

## اثر عصاره گیاه بادرنجبویه بر رفتارهای اضطرابی و آستانه تحمل درد در موش‌های

## صحرائی مدل اوتیسمی

فاطمه پیری و حمید سپهری\*

ایران، گرگان، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۰۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۴/۲۳

## چکیده

اختلال طیف اوتیسم (ASD) یک وضعیت عصبی-روانی می‌باشد که شیوع ناهنجاری‌های مرتبط با ادراک حسی و فرآیندهای شناختی در آن در حال افزایش می‌باشد. امروزه استفاده از گیاهان برای درمان بیماری‌ها، به عنوان یک روش درمانی مورد توجه قرار گرفته است. یکی از این گیاهان بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) می‌باشد که اثرات ضد اضطرابی آن از طریق مهار فعالیت آنزیم کولین استراز، تحریک استیل کولین و گیرنده گابا و اثرات ضد دردی آن از طریق سیستم کولینرژیک و مسیر اکسید نیتریک اعمال می‌شود. در این مطالعه موش‌های صحرائی نر و ماده و یستار برای جفت‌گیری در قفس‌های جداگانه قرار گرفتند. روز ۱۲،۵ بارداری، موش‌های ماده به چهار گروه تقسیم می‌شوند: ۱- گروه کنترل، ۲- گروه اوتیسم، ۳- گروه اوتیسم + بادرنجبویه با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، ۴- گروه اوتیسم + بادرنجبویه با دوز ۲۰۰ کیلی گرم بر کیلوگرم. پس از اتمام درمان، گروه‌های مختلف برای ارزیابی انعطاف‌ناپذیری شناختی، آستانه تحمل درد و رفتارهای اضطرابی مورد بررسی قرار گرفتند. تجویز عصاره بادرنجبویه در گروه‌های اوتیسمی باعث کاهش معناداری در آستانه تحمل درد ( $p < 0.001$ ) و فعالیت‌های حرکتی در آزمون ماز بعلاوه مرتفع ( $p < 0.001$ ) می‌شود علاوه بر آن کاهش معناداری در انعطاف‌ناپذیری شناختی در آزمون تی میز ( $p = 0.01$ ) از خود نشان داد. نتایج نشان می‌دهد که عصاره گیاه بادرنجبویه منجر به کاهش آستانه درد، اضطراب و انعطاف‌ناپذیری‌های شناختی در موش‌های مدل اوتیسمی می‌شود. با افزایش دوز این گیاه احتمالاً این تأثیر افزایش می‌یابد.

واژه‌های کلیدی: عصاره بادرنجبویه، تحمل درد، اضطراب، اوتیسم، انعطاف‌ناپذیری شناختی.

\* نویسنده مسئول، پست الکترونیکی: [sepehri.h@goums.ac.ir](mailto:sepehri.h@goums.ac.ir)

## مقدمه

های دی استیلاز باعث افزایش استیلاسیون در پروتئین‌های هیستونی، تغییر ساختار کروموزوم و تغییر بیان ژن‌ها می‌شود (۱۹). علاوه بر آن منجر به افزایش سطح گابا از طریق مهار آنزیم گابا ترانس آمیناز شده، در حالی که فعالیت آنزیم سنتز کننده گابا، گلوتامیک اسید دکربوکسیلاز را افزایش می‌دهد. بنابراین، تغییرات در سطوح گابا به دلیل قرار گرفتن در معرض والپروئیک اسید در طول رشد اولیه می‌تواند مدار عصبی در حال توسعه را مختل کند و منجر به فنوتیپ‌های رفتاری اوتیسم شود (۲۱). به همین

اوتیسم یا درخودماندگی یا Autism Spectrum Disorder (ASD) نوعی اختلال رشد عصبی است که با نقص در تعاملات اجتماعی، کاهش ارتباطات کلامی، رفتارهای تکراری کلیشه‌ای و علائق محدود مشخص می‌شود (۱۰). پاتولوژی اوتیسم کاملاً شناخته نشده است با این حال هر دو عامل خطر ساز ژنتیکی (۳۵ تا ۴۰٪) و محیطی (۶۰٪) در ایجاد و تشدید اوتیسم نقش دارند (۱۴). در میان عوامل محیطی والپروئیک اسید در ایجاد اوتیسم به خصوص در دوران بارداری نقش دارد. والپروئیک اسید با مهار آنزیم

میشود (۷). عصاره این گیاه مهارکننده آنزیم مونوآمین اکسی داز (MAO) بوده، لذا پیشنهاد شده است که این گیاه دارای اثرات ضد افسردگی نیز می‌باشد (۲۵). عصاره تهیه شده از برگ بادرنجبویه دارای خواص آنتی‌کولین استرازی در بافت مغز انسان است و از این طریق باعث افزایش حافظه می‌شود (۲۲). این گیاه بواسطه ی داشتن ترکیباتی از قبیل اسید اولینولیک، کارنوسیک، رزماریتیک اسید خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد. این ترکیبات موجود در گیاه بادرنجبویه علاوه بر توانایی اتصال به رسپتورهای موسکارینی و نیکوتینی استیل‌کولین، دارای اثر مهارکنندگی آنزیم استیل‌کولین استراز است و از این رو می‌تواند عملکردهای شناختی را تقویت کند (۲۶ و ۱۶). همچنین عصاره ی این گیاه از فعالیت گاما آمینو بوتیریک اسید ترانس آمیناز (GABA-T) ممانعت می‌کند که موجب افزایش قابلیت دسترسی مغز به گابا شده و از این رو، بر گیرنده های گابا تأثیر می‌گذارد، گیرنده های فوق در عملکرد انتقال دهنده های عصبی و کنترل کننده ی سامانه ی عصبی، اختلال ایجاد میکنند (۱۷). به طور کلی اثرات ضد اضطرابی آن به مهار فعالیت آنزیم کولین استراز، تحریک استیل کولین و گیرنده گابا نسبت داده شده است و اثر ضد دردی خود را از طریق سیستم کولینرژیک و مسیر اکسید نتریک اعمال می‌کند (۲۶ و ۱۶). با توجه به اثرات درمانی که گیاه بادرنجبویه بر اضطراب، درد و عملکردهای شناختی می‌گذارد، هدف از این پژوهش بررسی اثرات ضد اضطرابی و ضد دردی عصاره گیاه بادرنجبویه در مدل حیوانی اوتیسم ایجاد شده توسط والپروئیک اسید می‌باشد.

