مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره ۲۳، شماره ۱۰، دی ۱۳۹۴
صفحه: ۹۴۲-۹۳۲

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol. 23, No.10, Jan 2016
Pages: 932-942

اثر تجویز درون‌صفاقی عصاره هیدروالکلی و هگزانی گل‌های حرارت دیده پایه ماده گیاه شاهدانه بر رفتار اضطرابی، تعادل و فعالیت حرکتی در موش صحرایی نر

بهرام فرهادی مقدم[۱]، مسعود فریدونی*[۲]، علی اسدالهی[۳]

چکیده

مقدمه: کانابینوئیدهای گیاهی دکربوکسیله گیرنده‌های CB_1 سیستم اندوکانابینوئیدی را در سیستم عصبی مرکزی فعال می‌کنند. سیستم اندوکانابینوئیدی با سیستم‌های دوپامینی و سروتونینی برهمکنش دارد و بر فرآیندهای رفتاری مؤثر است. هدف این تحقیق بررسی اثر عصاره هیدروالکلی و هگزانی گل‌های حرارت دیده پایه ماده گیاه شاهدانه حاوی کانابینوئیدهای دکربوکسیله بر اضطراب، فعالیت و تعادل حرکتی است.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی به طور تصادفی از موش‌های صحرایی نر بالغ ویستار(۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم) در گروه‌های هفت‌تایی کنترل، شم (تجویز حلال با ترکیب اتانول/توئین۸۰/سالین با نسبت ۸/۱/۱)، تجویز صفاقی دوز ۵۰mg/kg عصاره هیدروالکلی و دوز ۵۰mg/kg عصاره هگزانی گل‌های حرارت دیده استفاده شد. سپس برای سنجش میزان اضطراب، فعالیت حرکتی و تعادل حرکتی در هر گروه به ترتیب دستگاه ماز صلیبی مرتفع، فضای باز و میله چرخان شتابدار مورد استفاده قرار گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با آنالیز آریانس یک‌طرفه و تست تعقیبی Neumann-keuls انجام شد.

نتایج: نتایج نشان داد که تجویز صفاقی دوز ۵۰mg/kg عصاره هگزانی موجب کاهش معنی‌دار تعداد ورود به بازوهای باز($P<۰/۰۵$)، مدت زمان اقامت در بازوهای باز($P<۰/۰۱$) ماز صلیبی مرتفع، و همچنین کاهش معنی دار میزان فعالیت حرکتی($P<۰/۰۱$) و کاهش معنی دار زمان حفظ تعادل($P<۰/۰۰۱$) شده است.

نتیجه‌گیری: احتمالاً تجویز عصاره هگزانی دارای کانابینوئیدهای دکربوکسیله بیشتری نسبت به عصاره هیدروالکلی است و موجب کاهش فعالیت حرکتی، زمان حفظ تعادل حرکتی و افزایش اضطراب با فعال کردن گیرنده‌های CB_1 شده است.

واژه‌های کلیدی: شاهدانه، گیرنده‌های کانابینوئیدی،کانابینوئیدهای دکربوکسیله، هگزان

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، مرکز تحقیقات علوم اعصاب و رفتار رایان، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد
۲- دانشیار، مرکز تحقیقات علوم اعصاب و رفتار رایان، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد
۳- استادیار، مرکز تحقیقات علوم اعصاب و رفتار رایان، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد
* (نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۹۱۵۵۲۴۲۰۱۵، پست الکترونیکی: fereidoni@um.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۲/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۸/۲۱

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-08-20]

مقدمه

سه گروه کانابینوئیدهای درون‌زاد، طبیعی و صنعتی توسط سیستم اندوکانابیوئیدی در بدن شناسایی شده و این سیستم را تحت تأثیر قرار می‌دهند(۳-۱). تا کنون ۴۸۳ ترکیب طبیعی از گیاه شاهدانه بدست آمده است که ۶۶ ترکیب آنها کانابینوئیدی و بقیه غیرکانابینوئیدی هستند و شامل ترکیباتی همچون ترپنوئیدها، هیدروکربن‌ها، ترکیبات نیتروژن‌دار، کربوهیدرات‌ها، فلاونوئیدها، اسیدهای چرب، فنول‌های غیرکانابینوئیدی، الکل‌های ساده، آلدهیدها، کتون‌ها، اسیدها، استرها، لاکتون‌ها و سایر ترکیبات دیگر می‌باشند(۴). کانابینوئیدهای طبیعی گروهی از ترکیبات ترپنوفنولیک غیر قطبی هستند که به میزان بسیار بالایی در گل‌های پایه ماده گیاه شاهدانه تولید می‌گردند و اصلی‌ترین آنها Tetrahydrocannabinolic acid (THCA) و Cannabidiolic acid (CBDA) می‌باشد(۴). این گیاه مدت‌هاست که به عنوان گیاه موثر بر سیستم عصبی و حالات مربوط به استرس شناخته می‌شود(۱،۶).

کانابینوئیدهای گیاهی در اثر حرارت دیدن با خروج گاز دی اکسید کربن، دکربوکسیله شده و تغییر ساختار می‌دهند، به عنوان مثال می‌توان به THCA و CBDA اشاره کرد که در اثر حرارت به ترتیب به(THC) Tetrahydrocannabinol و(CBD) Cannabidiol تبدیل می‌گردند و معمولاً شکل دکربوکسیله را فعال به حساب می‌آورند(۷). کانابینوئیدها اثرات خود را با فعال‌نمودن گیرنده‌های کانابینوئیدی CB_1 و CB_2 و غیر کانابینوئیدی Transient receptor potential vanilloid1($TRPV_1$)، Peroxisome proliferator-activated receptor (PPARs) و Orphan G protein-coupled receptor (GPR55, GPR119) اعمال می‌نمایند(۱،۲،۸).

سیستم اندوکانابینوئیدی به واسطه فعالیت گیرنده‌های کانابینوئیدی و غیر کانابینوئیدی در سیستم عصبی مرکزی، بر اضطراب، تعادل و فعالیت حرکتی مؤثر است(۱،۸،۹). سیستم اندوکانابینوئیدی هم به صورت مستقیم و هم در بر هم کنش با سایر سیستم‌ها از قبیل سیستم‌های اپیوئیدی(۱۰)، وانیلوئیدی(۱۱)، سروتونینی(۱۲) و دوپامینی(۱۳) می‌تواند بر فرآیندهای فیزیولوژیکی اثر بگذارد.

