Journal of Birjand University of Medical Sciences

Birjand University of Medical Sciences

Original Article

Dried lemon peel extract improves memory and reduces anxiety-like behavior in rats exposed to chronic immobilization

Yaghoob Bigdeli[1], Masoumeh Asle-Rousta[1]*

ABSTRACT

Background and Aims: Chronic immobilization is a type of stress that causes behavioral disorders such as anxiety and memory deficits by inducing oxidative stress and inflammation and modification of the neurotransmitters in the brain. In the present study, the effect of the hydroalcoholic extract of dried lemon peel (*Citrus aurantifolia*) on learning, spatial memory and anxiety-like behavior in adult male rats exposed to chronic immobilization was investigated.

Materials and Methods: In this experimental study, 40 male Wistar rats were used, which were divided into four groups: control, lemon, stress, and stress-lemon. To induce immobilization stress, the rats were immobilized in the restrainer cage for 6 hours every day for 21 consecutive days. Rats were treated with lemon extract (400 mg/kg) by gavage. Spatial learning and memory were assessed using the Morris water maze, and anxiety was studied using an elevated plus maze.

Results: Based on the obtained findings, the lemon extract treatment in animals exposed to immobilization stress led to more swim time and distance in the target quarter in the water maze compared with the stress group ($P<0.05$). The extract increased the percentage of entry into the open arm ($P<0.01$) and the percentage of time spent in the open arm ($P<0.05$) of the elevated plus maze in the rats.

Conclusion: Dried lemon peel extract improved learning and spatial memory in rats exposed to chronic immobilization and reduced their anxiety-like behaviors. Dried lemon peel extract possibly has a neuroprotective effect.

Keywords: Anxiety, Chronic immobilization stress, *Citrus aurantifolia*, Rat, Spatial memory

Citation: Bigdeli Y, Asle-Rousta M. [Dried lemon peel extract improves memory and reduces anxiety-like behavior in rats exposed to chronic immobilization]. J Birjand Univ Med Sci. 2023; 30(4): 353-361. [Persian]

DOI 10.61186/JBUMS.30.4.353

Received: November 13, 2023 **Accepted:** January 6, 2024

[1] Department of Physiology, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran

***Corresponding author:** Department of Physiology, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran
Tel: +98912 5606327 Fax: +9824 33460463 E-mail: mrousta58@gmail.com

[DOI: 10.61186/JBUMS.30.4.353]

مقاله اصیل پژوهشی

عصاره پوسته لیمو خشک موجب بهبود حافظه و کاهش رفتار شبه اضطرابی در رت¬های مواجه شده با بی¬حرکتی مزمن می¬شود

یعقوب بیگدلی [1]، معصومه اصل‌روستا [1]*

چکیده

زمینه و هدف: بی‌حرکتی مزمن نوعی استرس است که با القای استرس اکسیداتیو و التهاب و تغییر سطح نوروترانسمیترها در مغز، اختلالات رفتاری نظیر اضطراب و نقص حافظه را ایجاد می‌کند. در این تحقیق، اثر عصاره هیدروالکلی پوسته لیمو خشک (*Citrus aurantifolia*) را بر یادگیری و حافظه فضایی و رفتار شبه اضطرابی در رت‌های نر بالغ مواجه شده با بی‌حرکتی مزمن بررسی کردیم.

روش تحقیق: در این مطالعه تجربی، ۴۰ سر رت نر نژاد ویستار استفاده شد که به ۴ گروه کنترل، لیمو، استرس و استرس–لیمو تقسیم شدند. برای القای استرس بی‌حرکتی، رت‌ها به مدت ۲۱ روز متوالی هر روز ۶ ساعت در مقیدکننده قرار گرفتند. عصاره لیمو خشک (۴۰۰ mg/kg) نیز در همین مدت به صورت گاواژ به حیوانات تیمار شد. یادگیری و حافظه فضایی با استفاده از ماز آبی موریس و اضطراب با استفاده از ماز بعلاوه مرتفع سنجیده شد.

یافته‌ها: تیمار عصاره لیمو خشک باعث شد حیوانات مواجه شده با استرس بی‌حرکتی در مقایسه با گروه استرس، زمان و مسافت بیشتری در ربع دایره هدف در ماز آبی شنا کنند ($P<۰/۰۵$). عصاره لیمو خشک، درصد ورود به بازوی باز ($P<۰/۰۱$) و درصد زمان ماندن در بازوی باز ($P<۰/۰۵$) ماز بعلاوه مرتفع را نیز در این حیوانات افزایش داد.

نتیجه‌گیری: عصاره پوسته لیمو خشک، یادگیری و حافظه فضایی را در حیوانات مواجه شده با بی‌حرکتی مزمن بهبود بخشید و رفتار شبه اضطرابی را در آن‌ها کاهش داد. عصاره پوسته لیمو خشک احتمالاً اثر حفاظت عصبی دارد.

واژه‌های کلیدی: اضطراب، استرس بی‌حرکتی مزمن، *Citrus aurantifolia*، رت، حافظه فضایی

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۴۰۲؛ ۳۰(۴): ۳۶۱-۳۵۳.

