

اثر عصاره جعفری (*Petroselinum crispum*) بر اختلال حافظه و اضطراب القا شده توسط استرس بی حرکتی در رت‌های نر بالغ

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۱۰/۱۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۱۴

چکیده

لیلا رجاییان^۱
معصومه اصل‌روستا^{۲*}

زمینه و هدف: استرس بی حرکتی به سیستم عصبی آسیب می‌رساند و صدماتی نظیر اختلال در یادگیری و حافظه، اضطراب و افسردگی را به جای می‌گذارد. جعفری (*Petroselinum crispum*) دارای خواص آنتی اکسیدانی، ضد دیابتی، ضد التهابی و محافظت‌کننده کبد است. در این مطالعه اثر عصاره هیدروالکلی جعفری را بر یادگیری و حافظه فضایی و رفتار اضطرابی القا شده توسط استرس مزمن بی حرکتی در رت‌های نر بالغ نژاد ویستار بررسی نمودیم.

مواد و روش‌ها: ۶۰ سر رت به ۶ گروه تقسیم شدند: کنترل، استرس، جعفری ۱، جعفری ۲، استرس-جعفری ۱ و استرس-جعفری ۲. برای القای استرس، حیوانات به مدت ۲۱ روز متوالی هر روز ۶ ساعت در مقیدکننده قرار داده شدند. تیمار عصاره جعفری نیز در همین دوره با دوزهای ۱ و ۲ mg/kg به صورت گاوژ انجام شد. یادگیری و حافظه فضایی و رفتار اضطرابی به ترتیب با استفاده از ماز آبی موریس و ماز بعلاوه مرتفع مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج حاصل از ماز آبی موریس نشان داد که زمان و مسافت طی شده برای رسیدن به سکوی پنهان در گروه‌های استرس-جعفری ۱ و ۲ در مقایسه با گروه استرس به طور معنی داری کاهش یافت (به ترتیب $p < 0/01$ و $p < 0/05$). در تست پروب، این گروه‌ها در مقایسه با گروه استرس، مسافت و زمان بیشتری را در ربع دایره هدف سپری کردند (گروه استرس-جعفری ۱، $p < 0/05$ و گروه استرس-جعفری ۲، $p < 0/05$). نتایج حاصل از ماز بعلاوه مرتفع نیز نشان داد که درصد ورود به بازوی باز و درصد زمان ماندن در این بازو در حیوانات گروه‌های استرس-جعفری ۱ و ۲ در مقایسه با گروه استرس به طور معنی داری بیشتر بود ($p < 0/05$).

نتیجه‌گیری: نتیجه‌گیری می‌شود که عصاره هیدروالکلی جعفری موجب بهبود یادگیری و حافظه فضایی و کاهش رفتار اضطرابی در رت‌های مواجه شده با استرس بی حرکتی مزمن می‌شود و احتمالاً می‌تواند در کاهش اختلالات ناشی از استرس مؤثر باشد.

واژگان کلیدی: جعفری (*Petroselinum crispum*)، حافظه فضایی، استرس بی حرکتی، اضطراب، رت

*نویسنده مسؤول: گروه فیزیولوژی، واحد
زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران
تلفن: ۰۹۱۲۵۶۰۶۳۲۷

Email: mrrousta58@gmail.com

مقدمه

تحقیقات نشان داده که بی حرکتی یکی از مدل‌های القای استرس است که اثرات مولکولی، بیوشیمیایی، بافتی و رفتاری وسیعی در طیف وسیعی از جانوران (از جوندگان تا پریمات‌ها) به جای می‌گذارد.^۱ بی حرکتی در طولانی مدت، موجب تحریک اکسیداسیون پروتئینی و پراکسیداسیون لیپیدی شده و با کاهش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز، سیستم آنتیاکسیدانی بدن را تضعیف می‌کند. بنابراین استرس بی حرکتی مزمن به پیدایش استرس اکسیداتیو در اندام‌های مختلف از جمله مغز منجر می‌شود.^{۲،۳} با توجه به این که هیپوکامپ و کورتکس پیشانی، نقش اساسی در یادگیری و حافظه دارند، بی حرکتی با القای استرس اکسیداتیو در این نواحی از مغز موجب پیدایش اختلال یادگیری و حافظه می‌شود.^۴ استرس اکسیداتیو و التهاب عصبی که بر اثر بی حرکتی مزمن ایجاد می‌شوند در پیدایش اختلالات عصبی نظیر اضطراب و افسردگی نیز دخالت می‌کنند.^۵ از سوی دیگر ثابت شده که تغییرات رفتاری که بر اثر استرس بی حرکتی ایجاد می‌شوند تا حد زیادی از تغییر بیان پروتئین‌های سیناپسی و فعالیت سیناپس‌ها در نواحی مختلف مغز از جمله هیپوکامپ و کورتکس پیشانی حاصل شده‌اند.^۶ به طور مثال، سطح نوروترنسمیترهای مختلف نظیر دوپامین، سروتونین و نوراپی نفرین در هیپوکامپ و کورتکس حیواناتی که با بی حرکتی مواجه می‌شوند کاهش یافته و موجب اختلال عملکرد سیناپسی می‌شود.^۷ با توجه به سبک زندگی امروزی، لازم است راهکارهایی برای کاهش اثرات سوء بی حرکتی در بدن در نظر گرفته شود. از آنجا که استرس اکسیداتیو و التهاب عصبی، نقش اساسی را در بروز آسیب‌های ناشی از بی حرکتی مزمن ایفا می‌کنند^۸ به نظر می‌رسد ممانعت از بروز این پدیده‌ها بتواند تا حد زیادی از آسیب‌های عصبی ناشی از بی حرکتی جلوگیری نماید. گیاهان دارویی علاوه بر دسترسی آسان و قیمت مناسب، حاوی ترکیبات آنتی اکسیدانی متعدد هستند و گزینه احتمالی مناسبی برای ممانعت و کاهش آسیب اکسیداتیو در مغز می‌باشند.^۹

جعفری (*petroselinum crispum*) یک گیاه سالانه از خانواده Apiaceae است که در ایران به طور گسترده کشت می‌شود و مصرف خوراکی دارد. این گیاه حاوی مقادیر فراوانی فلاونوئید، کومارین، تربینوئیدها، ترکیبات کاروتنوئیدی و ویتامین‌های E، B و C می‌باشد.^{۹-۱۱} گزارش‌هایی از اثر حفاظت عصبی جعفری موجود است. به طور مثال، جعفری می‌تواند استرس اکسیداتیو ناشی از کادمیوم را در مغز نوزادان

موش کاهش دهد و از تغییرات هیستوپاتولوژیکی در مغز و آسیب‌های رفتاری ناشی از کادمیوم ممانعت نماید و از کاهش سطح استیل کولین، دوپامین و سروتونین در مغز جلوگیری کند.^{۱۲} عصاره آبی و متانلی جعفری خاصیت آنتی اکسیدانی دارند و رادیکال‌های آزاد را از بین می‌برند که در این میان، اثر آنتی اکسیدانی عصاره متانلی بیشتر است.^{۱۳} همچنین اثرات ضد دیابتی^{۱۴}، ضد التهابی و محافظت کننده کبدی^{۱۵، ۱۶} نیز از این گیاه گزارش شده است.