از مدت‌ها قبل بررسی‌ها بر روی مدل‌های انسانی و جانوری اضطراب نشان داده است که کانابینوئیدهای گیاهی اثرات دو سویه‌ای بر اضطراب دارند، بدین صورت که در مقادیر پایین اثرات ضد اضطرابی دارند(۱۴).

اضطراب فرآیندی رفتاری است که تحت کنترل سیستم‌های سروتونینی، نورآدرنرژیکی و کورتیزول ناشی از فعالیت محور هیپوتالاموسی- هیپوفیزی- آدرنالی است(۱۵). دو سیستم اندوکانابینوئیدی و سروتونرژیکی فعالیت محور هیپوتالاموسی– هیپوفیزی– آدرنالی را کنترل می‌نمایند. حضور گیرنده‌های 5-HT(گیرنده‌های سروتونینی) در هسته پاراونتریکولار هیپوتالاموس(این ناحیه محلی برای تنظیم پاسخ نوروآندوکرین به استرس و اضطراب است) در کنار گیرنده‌های CB_1 دلیلی بر این مدعاست و این هسته در تنظیم پاسخ‌های سیستم نوروآندوکرین به استرس نقش دارد. فعالیت گیرنده‌های $5\text{-}HT_{1A}$ توسط آگونیست‌های خود و مهارگرهای بازجذب سروتونین موجب کاهش ترشح هورمون آدرنوکورتیکوتروپین (ACTH) و کورتیکوسترون ناشی از عوامل استرس‌زا گشته و رفتارهای ضداضطرابی را القاء می‌کند که می‌تواند برای درمان کلینیکی اضطراب و استرس مورد استفاده قرار گیرد. پس می‌توان گفت که این دو سیستم واکنش‌هایی را در میان خود دارند که در تنظیم و تعدیل رفتارهای نامبرده مؤثر است(۸).

تعادل و فعالیت حرکتی توسط نواحی قشر حرکتی مخ، عقده‌های قاعده‌ای، نورون‌های دوپامینرژیک مسیر جسم سیاه-اجسام مخطط و مخچه کنترل می‌گردد. در این میان، فعالیت سلول‌های پورکنژ مخچه بر رفتار حرکتی نقش مهمتری را داراست(۱۶).

در مدارات نورونی، بازال گانگلیا که در تنظیم حرکات، انگیزش و پاداش نقش دارد، دوپامین اصلی‌ترین میانجی است. نقص و پرکاری سیستم دوپامینی می‌تواند به ترتیب موجب پارکینسون و شیزوفرنی گردد. سیستم‌های اندوکانابینوئیدی و

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-08-20]

دوپامینی در اثرگذاری بر فرآیندهای شناختی و کنترل حرکات نقش دارند. به‌نحوی که کانابینوئیدها با فعال کردن گیرنده های کانابینوئیدی و غیر کانابینوئیدی $TRPV_1$ فعالیت نورون‌های دوپامینرژیک را تحت تأثیر قرار می‌دهند(۱۷).

در پژوهش‌های قبلی که روی اثر تجویز صفاقی عصاره‌های هیدروالکلی و هگزانی گل‌های حرارت دیده پایه ماده شاهدانه بر دردهای شیمیایی و حرارتی صورت گرفته است(۱۸)، مشخص شد که دوز ۵۰mg/kg عصاره‌های هگزانی و هیدروالکلی گل‌های حرارت دیده توانسته موجب کاهش احساس درد شود. این تحقیق به بررسی اثرات دوز ۵۰mg/kg این عصاره‌ها بر رفتارهای اضطرابی، فعالیت و تعادل حرکتی می‌پردازد و این فرضیه مطرح می‌گردد که ممکن است عصاره گل‌های حرارت دیده پایه ماده گیاه شاهدانه به واسطه داشتن کانابینوئیدهای دکربوکسیله، با توجه به نوع عصاره، می‌تواند با فعال نمودن سیستم اندوکانابینوئیدی و در بر هم‌کنش با سیستم‌های سروتونینی و دوپامینی بر فرآیندهای اضطراب، تعادل و فعالیت حرکتی اثرگذار باشد. به همین منظور در این مطالعه به بررسی اثر حاصل از تجویز صفاقی دوز ۵۰mg/kg عصاره‌های هگزانی و هیدروالکلی گل‌های حرارت دیده بر فرآیندهای اضطراب، تعادل و فعالیت حرکتی پرداخته شده است.

روش بررسی

در این پژوهش، از موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم(۱۸/۵۱±۲۲۷/۴) که در حیوانخانه گروه زیست‌شناسی دانشگاه فردوسی مشهد در شرایط استاندارد با درجه حرارت ۲۱ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۰٪ و سیکل نوری ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی و امکان دسترسی به آب و غذای کافی، نگهداری شدند، استفاده گردید. حیوانات به صورت تصادفی در سه دسته: الف) در بر دارنده ۴ گروه هفت‌تایی شامل گروه کنترل(بدون تیمار)، گروه شم (دریافت‌کننده حلال شامل ترکیب اتانول، توئین ۸۰ و سالین به ترتیب با نسبت‌های ۸:۱:۱)، گروه دریافت‌کننده صفاقی عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت دیده با دوز ۵۰ mg/kg(۱۹)، گروه دریافت کننده صفاقی دوز ۵۰ mg/kg عصاره هگزانی گل‌های حرارت دیده، به منظور بررسی آزمون اضطراب. ب) در بر دارنده ۴ گروه هفت‌تایی شامل گروه کنترل، گروه شم، گروه دریافت‌کننده صفاقی عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت دیده با دوز ۵۰ mg/kg، گروه دریافت‌کننده صفاقی دوز ۵۰ mg/kg عصاره هگزانی گل‌های حرارت دیده، به منظور بررسی آزمون فعالیت حرکتی. ج) در بر دارنده ۴ گروه هفت‌تایی شامل گروه کنترل، گروه شم، گروه دریافت‌کننده صفاقی عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت دیده با دوز ۵۰ mg/kg، گروه دریافت‌کننده صفاقی دوز ۵۰ mg/kg عصاره هگزانی گل‌های حرارت دیده، به منظور بررسی آزمون تعادل حرکتی، قرار گرفتند. کلیه مراحل آزمایش‌ها تحت مقررات بین‌المللی رعایت حقوق حیوانات آزمایشگاهی انجام گرفت(۲۰).