دریافت: ۱۴۰۲/۰۸/۲۲ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۱۶

[1] گروه فیزیولوژی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران

***نویسنده مسئول:** گروه فیزیولوژی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران

آدرس: زنجان– بلوار دانشجو– دانشگاه آزاد اسلامی– دانشکده علوم پایه– گروه فیزیولوژی

تلفن: ۰۹۱۲۵۶۰۶۳۲۷ نمابر: ۰۲۴۳۳۴۶۰۴۶۳ پست الکترونیکی: mrousta58@gmail.com

[DOI: 10.61186/JBUMS.30.4.353]

مقدمه

استرس یک تجربه رایج در زندگی موجودات زنده است و مکانیسم‌هایی برای مقابله با آن در بدن وجود دارد. امّا استرس مزمن ممکن است اثرات پاتوفیزیولوژیک متعددی را در بدن ایجاد کند. تحریک مداوم محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال (که به ترشح بیش از حد کورتیزول از بخش قشری آدرنال منجر می‌شود) و فعال شدن اعصاب سمپاتیک (که موجب ترشح آدرنالین و نورآدرنالین از بخش مرکزی آدرنال می‌شود) این اثرات را میانجی‌گری می‌کند. استرس مداوم بر دستگاه‌های مختلف از جمله دستگاه قلبی-عروقی، دستگاه عصبی مرکزی و گوارش اثر می‌گذارد. استرس‌های روانی در مقایسه با استرس‌های فیزیکی، اثرات مخرب بیشتری دارند؛ زیرا علاوه بر واکنش‌های فیزیکی، تغییرات شناختی را نیز به دنبال دارند. استرس‌ها موجب تسریع روند پیری در مغز و پیدایش بیماری‌های نورودژنراتیو می‌شوند (۲، ۱). تحقیقات نشان داده است که استرس‌ها با تحریک تولید گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن (ROS[1])، موجب پیدایش استرس اکسیداتیو در مغز می‌شوند. التهاب عصبی نیز از نتایج استرس است. استرس اکسیداتیو و التهاب عصبی نقش مهمی در اختلالات شناختی و پیدایش بیماری‌های نورودژنراتیو دارند (۴، ۳). یکی از روش‌های القای استرس در حیوانات، بی‌حرکتی است که با تضعیف سیستم آنتی‌اکسیدانی مغز، افزایش بیان فاکتورهای پیش-التهابی، تغییر سطح نورترانسمیترها و افزایش بیان عوامل آپوپتوتیک در مغز، موجب بروز اضطراب، افسردگی و نقص حافظه می‌شود (۶، ۵). با توجه به این که مواجهه با انواع استرس ها در طول زندگی، امری ناگزیر است، یافتن راهکارهای مناسب برای به حداقل رساندن اثرات استرس در بدن نیز در اولویت قرار دارد (۲،۱).

لیمو خشک (*Citrus aurantifolia*) گیاهی از خانواده Rutaceae است که مصرف خوراکی دارد. بررسی‌ها نشان داده است عصاره متانولی پوسته لیمو که حاوی مقادیر فراوانی ترکیبات فلاونوئیدی و ترپنوئیدی است خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی دارد. از مهم‌ترین ترکیبات موجود در عصاره پوسته این گیاه می‌توان آپی‌ژنین، روتین، کوئرستین، کامفرول، آلفاپینن، لیمونن و لینالول را نام برد (۷). گزارش‌های متعددی از اثر ضددیابتی (۸)، ضدسرطانی (۹) ، حفاظت کبدی (۱۰) و حفاظت قلبی (۱۱) لیمو خشک وجود دارد. شواهدی مبنی بر اثر محافظت عصبی این گیاه نیز در دسترس است. مثلاً ثابت شده است که عصاره لیموخشک، اثر آنتی کولین استرازی دارد (۱۲). با توجه به ویژگی‌هایی که ذکر شد این فرضیه به وجود آمد که احتمالاً پوسته لیمو خشک بتواند اختلالات رفتاری ناشی از استرس را نیز کاهش دهد. بنابراین در مطالعه حاضر، اثر عصاره هیدرومتانولی پوسته لیمو خشک را بر یادگیری و حافظه فضایی و رفتار اضطرابی رت‌های نر بالغ مواجه شده با استرس مزمن بی‌حرکتی مورد بررسی قرار دادیم.

روش تحقیق

لیمو خشک از یک فروشگاه گیاهان دارویی با تأیید توسط گیاه‌شناسان، خریداری و پودر پوسته آن تهیه شد. کد هرباریوم این گیاه در دانشگاه اصفهان، ۵۵۲۷ می‌باشد. ۱۰۰ گرم از پودر در یک بشر حاوی ۳۰۰ میلی لیتر متانول ۷۰ درصد ریخته شد و ۴۸ ساعت بر روی شیکر قرار گرفت. سپس محلول را از کاغذ صافی عبور داده و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد (برای حذف حلال) در روتاری قرار دادیم. در نهایت با افزودن آب مقطر، دوز ۴۰۰ mg/kg عصاره را در حجم ۰/۲ میلی‌لیتر (حجم هر گاواژ) به دست آوردیم.