با توجه به گزارش‌های موجود در زمینه ویژگی‌های محافظتی و آنتیاکسیدانی جعفری، این فرضیه مطرح شد که این گیاه، اختلالات رفتاری ناشی از استرس را نیز کاهش می‌دهد. بنابراین هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر عصاره هیدرومتانلی جعفری بر یادگیری و حافظه فضایی و اضطراب در موش‌های صحرایی مواجه شده با استرس بی حرکتی مزمن است.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق بنیادی، ۶۰ سر موش صحرایی نر بالغ در محدوده وزنی ۲۰۰-۲۲۰ گرم از انستیتو پاستور خریداری شدند. حیوانات در شرایط استاندارد (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، دمای ۲۳-۲۵ درجه سانتیگراد و دسترسی به آب و غذای کافی) در حیوان‌خانه مرکز تحقیقات نانوبیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان نگهداری شده و به ۶ گروه (هر گروه ۱۰ سر) تقسیم شدند:

- ۱) گروه کنترل: حیواناتی که تحت هیچ تیماری قرار نگرفتند.
- ۲) گروه استرس: برای مواجهه با استرس بی حرکتی، هر روز ۶ ساعت به مدت ۲۱ روز متوالی در مقیدکننده قرار داده شدند.^{۱۷}
- ۳ و ۴) گروه جعفری ۱ و ۲: عصاره هیدرومتانلی جعفری را به ترتیب با دوزهای ۱ و ۲ گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۲۱ روز متوالی به صورت گاواژ دریافت نمودند.^{۱۸}
- ۵ و ۶) استرس-جعفری ۱ و ۲: علاوه بر قرار گرفتن در مقیدکننده، عصاره جعفری را با دوزهای ۱ یا ۲ گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند. برای تهیه عصاره از برگ خشک شده جعفری (که توسط کارشناسان مورد تأیید قرار گرفت) استفاده شد. ۵۰۰ گرم از پودر برگ خشک شده و ۱۵۰۰ میلی لیتر متانل ۷۰ درصد در داخل یک بشر به مدت ۴۸ ساعت بر روی شیکر قرار گرفت و محلول مورد نظر، پس از عبور از کاغذ صافی، برای حذف حلال در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد در روتاری قرار گرفت.

آزمون قرار می‌گیرد. در ابتدای آزمون، حیوان در مربع وسط رو به بازوی باز قرار داده می‌شود. درصد ورود به بازوی باز و درصد زمان ماندن در بازوی باز محاسبه می‌شود. افزایش این فاکتورها به معنی کاهش سطح اضطراب است.^{۱۸}

گروه‌های استرس و استرس-جعفری ۱ و ۲ در ساعت ۱۳-۷ با استرس بی حرکتی مواجه شدند. گاوژ عصاره در ساعت ۱۴-۱۳ و آزمون‌های رفتاری در ساعت ۱۶-۱۴ انجام شد.

مطالعات آماری با استفاده از SPSS v.۱۶ انجام شد و نتایج به صورت میانگین $\pm$ خطای معیار نشان داده شد. تجزیه و تحلیل اطلاعات توسط One-way ANOVA و Tukey HSD post hoc انجام گرفت و برای بررسی یادگیری فضایی در هر گروه از روزهای اول تا چهارم از آزمون repeated measurement استفاده شد. $p < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌داری نتایج محسوب گردید.