به منظور عصاره گیری، از گل‌های پایه ماده گیاه شاهدانه که توسط آزمایشگاه بیوسیستماتیک گیاهی تهیه و با کد هرباریومی ۴۴۶۹۰ توسط پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی تأیید و نگهداری شده بود، استفاده گردید.

ابتدا گل‌ها عاری از برگ و ساقه شده و به منظور خشک کردن در مکانی تاریک و خشک به مدت دو هفته نگهداری شدند و سپس برای هر عصاره گیری مقدار ۵۰ گرم از ماده خشک مورد استفاده قرار گرفت. جهت تهیه عصاره هگزانی (حلال غیرقطبی) گل‌های حرارت دیده، ماده خشک به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد در آون حرارت داده شد و سپس با هگزان و روش ماسراسیون(خیساندن) (۲۱) عصاره‌گیری و سپس توسط کاغذ صافی، صاف گردید. برای تهیه عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت دیده، ماده خشک پس از حرارت دیدن، با استفاده از اتانول ۷۰٪(۲۲) به روش خیساندن عصاره‌گیری شد. پس از عصاره گیری حلال‌ها به طور کامل تبخیر شدند. پس از خشک شدن، میزان عصاره هگزانی به دست آمده از ۵۰ گرم ماده خشک نسبت به میزان عصاره هیدروالکلی حاصله از آن کمتر بود.

با توجه اثرات رفتاری کانابینوئیدهای گیاهی و نتایج حاصل از تجویز صفاقی در آزمون‌های قبلی درد(۱۸)، دوز ۵۰mg/kg عصاره‌های هگزانی و هیدروالکلی گل‌های حرارت دیده به عنوان

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-08-20]

مؤثرترین دوز در تسکین درد شناسایی شده است و در آزمون‌های زیر مورد بررسی قرار گرفت.

آزمون بررسی میزان اضطراب توسط ماز صلیبی مرتفع (Elevated Plus Maze)- این ابزار بر اساس دو غریزه جستجوگری در جوندگان و احتراز از محیط‌های باز و روشن طراحی شده است به طوریکه حیوان سالم بیشتر وقت خود را در بازوهای باز گذرانده و تمایل بیشتری به جستجو در آن بازوها را دارد(۲۳). در این آزمون، پس از گذشت ۳۰ دقیقه از هر تجویز صفاقی، حیوان در مرکز ماز قرار داده شد تا مدت ۱۰ دقیقه آزادانه در قسمت‌های مختلف ماز حرکت نماید، سپس پارامترهای زیر ثبت و اندازه‌گیری گردید:

۱) تعداد دفعاتی که حیوان وارد راهروهای باز شد (Open Arms Entry OAE٪)، ۲) مدت زمانی که حیوان در راهروهای باز اقامت کرد(Open Arms Times OAT٪). منظور از ورود به راهرو باز هنگامی است که هر چهار پای حیوان در راهرو مورد نظر قرار گیرد همچنین زمان گذرانده شده در هر راهرو نیز بر همین اساس محاسبه گردید. سپس برای هر حیوان درصد ورود به بازوهای باز و درصد زمان گذرانده شده در آن به صورت زیر محاسبه شد:

$$\text{درصد زمان گذرانده شده در راهرو باز} = \frac{\text{مدت زمان گذرانده شده در راهرو باز}}{\text{مدت زمان گذرانده شده در راهرو باز+مدت زمان گذرانده شده در راهرو بسته}} \times ۱۰۰$$

$$\text{درصد ورود به راهرو باز} = \frac{\text{تعداد ورود به راهرو باز}}{\text{تعداد ورود به راهرو باز + تعداد ورود به راهرو بسته}} \times ۱۰۰$$

در این آزمون کاهش معنی‌دار میزان زمان گذرانده شده در راهرو باز و میزان ورود به راهرو باز نشان‌دهنده افزایش شدت اضطراب است(۲۳).

آزمون بررسی میزان فعالیت حرکتی با آزمون فضای باز (Open field)- این آزمون برای ارزیابی پاسخ‌های رفتاری مانند فعالیت حرکتی، بیش فعالی، رفتار جستجوگرانه(۲۴) استفاده گردید. کف دستگاه به ۲۵ ناحیه مساوی تقسیم شده است و پس از گذشت ۳۰ دقیقه از تجویز صفاقی، حیوان به آرامی و به صورت تصادفی در یکی از چهار گوشه دستگاه قرار داده شد و اجازه یافت تا آزادانه به مدت ۵ دقیقه کاوش کند. در طول این مدت، رفتار موش با دوربین فیلم‌برداری ضبط شد و تعداد مربع‌هایی را که حیوان از آنها عبور کرد(Crossing) شمرده و مبنای اندازه‌گیری فعالیت حرکتی در نظر گرفته شد.

آزمون بررسی تعادل حرکتی توسط دستگاه میله چرخان شتابدار(Rotarod test)- استفاده از این روش به منظور بررسی قدرت حفظ تعادل حرکتی و شلی عضلانی صورت می‌پذیرد(۲۵). به منظور بررسی سالم‌بودن حیوانات تحت آزمایش و همچنین آموزش آنها، ۲۴ ساعت قبل از اجرای مرحله آزمون اصلی، هر موش سه بار و با فواصل زمانی ۱۵ دقیقه‌ای بر روی دستگاه با سرعت ثابت ۱۰ دور در دقیقه قرار داده شده‌اند. هر موشی که بتواند بین ۱ تا ۲ دقیقه خود را بر روی میله نگاه دارد سالم در نظر گرفته می‌شود. در مرحله آزمون اصلی، پس از گذشت ۳۰ دقیقه از هر تجویز صفاقی، موش‌ها بر روی میله دستگاه قرار داده شده و سرعت دستگاه به صورت شتابدار از صفر به ۴۰ دور در دقیقه در حال تغییر افزایشی قرار داده شد. از هر موش سه بار آزمون با فاصله زمانی ۱۵ دقیقه‌ای گرفته و سه زمان تأخیر سقوط ثبت شد. در این آزمون مدت زمانی که موش توانسته تعادل خود را حفظ و در مقابل حرکت گردونه مقاومت کند ثبت گردید. در پایان نیز برای بررسی آماری میانگین زمان‌های ثبت شده محاسبه شد. حداکثر زمان مورد بررسی برای هر حیوان در این آزمون ۵ دقیقه در نظر گرفته شد(۲۵).