در این تحقیق تجربی، ۴۰ سر رت نر نژاد ویستار به وزن ۲۰۰-۲۲۰ گرم استفاده شد. رت‌ها در شرایط استاندارد آزمایشگاهی (دمای ۲۵-۲۳ درجه سانتی گراد، دوره تاریکی/ روشنایی ۱۲/۱۲ ساعته و دسترسی آسان به آب و غذا) نگهداری شده و تمام مراحل کار با حیوانات با در نظر گرفتن اصول اخلاقی و تأیید کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان انجام شد (کد اخلاق: IR.IAU.Z.REC.1396,28).

حیوانات به ۴ گروه (۱۰ رت در هر گروه) تقسیم شدند:

- گروه کنترل: در شرایط استاندارد آزمایشگاهی نگهداری شدند و تیمار دیگری دریافت نکردند.
- گروه لیمو: عصاره هیدروالکلی پوسته لیمو خشک (۴۰۰ mg/kg) را یک بار در روز به مدت ۲۱ روز متوالی

[1] Reactive oxygen species

[DOI: 10.61186/JBUMS.30.4.353]

به صورت گاواژ دریافت نمودند (۱۳).

- گروه استرس: برای القای استرس بی‌حرکتی مزمن، ۶ ساعت در روز به مدت ۲۱ روز متوالی در مقیدکننده قرار گرفتند (۱۴).
- گروه استرس–لیمو: به مدت ۲۱ روز متوالی، علاوه بر مواجهه با استرس بی‌حرکتی، عصاره لیمو خشک را نیز دریافت نمودند.

تیمار عصاره در ساعت ۸ صبح انجام می‌گرفت و حیوانات از ساعت ۹–۱۵ در مقیدکننده قرار می‌گرفتند. این مطالعه ۲۱ روز طول کشید (۱۴). یادگیری و حافظه فضایی رت ها در روزهای ۱۶–۲۰ توسط ماز آبی موریس مورد بررسی قرار گرفت و سطح اضطراب آنها نیز در روز ۲۱ توسط ماز بعلاوه مرتفع ارزیابی شد.

آزمون ماز آبی موریس در دو مرحله انجام گرفت. مرحله اول که به آموزش حیوانات اختصاص داده شد ۴ روز طول کشید. حیوانات، هر روز در چهار مرحله متوالی در داخل یک تانک آبی (به قطر ۱۳۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۶۰ سانتی‌متر که تا ارتفاع ۴۰ سانتی متری حاوی آب به دمای ۲۶ درجه سانتی گراد بود) قرار داده شدند و ۹۰ ثانیه فرصت داشتند تا با استفاده از علامت‌های اطراف تانک (نظیر تابلو، ساعت و ...) سکوی پنهانی را که در منطقه شمال شرقی تانک در ۱ سانتی متری زیر آب قرار داشت پیدا کنند. پس از پیدا کردن سکو نیز ۲۰ ثانیه فرصت داشتند تا روی سکو بنشینند. در صورتی که حیوانات، سکو را پیدا نمی‌کردند توسط پژوهشگر به سمت سکو هدایت می‌شدند. رفتار حیوانات در داخل تانک توسط دوربینی که در بالای تانک تعبیه شده بود مانیتور شده و در نهایت توسط نرم افزار MazeRouter (تبریز، ایران) آنالیز می‌شد. مدت زمان (ثانیه) و مسافت (سانتی‌متر) طی شده توسط هر رت برای رسیدن به سکوی پنهان، ملاک یادگیری قرار گرفت. در روز ۲۰، آزمون پروب برای بررسی حافظه فضایی انجام گرفت. در این مرحله، سکوی پنهان برداشته شد و هر حیوان به مدت ۶۰ ثانیه در داخل تانک شنا کرد. مدت زمان (ثانیه) و مسافت (سانتی‌متر) شنا شده در ربع دایره هدف (که سکو در روزهای آموزش در آن قرار داشت) ثبت شد و ملاک حافظه قرار گرفت (۱۵). در پایان این آزمون، تست بینایی با استفاده از سکوی آشکار انجام گرفت تا حیواناتی که مشکل بینایی داشتند از جامعه آماری حذف شوند. سرعت شنای حیوانات در روزهای آموزش نیز اندازه‌گیری شد تا اثر احتمالی تیمار بر فعالیت حرکتی بررسی شود.

ماز بعلاوه که در ارتفاع ۵۰ سانتی‌متری از سطح زمین قرار دارد از دو بازوی باز و دو بازوی بسته (که هر بازو طول ۵۰ و عرض ۱۰ سانتی‌متر دارد) به صورت بعلاوه تشکیل شده است. دیواره‌هایی به ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر در اطراف بازوهای بسته قرار دارد. مربعی به مساحت ۱۰×۱۰ سانتی متر نیز در محل اتصال ۴ بازو قرار گرفته است. یک لامپ ۱۰۰ واتی نیز در ارتفاع ۱۲۰ سانتی‌متری از ماز تعبیه می‌شود. در شروع آزمون، حیوان در مربع مرکزی قرار داده شد و هر رت فقط یک بار در ماز بعلاوه مرتفع، مورد آزمون قرار گرفت. هر آزمون ۵ دقیقه طول کشید و در طول این مدت، تعداد ورود به هر بازو و زمان ماندن در هر بازو ثبت شده و درصد ورود به بازوی باز و درصد زمان ماندن در بازوی باز محاسبه شد (۱۵).

