اثر ضدافسردگی کوئرستین و نانوکریستال کوئرستین 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 دریافت: ۹۴/۱۰/۶ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۲۳

چکیده

اسکیزوفرنی ازجمله بیماری‌های تحلیل نورونی می‌باشد که باعث بروز علائم مثبت رفتاری نظیر توهم و علائم منفی نظیر گوشه-گیری 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. کوئرستین به‌عنوان آنتی‌اکسیدانی طبیعی در بسیاری از میوه‌ها و سبزیجات وجود دارد. هدف ازاین مطالعه بررسی اثر حفاظتی کوئرستین و نانوکریستال کوئرستین براختلالات افسردگی و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز در مدل کتامینی بیماری اسکیزوفرنی است. دراین مطالعه تجربی۴۹ سر موش سوری به‌طور تصادفی به گروه‌های کنترل، شم، بیمار و چهار گروه بیمار تیمار شده با کوئرستین و نانوکریستال آن با غلظت‌های ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم تقسیم شدند. برای ایجاد مدل بیماری اسکیزوفرنی، کتامین به‌مدت ۱۰ روز و به‌صورت درون‌صفاقی تزریق شد. اختلالات افسردگی با استفاده از تست شنای اجباری و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز اندازه‌گیری شد. تزریق کتامین بطور معناداری باعث افزایش مدت‌زمان بی‌حرکتی و کاهش فعالیت آنزیم-های کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز در مقایسه با گروه کنترل می‌شود ($P\leq ۰/۰۰۱$) و تیمار با کوئرستین و نانوکریستال آن موجب کاهش معنی‌دار زمان بی‌حرکتی و افزایش فعالیت این آنزیم‌ها در گروه‌های بیمار تیمارشده می‌گردد ($P\leq ۰/۰۰۱$). نتایج این مطالعه نشان داد که مصرف نانوکریستال کوئرستین اختلالات افسردگی و استرس اکسیداتیو القاء شده با کتامین را در مدل اسکیزوفرنی کاهش می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: افسردگی، بیماری اسکیزوفرنی، کتامین، نانوکریستال کوئرستین

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

مقدمه

اسکیزوفرنی بیماری همراه با تحلیل نورونی است که مردان و زنان را به‌طور یکسان تحت تأثیر قرار می‌دهد و دارای علائم مثبت رفتاری نظیر توهم و علائم منفی نظیر گوشه-گیری اجتماعی و افسردگی می‌باشد (۴، ۳۳ و ۴۱). میزان شیوع افسردگی در بیماران مبتلابه اسکیزوفرنی به‌طور میانگین حدود ۲۲ تا ۷۵ درصد است. درواقع در بیماران مبتلابه اسکیزوفرنی اختلال در عملکرد لوب فرونتال دیده می‌شود که این اختلال در افراد مبتلابه افسردگی نیز وجود دارد (۱ و ۴۳).

افسردگی به دنبال افزایش فاکتورها پیش‌التهابی 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 ازجمله گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و گونه‌های فعال نیتروژن

(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 درنهایت 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 رادیکال-های 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).

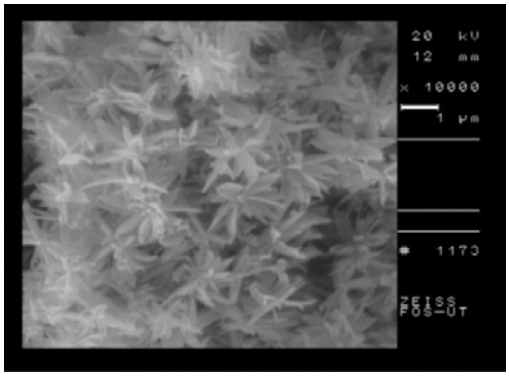
اسکیزوفرنی به دلیل اختلال در سیستم‌های نورو-ترانسمیتری، استرس اکسیداتیو و عدم تعادل بین رادیکال-های آزاد و سیستم آنتی‌اکسیدانی به وجود می‌آید (۳). تغییر در عملکرد گیرنده‌هایNMDAگلوتامات در ایجاد اسکیزوفرنی نقش مهمی دارد (۹ و ۳۱). مطالعات پیشین نشان داده که با تزریق آنتاگونیست‌های گیرنده‌ی NMDA،ازجمله کتامین می‌توان این بیماری را مدل‌سازی نمود (۳ و ۱۲). کتامین باعث افزایش سطوح سیتوکین پیش‌التهابی اینترلوکین 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، ۲۷ و ۴۰).