### مواد و روشها

در این تحقیق از موش های صحرایی نر و ماده سالم ویستار با وزن ۲۳۰ تا ۲۵۰ گرم استفاده شد (کد اخلاق: IR.GOUMS.AEC.1402.012). موش ها در اتاقی با دمای کنترل شده  $23 \pm 2$  با چرخه نور تا تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت قرار گرفتند و در طول مطالعه دسترسی آزاد به غذا و آب

دلیل یکی از داروهای رایج در ایجاد مدل بیماری اوتیسم استفاده از داروی والپروئیک اسید می‌باشد. در میان کودکانی که دارای اختلال طیف اوتیسم هستند، اضطراب شایع ترین علامت روانی رفتاری همراه است. علاوه بر آن افزایش شیوع ناهنجاری ها در ادراک حسی و فرآیندهای شناختی به ۶۹ تا ۹۵ درصد در میان افراد مبتلا به اوتیسم رسیده است (۲۷). امروزه درمان های دارویی گیاهی می‌تواند علائم اصلی اوتیسم را با عوارض جانبی کمتر بهبود بخشد. این بررسی بر روی کاربردها و اقدامات فیتوداروها در شرایط رفتاری اوتیسم تمرکز خواهد کرد. تعداد زیادی از داروهای گیاهی مبتنی بر ترکیبات طبیعی در مدل‌های موش اوتیسم و در آزمایش‌های بالینی با موفقیت قابل توجهی در بهبود رفتارهای مرتبط با اوتیسم مانند فلاونوئیدها، کاناپینوئیدها، کورکومینوئیدها، پیپرین، سوراترول و باکوزیدها آزمایش شده‌اند (۲۴). از میان مواد شیمیایی گیاهی، گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) بیشترین خواص تقویت کننده شناخت را نشان می‌دهند (۱۵). *Melissa officinalis* گیاهی از خانواده Lamiaceae است و یک گیاه چند ساله با عطر لیمو که به نام بادرنجبویه شناخته می‌شود. بادرنجبویه به طور گسترده در طب سنتی آسیایی برای درمان بسیاری از اختلالات روانپزشکی استفاده شده است. از رایجترین خواص درمانی بادرنجبویه می‌توان به خواص آرام بخشی، آنتی‌اکسیدانی، ضد اسپاسمی و ضد التهابی آن اشاره کرد. تحقیقات انجام شده ثابت کرده است که بادرنجبویه اثر ضد تشنجی هم دارد که این اثر خود را از طریق سیستم مهارتی گابارژیک، در سیستم اعصاب مرکزی اعمال میکند (۲). همچنین در بررسی اثر این گیاه بر دستگاه عصبی مشخص شده است که بادرنجبویه علائم اختلالات عصبی از جمله استرس، اضطراب و تحریک پذیری را کاهش میدهد. علاوه بر آن این گیاه از سلول های عصبی محافظت کرده و رادیکال های آزاد را از بین میبرد (۴) و به صورت توام با والرین سبب افزایش کیفیت خواب

بازوها شد، مانعی برای مسدود کردن حیوان در آن بازو به مدت ۳۰ ثانیه قرار داده می‌شود. اگر موش بعد از ۳۰ ثانیه وارد هیچ یک از بازوهای نشد، موش در ناحیه شروع جایگزین شده و جلسه مجدداً شروع خواهد شد. پنج جلسه برای هر موش انجام شد و بین هر جلسه ۵ دقیقه استراحت به موش داده می‌شود و هر بار دستگاه با الکل تمیز می‌گردد. پارامتر مورد تجزیه و تحلیل، درصد (%) تناوب بین بازوهای چپ و راست بود که همیشه در رابطه با بازوی بازدید شده در جلسه قبل ارزیابی و بصورت زیر امتیاز دهی می‌شود: ۰- بدون تغییر، یعنی بازدید مکرر از همان بازو برای همه پنج جلسه. ۱- یک تناوب، ۲- دو تناوب، ۳- سه تناوب و ۴- چهار تناوب. در این آزمون اگر چنانچه درصد تناوب بین بازوها بیشتر باشد نشان دهنده رفتار نرمال موش در نظر گرفته می‌شود در حالی که تناوب کمتر نشان دهنده انعطاف‌ناپذیری شناختی و رفتار تکراری است (۶).