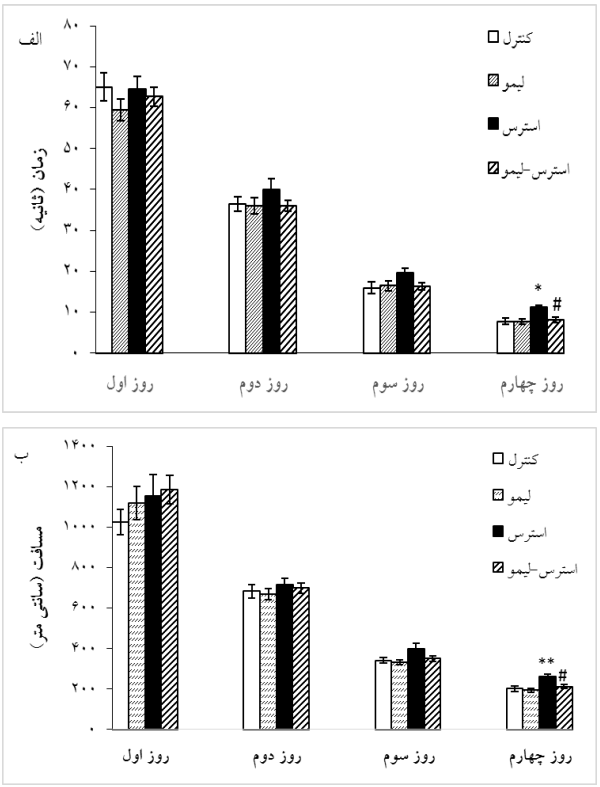
بررسی آماری با استفاده از SPSS نسخه ۱۶ انجام و نتایج به صورت میانگین±خطای معیار نمایش داده شد. تجزیه و تحلیل اطلاعات و مقایسه بین گروه‌ها با کمک One-way ANOVA و تست تعقیبی Tukey انجام گرفت. روند یادگیری حیوانات در چهار روز آموزش نیز توسط repeated measurements بررسی شد. $P<0/05$ به عنوان سطح معنی‌داری نتایج در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج حاصل از تست repeated measurements نشان داد که یادگیری محل سکوی پنهان در ماز آبی موریس در همه گروه‌ها رخ داد؛ به‌طوری که زمان طی شده برای رسیدن به سکوی پنهان در همه گروه‌ها از روز اول تا چهارم به طور معنی‌داری کاهش یافت ($P<0/001$). یادگیری در گروه استرس به‌طور چشمگیری در مقایسه با کنترل ضعیف‌تر بود؛ به‌طوری که زمان و مسافت طی شده برای رسیدن به سکو در روز چهارم در گروه استرس در مقایسه با کنترل به‌طور معنی‌داری بیشتر بود (به ترتیب $P<0/05$ و $P<0/01$) (شکل ۱). گروه استرس در روزهای دوم و سوم نیز زمان و مسافت بیشتری

[DOI: 10.61186/JBUMS.30.4.353]

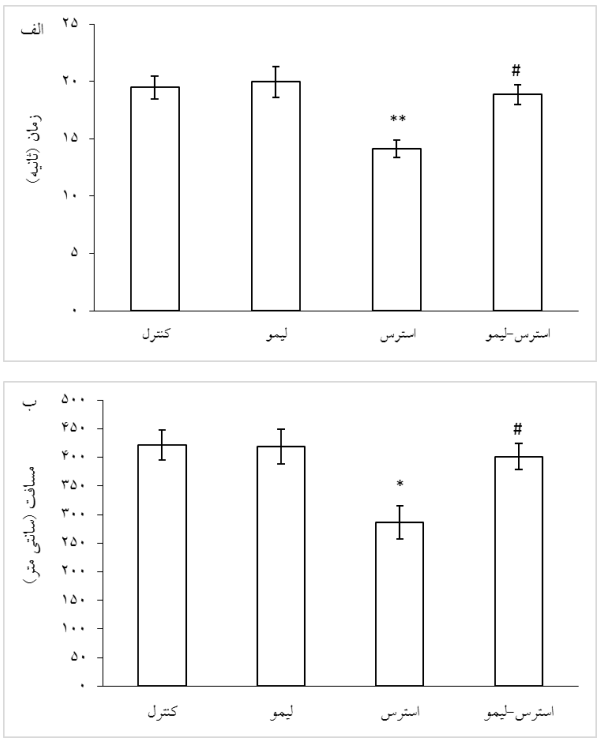
را برای رسیدن به سکو طی کرد؛ اما اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل نداشت. زمان و مسافت طی شده توسط گروه استرس–لیمو در مقایسه با گروه استرس در روز چهارم به طور معنی‌داری کمتر بود (P<۰/۰۵) (نمودار ۱). گروه لیمو در هیچ یک از این فاکتورها اختلافی با گروه کنترل نداشت. سرعت شنای گروه‌های مورد مطالعه نیز در روزهای مختلف آزمون، تفاوت معنی‌داری را نشان نداد.