مطالعات متعدد نشان می‌دهد که فنول‌های گیاهی از قبیل فلاونوئیدهاو اسیدهای فنلیک می‌توانند به‌عنوان 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 فلاوونوئیدی 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 گلوتاتیون 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 براین، 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 نانوسوسپانسیون 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 قرارگرفت.



شکل۱- تصویر میکروسکوپ الکترونی رویشی نانوکریستال کوئرسیتین

در این مطالعه تجربی از ۴۹ سر موش سوری (تهیه شده از پژوهشکده انیستیتوپاستورآمل) در محدوده وزنی ۳۰-۲۰ گرم استفاده گردید. حیوانات در شرایط استاندارد (۱۲ساعت روشنایی۱۲ ساعت تاریکی و دمای ۲۲±۳ °C) و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. کلیه آزمایشات مطابق آیین‌نامه کمیته اخلاق زیستی معاونت پژوهشی دانشگاه مازندران انجام گردید. حیوانات به‌طور تصادفی به هفت گروه هفت‌تایی کنترل، شم، بیمار، دوگروه بیمار تیمار شده با کوئرستین و دوگروه بیمار تیمار شده با نانوکریستال کوئرستین تقسیم شدند. موش‌ها در گروه شم به مدت ۱۰ روز حلال کتامین(سالین) را به‌صورت درون صفاقی دریافت کردند. موش‌های گروه بیمار و چهار گروه تیمار شده نیز به مدت ۱۰ روز به‌صورت درون صفاقی کتامین را دریافت نمودند. سپس گروه‌های شم و بیمار، حلال کوئرستین(آب مقطر) را به‌صورت گاواژ و گروه‌های بیمار تیمار شده با کوئرستین و بیمار تیمار شده با نانوکریستال کوئرستین به‌ترتیب غلظت-های ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن کوئرستین و نانوکریستال آن را به‌صورت گاواژ 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) ازجمله مدل‌های فارماکولوژیک حیوانی بسیار رایج جهت ارزیابی اثرات ضدافسردگی ترکیبات شیمیایی و گیاهی مختلف در موش کوچک آزمایشگاهی می‌باشد و یکی از معتبرترین آزمون‌ها برای سنجش افسردگی حیوانات است (۱ و ۲۵). به‌منظور بررسی میزان افسردگی، تمامی گروه‌ها در روزهای پنجم، دهم و پانزدهم پس از تزریق، میزان افسردگی آنها با تست شنای اجباری سنجیده شد. درصورتی‌که حیوان تحت استرس مداوم قرارگیرد، رفته‌رفته تحرک و فعالیت خود را از دست می-دهد و بی‌حرکت می‌گردد. در این آزمایش از سیلندر شیشه ای استوانه ای به ارتفاع ۲۰ سانتی متر و قطر ۱۰ سانتی متر استفاده شد که حاوی آب ۲۵ درجهٔ سانتی گراد به ارتفاع ۱۵ سانتی متر بود و موش‌ها به‌صورت انفرادی به‌ملایمت درون آب قرارداده می‌شدند. در این شرایط حیوانات برای جلوگیری از غرق شدن، شنا می‌کردند. پس از مدتی، موش‌ها از فعالیت بازمی‌ماندند که به‌طور 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 مدت‌زمان بی‌حرکت ماندن را اندازه‌گیری شد. بی‌تحرکی به زمانی قلمداد می‌شد که هیچ فعالیت حرکتی اضافی مشاهده نشود. افزایش زمان بی-حرکتی 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 میلی-مول 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 قرارگرفت. غلظت پروتئین با استفاده از روش برادفورد و استاندارد آلبومین سرم گاوی موردسنجش قرارگرفت.