**آزمون هات پلیت:** این دستگاه دارای صفحه تخت و گرمایش فولادی است که توسط جریان الکتریکی و ترموستات دقیق کنترل می‌شود. موش‌ها یک روز قبل از آزمایش اصلی به مدت ۳ دقیقه روی صفحه نمایش با دمای نرمال قرار گرفتند تا با محیط آشنا شوند. سپس در روز بعد، موش‌ها روی صفحه داغ با دمای ۵۵ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. در این مدت فاصله زمانی بین قرار گرفتن موش‌ها روی صفحه و اولین واکنش حیوانات به دما مانند بالا بردن پا، پریدن و لرزش پا هنگام بلند کردن توسط کرنومتر ثبت شد. این زمان به عنوان آستانه درد در نظر گرفته شد. حداکثر زمان آزمایش برای هر حیوان ۶۰ ثانیه در نظر گرفته شد تا از آسیب بافتی جلوگیری شود (۱۳).

**آزمون ماز به علاوه مرتفع:** در این مطالعه از آزمون ماز به علاوه مرتفع برای بررسی رفتارهای اضطرابی استفاده شده است. دستگاه مورد استفاده یک ماز چوبی به شکل پلاس

فراهم شد. موش‌ها برای جفت‌گیری در قفس‌های جداگانه نگهداری شدند. بارداری موش‌های ماده با روش مشاهده پلاک واژن تشخیص داده شد. موش‌های باردار جدا شده و تا روز دوازدهم بارداری آب و غذای معمولی دریافت کردند و بعد از روز دوازدهم بارداری به چهار گروه تقسیم شدند:

۱- گروه کنترل: مادران بدون تیماری که فقط غذا و آب معمولی دریافت کردند.

۲- گروه القای اوتیسم: مادران بارداری که در روز ۱۲/۵ بارداری والپروئیک اسید را با دوز ۵۰۰ mg/kg به صورت درون صفاقی دریافت کردند (۱۱).

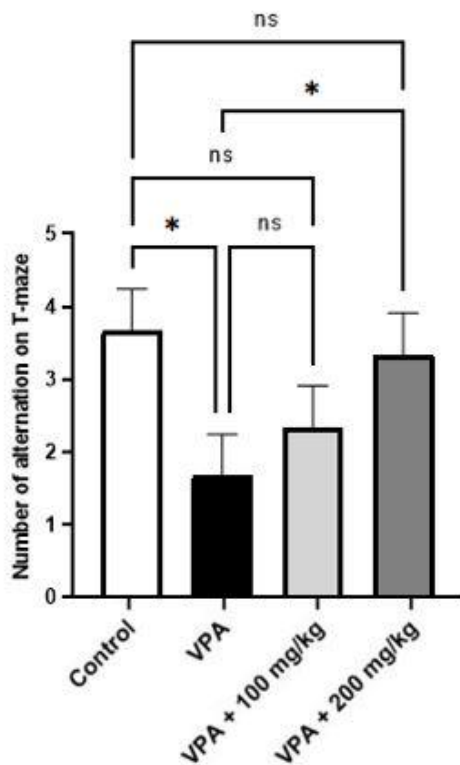
۳- گروه القای اوتیسم + بادرنجبویه با دوز ۱۰۰ mg/kg: دریافت عصاره بادرنجبویه با دوز ۱۰۰ mg/kg بصورت گاوژ به مدت دو هفته توسط فرزندان نر ۵۰ روزه مادران بارداری که در روز ۱۲/۵ بارداری والپروئیک اسید دریافت کرده‌اند.

۴- گروه اوتیسم + بادرنجبویه با دوز ۲۰۰ mg/kg: دریافت عصاره بادرنجبویه با دوز ۲۰۰ mg/kg بصورت گاوژ به مدت دو هفته توسط فرزندان نر ۵۰ روزه مادران بارداری که در روز ۱۲/۵ بارداری والپروئیک اسید دریافت کرده‌اند (۳).

بعد از اتمام تجویز داروها تست‌ها جهت ارزیابی انعطاف‌ناپذیری شناختی، آستانه تحمل درد و رفتارهای اضطرابی انجام شد.

## دستگاه‌ها

**آزمون T-maze:** این آزمون مبتنی بر روش Kirsten مورد استفاده قرار گرفت. در این آزمون رفتارهای تکراری/محدود شونده و انعطاف‌ناپذیری شناختی مورد ارزیابی قرار می‌گیرد. در این آزمون، موش به مدت ۱۰ ثانیه در بخش ابتدایی بازوی شروع قرار گرفت. در این مرحله، مانع برداشته می‌شود و موش مجاز بود تا ۳۰ ثانیه به جستجو در بازو بپردازد. هنگامی که موش وارد یکی از



شکل ۱- نمودار حاصل از تست واریانس یک طرفه در آزمون T-MAZ: داده‌ها بصورت  $\text{Mean} \pm \text{SEM}$  برای رت‌ها در هر گروه بیان شده است. (\*= $p=0.01$ ) (n=5)

