), PP: 123-127.
- 31- Moghaddam, B., 2003. Bringing order to the glutamate chaos in schizophrenia. *Neuron*, 40(5), PP: 881-884.
- 32- Mostafavi-Pour, Z., Zal, F., Monabati, A., and Vessal, M., 2008. Protective effects of a combination of quercetin and vitamin E against cyclosporine A-induced oxidative stress and hepatotoxicity in rats. *Hepatology Research*, 38(4), PP: 385-392.
- 33- Ng, F., Berk, M., Dean, O., and Bush, A. I., 2008. Oxidative stress in psychiatric disorders: evidence base and therapeutic implications. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 11(6), PP: 851-876.
- 34- Radonjić, N. V., Knežević, I. D., Vilimanovich, U., Kravić-Stevović, T., Marina, L. V., Nikolić, T., Todorović, V., Bumbaširević, V., and Petronijević, N. D., 2010. Decreased glutathione levels and altered antioxidant defense in an animal model of schizophrenia: long-term effects of perinatal phencyclidine administration. *neuropharmacology*, 58(4), PP: 739-745.
- 35- Ramadan, M. F., 2008. Quercetin increases antioxidant activity of soy lecithin in a triolein model system. *LWT-Food Science and Technology*, 41(4), PP: 581-587.
- 36- Rasaie, S., Ghanbarzadeh, S., Mohammadi, M., and Hamishehkar, H., 2014. Nano Phytosomes of Quercetin: A Promising Formulation for Fortification of Food Products with Antioxidants. *Pharmaceutical Sciences*, 20(3), 96 p.
- 37- Rivera, L., Morón, R., Sánchez, M., Zarzuelo, A., and Galisteo, M., 2008. Quercetin ameliorates metabolic syndrome and improves the inflammatory status in obese Zucker rats. *Obesity*, 16(9), PP: 2081-2087.
- 38- Sahoo, N. G., Kakran, M., Shal, L. A., Li, L., Müller, R. H., Pal, M., and Tan, L. P., 2011. Preparation and characterization of quercetin nanocrystals. *Journal of pharmaceutical sciences*, 100(6), PP: 2379-2390.
- 39- Sarbishegi, M., Mehraein, F., and Soleimani, M., 2014. Antioxidant role of oleuropein on midbrain and dopaminergic neurons of substantia nigra in aged rats. *Iranian biomedical journal*, 18(1), 16 p.
- 40- Singh, R. P., Sharad, S., and Kapur, S., 2004. Free radicals and oxidative stress in neurodegenerative diseases: relevance of dietary antioxidants. *J Indian Acad Clin Med*, 5(3), PP: 218-225.
- 41- Stachowiak, M., Kucinski, A., Curl, R., Syposs, C., Yang, Y., Narla, S., Terranova, C., Prokop, D., Klejbor, I., Bencherif, M., Birkaya, B., Corso, T., Parikh, A., Tzanakakis, E. S., Wersinger, S., and Stachowiak, E. K., 2013. Schizophrenia: A neurodevelopmental disorder—Integrative genomic hypothesis and therapeutic implications from a transgenic mouse model. *Schizophrenia research*, 143(2) PP: 367-376.
- 42- Steiner, J., Walter, M., Glanz, W., Sarnyai, Z., Bernstein, H. G., Vielhaber, S., Kastner, A., Skalej, M., Jordan, W., Schiltz, K., Klingbeil, C. h., Wandinger, K. P., Bogerts, B., and Stoecker, W., 2013. Increased prevalence of diverse N-methyl-D-aspartate glutamate receptor antibodies in patients with an initial diagnosis of schizophrenia: specific relevance of IgG NR1a antibodies for distinction from N-methyl-D-aspartate glutamate receptor encephalitis. *JAMA psychiatry*, 70(3), PP: 271-278.
- 43- Walter, M., Li, S., and Demenescu, L. R., 2014. Multistage drug effects of ketamine in the treatment of major depression. *European archives of psychiatry and clinical neuroscience*, 264(1), PP: 55-65.
- 44- Wirdefeldt, K., Adami, H. O., Cole, P., Trichopoulos, D., and Mandel, J., 2011. Epidemiology and etiology of Parkinson's disease: a review of the evidence. *European journal of epidemiology*, 26(1), PP: 1-58.

## **Antidepressant effects of quercetin and its nanocrystal on schizophrenia animal model with using forced swimming test**

**Mohammadnejad bazkiyai S., Hajizadeh moghaddam A. and Valizadegan F.**

**Biology Dept., Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, I.R. of Iran**

### **Abstract**

Schizophrenia is a neurodegenerative disease that causes the positive symptoms such as hallucinations and negative symptoms such as social withdrawal and depression. Depression is an important co-occurring syndrome in schizophrenia. One of the progressions of the disease, the imbalance between free radicals and antioxidant system. Quercetin, as a neutral antioxidant found in many plants, is widely distributed in edible fruits and vegetables. The purpose of this study was evaluated to protective effect of quercetin and quercetin nanocrystal on depression and activity of catalase and superoxide dismutase enzymes in ketamine model of schizophrenia. In this study, 49 male mice were divided into seven groups: control, vehicle, disease group that received 10mg/kg/day ketamine for 10 days and other four groups that received 10 and 25 mg/kg/day of quercetin and quercetin nanocrystal orally after injection of ketamine. Depression disorders using with forced swimming test and the activity of catalase and superoxide dismutase were evaluated. This study shows that injection of ketamine increased immobility and decreased catalase and superoxide dismutase activities ( $P \leq 0.001$ ). Treatment with quercetin and its nanocrystal increased significantly mobility time and also increase the activities of these enzymes in an animal model of schizophrenia ( $P \leq 0.001$ ). The results of this study showed that consumption of quercetin nanocrystal decreases depressant disorders and oxidative stress induced by ketamine in model of schizophrenia.

**Key words:** depression, schizophrenia, ketamine, quercetin nanocrystal