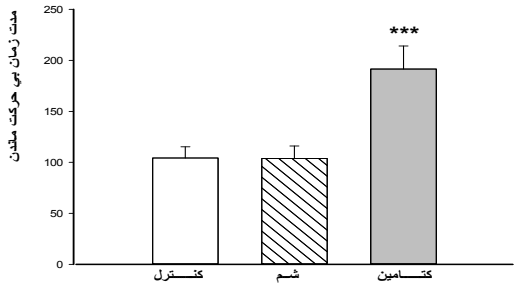
فعالیت سوپراکسیددسموتاز: فعالیت این آنزیم به روش جنت وهمکارانش انجام گرفت. به این صورت که مخلوط سنجش نهایی در حجم کل ۱ میلی‌لیتر حاوی ۵۰ میلی-مولار بافر سدیم فسفات، ۱/۰ میلی‌مولارEDTA، ۴۸ میلی-مولار پیروگالل و ۲۰ میکرولیتر عصاره‌ی آنزیمی می‌باشد. تغییر جذب نوری در ۴۲۰ نانومتردرمدت ۴ دقیقه در دمای ۲۴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

فعالیت آنزیم کاتالاز : فعالیت این آنزیم نیز به روش جنت و همکارانش انجام شد. مخلوط سنجش نهایی درحجم کل ۱ میلی‌لیترحاوی ۵۰ میلی‌مولار بافر سدیم فسفات، ۱۰ میلی‌مولارهیدروژن پراکسید و ۲۰ میکرولیتر عصاره‌ی آنزیمی می‌باشد. تغییرجذب نوری در ۲۴۰ نانومتر در مدت زمان ۲ دقیقه در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد در مقایسه با محلول بلانک حاوی همه‌ی مواد به‌غیراز بافت هموژن شده، اندازه‌گیری شده است. یک واحد از آنزیم طبق تعریف، مقدار آنزیمی است که برای تجزیه‌ی ۱ میکرومولارH_2O_2 در ۱ میلی‌گرم پروتئین درمدت زمان ۱ دقیقه لازم است.

برای تجزیه‌وتحلیل 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 کوئرستین بوسیله میکروسکوپ الکترونی روبشی مورد بررسی قرارگرفت. میانگین سایز ذرات حدود ۱۲۰ نانومتر می‌باشد. توجه به نمودار ۱ شاخص مدت زمان بی‌حرکت ماندن که از علائم 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≤۰/۰۰۱).

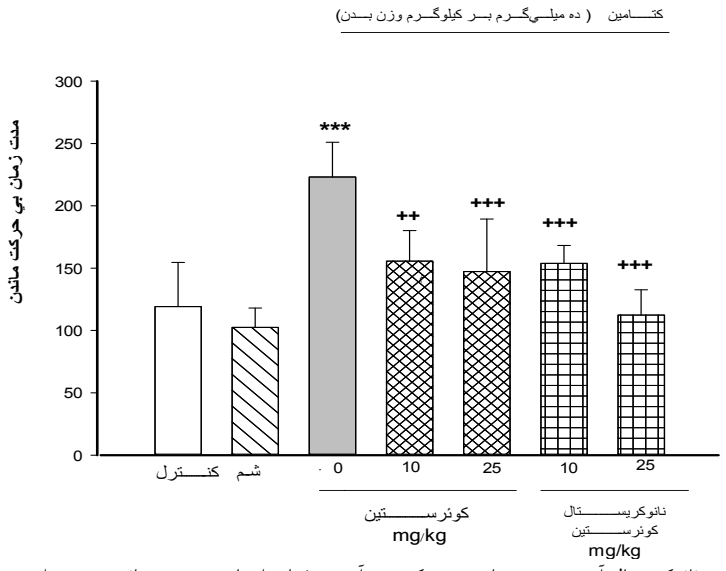


نمودار ۱- اثر کتامین بر آزمون شنای اجباری در روز دهم پس از تزریق کتامین. تزریق کتامین موجب افزایش معنی‌داری بر مدت زمان بی‌حرکت ماندن در گروه بیمار در مقایسه با گروه کنترل شد. گروه‌ها هفت‌تایی هستند. (n=7)در مقایسه با گروه کنترل (P≤۰/۰۰۱):***

فعالیت حرکتی در تمامی گروه‌ها پنج روز بعد از آخرین تزریق کتامین مورد بررسی قرارگرفت. فعالیت حرکتی در گروه‌هایی که کوئرستین 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≤۰/۰۰۱). فعالیت حرکتی در گروه‌هایی که نانوکریستال کوئرستین در غلظت‌های ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند نیز در مقایسه با گروه بیمار بطور معنی‌داری افزایش نشان داد (P≤۰/۰۰۱)، (نمودار ۲).