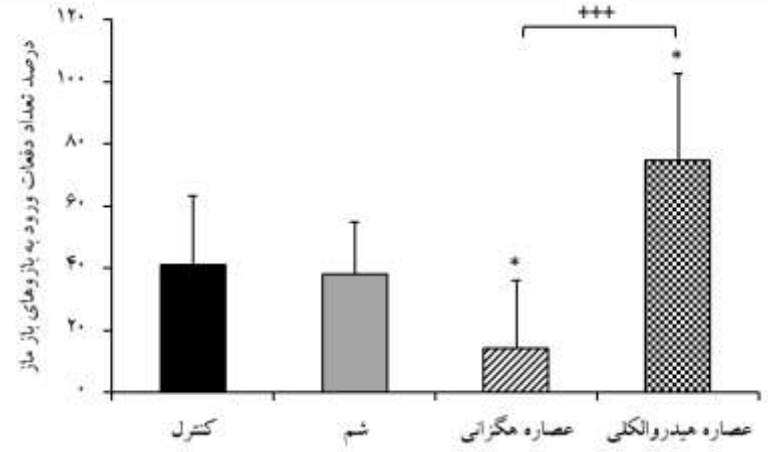
تجزیه و تحلیل آماری- نتایج به صورت mean±SD ارائه شد. معنی‌داری تفاوت بین میانگین‌ها با آزمون ANOVA یک‌طرفه و با استفاده از نرم‌افزار آماری GraphPad Prism 6 و به دنبال آن مقایسه میانگین‌ها با آزمون تعقیبی T-Student-Neumann-keuls با پیش شرط معنی‌داری بدون فاصله اطمینان و با حداقل سطح معنی‌داری$P<۰/۰۵$ برآورد شدند.

نتایج

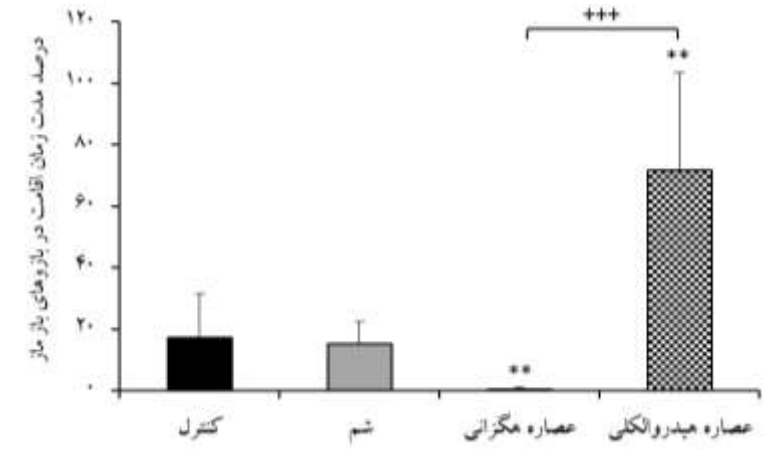
بررسی میزان اضطراب بر اساس تعداد ورود به بازوهای باز (نمودار۱) و مدت زمان سپری شده در این بازوها(نمودار۲) بین گروه‌های کنترل، شم و گروه‌های دریافت‌کننده دوز ۵۰mg/kg عصاره‌های هیدروالکلی و هگزانی گل‌های حرارت دیده، در

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-08-20]

آزمون ماز صلیبی مرتفع نشان داد که هیچ تفاوت معنی‌داری میان گروه‌های شم و کنترل در تعداد ورود و زمان سپری شده در بازوی باز وجود نداشت. اما تجویز دون صفاقی دوز ۵۰mg/kg عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت دیده در مقایسه با گروه کنترل توانست به صورت معنی‌داری تعداد ورود به بازوهای باز (P<۰/۰۵) و همچنین مدت زمان اقامت در بازوهای باز(P<۰/۰۱) را افزایش دهد. در مقابل دوز ۵۰mg/kg عصاره هگزانی در قیاس با گروه کنترل موجب کاهش معنی‌دار تعداد ورود به بازوهای باز(P<۰/۰۵) و مدت زمان اقامت در بازوهای باز(P<۰/۰۱) گردید همچنین عصاره هگزانی تعداد ورود به بازوهای باز و مدت زمان اقامت در آنها را نیز نسبت به عصاره هیدروالکلی کاست(P<۰/۰۰۱)، (نمودار ۱ و ۲).



نمودار ۱: مقایسه درصد تعداد دفعات ورود به بازوهای باز در ماز صلیبی مرتفع. تجویز عصاره هگزانی میزان دفعات ورود به بازوهای باز را کاهش و تجویز عصاره هیدروالکلی میزان ورود به بازوهای باز را افزایش داد. داده‌ها به صورت mean±SD ارائه شده و n=۷ می‌باشد، (P<۰/۰۵* در مقایسه با گروه کنترل و P<۰/۰۰۱+++ در مقایسه با گروه عصاره هیدروالکلی).