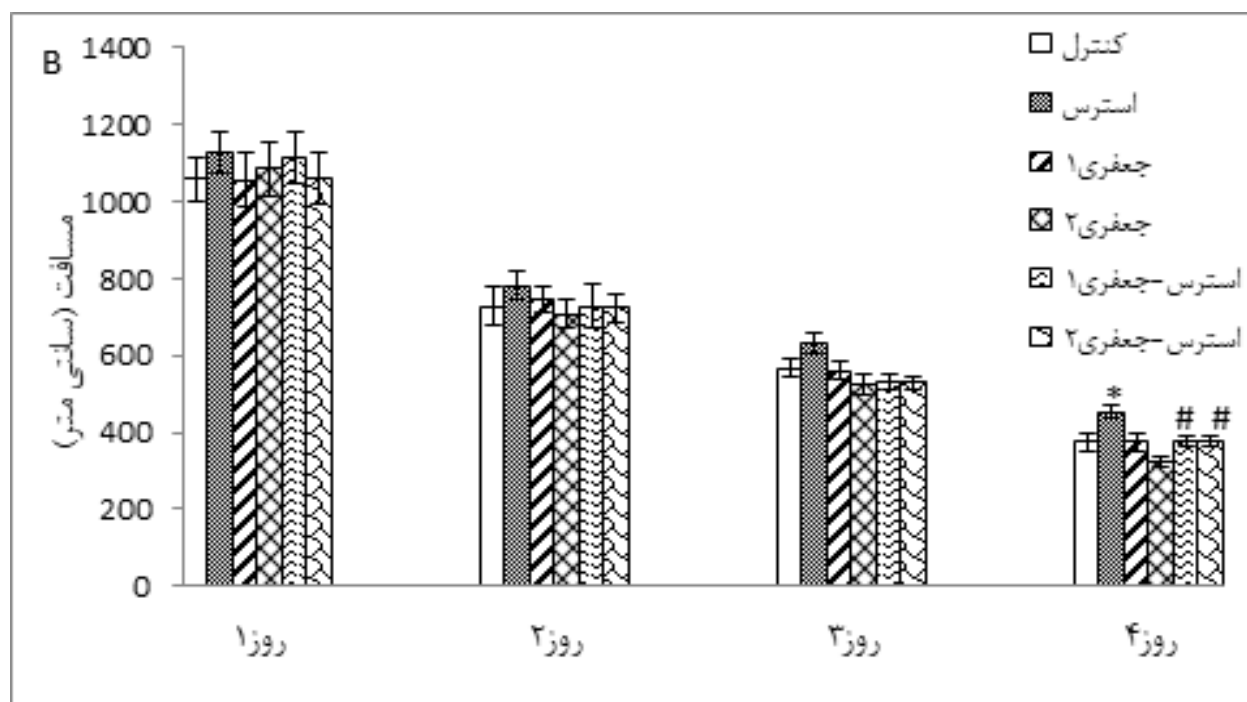
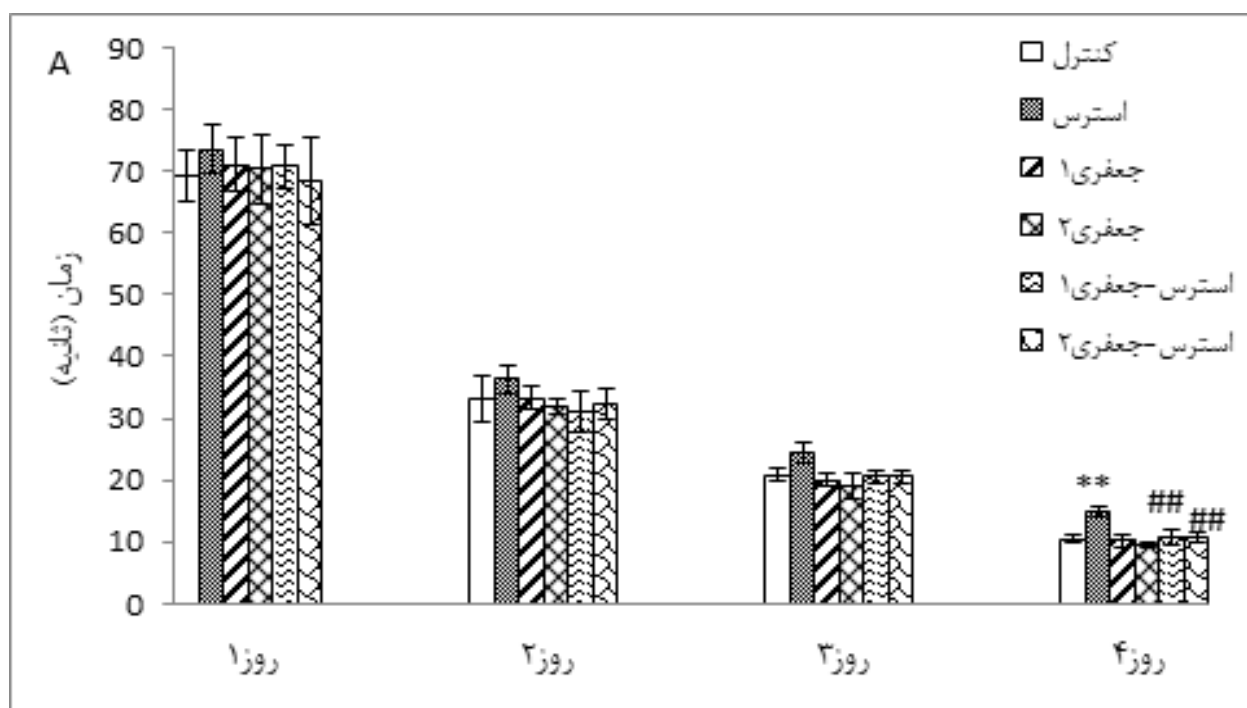
یافته‌ها

نتایج حاصل از آزمون repeated measurement برای بررسی دیتای ماز آبی موریس نشان داد که یادگیری در همه گروه‌ها انجام گرفت زیرا مدت زمان سپری شده و مسافت طی شده برای رسیدن به سکوی پنهان، از روز اول تا چهارم در همه گروه‌ها به طور پیشروندهای کاهش یافت ($p < 0.001$). گروه‌های مورد مطالعه در روزهای اول تا سوم در فاکتورهای زمان و مسافت طی شده برای رسیدن به سکوی پنهان با هم نداشتند اما در روز چهارم، زمان و مسافت طی شده برای رسیدن به سکوی پنهان در گروه استرس در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی داری را نشان داد (به ترتیب $p < 0.01$ و $p < 0.05$) و مصرف هر دو دوز عصاره جعفری موجب کاهش معنی‌دار زمان و مسافت طی شده در گروه استرس-جعفری ۱ و ۲ در مقایسه با گروه استرس شد (به ترتیب $p < 0.01$ و $p < 0.05$). گروه‌های جعفری ۱ و ۲ در این فاکتورها تفاوت معنی داری با گروه کنترل نداشتند (نمودار ۱). سرعت شنای حیوانات در چهار روز آموزش در گروه‌های مختلف تفاوت معنی داری نداشت. نتایج این بخش به علت عدم معنی داری نمایش داده نشده است.

سپس با افزودن آب مقطر، دوزهای ذکر شده از عصاره تهیه شد و با حجم ۰/۴ میلی لیتر در هر گاوژ به حیوان خوراند شد.

یادگیری و حافظه فضایی حیوانات با استفاده از آزمون ماز آبی موریس در روزهای ۱۶ تا ۲۱ سنجش شد. ماز آبی موریس از یک تانک مدور (به ارتفاع ۶۰ cm و قطر ۱۳۰ cm) تشکیل شده است که محتوی آب (به دمای ۲۵ درجه سانتیگراد) بوده و به طور فرضی به ۴ ربع دایره تقسیم می‌شود. یک سکوی پنهان در شمال شرقی تانک، در ۱ سانتی متری زیر سطح آب قرار دارد. علامت‌های ثابتی نظیر چند عکس در اطراف تانک قرار دارد و یک دوربین نیز در ارتفاع ۱/۵ متری بالاتر از تانک تعبیه شده است که به کامپیوتر حاوی نرم افزار MazeRouter وصل است. هر حیوان در روز ۱۶ به مدت ۱۲۰ ثانیه برای آشنایی با محیط آزمون در داخل تانک (فاقد سکو) شنا کرد. روز ۱۷ تا ۲۰ فرایند آموزش اختصاص یافت و ۴ دوره متوالی در هر روز برای آموزش در نظر گرفته شد. در هر دوره، موش از یکی از ۴ ربع دایره (شمال، جنوب، شرق و غرب) در داخل آب قرار داده شد و ۹۰ ثانیه فرصت یافت تا سکوی پنهان را بیابد. حیوان پس از یافتن سکو و یا در پایان ۹۰ ثانیه، اجازه داشت تا به مدت ۲۰ ثانیه بر روی سکو بنشیند. مسافت طی شده (سانتی متر) و زمان سپری شده (ثانیه) تا رسیدن به سکوی پنهان، توسط نرم افزار MazeRouter ثبت شد و ملاک یادگیری حیوانات قرار گرفت. کاهش این دو فاکتور به معنی افزایش سطح یادگیری است. در روز ۲۱، آزمون پروب برای بررسی حافظه فضایی حیوانات انجام شد. این آزمون بدون سکوی پنهان بود و به حیوان اجازه داده شد تا ۶۰ ثانیه در داخل تانک شنا کند. زمان (ثانیه) و مسافت (سانتی متر) سپری شده در ربع دایره هدف (ربع دایره‌ای که در روزهای آموزش، سکوی پنهان را در خود جای داده بود) ثبت شد و افزایش این فاکتورها به معنی افزایش سطح حافظه است.^{۱۸}