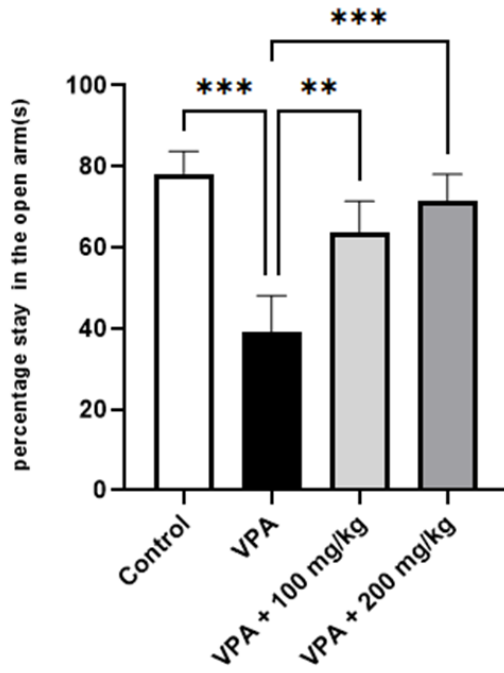
**نتایج آزمون‌های پلیت:** نتایج تست آستانه تحمل درد توسط صفحه داغ در شکل ۲ نشان داده شده است. در بین گروه‌ها، گروه اوتیسم آستانه تحمل درد بالاتری نسبت به سایر گروه‌ها دارد که خود نشان دهنده آن است که نسبت به درد پاسخ دیرتری می‌دهد اما در گروه‌های اوتیستیک که دوزهای متفاوتی از عصاره بادرنجبویه مصرف کردند، آستانه درد آنها را کاهش داد بطوریکه دوز ۲۰۰ عملکرد بهتری نسبت به دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم داشت و توانست آستانه درد را در مدل اوتیسمی کاهش دهد و نسبت به گروه‌های اوتیسمی دیگر زودتر به درد پاسخ دهد. با استفاده از آزمون واریانس یک طرفه (ANOVA)، تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده شد.

است. این ماز دارای دو بازوی باز بدون دیوار و دو بازوی بسته با دیواره‌های بلند ۳۰ سانتی‌متر است. این مجموعه بر روی پایه‌ای به ارتفاع ۵۰ سانتی‌متر از سطح زمین قرار گرفته است. قبل از شروع آزمایش، موش‌ها به مدت ۵ دقیقه در اتاقی که دستگاه در آن قرار دارد قرار گرفتند تا با محیط آشنا شوند. حیوانات در مرکز دستگاه رو به بازوی باز قرار داده شدند و به مدت ۵ دقیقه در بازوهای باز و بسته قرار گرفتند. سه پارامتر با روش مشاهده اندازه‌گیری می‌شود: ۱- تعداد دفعات ورود حیوان به بازوی باز، ۲- تعداد دفعات ورود حیوان به بازوی بسته، ۳- مدت زمان ماندن حیوان در آغوش باز و بسته. افزایش قابل توجه درصد ورود به بازوی باز و درصد ماندن در بازوی باز به همراه عدم تغییر در فعالیت حرکتی نشان دهنده کاهش اضطراب در این آزمون است (۲۳).

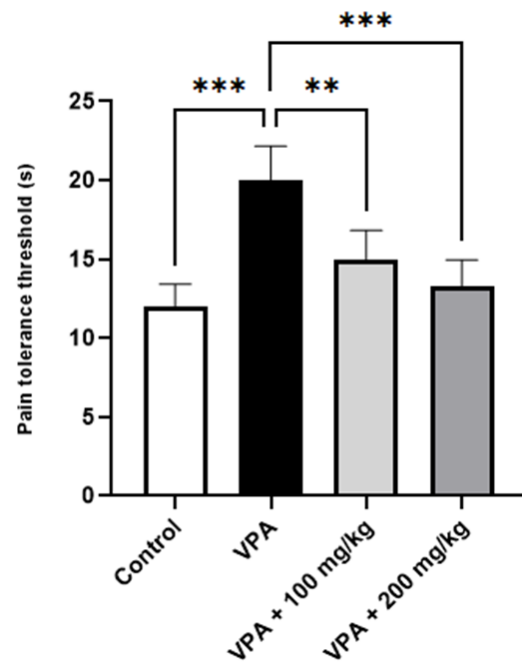
**تحلیل آماری:** در هر آزمایش امتیاز هر گروه در قالب میانگین و انحراف معیار ( $\text{Mean} \pm \text{S.E.M.}$ ) ثبت شد. به منظور تعیین وجود تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی، از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون توکی استفاده شد. اختلاف در سطح  $P < 0.05$  به عنوان تفاوت معنی‌دار در نظر گرفته شد، برای انجام از نرم‌افزار Prism استفاده شد.

## نتایج

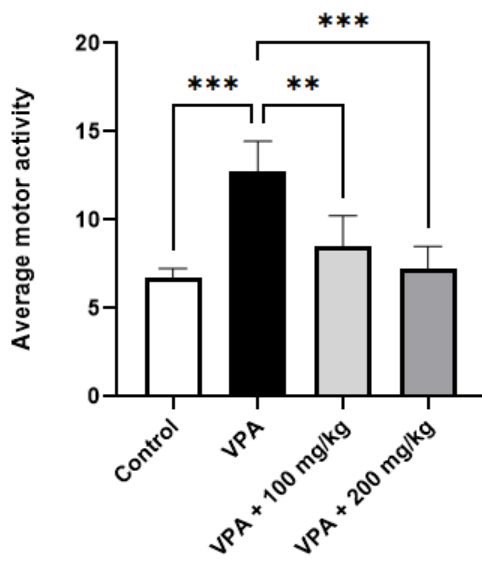
**نتایج آزمون T-Maze:** نتایج حاصل از آزمون T-Maze را نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها در میزان درصد تناوب بین بازوها وجود دارد. با توجه به نتایج، گروه اوتیسم نسبت به گروه کنترل ( $p=0.01$ )، درصد تناوب بین بازوها در گروه اوتیسم کمتر از بقیه گروه‌ها بوده در نتیجه انعطاف‌ناپذیری‌های شناختی و رفتارهای تکراری در موش‌های اوتیسمی نسبت به گروه کنترل کمتر بوده است.