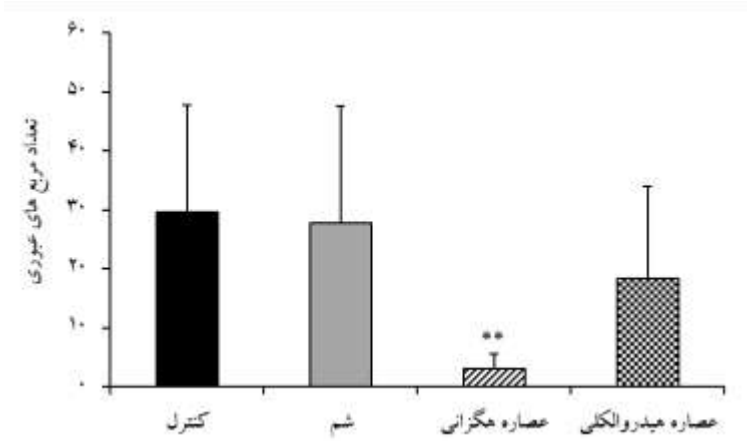


نمودار ۲: مقایسه درصد زمان اقامت در بازوهای باز ماز صلیبی مرتفع. تجویز عصاره هگزانی مدت زمان اقامت در بازوهای باز را کاهش و تجویز عصاره هیدروالکلی مدت زمان اقامت در بازوهای باز را افزایش داد. داده ها به صورت mean±SD ارائه شده و n=۷ می‌باشد، (P<0.01** در مقایسه با گروه کنترل و P<0.001+++ در مقایسه با گروه عصاره هیدروالکلی)

بررسی میزان فعالیت حرکتی بین گروه‌های کنترل، شم و گروه‌های دریافت‌کننده صفاقی دوز ۵۰mg/kg عصاره‌های هیدروالکلی و هگزانی گل‌های حرارت دیده در آزمون فضای باز حاکی از آن بود که گروه‌های کنترل و شم با یکدیگر اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند از طرفی دوز ۵۰mg/kg عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت دیده از نظر تأثیرگذاری بر میزان فعالیت حرکتی، اختلاف معنی‌داری را با گروه کنترل نشان نداد، اما دوز ۵۰mg/kg عصاره هگزانی در مقایسه با گروه

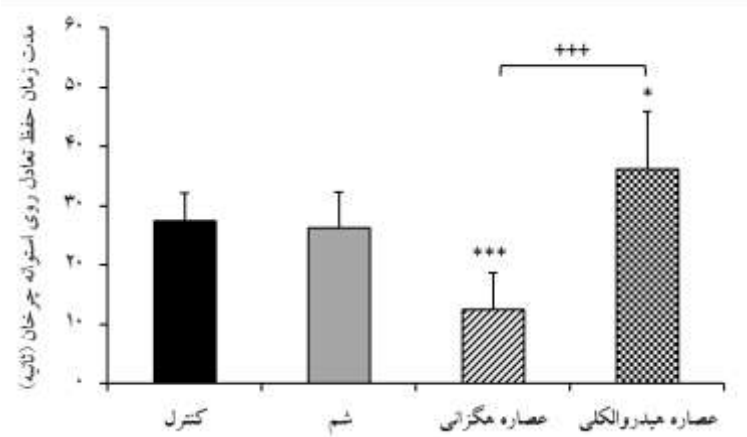
[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-08-20]

کنترل توانست منجر به کاهش معنی‌دار فعالیت حرکتی گردد (P<۰/۰۱)، (نمودار ۳).



نمودار ۳: مقایسه فعالیت حرکتی بر اساس تعداد مربع‌های عبوری در آزمون فضای باز. تجویز عصاره هگزانی منجر به کاهش فعالیت حرکتی گردید. داده‌ها به صورت mean±SD ارائه شده و n=۷ می باشد، (P<۰/۰۱** در مقایسه با گروه کنترل).

مقایسه تعادل حرکتی بین گروه‌های کنترل، شم و گروه‌های دریافت‌کننده صفاقی دوز ۵۰mg/kg عصاره‌های هیدروالکلی و هگزانی گل‌های حرارت دیده در آزمون میله چرخان شتابدار نشان داد که بین گروه‌های کنترل و شم با یکدیگر اختلاف معنی‌داری وجود ندارد اما دوز ۵۰mg/kg عصاره هیدروالکلی حرارت دیده در مقایسه با گروه کنترل موجب افزایش معنی‌دار زمان حفظ تعادل بر میله چرخان در آزمون روتارد شد(P<۰/۰۵). از طرفی دوز ۵۰mg/kg عصاره هگزانی در مقایسه با گروه کنترل و گروه دریافت‌کننده عصاره هیدروالکلی به صورت قابل توجهی زمان حفظ تعادل را در آزمون روتارود کاهش داد(P<۰/۰۰۱)، (نمودار ۴).



نمودار ۴: مقایسه میانگین مدت زمان حفظ تعادل بر روی استوانه چرخان (زمان مقاومت) در آزمون روتارد. تجویز عصاره هگزانی مدت زمان حفظ تعادل بر روی استوانه چرخان را کاهش اما تجویز عصاره هیدروالکلی مدت زمان حفظ تعادل را افزایش داد. داده‌ها به صورت mean±SD ارائه شده و n=۷ می‌باشد، (P<۰/۰۰۱*** و P<۰/۰۵* در مقایسه با گروه کنترل و P<۰/۰۰۱+++ در مقایسه با گروه عصاره هیدروالکلی).

بحث

با توجه به یافته‌های پیشین، مطالعات زیادی نشان داده‌اند که در اثر اتصال کانابینوئیدها، گیرنده‌های کانابینوئیدی(CB_1 و CB_2) متصل به جی پروتئین فعال می‌شوند و فعالیت آنزیم آدنیلیل سیکلاز(AC) را مهار کرده، میزان AMP حلقوی(cAMP) کاهش یافته و پروتئین کیناز A (PKA) نیز مهار می‌گردد، که با کاهش فسفریلاسیون کانال‌های پتاسیمی

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-08-20]

موجب باز شدن این کانال‌ها و خروج پتاسیم از سلول می‌شود(۱،۱۴). علاوه بر این، با مهار کانال‌های دریچه‌دار کلسیمی وابسته به ولتاژ ورود کلسیم کاهش می‌یابد و از این طریق می‌توانند موجب کاهش تحریک‌پذیری سلول و کاهش آزادسازی میانجی‌هایی چون گلوتامات،گابا و استیل کولین گردد(۱،۱۴).