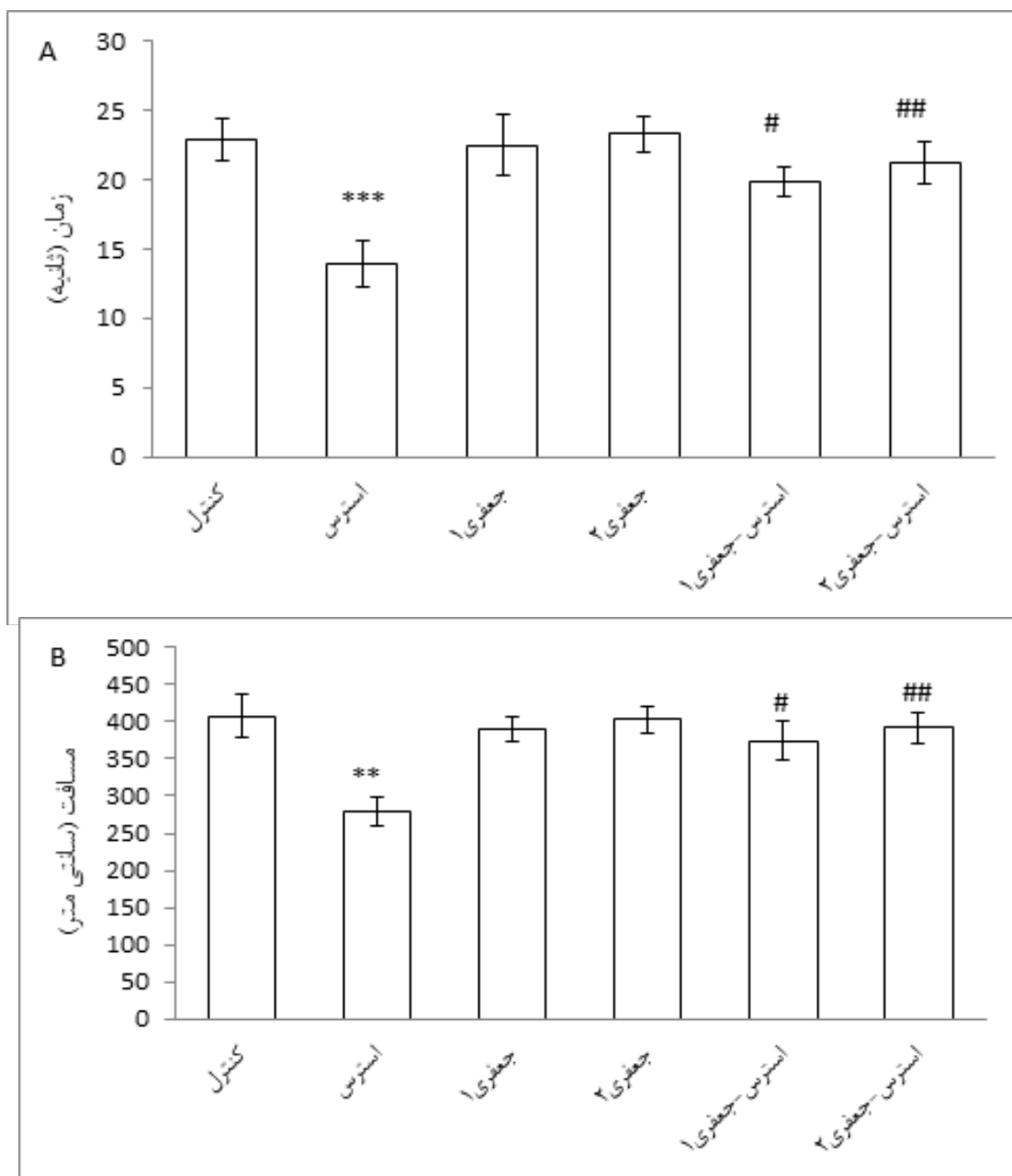
پس از پایان دوره ۲۱ روزه، سطح اضطراب حیوانات با استفاده از ماز بعلاوه مرتفع سنجیده شد. ماز که در ارتفاع ۵۰ سانتی متری از سطح زمین قرار گرفته از دو بازوی باز و دو بازوی بسته (طول ۵۰ و عرض ۱۰ سانتی متر) تشکیل شده است. بازوهای بسته با دیوارهایی به ارتفاع ۴۰ سانتی متر احاطه شده اند و در محل اتصال بازوها مربعی به مساحت ۱۰×۱۰ قرار دارد. یک لامپ ۱۰۰ واتی نیز در ارتفاع ۱۲۰ سانتی متری ماز تعبیه شده است. هر حیوان فقط یک بار مدت ۵ دقیقه در ماز بعلاوه مرتفع مورد



نمودار ۱. اثر عصاره جعفری بر یادگیری رت‌های مواجهه شده با استرس بی‌حرکتی با استفاده از ماز آبی موریس. زمان (A) و مسافت (B) طی شده برای رسیدن به سکوی پنهان نشان داده شده است. نتایج به صورت میانگین $\pm$ خطای معیار ارایه شده است و ۱۰ سر رت در هر گروه قرار دارد. $p < 0.05$ و $p < 0.01$ در مقایسه با گروه کنترل و $p < 0.05$ و $p < 0.01$ در مقایسه با گروه استرس.