فعالیت حرکتی ۱۵ روز بعد از آخرین روز تزریق کتامین نیز انجام شد. فعالیت حرکتی در گروه‌هایی که کوئرستین با غلظت ۱۰ و۲۵میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن به مدت ۱۵ روز دریافت کردند، افزایش معنی‌داری در مقایسه با گروه بیمار نشان داد (P≤۰/۰۰۱).

هم‌چنین فعالیت حرکتی در گروه‌هایی که نانوکریستال کوئرستین با غلظت ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم برکیلوگرم 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.



نمودار ۲- اثر کوئرستین و نانوکریستال آن بر مدت زمان بی حرکتی در آزمون شنای اجباری در روز پانزدهم پس از تزریق کتامین. کوئرستین و نانوکریستال آن باعث کاهش معنی‌داری در مدت زمان بی‌حرکت ماندن در گروه بیمار تیمارشده با غلظت ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم برکیلوگرم کوئرستین و نانوکریستال آن در مقایسه با گروه بیمار شد. (n=7) در مقایسه باگروه کنترل (P≤۰/۰۰۱):***، در مقایسه باگروه بیمار (P≤۰/۰۰۱):++، +++:(P≤۰/۰۰۱)

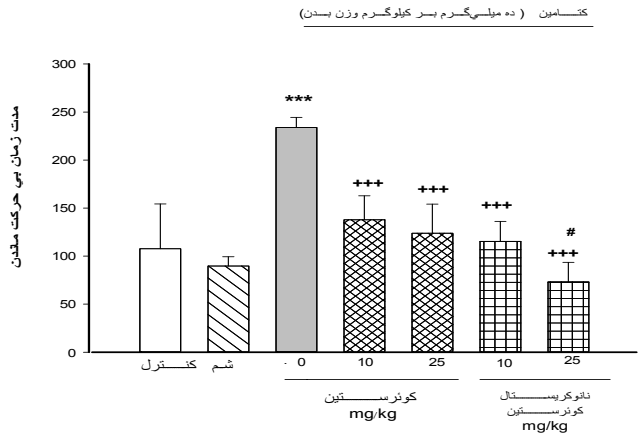
هم‌چنین فعالیت حرکتی در موش‌هایی که کوئرستین با غلظت ۲۵ دریافت کردند در مقایسه با گروهی که نانوکریستال کوئرستین با غلظت ۲۵ دریافت نمودند، کاهش معنی‌دار نشان داد (P=۰/۰۱)، (نمودار ۳).

سطح کاتالاز در گروه‌هایی که ۱۰ روز کتامین دریافت کرده بودند در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌دار نشان داد (P=۰/۰۰۰). سطح این آنزیم در گروه‌هایی که کوئرستین و نانوکریستال آنرا با غلظت ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن دریافت کرده بودند درمقایسه با گروه بیمار افزایش معنی‌دار نشان داد. هم‌چنین در گروه‌های بیمار تیمار با کوئرستین و نانوکریستال کوئرستین با غلظت ۱۰ اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل مشاهده می‌گردد. علاوه براین سطح کاتالاز در گروه بیمار تیمارشده با نانوکریستال کوئرستین با غلظت ۲۵ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن درمقایسه با گروه بیمار دریافت کننده کوئرستین هم غلظت اختلاف معنی‌دار نشان داد (P=۰/۰۰۰).