نمودار ۱- اثر عصاره لیمو خشک بر نقص یادگیری القا شده توسط استرس مزمن بی‌حرکتی. (الف) زمان و (ب) مسافت سپری شده برای رسیدن به سکوی پنهان در روزهای آموزش آزمون ماز آبی موریس. نتایج به صورت میانگین±خطای معیار ارایه شده است و ۱۰ سر رت در هر گروه قرار دارد. P<۰/۰۵ * و P<۰/۰۱ ** در مقایسه با گروه کنترل و P<۰/۰۵# در مقایسه با گروه استرس.

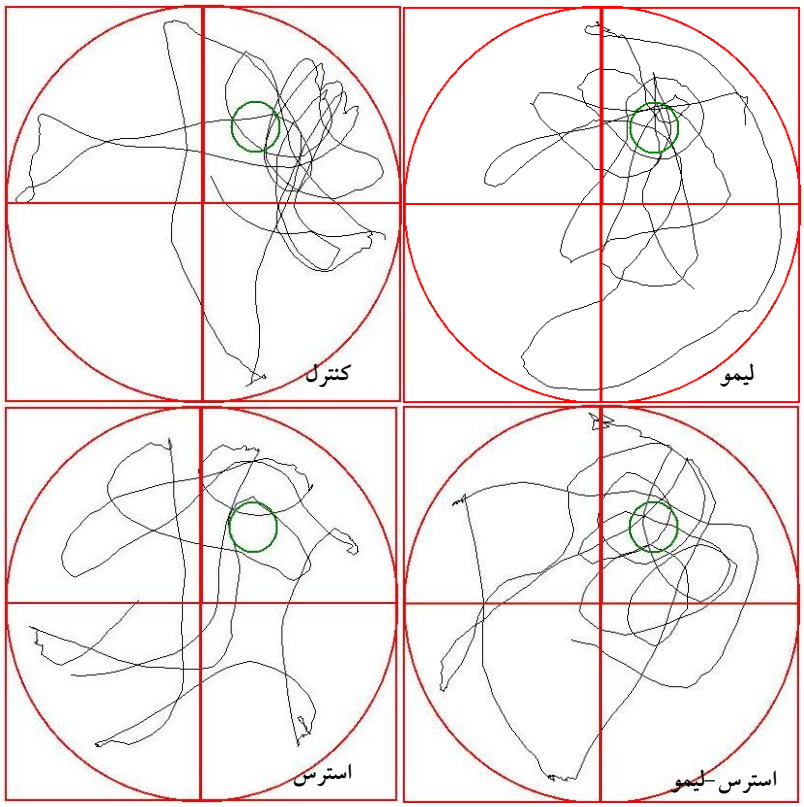
نتایج حاصل از آزمون پروب نیز نشان داد که حافظه فضایی در گروه استرس ضعیف شد؛ به‌طوری که این حیوانات، زمان و مسافت کمتری در ربع دایره هدف شنا کردند (به ترتیب P<۰/۰۱ و P<۰/۰۵). گروه استرس–لیمو در مقایسه با گروه استرس، زمان و مسافت بیشتری در ربع دایره هدف طی کردند (P<۰/۰۵) (نمودار ۲). گروه لیمو در این فاکتورها تفاوت معنی‌داری با کنترل نداشت. مسیر حرکت یک حیوان از هر گروه (به‌طور تصادفی) در تست پروب، در شکل ۱ نمایش داده شده است.

نتایج حاصل از آزمون ماز بعلاوه مرتفع، حاکی از بروز رفتار شبه اضطرابی در گروه استرس بود زیرا درصد ورود به بازوی باز و درصد زمان ماندن در این بازو در گروه استرس در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معنی‌داری کمتر بود (P<۰/۰۱)، در حالی که گروه استرس – لیمو در هر دو فاکتورِ درصد ورود به بازوی باز (P<۰/۰۱) و درصد زمان ماندن در این بازو (P<۰/۰۵) رکورد بیشتری را در مقایسه با گروه استرس داشت (جدول ۱).



نمودار ۲- اثر عصاره لیمو خشک بر نقص حافظه القا شده توسط استرس مزمن بی‌حرکتی. (الف) زمان و (ب) مسافت سپری شده در ربع دایره هدف در تست پروب ماز آبی موریس. نتایج به صورت میانگین±خطای معیار ارایه شده است و ۱۰ سر رت در هر گروه قرار دارد. P<۰/۰۵ * و P<۰/۰۱ ** در مقایسه با گروه کنترل و P<۰/۰۵# در مقایسه با گروه استرس.

[DOI: 10.61186/JBUMS.30.4.353]



شکل ۱- مسیر حرکت یک حیوان از هر گروه در تست پروب. دایره سبز، نشان‌دهنده‌ی محل سکو در روزهای آموزش است.

جدول ۱- اثر عصاره لیمو خشک بر رفتار شبه اضطرابی القا شده توسط استرس مزمن بی‌حرکتی با استفاده از ماز بعلاوه مرتفع.