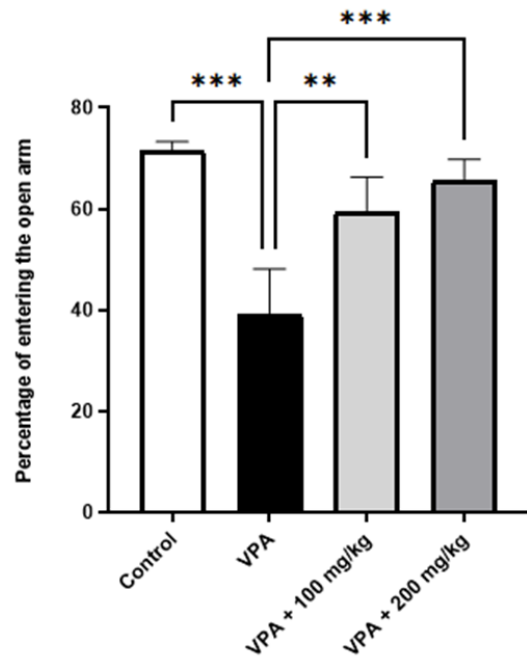
شکل ۴- درصد زمان صرف شده در بازوی باز در گروه‌ها: داده‌ها بصورت  $SEM \pm Mean$  برای رت‌ها در هر گروه بیان شده است ( $n=5$ ) (\*\* $p=0.002$ , \*\*\* $p<0.001$ )



شکل ۲- تاثیر عصاره بادرنجویه بر کاهش آستانه درد در مدل اوتیسم: داده‌ها بصورت  $SEM \pm Mean$  برای رت‌ها در هر گروه بیان شده است ( $n=5$ ) (\*\* $p=0.009$ , \*\*\* $p<0.001$ )



شکل ۵ میانگین فعالیت حرکتی در گروه‌ها: داده‌ها بصورت  $SEM \pm Mean$  برای رت‌ها در هر گروه بیان شده است ( $n=5$ ) (\*\* $p=0.005$ , \*\*\* $p<0.001$ )



شکل ۳- درصد ورود بازوی باز در گروه‌ها: داده‌ها بصورت  $SEM \pm Mean$  برای رت‌ها در هر گروه بیان شده است ( $n=5$ ) (\*\* $p=0.002$ , \*\*\* $p<0.001$ )

نتایج آزمون ماز به علاوه مرتفع: نتایج آزمایش‌ها شامل زمان سپری شده در بازوی باز، میانگین فعالیت حرکتی در

۵ دقیقه و درصد ورود به بازوی باز در گروه‌های مختلف درمانی اندازه‌گیری و پس از تجزیه و تحلیل آماری مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. شکل ۳ نشان می‌دهد که تزریق عصاره گیاه بادرنجبویه با دوز ۲۰۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم منجر به افزایش درصد ورود به بازوی باز نسبت به گروه VPA می‌شود. و بر اساس نتایج آزمون واریانس (ANOVA) بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود دارد.

نتایج شکل ۴ شامل زمان سپری شده در بازوی باز در گروه‌های مختلف درمانی است که پس از اندازه‌گیری مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نشان می‌دهد که تزریق عصاره ملیسا با دوز ۲۰۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم منجر به افزایش درصد زمان سپری شده در بازوی باز نسبت به گروه VPA می‌شود. و بر اساس نتایج آزمون واریانس (ANOVA) بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود دارد.

نتایج شکل ۵ شامل میانگین فعالیت حرکتی در گروه‌های مختلف درمانی است که پس از اندازه‌گیری مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و مشاهده شد که تزریق عصاره ملیسا با دوز ۲۰۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم منجر به کاهش فعالیت حرکتی در مقایسه با آن شد. به گروه VPA و با توجه به نتایج ANOVA بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود دارد.

## بحث و نتیجه‌گیری

اوتیسم نوعی اختلال رشد عصبی است که به عنوان یک طیف گسترده در نظر گرفته شده چرا که تظاهرات آن بسیار متنوع و ناهمگن است. در حال حاضر هیچ درمانی برای اوتیسم وجود ندارد. تاکنون بیشتر مطالعاتی که در مورد اوتیسم صورت گرفته در زمینه تسکین علائم آن صورت گرفته است (۱۰). یکی از پرکاربردترین مدل حیوانی اوتیسم استفاده از والپروئیک اسید در دوران

بارداری است. قرار گرفتن در معرض والپروئیک اسید در بارداری موش‌های صحرایی، انتخابی برای ایجاد یک مدل حیوانی اوتیسم می‌باشد زیرا مهاجرت و تمایز سلول‌های گرانول مخچه و هیپوکامپ انجام می‌شود. علاوه بر این، رشد عصبی و گلیال در مناطق مختلف مغز در این دوره رخ می‌دهد. قرار گرفتن اولیه در معرض والپروئیک اسید در زندگی می‌تواند باعث مرگ سلول‌های گرانول و هیپوپلازی مخچه شود. اختلال در سلول‌های گرانول در طول مهاجرت می‌تواند منجر به تغییر ساختار سلول‌های پورکنژ شود که منجر به دندریت‌های غیر طبیعی می‌شود (۱۹). با توجه به ناهنجاری‌های مغزی ایجاد شده توسط والپروئیک اسید، از دست دادن فعالیت حرکتی، شناخت، رفتارهای مزاحم، تغییر حساسیت به محرک‌های دردناک و کمبود مرتبط در تعامل اجتماعی وجود دارد. همچنین آسیب ناشی از والپروئیک اسید به نورواناتومی مغز می‌تواند عملکردهای جانبی و مرتبط را تغییر دهد علاوه بر آن عملکرد و مورفولوژی شبکه‌های عصبی مرتبط با ترس را مختل می‌کند. اگرچه رفتار مرتبط با اضطراب توسط چندین ناحیه مغز تنظیم می‌شود ولی اختلال در یکپارچگی عصبی در آمیگدال می‌تواند منجر به بروز رفتارهای مرتبط با اضطراب شود (۲۱).