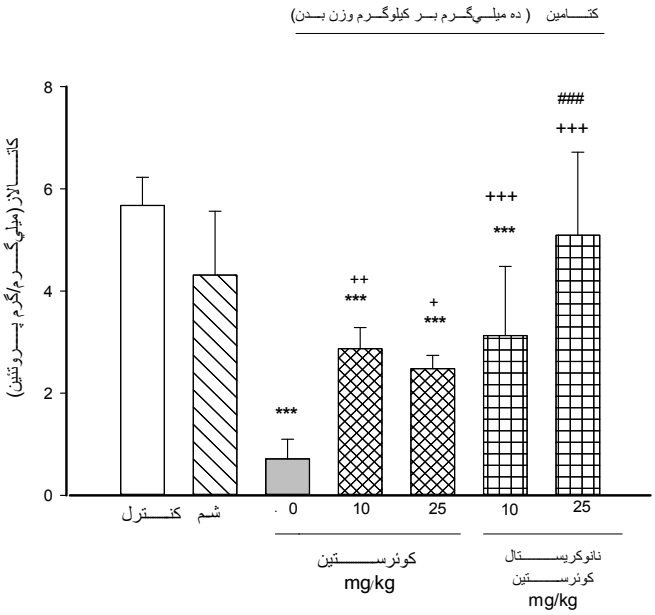
سطح آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گروه‌هایی که ۱۰ روز کتامین دریافت کرده بودند در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌دار نشان داد (P=۰/۰۰۰). این آنزیم در گروه شم نسبت به گروه کنترل تغییر معنی‌دار نشان نداد. سطح کاتالاز در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی نانوکریستال کوئرستین و کوئرستین با غلظت ۲۵ در مقایسه با گروه بیمار اختلاف معنی‌دار نشان داد. علاوه براین سطح کاتالاز در گروه دریافت کننده نانوکریستال کوئرستین با غلظت‌های ۱۰ و۲۵ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن در مقایسه با گروه‌های دریافت کننده‌ی کوئرستین با همین غلظت اختلاف معنی‌دار نشان داد (P=۰/۰۰۰).

بحث

بررسی نتایج حاضر نشان داد که تزریق کتامین با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به‌مدت 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.

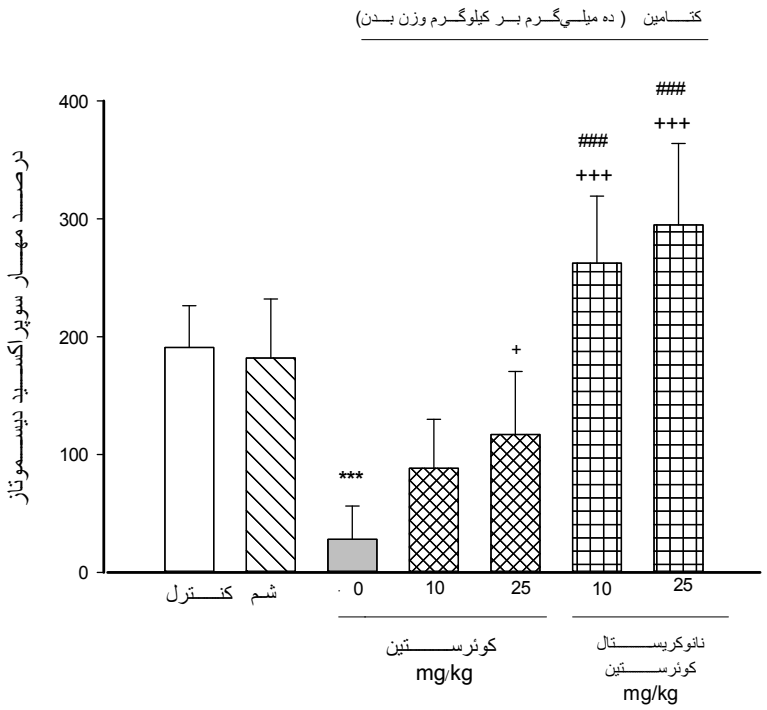


نمودار ۳- اثر کوئرستین و نانوکریستال آن برآزمون شنای اجباری در روز بیست و پنجم پس از تزریق کتامین. کوئرستین و نانوکریستال آن باعث کاهش معنی‌دار مدت زمان بی‌حرکت ماندن در گروه بیمار تیمارشده با غلظت ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن در مقایسه با گروه کنترل شدند. مدت زمان بی‌حرکت ماندن در گروه نانوکریستال کوئرستین با غلظت ۲۵ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن نسبت به گروه کوئرستین هم غلظت کاهش معنی‌داری نشان داد. در مقایسه باگروه کنترل (P≤۰/۰۰۱):***، درمقایسه باگروه بیمار(P≤۰/۰۰۱) :+++، در مقایسه با گروه ۲۵ کوئرستین P≤۰/۵ #:



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≤۰/۰۰۱):*** در مقایسه با گروه بیمار (P≤۰/۰۰۱):+++ در مقایسه با گروه بیمار (P≤۰/۰۵):+ در مقایسه با گروه بیمار (P≤۰/۰۱):++ در مقایسه با گروه ۲۵ نانوکریستال کوئرستین ###:(P≤۰/۰۰۱)

در راستای این تحقیق، در مطالعات پیشین نیز تزریق درون‌صفاقی 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 سینگولا و قشر مغزانجام 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).