با گروه استرس، افزایش معنیداری را نشان دادند (به ترتیب $p < 0,05$ و $p < 0,01$) و گروه‌های جعفری ۱ و ۲ نیز اختلاف معنی داری با کنترل نداشتند (نمودار ۲).

نتایج حاصل از آزمون پروب نیز حاکی از آن است که گروه استرس در مقایسه با گروه کنترل، به طور معنی داری زمان و مسافت کمتری را در ربع دایره هدف شنا کردند (به ترتیب $p < 0,001$ و $p < 0,01$) در حالی که گروه استرس-جعفری ۱ و استرس-جعفری ۲ در هر دو فاکتور در مقایسه

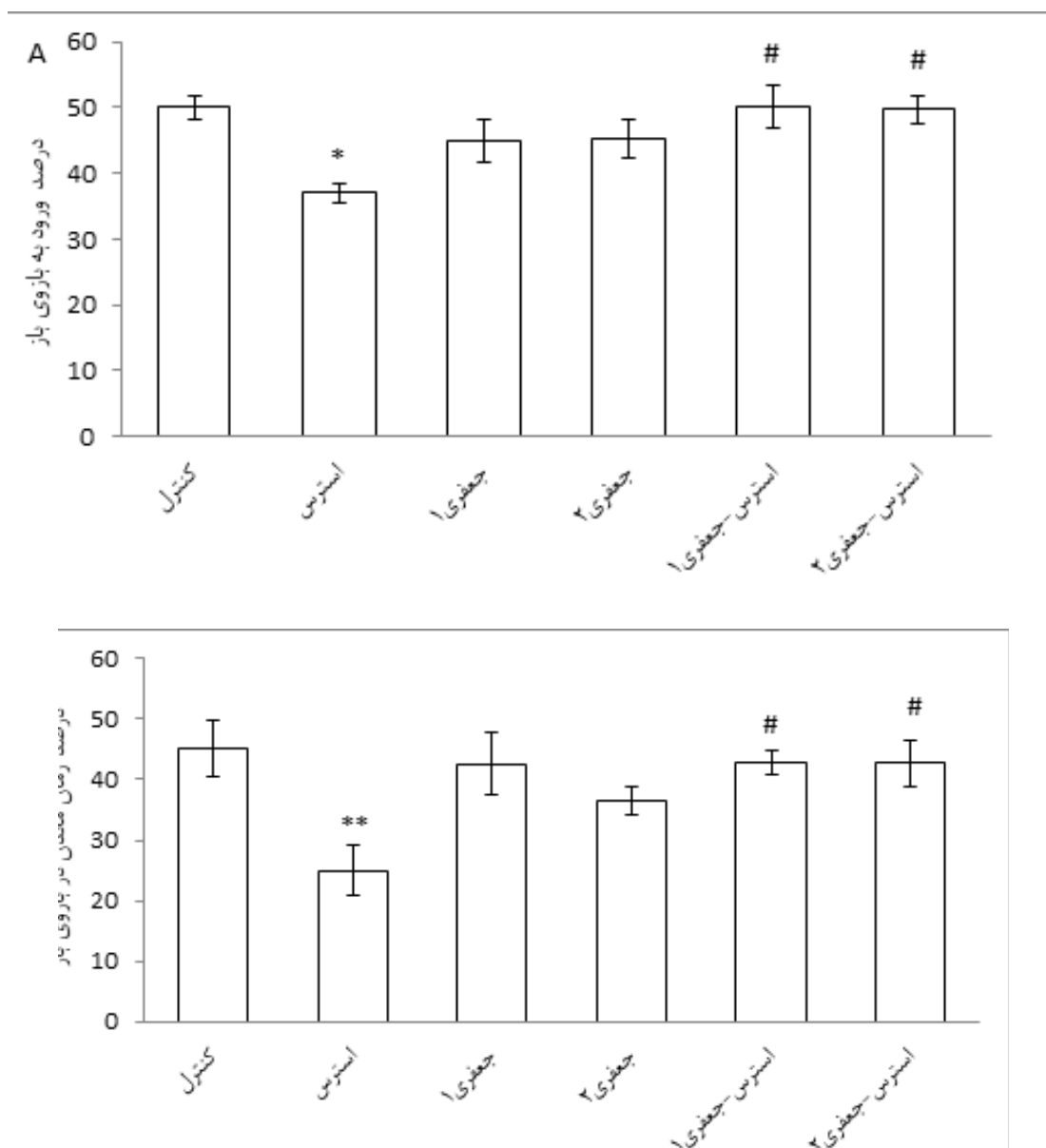


نمودار ۲. اثر عصاره جعفری بر حافظه فضایی رت‌های مواجه شده با استرس بیحرکتی با استفاده از آزمون پروب در ماز آبی موریس. زمان (A) و مسافت (B) شنا شده در ربع دایره هدف نشان داده شده است. نتایج به صورت میانگین $\pm$ خطای معیار ارائه شده است و ۱۰ سر رت در هر گروه قرار دارد.

$p < 0,01$ و $p < 0,001$ در مقایسه با کنترل و $p < 0,05$ و $p < 0,01$ در مقایسه با گروه استرس

گروه های جعفری ۱ و ۲ در هیچ یک از فاکتورهای مربوط به این آزمون، اختلاف معنی داری با گروه کنترل نداشتند (نمودار ۳). مجموع ورود به بازوهای باز و بسته (که نشانه فعالیت حرکتی حیوان است) در گروه های مختلف تفاوت معنی دار نداشت (نتایج این بخش به علت عدم معنی داری نشان داده نشده است).

نتایج حاصل از آزمون ماز بعلاوه مرتفع نشان داد که درصد زمان ورود به بازوی باز و درصد زمان ماندن در این بازو در گروه استرس در مقایسه با کنترل به طور معنی داری کاهش یافت (به ترتیب $p < 0.05$ و $p < 0.01$) و عصاره جعفری در هر دو دوز موجب افزایش معنی دار این فاکتورها در حیوانات استرس جعفری ۱ و ۲ در مقایسه با گروه استرس شد ($p < 0.05$).