Faille و همکارانش در سال ۲۰۲۰ در مطالعه‌ای افزایش حساسیت درد و اضطراب را در افراد اوتیسم مورد بررسی قرار دادند. در این پژوهش ۴۳ بزرگسال دارای اوتیسم در حال رشد را برای ۳ کار درد گرما (که برای ساق پا اعمال می‌شود) مورد آزمایش قرار گرفتند و آستانه‌های درد گرما را با استفاده از روش محدودیت‌ها اندازه‌گیری کردند تفاوت‌های فردی در اضطراب مرتبط با درد، ترس از درد، علائم افسردگی و ارتباطات اجتماعی مرتبط با اوتیسم ارزیابی شد. نتیجه‌گیری‌ها نشان داد که هر دو تجربه حسی و شناختی درد در بزرگسالان مبتلا به اوتیسم افزایش می‌یابد و به طور متقابل تعامل دارند (۸).

دوزهای بادرنبجوبیه بیش از حد یا بالاتر از حداکثر مورد استفاده می‌تواند عملکرد شناختی و خلق و خوی را بهبود بخشد و بنابراین ممکن است یک مکمل ارزشمند در درمان بیماری آلزایمر باشد (۱۶).

Modaresi و همکارانش در سال ۲۰۱۶ مطالعه‌ای را در مورد تاثیر عصاره گیاه بادرنبجوبیه و دزیازپام بر تعدیل اضطراب در موش آزمایشگاهی انجام دادند. در این مطالعه عصاره گیاه با دوزهای متفاوتی به موش مورد مطالعه تزریق شد و پس از آخرین دوز دریافتی از تمام گروه‌ها با استفاده از جعبه تاریک اضطراب ایجاد شد و به وسیله‌ی ابزار ماز بعلاوه شکل مرتفع، آزمون ارز یابی اضطراب گرفته شد. در این آزمون نشان داده شد که عصاره بادرنبجوبیه می‌تواند به عنوان جایگزین مناسبی برای دزیازپام در کاهش واکنش‌های اضطرابی پیشنهاد شود (۲۰). در همین راستا نتایج پژوهش حاضر نشان داد که مصرف عصاره گیاه بادرنبجوبیه در موش‌های مدل اوتیسمی باعث بهبود در انعطاف‌ناپذیری شناختی شد.

علاوه بر آن در مطالعه دیگر که توسط Cases و همکاران در سال ۲۰۱۱ با هدف تاثیر بادرنبجوبیه در درمان داوطلبین مبتلا به اضطراب و اختلال خواب مورد بررسی گرفت نشان داده شد که بادرنبجوبیه باعث کاهش ۱۸ درصدی علائم اضطراب شده و بیخوابی را ۴۲ درصد کاهش داده است (۵). که با نتایج به دست آمده در این پژوهش مطابقت دارد و عصاره بادرنبجوبیه خود باعث کاهش معناداری در اضطراب موش‌های مدل اوتیسمی شده است. برخی از مطالعات نیز اثرات ضد درد بادرنبجوبیه را بررسی کرده‌اند. تجویز خوراکی دوزهای مختلف آن می‌تواند درد احشایی ناشی از اسید استیک و درد التهابی ناشی از آن را التیام بخشد. همچنین به نظر می‌رسد که این گیاه اثر ضد دردی خود را از طریق سیستم کولینرژیک و مسیر اکسید نیتریک اعمال می‌کند (۱۷). Rastafarian و همکارانش در سال ۲۰۲۰ در مطالعه‌ای تاثیر تزریق داخل

احمدی و همکارانش در سال ۲۰۲۲ مطالعه‌ای را با هدف بررسی اثرات تستوسترون و عصاره خرفه بر درد حاصل از القای تست تیل فلیک در موش‌های نر انجام دادند. نتایج نشان داد که عصاره دانه خرفه و تستوسترون در دوزهای مناسب، اثر کاهندگی درد دارند. همچنین، عصاره دانه خرفه و تستوسترون دارای اثر هم‌افزایی بر کاهش درد می‌باشند (۱).

خسروی و همکارانش در سال ۲۰۱۵ مطالعه‌ای با هدف بررسی اثر ضدالتهابی اسانس مریم‌گلی بر التهاب ایجاد شده با تزریق گزین در گوش راست موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر انجام دادند. نتایج نشان داد که اسانس مریم‌گلی اثر ضدالتهابی دارد، که با اثر دگزامتازون قابل مقایسه است (۱۸).