عصاره هیدروالکلی و هگزانی گل‌های حرارت دیده حاوی کانابینوئیدهای دکربوکسیله می‌باشند و احتمالاً از طریق همین کانابینوئیدها و مکانیسم‌های وابسته به آنهاست که توانسته اثرات خود را بر فرآیندهای رفتاری اعمال نماید. یافته‌های برخی مطالعات نشان‌دهنده اثرات دو وجهی(تحریکی- مهاری) کانابینوئیدها به ویژه THC به عنوان ترکیب اصلی روانگردان گیاه شاهدانه بر جنبه‌های مختلف عملکرد مغز نظیر آزادسازی میانجی‌ها است(۲۷،۲۸).

اثرات دو وجهی کانابینوئیدها بر اضطراب بدین صورت است که در مقادیر پایین اثرات ضداضطرابی را از خود بروز داده(۱۴) و در مقادیر بالا به علت تحریک و فعال‌سازی $TRPV_1$ نسبت به CB_1 (۲۹) موجب اضطراب و وحشت می‌گردند(۱۴). کانال‌های $TRPV_1$، کانال‌های کاتیونی دریچه‌داری هستند که در صورت فعال شدن، موجب افزایش ورود کاتیون‌های سدیم و کلسیم به درون نورون و افزایش حساسیت و تحریک‌پذیری فیبرهای عصبی می‌گردد.

با توجه به یافته‌های این تحقیق، احتمالاً عصاره هگزانی توانسته است کانابینوئیدهای گیاهی دکربوکسیله بیشتری را استخراج نماید و احتمالاً این کانابینوئیدها در دوزهای بالا(۵۰mg/kg) با اتصال به گیرنده‌های $TRPV_1$ موجب افزایش احساس اضطراب شده به طوریکه زمان گذرانده شده در بازوهای باز ماز صلیبی مرتفع کاهش یافته است. در مورد عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت دیده نیز گمان می‌رود که با داشتن مقادیر کم کانابینوئیدها و فعال‌کردن گیرنده CB_1 در نواحی مرتبط با اضطراب، اثر ضداضطرابی از خود بروز داده است.

گیرنده CB_1 با تراکم بالا در مراکز مغزی حاوی نورون‌های دوپامینرژیک نظیر هسته‌های قاعده‌ای، نواحی تگمنتال و نورون‌های مسیر جسم سیاه- اجسام مخطط که با آزادسازی میانجی دوپامین در کنترل رفتارهای حرکتی نقش ایفا می‌نمایند حضور دارد و فعالیت این گیرنده توسط کانابینوئیدها موجب تغییر در عملکرد نورون‌های دوپامینرژیکی و میزان فعالیت حرکتی می‌گردد(۱۳،۲۷،۳۰).

مطالعاتی که بر روی مصرف ۲- دئوکسی گلوکز در نواحی قشری مغز صورت گرفته، تأثیر وابسته به دوز و دو وجهی کانابینوئیدها به ویژه THC را بر فعالیت حرکتی اثبات نموده است. به نحوی که مقادیر بالای THC برخلاف مقادیر پایین آن موجب کاهش متابولیسم ساختارهای قشری و لیمبیک می‌گردد(۲۷). علاوه بر این، تجویز حاد مقادیر بالای THC با فعال‌کردن گیرنده CB_1 حاضر بر نورون‌های پرتابی و اینترنورون‌های گلوتاماترژیک و گاباارژیک مدار نورون‌های دوپامینرزیکی عقده‌های قاعده‌ای و مسیر جسم سیاه- جسم مخطط، موجب تغییر فعالیت این نورون‌ها و کاهش آزادسازی دوپامین از این نورون‌ها می‌شود که کاهش فعالیت حرکتی و نقایص حرکتی نظیر کاتالپسی و آتاکسی را به دنبال دارد (۱۳، ۳۰، ۳۲-۲۷).

همچنین کانابینوئیدها با فعال‌کردن گیرنده CB_1 موجود بر پایانه آکسون نورون‌های سروتونینی پرتاب شده به هیپوکامپ و قشر پیش پیشانی می‌تواند موجب کاهش آزادسازی سروتونین در این نواحی گردد(۱۲).

گمان می‌رود که کانابینوئیدهای دکربوکسیله موجود در عصاره‌های هگزانی و هیدرو الکلی حرارت دیده با فعال‌نمودن گیرنده‌های CB_1 موجب کاهش آزادسازی دوپامین و سروتونین شده و فعالیت حرکتی را کاهش می‌دهد.

تعادل حرکتی توسط نواحی قشر حرکتی مخ، عقده‌های قاعده‌ای و مخچه کنترل می‌گردد. در این میان، فعالیت سلول‌های پورکنژ مخچه بر رفتار حرکتی نقش مهمتری را داراست(۱۶). کانابینوئیدهای برون‌زاد با فعال‌نمودن گیرنده CB_1 سلول‌های پورکنژ مخچه و ورودی‌های گلوتاماترژیک این سلول‌ها، موجب کاهش آزادسازی میانجی آنها و اختلال در تعادل می‌گردد(۳۳). علاوه بر گیرنده CB_1، گیرنده GPR55 به عنوان یک گیرنده کانابینوئیدی با حضور در نواحی قشر حرکتی، عقده‌های قاعده‌ای و

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-08-20]

مخچه در تنظیم تعادل حرکتی نقش دارد(۱۶). این گیرنده در اتصال با دوزهای پایین THC فعال شده و با فعال‌نمودن گیرنده‌های IP_3 شبکه اندوپلاسمی موجب افزایش کلسیم درون سلولی از طریق این ذخایر می‌گردد از طرف دیگر این گیرنده با مهار کانال‌های پتاسیمی و خروج پتاسیم از سلول، موجب افزایش تحریک‌پذیری سلول می‌گردد. فعالیت این گیرنده در مخچه می‌تواند در بهبود تعادل حرکتی نقش داشته باشد(۳۴). نتایج برخی از تحقیقات نیز نشان می‌دهد که مقادیر بالای THC به عنوان آگونیست گیرنده CB_1 حاضر بر نورون‌های حرکتی کولینرژیک موجب مهار آزادسازی میانجی استیل کولین و انقباض عضلانی ناشی از آن می‌گردد(۳۴).