نمودار ۳. اثر عصاره جعفری بر سطح اضطراب رت های مواجه شده با استرس بی حرکتی با استفاده از آزمون ماز بعلاوه مرتفع. درصد ورود به بازوی باز (A) و درصد زمان ماندن در بازوی باز (B) نشان داده شده است. نتایج به صورت میانگین $\pm$ خطای معیار ارایه شده است و ۱۰ سر رت در هر گروه قرار دارد. $p < 0.05$ و * $p < 0.01$ در مقایسه با کنترل و # $p < 0.05$ در مقایسه با گروه استرس

بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که ۶ ساعت بیحرکتی در روز به مدت ۲۱ روز متوالی، موجب تضعیف یادگیری و حافظه فضایی و بروز رفتارهای اضطرابی در رتهای نر بالغ شد که با نتایج مطالعات پیشین همسو می باشد^{۱۹،۱۷}.

تیمار ۲۱ روزه عصاره هیدرومتانلی جعفری در هر دو دوز ۱ و ۲ گرم بر کیلوگرم وزن بدن به حیواناتی که با استرس مواجه شدند، باعث شد یادگیری و حافظه فضایی آنها در مقایسه با گروه استرس بهتر باشد. در تایید نتایج حاصل از مطالعه حاضر، اخیراً گزارش شده که ۱۴ روز تیمار خوراکی عصاره جعفری در دوز ۱/۵ گرم بر کیلوگرم وزن بدن با افزایش دادن سطح گلوکوکورتیکوئید و کاهش سطح مالون دی آلدئید، از استرس اکسیداتیو در هیپوکامپ و کورتکس پری فرونتال رت های تزریق شده با اسکوپولامین جلوگیری نمود. عصاره جعفری، بیان فاکتورهای پیش آپوپتوتیک Bax و کاسپاز ۳ و ۹ را در این نواحی از مغز کاهش داد و بیان فاکتور ضد آپوپتوتیک Bcl-۲ را افزایش داد. علاوه بر این، عصاره جعفری از کاهش فعالیت استیل کولین استراز و نقص حافظه در این رتها جلوگیری نمود^{۲۰}. استیل کولین استراز به عنوان یک پنجره رو به استرس معرفی شده است؛ به این معنی که با افزایش فعالیت این آنزیم، پاسخ های مشابه مواجهه با استرس در سلول ظاهر می شود^{۲۱}. بنابراین ممکن است کاهش فعالیت این آنزیم بتواند سلول را از شرایط استرس نجات دهد. حتی گزارش شده است که تیمار ۲۸ روزه آب جعفری هم از کاهش سطح استیلکولین در مغز ممانعت نموده و موجب بهبود عملکرد رت های دریافت کننده کادمیوم کلراید در آزمون ماز T می شود^{۱۲}. با توجه به نقش استیل کولین در فرایند یادگیری و حافظه، مهارکنندگان استیل کولین استراز را برای بهبود فعالیت های شناختی در بیماران مبتلا به آلزایمر به کار می برند^{۲۲}. بنابراین احتمالاً توانایی عصاره جعفری در کاهش فعالیت آنزیم مذکور، نقش مهمی در بهبود عملکرد حیوانات گروه استرس-جعفری ۱ و ۲ در آزمون ماز آبی موریس ایفا نموده است. اثر محافظتی جعفری بر حافظه، به ترکیبات موجود در این گیاه مربوط است. به طور مثال، اثر ویتامین E، کاروتنوئید^{۲۳}، لینالول^{۲۴} و ۱۸-سینئول^{۲۵} بر بهبود یادگیری و حافظه به اثبات رسیده است.

نتایج حاصل از ماز بعلاوه مرتفع نیز نشان داد هر دو دوز عصاره جعفری، رفتار اضطرابی را در رتهای مواجهه شده با بیحرکتی مزمن کاهش

دادند. در تایید این نتایج، اخیراً گزارش شده که پلی فنل های جعفری موجب کاهش افسردگی و اضطراب می شود^{۲۶}. جعفری حاوی مقادیر فراوانی گابا می باشد که به طور قابل توجهی بالاتر از مقدار آن در گیاهانی نظیر بروکلی، سیر، پیاز، تره فرنگی، کلم، هویج و فلفل سبز است^{۲۷}. کاهش گابا در آمیگدال به عنوان شاخص مهم بروز اضطراب است و تحریک فعالیت گیرنده گابا-A را به عنوان راهکار درمانی اضطراب معرفی نموده اند^{۲۸}. از سوی دیگر، ثابت شده است که استرس موجب کاهش آزادسازی گابا و کاهش فعالیت گیرنده گابا-A در مغز می شود^{۲۹} بنابراین اثر ضد اضطرابی عصاره جعفری در مطالعه حاضر را می توان به ممانعت از کاهش سطح این نوروترنسمیتر در مغز رت های مواجهه شده با استرس نسبت داد. برای تقویت این فرضیه لازم است سطح گابا در مغز حیوانات مواجهه شده با بیحرکتی و گروه های استرس-جعفری اندازه گیری شود. اثر ضد اضطرابی جعفری را میتوان به ترکیبات مختلف موجود در آن نسبت داد. به طور مثال، تحقیقات نشان داده است که لینالول^{۳۰}، ۱۸-سینئول^{۳۱}، میریستیسین^{۳۲} درارای اثر ضد اضطرابی هستند.

پژوهش ها ثابت کرده است که استرس اکسیداتیو و التهاب عصبی، نقش مهمی در پیدایش اختلالات رفتاری ناشی از بیحرکتی مزمن دارد^{۳۳، ۳۴}. از سوی دیگر، گزارش های متعددی مبنی بر اثر ضد التهابی و آنتی اکسیدانی عصاره جعفری در دسترس است^{۳۵، ۳۶}. به نظر می رسد اثر ضد اضطرابی و بهبود دهنده گی حافظه که در مطالعه حاضر از عصاره جعفری مشاهده شده است تا حدی با این موضوع در ارتباط است. با این حال بهتر است فعالیت سیستم آنتی اکسیدانی و سطح فاکتورهای پیش التهابی و ضد التهابی در مغز حیوانات سنجیده شود.

هر دو دوز عصاره جعفری (۱ و ۲ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) که در این تحقیق به کار رفت اثر مشابهی بر آزمونهای رفتاری حیوانات مواجهه شده با استرس داشت. اخیراً اثر حفاظت عصبی عصاره در دوز ۱/۵ گرم بر کیلوگرم وزن بدن در یک دوره ۲۸ روزه نیز گزارش شده است^{۲۰}. به نظر میرسد دوز مصرفی و مدت زمان تیمار عصاره برای کاهش اختلالات رفتاری ناشی از استرس مناسب بوده است.