این نتایج نشان می‌دهد که علاوه بر اثبات افزایش حساسیت درد و اضطراب در اوتیسم، گیاهان دارویی هم وجود دارند که می‌توانند در آستانه درد و اضطراب نقش به‌سزایی داشته باشند. در همین راستا این مطالعه با هدف اثر مصرف عصاره گیاه بادرنبجوبیه بر آستانه درد، اضطراب و انعطاف‌ناپذیری‌های شناختی صورت گرفت. چرا که این گیاه خود یکی از قدیمی‌ترین داروهای گیاهی رایج در طب سنتی بوده و به عنوان یک ضد درد و ضد اضطراب شناخته شده است (۷). بادرنبجوبیه دارای مقادیر قابل ملاحظه‌ای از آنتی‌اکسیدان و اسید روزمارینیک می‌باشد. همچنین یک ضد اضطراب قوی است و اثرات آن به مهار فعالیت آنزیم کولین استراز، تحریک استیل کولین و گیرنده گابا نسبت داده شده است. اثرات ضد اضطرابی بادرنبجوبیه همانند بنزودیازپین‌ها است با این تفاوت که تاکنون عارضه جانبی مهمی برای آن گزارش نشده است (۲۶ و ۱۶).

Kennedy و همکارانش در سال ۲۰۰۲ مطالعه‌ای را با هدف اثر بادرنبجوبیه بر عملکردهای شناختی در ۲۰ شرکت‌کننده جوان انجام دادند. نتایج آن نشان داد که

به عنوان یک درمان برای نوروپاتی دردناک دیابتی نویدبخش باشد (۱۲).

این نتایج خود نتایج به دست آمده در این پژوهش را تایید می‌کند چراکه عصاره بادرنجبویه منجر به کاهش آستانه درد در موش‌های مدل اوتیسمی شد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که عصاره این گیاه ممکن است مزایای درمانی بالقوه‌ای برای مداخلات در مسیرهای مرتبط با درد و اضطراب و اختلالات شناختی در اوتیسم داشته باشد.

### سیاسگزاری

نویسندگان این مقاله از دانشگاه علوم پزشکی گلستان برای فراهم نمودن امکانات مورد نیاز این پژوهش کمال سپاسگزاری را دارند.

نخاعی عصاره بادرنجبویه بر درد ناشی از گرما و فرمالین انجام دادند. نتایج آنها نشان داد که تجویز داخل نخاعی بادرنجبویه می‌تواند به طور قابل توجهی درد ناشی از آب گرم و فرمالین را در موش‌های صحرایی نر ویستار بهبود بخشد (۹).

Hasanein و همکارانش در سال ۲۰۱۵ اثربخشی مصرف خوراکی اسانس بادرنجبویه را بر پردردی با استفاده از آزمون فرمالین در موش‌های دیابتی ناشی از استرپتوزوتوسین (STZ) مورد بررسی قرار دادند و تست درد بر روی موش‌های صحرایی نر بالغ ویستار ۴ هفته پس از شروع هیپرگلیسمی انجام دادند. نتیجه این بررسی نشان داد که تجویز مزمن اسانس بادرنجبویه در مدل تجربی پردردی دیابتی اثربخشی دارد. بنابراین ممکن است

### منابع

- Ahmadi, R. (2022). The effects of Testosterone and *Portulaca oleracea* seed hydroalcoholic extract on pain induced by tail flick test in male mice. *Journal of Animal Research (Iranian Journal of Biology)*, 35(2), 125-141.
- Awad, R., Levac, D., Cybulska, P., Merali, Z., Trudeau, V., & Arnason, J. (2007). Effects of traditionally used anxiolytic botanicals on enzymes of the  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) system. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 85(9), 933-942.
- Basravi, M., Modaresi, M., & Sajjadian, I. Comparative effects of balm hydro alcoholic extract and diazepam on reducing anxiety in mice. *Derpharmacia Lettre*, 7(11), 125-129.
- Blaha, V., & Neustadt, W. (2009). *Psychopharmaka und Arbeitsgedächtnis*. na.
- Cases, J., Ibarra, A., Feuillère, N., Roller, M., & Sukkar, S. G. (2011). Pilot trial of *Melissa officinalis* L. leaf extract in the treatment of volunteers suffering from mild-to-moderate anxiety disorders and sleep disturbances. *Mediterranean journal of nutrition and metabolism*, 4(3), 211-218.
- Chen, Q., de Lecea, L., Hu, Z., & Gao, D. (2015). The hypocretin/orexin system: an increasingly important role in neuropsychiatry. *Medicinal research reviews*, 35(1), 152-197.
- Dressing, H., Riemann, D., Low, H., Schredl, M., Reh, C., Laux, P., & Muller, W. (1992). Insomnia: are valerian/balm combination of equal value to benzodiazepine. *Therapiewoche*, 42(12), 726-736.
- Failla, M. D., Gerdes, M. B., Williams, Z. J., Moore, D. J., & Cascio, C. J. (2020). Increased pain sensitivity and pain-related anxiety in individuals with autism. *Pain reports*, 5(6), e861.
- Goldowitz, D., & Hamre, K. (1998). The cells and molecules that make a cerebellum. *Trends in neurosciences*, 21(9), 375-382.
- Guo, X., Simas, T., Lai, M. C., Lombardo, M. V., Chakrabarti, B., Ruigrok, A. N., Bullmore, E. T., Baron-Cohen, S., Chen, H., & Suckling, J. (2019). Enhancement of indirect functional connections with shortest path length in the adult autistic brain. *Human Brain Mapping*, 40(18), 5354-5369.
- Hara, Y., Ago, Y., Taruta, A., Hasebe, S., Kawase, H., Tanabe, W., Tsukada, S., Nakazawa, T., Hashimoto, H., & Matsuda, T. (2017). Risperidone and aripiprazole alleviate prenatal valproic acid-induced abnormalities in behaviors and dendritic spine density in mice. *Psychopharmacology*, 234, 3217-3228.
- Hasanein, P., & Riahi, H. (2015). Antinociceptive and antihyperglycemic effects