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≤۰/۰۰۱) :***در مقایسه با گروه بیمار (P≤۰/۰۰۱):+++ در مقایسه با گروه بیمار (P≤۰/۰۵):+ در مقایسه با گروه ۲۵ نانوکریستال کوئرستین(P≤۰/۰۰۱):### در مقایسه با گروه ۱۰ نانوکریستال کوئرستین(P≤۰/۰۰۱):###

پژوهش‌های اخیر نشان دادند که استرس اکسیداتیو نیز عامل مؤثری در ایجاد بیماری اسکیزوفرنی است (۵ و ۳۴). همچنین اولیویئرا 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 درون صفاقی کتامین با غلظت ۲۵ میلی‌گرم برکیلوگرم وزن بدن به مدت ۸ روز متوالی باعث کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در هیپوکامپ می‌گردد (۲۵). نتایج پژوهش رادونجیک 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 از اثر کتامین بر اینترنورون‌های مهاری در قشر جلویی مغز جلوگیری کند. در بیماری اسکیزوفرنی تولید ROS افزایش‌یافته 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 درون‌صفاقی کتامین سبب بروز افسردگی در موش صحرایی می‌شود (۲۲). افسردگی ناشی از تزریق کتامین می‌تواند توسط استرس اکسیداتیو ایجادشده به‌وسیله

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 به‌مدت ۴۵ روز باعث می‌شود، فعالیت کاهش‌یافته کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز به حالت اولیه خود برگردد و درنتیجه 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- فنیل پریدینیوم (MPP) می‌تواند باعث کاهش آپاپتوز القاشده 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 به‌صورت درون صفاقی با مهار تولید ROS باعث از بین بردن اثرات استرس اکسیداتیو و افزایش میزان سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در موش صحرایی نر می‌شود (۱۷). مصطفوی پور و همکاران در سال ۲۰۰۸ به‌منظور 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 کاهش‌یافته‌ی کاتالاز ناشی از مصرف سیکلوسپورین در کبد موش صحرایی شود. کاهش فعالیت های 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. درنتیجه باعث افزایش میزان فعالیت کاتالاز و سطح گلوتاتیون می‌شود بطوریکه میزان فعالیت های آنزیم های 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 سوپراکسیددیسموتاز در مغز موش‌هایی که نانوکریستال کوئرستین را دریافت نمودند نسبت به موش‌های درمان شده با کوئرستین با همین غلظت، به‌طور معنی‌داری افزایش‌یافته 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 درنتیجه 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 به‌منظور بررسی تفاوت میان اثربخشی کوئرستین و نانوکپسول کوئرستین بر موش صحرایی انجام گرفت نشان دادند که نانوکپسول کوئرستین ازآنجایی‌که 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

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 افرایش 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 نانوکریستال کوئرستین نسبت به موش‌های تیمار شده با کوئرستین با همین غلظت، به‌طور معنی‌داری افزایش‌یافته 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.

منابع

1- 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.

2- 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.

3- Berridge, M. J., 2013. Dysregulation of neural calcium signaling in Alzheimer disease, bipolar disorder and schizophrenia. Prion, 7(1), PP: 2-13.

4- 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.

5- 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.

6- Bošković, M., Vovk, T., Plesničar, B. K., and Grabnar, I., 2011. Oxidative stress in schizophrenia. Current neuropharmacology, 9(2), 301 p.

7- Bournival, J., Quessy, P., and Martinoli, M. G., 2009. Protective effects of resveratrol and quercetin against MPP+-induced oxidative stress act by modulating markers of apoptotic death in dopaminergic neurons. Cellular and molecular neurobiology, 29(8), PP: 1169-1180.

8- 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.

9- 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.

10- 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.

11- 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.

12- 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 journalof 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-Liencres, C., Tas, C., Brown, E. C., Erdin, S., Onur, E., Cubukcoglu, 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 bieberstinuii 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- Lakhanpal, 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 antagonists23. 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 andTechnology, 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., Shaal, 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 in14. 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 it nanocrystal on schizophrenia animal model with using forced swimming test

Mohammadnejad bazkiyaei 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 activates ($P \leq 0.001$). Treatment with quercetin and it nanocrystal increased significantly mobility time and also increase the activities of these enzymes in 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