در مجموع، نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که عصاره جعفری می تواند از نقص یادگیری و حافظه فضایی و بروز رفتارهای اضطرابی در رت های مواجهه شده با بیحرکتی مزمن ممانعت می کند. احتمالاً این گیاه در درمان بیماری های نورودژنراتیو و اختلالات رفتاری ناشی از استرس

موثر است. مطالعات بیوشیمیایی، مولکولی و هیستولوژیکی نیز برای اثبات این فرض لازم است.

تقدیر و تشکر

نویسندگان مقاله مراتب سپاسگزاری خویش را از مساعدت مسوولین و کارشناسان مرکز تحقیقات نانوبیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان اعلام می نمایند.

تعارض منافع

تعارض منافی در این پژوهش وجود ندارد.

حمایت مالی

این تحقیق، حامی مالی ندارد.

ملاحظات اخلاقی

قوانین مربوط به نگهداری و کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شده و به تایید کمیته اخلاق دانشگاه آزاد واحد زنجان رسید (کد: IR.IAU.Z.REC.۱۳۹۶،۲۰).

مشارکت نویسندگان

لیلا رجاییان در طراحی تحقیق و جمع آوری داده‌ها و معصومه اصل روستا در طراحی تحقیق، تجزیه و تحلیل داده‌ها، تهیه پیش نویس مقاله و اصلاح آن مشارکت داشتند.

References

1. Buynitsky T, Mostofsky DI. Restraint stress in biobehavioral research: recent developments. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2009; 33(7): 1089-98.
2. Pal G, Mishra HP, Suvvari TK, Tanwar A, Ghosh T, Verma P, Pal A, Patial K, Mahapatra C, Amanullah NA, Shukoor SA. Oxidative Stress in Wistar Rats Under Acute Restraint Stress and Its Modulation by Antioxidants and Nitric Oxide Modulators. *Cureus*. 2023; 15(8): e43333.
3. Samarghandian S, Azimi-Nezhad M, Farkhondeh T, Samini F. Anti-oxidative effects of curcumin on immobilization-induced oxidative stress in rat brain, liver and kidney. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2017; 87: 223-9.
4. Huang RR, Hu W, Yin YY, Wang YC, Li WP, Li WZ. Chronic restraint stress promotes learning and memory impairment due to enhanced neuronal endoplasmic reticulum stress in the frontal cortex and hippocampus in male mice. *International journal of molecular medicine*. 2015; 35(2): 553-9.
5. Fekri K, Nayebi AM, Sadigh-Eteghad S, Farajdokht F, Mahmoudi J. The neurochemical changes involved in immobilization stress-induced anxiety and depression: Roles for oxidative stress and neuroinflammation. *Neurochemical Journal*. 2020; 14(2): 133-49.
6. Müller HK, Wegener G, Popoli M, Elfving B.

Differential expression of synaptic proteins after chronic restraint stress in rat prefrontal cortex and hippocampus. *Brain research*. 2011; 1385:26-37.

7. Sahoo S, Kharkar PS, Sahu NU. Anxiolytic activity of Psidium guajava in mice subjected to chronic restraint stress and effect on neurotransmitters in brain. *Phytotherapy Research*. 2021; 35(3): 1399-415.

8. Cui X, Lin Q, Liang Y. Plant-derived antioxidants protect the nervous system from aging by inhibiting oxidative stress. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2020; 12: 209.

9. Gnintoungbe GS, Medehouenou TC, Adoukpe F, Akpovi C, Loko F. Phytochemical Screening, Antioxidant Activity and Safety of *Petroselinum crispum* (Mill.) AW Hill Apiaceae Leaves Grown in Benin. *Open Journal of Applied Sciences*. 2023;13(1):36-50.

10. Nouioura G, Kettani T, Tourabi M, Elousrouti LT, Al Kamaly O, Alshawwa SZ, Shahat AA, Alhalmi A, Lyoussi B, Derwich E. The Protective Potential of *Petroselinum crispum* (Mill.) Fuss. on Paracetamol-Induced Hepatic-Renal Toxicity and Antiproteinuric Effect: A Biochemical, Hematological, and Histopathological Study. *Medicina*. 2023; 59(10):1814.

11. Caunii A, Cuciureanu R, Zakar AM, Tonea E, Giuchici C. Chemical composition of common leafy vegetables. *Studia Universitatis Vasile Goldiş*. 2010; 20(2): 45-8.