- of *Melissa officinalis* essential oil in an experimental model of diabetes. *Medical Principles and Practice*, 24(1), 47-52.
13. Hunskaar, S., Berge, O.-G., & Hole, K. (1986). A modified hot-plate test sensitive to mild analgesics. *Behavioural brain research*, 21(2), 101-108.
  14. Kaidanovich-Beilin, O., Lipina, T., Vukobradovic, I., Roder, J., & Woodgett, J. R. (2011). Assessment of social interaction behaviors. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*(48), e2473.
  15. Kennedy, D. O., & Scholey, A. B. (2006). The psychopharmacology of European herbs with cognition-enhancing properties. *Current pharmaceutical design*, 12(35), 4613-4623.
  16. Kennedy, D. O., Scholey, A. B., Tildesley, N. T., Perry, E. K., & Wesnes, K. A. (2002). Modulation of mood and cognitive performance following acute administration of *Melissa officinalis* (lemon balm). *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 72(4), 953-964.
  17. Kennedy, D. O., Wake, G., Savelev, S., Tildesley, N. T., Perry, E. K., Wesnes, K. A., & Scholey, A. (2003). Modulation of mood and cognitive performance following acute administration of single doses of *Melissa officinalis* (Lemon balm) with human CNS nicotinic and muscarinic receptor-binding properties. *Neuropsychopharmacology*, 28(10), 1871-1881.
  18. Khosravi, M., Khakpour, S., Jafari Marandi, S., & Ahadi Ali, M. (2015). Anti-inflammatory like effect of *Salvia officinalis* L. essential oil in male mice. *Journal of Animal Research (Iranian Journal of Biology)*, 28(2), 154-160.
  19. Malhotra, S., & Gupta, N. (1999). Childhood disintegrative disorder. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 29, 491-498.
  20. Modaresi, M., Basravi, M., & Sajadia, I. (2016). Comparative effects of balm hydro alcoholic extract and diazepam on reducing anxiety of in mice. *Armaghane danesh*, 20(10), 848-857.
  21. Murphy, C. M., Wilson, C. E., Robertson, D. M., Ecker, C., Daly, E. M., Hammond, N., Galanopoulos, A., Dud, I., Murphy, D. G., & McAlonan, G. M. (2016). Autism spectrum disorder in adults: diagnosis, management, and health services development. *Neuropsychiatric disease and treatment*, 1669-1686.
  22. Orhan, I., & Aslan, M. (2009). Appraisal of scopolamine-induced anti-amnesic effect in mice and in vitro antiacetylcholinesterase and antioxidant activities of some traditionally used Lamiaceae plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 122(2), 327-332.
  23. Rodgers, R., & Dalvi, A. (1997). Anxiety, defence and the elevated plus-maze. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 21(6), 801-810.
  24. Urdaneta, K. E., Castillo, M. A., Montiel, N., Semprún-Hernández, N., Antonucci, N., & Siniscalco, D. (2018). Autism spectrum disorders: potential neuro-psychopharmacotherapeutic plant-based drugs. *Assay and Drug Development Technologies*, 16(8), 433-444.
  25. Varposhti, M. Plant medicine. Esfahan: Charbagh Pub. 2007; p: 48-50. In: Persian.
  26. Wake, G., Court, J., Pickering, A., Lewis, R., Wilkins, R., & Perry, E. (2000). CNS acetylcholine receptor activity in European medicinal plants traditionally used to improve failing memory. *Journal of Ethnopharmacology*, 69(2), 105-114.
  27. Whitney, D. G., & Shapiro, D. N. (2019). National prevalence of pain among children and adolescents with autism spectrum disorders. *JAMA pediatrics*, 173(12), 1203-1205.

# The effect of oral administration of *Melissa officinalis* plant extract on anxiety behaviors and pain tolerance threshold in male rats with autism model.

Piri F. and Sepehri H.

Dept. of Physiology, Faculty of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, I.R. of Iran

## Abstract

Autism spectrum disorder (ASD) is a neuro-psychiatric condition in which the prevalence of abnormalities related to sensory perception and cognitive processes is increasing. Today, the use of plants to treat diseases is considered as a therapeutic method. One of these plants is *Melissa officinalis*, whose anti-anxiety effects are exerted by inhibiting the activity of the cholinesterase enzyme, stimulating acetylcholine and GABA receptors, and its analgesic effects are exerted through the cholinergic system and the nitric oxide pathway. In this study, male and female Wistar rats were placed in separate cages for mating. On day 12.5 of pregnancy, female mice were divided into four groups: 1- control group, 2- autism group, 3- autism group + *Melissa officinalis* with a dose of 100 mg/kg, 4- autism group + *Melissa officinalis* with a dose of 200 mg/kg. After completing the treatment, different groups were examined to evaluate cognitive inflexibility, pain tolerance threshold and anxiety behaviors. The administration of *Melissa officinalis* extract in autistic groups causes a significant decrease in the pain tolerance threshold ( $p < 0.001$ ) and motor activities in the plus elevated maze test ( $p < 0.001$ ) in addition to a significant decrease in cognitive inflexibility in the T-maze test.  $p = 0.01$  showed. The results show that the extract of *Melissa officinalis* leads to the reduction of pain threshold, anxiety and cognitive inflexibility in autism model mice. This effect is likely to increase as the dose of this herb increases.

**Keywords:** *Melissa officinalis* extract, Pain tolerance, anxiety, autism, cognitive inflexibility