احتمالاً مقادیرکانابینوئیدهای دکربوکسیله‌ای که در عصاره هگزانی وجود دارد نسبت به عصاره هیدروالکلی، بیشتر بوده و در دوز بالا با اتصال به گیرنده‌های CB_1 در مخچه موجب عدم تعادل در تست روتارود شده است. در مقابل، مقادیر کمتر کانابینوئیدهای مستخرج در عصاره هیدروالکلی با اتصال به گیرنده‌های GPR55 موجب بهبود تعادل در تست روتارود نسبت به گروه کنترل شده است. بنابراین با توجه به اثرات ضد دردی و ضد التهابی گیاه شاهدانه و با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق، جهت استفاده‌های درمانی از این گیاه به منظور تسکین درد و بهبود التهاب، استفاده از عصاره هیدروالکلی گیاه پیشنهاد می‌شود.

نتیجه‌گیری

احتمالاً کانابینوئیدهای گیاهی دکربوکسیله موجود در عصاره‌های هیدروالکلی و هگزانی گل‌های حرارت دیده پایه ماده گیاه شاهدانه با فعال‌کردن گیرنده CB_1 بر فرآیندهای رفتاری اضطراب، فعالیت و تعادل حرکتی مؤثر هستند و این تأثیر به مقادیر استخراج شده و دوز مورد استفاده عصاره بستگی دارد. بنابراین با توجه به یافته‌های این تحقیق، شاید بتوان عصاره هیدروالکلی گل‌های حرارت دیده پایه ماده گیاه شاهدانه را جهت استفاده‌های درمانی برای درمان اضطراب مد نظر قرار داد.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل پایان‌نامه دانشجویی در مقطع کارشناسی‌ارشد می‌باشد که با حمایت گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم دانشگاه فردوسی مشهد انجام شده است، بدین وسیله از دانشگاه فردوسی مشهد و همچنین از جناب آقای دکتر Arno Hazekamp عضو مؤسسه تحقیقاتی زیست‌شناسی دانشگاه لیدن هلند تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

References

1- Svízenská I, Dubový P, Sulcová A. ***Cannabinoid receptors 1 and 2 (CB1 and CB2), their distribution, ligands and functional involvement in nervous system structures--a short review.*** Pharmacol Biochem Behav 2008; 90(4): 501-11.

2- Izzo AA, Sharkey KA. ***Cannabinoids and the gut: new developments and emerging concepts.*** Pharmacol Ther 2010; 126(1): 21-38.

3- Fisar Z. ***Phytocannabinoids and Endocannabinoids.*** Current Drug Abuse Reviews 2009; 2(1): 51-75.

4- Burns TL, Ineck JR. ***Cannabinoid analgesia as a potential new therapeutic option in the treatment of chronic pain.*** Ann Pharmacother 2006; 40(2): 251-60.

5- Hung-Wen L, Mander L. In: ***Comprehensive natural products II: Chemistry and Biology.*** editor. Elsevier: oxford 2010; 3:1033-84.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-08-20]

6- Parolaro D, Realini N, Vigano D, Guidali C, Rubino T. ***The endocannabinoid system and psychiatric disorders.*** Exp Neurol 2010; 224(1): 3-14.

7- Takeda S, Misawa K, Yamamoto I, Watanabe K. ***Cannabidiolic acid as a selective cyclooxygenase-2 inhibitory component in cannabis.*** Drug Metab Dispos 2008; 36(9): 1917-21.

8- Haj-Dahmane S, Shen RY. ***Modulation of the serotonin system by endocannabinoid signaling.*** Neuropharmacology 2011; 61(3): 414-20.

9- DeSanty KP, Dar MS. ***Cannabinoid-induced motor incoordination through the cerebellar CB (1) receptor in mice.*** Pharmacol Biochem Behav 2001; 69(1): 251-59.

10- Schoffelmeer ANM, Hogenboom F, Wardeh G, De Vries TJ. ***Interactions between CB1 cannabinoid and mu opioid receptors mediating inhibition of neurotransmitter release in rat nucleus accumbens core.*** Neuropharmacology 2006; 51(4): 773-81.

11- Oshita K, Inoue A, Tang HB, Nakata Y, Kawamoto M, Yuge O. ***CB(1) cannabinoid receptor stimulation modulates transient receptor potential vanilloid receptor 1 activities in calcium influx and substance P Release in cultured rat dorsal root ganglion cells.*** J Pharmacol Sci 2005; 97(3): 377-85.

12- Egashira N, Matsuda T, Koushi E, Mishima K, Iwasaki K, Shoyama Y, et al. ***Involvement of 5-hydroxytryptamine1A receptors in Delta9-tetrahydrocannabinol-induced catalepsy-like immobilization in mice.*** Eur J Pharmacol 2006; 550(1): 117-22.

13- Roser P, Gallinat J, Weinberg G, Juckel G, Gorynia I, Stadelmann AM. ***Psychomotor performance in relation to acute oral administration of Delta9-tetrahydrocannabinol and standardized cannabis extract in healthy human subjects.*** Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci 2009; 259(5): 284-92.

14- Sidhpura N, Parsons LH. ***Endocannabinoid-mediated synaptic plasticity and addiction-related behavior.*** Neuropharmacology 2011; 61(7):1070-87.

15- Hilbert K, Lueken U, Beesdo-Baum K. ***Neural structures, functioning and connectivity in Generalized Anxiety Disorder and interaction with neuroendocrine systems: A systematic review.*** J Affective Disorders 2014; 158: 114-26

16- Wu CS, Chen H, Sun H, Zhu J, Jew CP, Wager-Miller J, et al. ***GPR55, a G-protein coupled receptor for lysophosphatidylinositol, plays a role in motor coordination.*** PLoS One 2013; 8(4): 603-14.

17- Fernández-Ruiz J, Hernández M, Ramos JA. ***Cannabinoid-dopamine interaction in the pathophysiology and treatment of CNS disorders.*** CNS Neurosci Ther 2010; 16(3): e72-e91.