12. Maodaa SN, Allam AA, Ajarem J, Abdel-Maksoud MA, Al-Basher GI, Wang ZY. Effect of parsley (*Petroselinum crispum*, Apiaceae) juice against cadmium neurotoxicity in albino mice (*Mus musculus*). *Behavioral and Brain Functions*. 2016; 12(1): 6.
13. Wong PY, Kitts DD. Studies on the dual antioxidant and antibacterial properties of parsley (*Petroselinum crispum*) and cilantro (*Coriandrum sativum*) extracts. *Food chemistry*. 2006; 97(3): 505-15.
14. Soliman HA, Eltablawy NA, Hamed MS. The ameliorative effect of *Petroselinum crispum* (parsley) on some diabetes complications. *Journal of Medicinal Plants Studies*. 2015;3(4):92-100.
15. Ede S, Özbeyli D, Erdoğan Ö, Çevik Ö, Kanpaltı F, Ercan F, Yanardağ R, Saçan Ö, Ertik O, Yüksel M, Şener G. Hepatoprotective effects of parsley (*Petroselinum Crispum*) extract in rats with bile duct ligation. *Arab Journal of Gastroenterology*. 2023; 24(1): 45-51.
16. Bolkent S, Yanardag R, Ozsoy-Sacan O, Karabulut-Bulan O. Effects of parsley (*Petroselinum crispum*) on the liver of diabetic rats: a morphological and biochemical study. *Phytotherapy Research*. 2004; 18(12): 996-9.
17. Mohammadi K, Mohammadi R, Asle-Rousta M, Rahnema M, Mahmazi S. Viola tricolor Hydroalcoholic Extract Improves Behavioral Deficiencies in Rats Exposed to Chronic Immobilization Stress. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 2022; 65:e22210267.
18. Khan-Mohammadi-Khorrami MK, Asle-Rousta M, Rahnema M, Amini R. Neuroprotective effect of alpha-pinene is mediated by suppression of the TNF- α /NF- κ B pathway in Alzheimer's disease rat model. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*. 2022; 36(5): e23006.
19. Mohammadi K, Mohammadi R, Asle-Rousta M, Rahnema M, Mahmazi S. Viola tricolor Hydroalcoholic Extract Improves Behavioral Deficiencies in Rats Exposed to Chronic Immobilization Stress. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 2022; 65: e22210267.
20. Şener G, Karakadıoglu G, Ozbeyli D, Ede S, Yanardag R, Sacan O, Aykac A. *Petroselinum crispum* extract ameliorates scopolamine-induced cognitive dysfunction: role on apoptosis, inflammation and oxidative stress. *Food Science and Human Wellness*. 2022; 11(5): 1290-8.
21. Soreq H, Yirmiya R, Cohen O, Glick D. Acetylcholinesterase as a window onto stress responses. In *Techniques in the behavioral and neural Sciences 2005* (Vol. 15, pp. 585-608). Elsevier.
22. Pepeu G, Giovannini MG. Cholinesterase inhibitors and memory. *Chemico-biological interactions*. 2010; 187(1-3): 403-8.
23. Power R, Nolan JM, Prado-Cabrero A, Roche W, Coen R, Power T, Mulcahy R. Omega-3 fatty acid, carotenoid and vitamin E supplementation improves working memory in older adults: A randomised clinical trial. *Clinical Nutrition*. 2022; 41(2): 405-14.
24. Lee BK, Jung AN, Jung YS. Linalool ameliorates memory loss and behavioral impairment induced by REM-sleep deprivation through the serotonergic pathway. *Biomolecules & Therapeutics*. 2018; 26(4): 368.
25. Ambrosch S, Duliban C, Heger H, Moser E, Laistler E, Windischberger C, Heuberger E. Effects of 1, 8-Cineole and (–)-Linalool on Functional Brain Activation in a Working Memory Task. *Flavour and Fragrance Journal*. 2018; 33(3): 235-44.
26. Es-Safi I, Mechchate H, Amaghnoije A, Kamaly OM, Jawhari FZ, Imtara H, Grafov A, Bousta D. The potential of parsley polyphenols and their antioxidant capacity to help in the treatment of depression and anxiety: an in vivo subacute study. *Molecules*. 2021; 26(7): 2009.
27. Pencheva D, Teneva D, Denev P. Validation of HPLC Method for Analysis of Gamma-Aminobutyric and Glutamic Acids in Plant Foods and Medicinal Plants. *Molecules*. 2023; 28(1): 84.
28. Möhler H. The GABA system in anxiety and depression and its therapeutic potential. *Neuropharmacology*. 2012; 62(1): 42-53.
29. Assad N, Luz WL, Santos-Silva M, Carvalho T, Moraes S, Picanço-Diniz DL, Bahia CP, Oliveira Batista ED, da Conceição Passos A, Oliveira KR, Herculano AM. Acute restraint stress evokes anxiety-like behavior

- mediated by telencephalic inactivation and gabaergic dysfunction in zebrafish brains. *Scientific Reports*. 2020; 10(1): 5551.
30. Souto-Maior FN, de Carvalho FL, de Morais LC, Netto SM, de Sousa DP, de Almeida RN. Anxiolytic-like effects of inhaled linalool oxide in experimental mouse anxiety models. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2011; 100(2): 259-63.
31. Dougnon G, Ito M. Inhalation administration of the bicyclic ethers 1, 8-and 1, 4-cineole prevent anxiety and depressive-like behaviours in mice. *Molecules*. 2020; 25(8): 1884.
32. McCall S. Evaluation of the anxiolytic properties of myristicin, a component of nutmeg, in the male Sprague-Dawley rat. *AANA journal*. 2011; 79(2): 109.
33. Thongrong S, Surapinit S, Promsrisuk T, Jittiwat J, Kongsui R. Pinostrobin alleviates chronic restraint stress-induced cognitive impairment by modulating oxidative stress and the function of astrocytes in the hippocampus of rats. *Biomedical Reports*. 2023; 18(3): 20.
34. Kumari B, Kumar A, Dhir A. Protective effect of non-selective and selective COX-2-inhibitors in acute immobilization stress-induced behavioral and biochemical alterations. *Pharmacol Rep*. 2007; 59(6): 699-707.

Effect of parsley (*Petroselinum crispum*) extract on memory impairment and anxiety induced by immobilization stress in adult male rats

Received: 29 Oct 2023; Accepted: 18 May 2024

Leila Rajaian¹

Masoumeh Asle-Rousta^{2*}

Abstract

Background and purpose: Chronic immobilization stress can damage the nervous system, leading to learning and memory disorders, anxiety, and depression. Parsley (*Petroselinum crispum*) is known for its antioxidant, anti-diabetic, anti-inflammatory, and hepatoprotective properties. This study investigates the effects of hydroalcoholic extract of parsley on learning, spatial memory, and anxiety behavior in adult male Wistar rats subjected to chronic immobility stress.

Materials and methods: Sixty rats were divided into six groups: control, stress, Parsley 1 (1 mg/kg), Parsley 2 (2 mg/kg), stress-parsley 1, and stress-parsley 2. For 21 consecutive days, rats were restrained for 6 hours daily to induce stress. Hydroalcoholic extracts of parsley were administered via gavage at doses of 1 and 2 mg/kg during this period. Spatial learning and memory were assessed using the Morris water maze, while anxiety behavior was evaluated with the elevated plus maze.

Results: In the Morris water maze, stress-parsley groups 1 and 2 showed a significant reduction in the time and distance traveled to reach the hidden platform compared to the stress group ($p < 0.01$ and $p < 0.05$, respectively). In the probe test, these groups spent a greater distance and time in the target quadrant compared to the stress group (stress-parsley group 1, $p < 0.05$; stress-parsley group 2, $p < 0.01$). Additionally, the elevated plus maze results indicated that the percentage of entries into the open arm and time spent in this arm were significantly higher in the stress-parsley groups compared to the stress group ($p < 0.05$).

Conclusion: In rats exposed to chronic immobility stress, hydroalcoholic Hydroalcoholic extract of parsley improved learning and spatial memory, as well as reduced while reducing anxiety behavior, in rats exposed to chronic immobility stress, suggesting that it might have its potential therapeutic effects for treating stress-induced disorders.

Keywords: Parsley (*Petroselinum crispum*), Spatial memory, Anxiety

¹ MSc in Physiology, Department of Physiology, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran.

² Associate professor, Department of Physiology, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran.

* Corresponding Author: Department of Physiology, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran
Tel: 0912-5606327
E-mail: mrrousta58@gmail.com