	کنترل	لیمو	استرس	استرس-لیمو
درصد ورود به بازوی باز	۵۰/۲۸ ± ۱/۲۹	۵۳/۹۰ ± ۰/۵۲	۳۸/۰۰ ± ۲/۱۶ **	۴۸/۴۰ ± ۳/۷۶ ##
درصد زمان ماندن در بازوی باز	۲۴/۰۶ ± ۱/۷۵	۲۴/۶۳ ± ۲/۱۷	۱۱/۷۶ ± ۲/۵۷ **	۲۰/۵۳ ± ۱/۹۸ #

نتایج به صورت میانگین±خطای معیار ارایه شده است و ۱۰ سر رت در هر گروه قرار دارد. P<۰/۰۱ ** در مقایسه با گروه کنترل و P<۰/۰۵ # و P<۰/۰۱ ## در مقایسه با گروه استرس.

بحث

در مطالعه حاضر، بی‌حرکتی مزمن (۶ ساعت در روز به مدت ۲۱ روز متوالی) موجب اختلال یادگیری و حافظه فضایی و پیدایش رفتار اضطرابی در رت‌های نر بالغ شد که با نتایج حاصل از پژوهش‌های پیشین در مورد حیوانات مواجه شده با استرس بی‌حرکتی مزمن، همسو می‌باشد (۱۶، ۱۵). تیمار عصاره پوسته لیمو خشک، موجب بهبود یادگیری و حافظه در رت‌های مواجه شده با استرس شد. تاکنون گزارشی مبنی بر اثر محافظتی لیموخشک بر حافظه وجود ندارد، امّا تحقیقات ثابت کرده است که گونه‌های دیگری از این جنس نظیر *Citrus aurantium* از نقص حافظه ناشی از اسکوپولامین و بتاآمیلوئید در رت‌ها جلوگیری می‌کنند (۱۸، ۱۷). Loizzo و همکاران (۷) نشان دادند عصاره لیمو اثر آنتی‌کولین استرازی دارد. Jangra و همکاران (۵) نیز افزایش فعالیت آنزیم استیل کولین استراز را در مغز حیوانات مواجه شده با بی‌حرکتی مزمن ثابت کردند. با توجه به نقش اساسی استیل کولین در رمزگذاری خاطرات در هیپوکامپ، قشر انتورینال و پری‌رینال (۱۹)، به نظر می‌رسد که عصاره لیمو با ممانعت از کاهش سطح این نوروترانسمیتر، موجب بهبود حافظه حیوانات مواجه شده با استرس شده است.

[DOI: 10.61186/JBUMS.30.4.353]

از سوی دیگر، تحقیقات نشان داده است که برخی از ترکیبات موجود در عصاره پوست لیمو خشک نظیر آپی‌ژنین (۲۰)، کوئرستین، روتین (۲۱)، کامفرول (۲۲)، آلفاپینن (۲۳) و لیمونن (۱۶) حافظه فضایی را بهبود می‌بخشند. بنابراین اثر محافظتی عصاره پوسته لیمو خشک بر حافظه رت‌های مواجه شده با استرس بی‌حرکتی مزمن را می‌توان به ترکیبات موجود در آن نیز نسبت داد. از محدودیت‌های این تحقیق می‌توان به عدم اندازه‌گیری میزان مواد موجود در عصاره لیمو خشک اشاره نمود. علاوه بر این، ثابت شده است که استرس اکسیداتیو و التهاب عصبی نقش مهمی در اختلال حافظه دارد (۲۴) و استرس بی‌حرکتی مزمن، موجب تضعیف سیستم آنتی‌اکسیدانی و افزایش فاکتورهای التهابی در مغز می‌شود (۵). بنابراین توانایی عصاره لیمو خشک در کاهش استرس اکسیداتیو و التهاب (۲۵، ۷) نیز احتمالاً اهمیت بسزایی در بهبود حافظه حیوانات گروه استرس-لیمو دارد. برای تأیید این فرضیه لازم است استرس اکسیداتیو و بیان عوامل التهابی در مغز حیوانات در گروه‌های مختلف بررسی شود.

نتایج حاصل از آزمون ماز بعلاوه مرتفع نیز حاکی از کاهش رفتار شبه اضطرابی در حیوانات گروه استرس-لیمو بود. پیش از این، اثر ضداضطرابی *Citrus aurantium* به اثبات رسیده است (۲۶) اما گزارشی از اثر کاهندگی عصاره پوسته لیمو خشک بر اضطراب وجود ندارد. ترکیبات موجود در عصاره لیمو خشک نظیر لیمونن (۱۶) و آلفاپینن (۲۳) نیز اثر ضداضطرابی دارند. اثر ضداضطرابی این ترکیبات فلاونوئیدی و ترپنوئیدی به اثر آنتاگونیستی آن‌ها بر گیرنده گابا-A نسبت داده می شود (۲۸، ۲۷). البته با توجه به اهمیت استرس اکسیداتیو و التهاب در فرایند اضطراب (۳۰، ۲۹) اثر ضداضطرابی عصاره لیمو خشک را می‌توان به توانایی آن در کاهش استرس اکسیداتیو و التهاب عصبی در رت‌های مواجه شده با استرس بی‌حرکتی نیز مربوط دانست.

نتیجه‌گیری

در مجموع، نتیجه گیری می‌شود عصاره هیدروالکلی پوسته لیموخشک موجب بهبود یادگیری و کاهش رفتار شبه اضطرابی در رت‌های مواجه شده با استرس بی‌حرکتی مزمن می‌شود و احتمالاً گزینه مناسبی برای پیشگیری و درمان اختلالات رفتاری ناشی از استرس است. برای تأیید این فرضیه، مطالعات مولکولی، بیوشیمیایی و الکتروفیزیولوژیکی مورد نیاز است.