18- Farhadi Moghadam B, Fereidoni M, Asadollahi A. ***Effect of hexanic and hydroalcoholic extract of Cannabis sativa flowers on inflammatory paw edema in Rats.*** J Gorgan Uni Med Sci 2016; 17(4): 30-35. [Article in Persian]

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-08-20]

19- Tehranipour M, Javadmoosavi B. ***The neuroprotective effect of alcoholic extract of cannabis sativa on neuronal density of spinal cord alpha motoneurons after sciatic nerve injury in rats.*** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2011; 19: 339- 49. [persian].

20- Zimmermann M. ***Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals.*** Pain 1983; 16(2): 109-10.

21- Samsam-shariat SH. ***Extraction and isolation of active components from medicinal plants and identification and evaluation of them.*** Esfahan: Muni Pub; Iran 1993, pp: 12-13. [Text in Persian].

22- Makkizadeh TM, Farhoudi R, Rabii M, Rastifar M. ***Evaluation allelopathic effect of Hemp (Cannabis sativa L.) on germination and growth of three kinds of weeds.*** The quarterly academic J crop physio 2011; 3: 77-89. [Persian].

23- Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M. ***Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat.*** J Neurosci Methods 1985; 14(3):149-67.

24- Walsh RN, Cummins RA. ***The Open-Field Test: a critical review.*** Psychol Bull 1976; 83(3): 482-504.

25- Deacon RM. ***measuring motor coordination in mice.*** J visualized experiments 2013; 75: 1-8.

26- Katsidoni V, Kastellakis A, Panagis G. ***Biphasic effects of Δ9-tetrahydrocannabinol on brain stimulation reward and motor activity.*** Int J Neuropsychopharmacol 2013; 16(10): 2273-84.

27- Desrosiers NA, Ramaekers JG, Chauchard E, Gorelick DA, Huestis MA. ***Smoked cannabis' psychomotor and neurocognitive effects in occasional and frequent smokers.*** J Anal Toxicol 2015; 39(4): 251-61.

28- Parolaro D, Realini N, Vigano D, Guidali C, Rubino T. ***The endocannabinoid system and psychiatric disorders.*** Exp Neurol 2010; 224(1): 3-14.

29- Navarro M, Fernández-Ruiz JJ, De Miguel R, Hernández ML, Cebeira M, Ramos JA. ***Motor disturbances induced by an acute dose of delta 9-tetrahydrocannabinol: possible involvement of nigrostriatal dopaminergic alterations.*** Pharmacol Biochem Behav 1993; 45(2): 291-98.

30- Bosker WM, Karschner EL, Lee D, Goodwin RS, Hirvonen J, Innis RB, et al. ***Psychomotor function in chronic daily Cannabis smokers during sustained abstinence.*** PLoS One 2013; 8(1): e53127.

31- Drew WG, Miller LL, Wikler A. ***Effect of 9 -THC on the open-field activity of the rat.*** Psychopharmacologia 1972; 23(3): 289-99.

32- DeSanty KP, Dar MS. ***Involvement of the cerebellar adenosine A (1) receptor in cannabinoid-induced motor incoordination in the acute and tolerant state in mice.*** Brain Res 2001; 905(1): 178-87.

33- Lauckner JE, Jensen JB, Chen HY, Lu HC, Hille B, Mackie K. ***GPR55 is a cannabinoid receptor that increases intracellular calcium and inhibits M current.*** Proc Natl Acad Sci U S A 2008; 105(7): 2699-704.

34- Grassin-Delyle S, Naline E, Buenestado A, Faisy C, Alvarez JC, Salvator H, et al. ***Cannabinoids inhibit cholinergic contraction in human airways through prejunctional CB1 receptors.*** Br J Pharmacol 2014; 171(11): 2767-77.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-08-20]

Effect of Intraperitoneal Administration of Hydroalcoholic and Hexanic Extract of Heated Female Cannabis Sativa Flowertops on Anxiety Behavior, Motor Coordination and Locomotor Activity in the Male Rats

Farhadi Moghadam B (MSc)[1], Fereidoni M (PhD)[2*], Asadollahi A (PhD)[3]

[1,2,3] Rayan Center for Neuroscience and Behavior, Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad

Received: 20 May 2015 ***Accepted:*** 12 Nov 2015

Abstract

Introduction: Decarboxylated phytocannabinoids activates CB_1 receptors of endocannabinoid system in the central nervous system. Endocannabinoid system interacts with dopaminergic and serotoninergic systems, which seems to be effective on the behavior processes. Therefore, this study aimed to investigate the effect of hydroalcoholic and hexanic extract of heated female Cannabis sativa flowertops containing decarboxylated cannabinoids on anxiety, motor coordination and locomotor activity.

Methods: In this experimental study, adult male Wistar rats were randomly (200 to 250 g) used in two groups(n=7) of control and sham (administration of the solution vehicle (Tween 80, ethanol and saline with 1:1:8 proportions). IP administration of hydroalcoholic extract (50mg/kg dosage), and hexanic extract (50mg/kg dosage) were applied. The elevated plus maze, open field and rotarod apparatus were used in order to measure the anxiety, locomotor activity and motor coordination in each group, respectively. Moreover, the data analysis was carried out by one-way ANOVA and Neumann-keuls post-hoc test.

Results: The study results indicated that IP administration of hexanic extract (50mg/kg dosage) significantly reduced the numbers of entries into the open arms ($P<0.05$) as well as time of stay in the open arms ($P<0.01$) in evaluated plus maze. Furthermore, motor activity ($P <0.01$) and time coordination ($P <0.001$) were reported to significantly reduce.

Conclusion: The study findings revealed thst administration of hexanic extract has probably more decarboxylated cannabinoids than hydroalcoholic extract resulting in a decrease in the motor activity and time of motor coordination, yet an increase in anxiety via activation of CB_1 receptors.

Keywords: Cannabinoid receptors; Cannabis sativa; Decarboxylated cannabinoids; Hexane

This paper should be cited as:

Farhadi Moghadam B, Fereidoni M, Asadollahi A. ***Effect of intraperitoneal administration of hydroalcoholic and hexanic extract of heated female cannabis sativa flowertops on anxiety behavior, motor coordination and locomotor activity in the male rats.*** J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2016; 23(10): 932-42.

Corresponding author: Tel: 09155242015, Email: fereidoni@um.ac.ir

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2025-08-20]