تقدیر و تشکّر

این مقاله حاصل پایان‌نامه مقطع کارشناسی‌ارشد تحت عنوان "بررسی تأثیر عصاره پوسته لیمو *(Citrus aurantifolia)* بر اختلال حافظه و رفتار اضطرابی القاشده توسط استرس مزمن بی‌حرکتی در موش‌های صحرایی نر" می‌باشد که در سال ۱۳۹۶ توسط معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان تصویب و در مرکز تحقیقات بیولوژی این واحد اجرا شد.

ملاحظات اخلاقی

مطالعه حاضر پس از تأیید معاونت پژوهشی، توسط کمیته اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان تأیید شد (کد IR.IAU.Z.REC.1396,28).

حمایت مالی

این مطالعه حامی مالی ندارد.

مشارکت نویسندگان

یعقوب بیگدلی: انجام آزمایش‌ها و جمع‌آوری داده‌ها. معصومه اصل‌روستا: طراحی تحقیق، تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها، تفسیر نتایج و نگارش و ویرایش مقاله. مقاله نهایی توسط هر دو نویسنده تایید شد.

تضاد منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

[DOI: 10.61186/JBUMS.30.4.353]

منابع:

1. Kumar A, Rinwa P, Kaur G, Machawal L. Stress: Neurobiology, consequences and management. J Pharm Bioallied Sci. 2013; 5(2): 91-7. DOI: 10.4103/0975-7406.111818

2. Godoy LD, Rossignoli MT, Delfino-Pereira P, Garcia-Cairasco N, de Lima Umeoka EH. A comprehensive overview on stress neurobiology: basic concepts and clinical implications. Front Behav Neurosci. 2018; 12: 127. DOI: 10.3389/fnbeh.2018.00127

3. Schiavone S, Jaquet V, Trabace L, Krause KH. Severe life stress and oxidative stress in the brain: from animal models to human pathology. Antioxid Redox Signal. 20; 18(12): 1475-90. DOI: 10.1089/ars.2012.4720.

4. Zhu Y, Klomparens EA, Guo S, Geng X. Neuroinflammation caused by mental stress: the effect of chronic restraint stress and acute repeated social defeat stress in mice. Neurol Res. 2019; 41(8): 762-9. DOI: 10.1080/01616412.2019.1615670

5. Jangra A, Rajput P, Dwivedi DK, Lahkar M. Amelioration of repeated restraint stress-induced behavioral deficits and hippocampal anomalies with taurine treatment in mice. Neurochem Res. 2020; 45(4): 731-40. DOI: 10.1007/s11064-019-02945-8

6. Hwang KA, Hwang HJ, Hwang YJ, Kim YJ. Mustard leaf extract suppresses psychological stress in chronic restraint stress-subjected mice by regulation of stress hormone, neurotransmitters, and apoptosis. Nutrients. 2020; 12(12): 3640. DOI: 10.3390/nu12123640

7. Loizzo MR, Tundis R, Bonesi M, Menichini F, De Luca D, Colica C, Menichini F. Evaluation of Citrus aurantifolia peel and leaves extracts for their chemical composition, antioxidant and anti-cholinesterase activities. J Sci Food Agric. 2012; 92(15): 2960-7. DOI: 10.1002/jsfa.5708

8. Ramya S, Narayanan V, Ponnerulan B, Saminathan E, Veeranan U. Potential of peel extracts of Punica granatum and Citrus aurantifolia on alloxan-induced diabetic rats. Beni-Suef Univ J Basic Appl Sci. 2020; 9(1): 24. DOI: 10.1186/s43088-020-00049-9

9. Phucharoenrak P, Muangnoi C, Trachootham D. Metabolomic Analysis of Phytochemical Compounds from Ethanolic Extract of Lime (Citrus aurantifolia) Peel and Its Anti-Cancer Effects against Human Hepatocellular Carcinoma Cells. Molecules. 2023; 28(7): 2965. DOIi: 10.3390/molecules28072965

10. Amini R, Asle-Rousta M. The Effect of Dried Lemon Peel on Chronic Immobilization-Induced Liver Damage in Male Wistar Rats. Iran J Endocrinol Metab. 2022; 24(4): 235-40. URL: http://ijem.sbmu.ac.ir/article-1-3029-en.html

11. Chaâbane M, Elwej A, Ghorbel I, Boudawara T, Zeghal N, Soudani N. Citrus aurantium L. peel extract mitigates hexavalent chromium-induced oxidative stress and cardiotoxicity in adult rats. Pharm Biomed Res. 2017; 3(2): 8-18. DOI: 10.29252/pbr.3.2.8

12. Tundis R, Loizzo MR, Bonesi M, Menichini F, Mastellone V, Colica C, Menichini F. Comparative study on the antioxidant capacity and cholinesterase inhibitory activity of Citrus aurantifolia Swingle, C. aurantium L., and C. bergamia Risso and Poit. peel essential oils. J Food Sci. 2012; 77(1): H40-6. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2011.02511.x

13. Egwim EC, Hamzah RU, Aberuagba A. Effect of Ethyl Acetate Extracts from Peel of Citrus decumana and Citrus aurantifolia on Aspirin Induced Gastric Ulcer in Mice. J Pharm Res Int. 2015; 5(4): 249-59. URL: http://repository.futminna.edu.ng:8080/jspui/handle/123456789/3402

14. MacDowell KS, Caso JR, Martin-Hernandez D, Madrigal JL, Leza JC, Garcia-Bueno B. Paliperidone prevents brain toll-like receptor 4 pathway activation and neuroinflammation in rat models of acute and chronic restraint stress. Int J Neuropsychopharm. 2015; 18(3): pyu070. DOI: 10.1093/ijnp/pyu070

15. 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. Braz Arch Biol Technol. 2022; 65: e22210267. DOI: 10.1590/1678-4324-2022210267

16. Bigdeli Y, Asle-Rousta M, Rahnema M. Effects of limonene on chronic restraint stress-induced memory impairment and anxiety in male rats. Neurophysiology. 2019; 51(2): 107-13. DOI: 10.1007/s11062-019-09800-0

[DOI: 10.61186/JBUMS.30.4.353]

17. Rahnama S, Rabiei Z, Alibabaei Z, Mokhtari S, Rafieian-Kopaei M, Deris F. Anti-amnesic activity of Citrus aurantium flowers extract against scopolamine-induced memory impairments in rats. Neurol Sci. 2015; 36: 553-60. DOI: 10.1007/s10072-014-1991-2

18. Lee HJ, Lee SK, Lee DR, Choi BK, Le B, Yang SH. Ameliorating effect of Citrus aurantium extracts and nobiletin on β-amyloid (1-42)-induced memory impairment in mice. Mol Med Rep. 2019; 20: 3448-55. DOI: 10.3892/mmr.2019.10582

19. Hasselmo ME. The role of acetylcholine in learning and memory. Curr Opin Neurol. 2006; 16(6):710-5. DOI: 10.1016/j.conb.2006.09.002

20. Kim Y, Kim J, He M, Lee A, Cho E. Apigenin ameliorates scopolamine-induced cognitive dysfunction and neuronal damage in mice. Molecules. 2021; 26(17): 5192. DOI: 10.3390/molecules26175192

21. Tongjaroenbuangam W, Ruksee N, Chantiratikul P, Pakdeenarong N, Kongbuntad W, Govitrapong P. Neuroprotective effects of quercetin, rutin and okra (Abelmoschus esculentus Linn.) in dexamethasone-treated mice. Neurochem Int. 2011; 59(5): 677-85. DOI: https://Doi.org/10.1016/j.neuint.2011.06.014

22. Kouhestani S, Jafari A, Babaei P. Kaempferol attenuates cognitive deficit via regulating oxidative stress and neuroinflammation in an ovariectomized rat model of sporadic dementia. Neural Regen Res. 2018; 13(10): 1827. DOI: 10.4103/1673-5374.238714

23. 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-κB pathway in Alzheimer's disease rat model. J Biochem Mol Toxicol. 2022; 36(5): e23006. DOI: 10.1002/jbt.23006

24. Teleanu DM, Niculescu AG, Lungu II, Radu CI, Vladâcenco O, Roza E, Costăchescu B, Grumezescu AM, Teleanu RI. An overview of oxidative stress, neuroinflammation, and neurodegenerative diseases. Int J Mol Sci. 2022;23(11):5938. DOI: 10.3390/ijms23115938

25. Kasim VN, Hatta M, Natzir R, Hadju V, Hala Y, Alam G, As' ad S, Febriza A, Idrus HH. Antibacterial and anti-inflammatory effects of lime (Citrus aurantifolia) peel extract in Balb/c mice infected by Salmonella typhi. Boll Soc Ital Biol Sper. 2020; 93(2). DOI: 10.4081/jbr.2020.8951

26. Mannucci C, Calapai F, Cardia L, Inferrera G, D'Arena G, Di Pietro M, Navarra M, Gangemi S, Spagnolo EV, Calapai G. Clinical Pharmacology of Citrus aurantium and Citrus sinensis for the Treatment of Anxiety. Evid Based Complementary Altern Med. 2018; 2018. DOI: 10.1155/2018/3624094

27. Hanrahan JR, Chebib M, Johnston GA. Flavonoid modulation of GABAA receptors. Br J pharmacol. 2011; 163(2): 234-45. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2011.01228.x

28. Manayi A, Nabavi SM, Daglia M, Jafari S. Natural terpenoids as a promising source for modulation of GABAergic system and treatment of neurological diseases. Pharmacol Rep. 2016; 68:671-9. DOI: 10.1016/j.pharep.2016.03.014

29. Salim S, Chugh G, Asghar M. Inflammation in anxiety. Adv Protein Chem Struct. 2012; 88:1-25. DOI: 10.1016/B978-0-12-398314-5.00001-5

30. Fedoce AD, Ferreira F, Bota RG, Bonet-Costa V, Sun PY, Davies KJ. The role of oxidative stress in anxiety disorder: cause or consequence? Free Radic Res. 2018; 52(7): 737-50. DOI: 10.1080/10715762.2018.1475733

[DOI: 10.61186/JBUMS.30.4.353]