

## مقاله پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

دوره ۱۹، شهریور ۱۳۹۹، ۵۶۹-۵۷۸

# اثر هایپر سین بر رفتارهای شبه اوتیسمی در مدل حیوانی جدایی از مادر: یک مطالعه تجربی

صدیقه خانجانی جلودار<sup>۱</sup>، محمدرضا بیگدلی<sup>۲</sup>، اکبر حاجی زاده مقدم<sup>۳</sup>

دریافت مقاله: ۹۹/۱/۲۸ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۹۹/۲۰/۲۰ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۹۹/۴/۲۴ پذیرش مقاله: ۹۹/۴/۳۱

### چکیده

**زمینه و هدف:** استرس ناشی از جدایی مادر در روزهای اولیه تولد سبب القاء رفتارهای اوتیستیک می‌شود. هایپر سین دارای خواص زیستی متعدد از جمله خواص ضد افسردگی و ضد التهابی می‌باشد. لذا هدف این مطالعه تعیین اثر هایپر سین بر رفتارهای اوتیسمی القاء شده در مدل حیوانی جدایی از مادر در موش صحرایی می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی، موش‌های صحرایی نژاد ویستار به دو گروه کنترل و جدایی از مادر تقسیم شدند. موش‌های صحرایی در گروه‌های جدایی از مادر روزانه به مدت یک ساعت در روزهای اول تا نهم پس از تولد از مادر جدا می‌شدند. گروه جدا شده از مادر به چهار زیرگروه اوتیسم، فلوکستین، هایپر سین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و هایپر سین (۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) تقسیم شدند. تیمارها در روز ۳۴-۲۱ پس از تولد به موش‌های صحرایی گاوژ شد. در انتهای روز ۳۴ تمامی تست‌های رفتاری (تست گرومینگ، زمینه باز، تعامل اجتماعی و زمینه باز) از موش‌های صحرایی گرفته شد. برای تجزیه و تحلیل آماری و مقایسه بین گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) و تست تعقیبی Tukey استفاده شد.

**یافته‌ها:** در فرزندان موش صحرایی که از مادر جدا بوده‌اند، نقص در تعاملات اجتماعی ( $p=0/007$ )، رفتارهای تکراری ( $p=0/001$ ) و اضطراب ( $p=0/001$ ) نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است. این در حالی است که هایپر سین سبب کاهش شاخص رفتارهای تکراری ( $p=0/011$ )، اضطراب ( $p=0/001$ ) و نقص در تعاملات اجتماعی ( $p=0/031$ ) در مدل جدایی از مادر می‌شود.

**نتیجه‌گیری:** نتایج این مطالعه نشان داد که جدایی از مادر سبب بروز رفتارهای شبه اوتیسمی می‌شود و هایپر سین به دلیل خواص ضد افسردگی، توانایی بهبود رفتارهای شبه اوتیسمی را دارد.

**واژه‌های کلیدی:** هایپر سین، جدایی از مادر، رفتارهای شبه اوتیسمی، موش صحرایی

۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی، گروه زیست جانوری، دانشکده علوم و زیست فناوری، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.

۲- استاد فیزیولوژی گروه زیست جانوری، دانشکده علوم و زیست فناوری، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

۳- (نویسنده مسئول) دانشیار فیزیولوژی، گروه زیست جانوری، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابل، ایران.

تلفن: ۰۱۱-۳۵۳۰۲۴۵۳، دورنگار: ۰۱۱-۳۵۳۰۲۴۵۰، پست الکترونیکی: a.hajizadeh@umz.ac.ir

## مقدمه

خواص بیولوژیکی متعدد از جمله ضد میکروبی [۷]، ضد التهابی [۸]، ضد افسردگی [۹] می‌باشد. در واقع در مطالعات متعدد هایپر سین به عنوان ترکیب طبیعی، تثبیت کننده قوی خلق و خوی معرفی شده است. هایپر سین در درمان بیماری های نورولوژیک، درد عصبی و افسردگی مورد استفاده قرار می‌گیرد. همچنین در درمان بیماران آلزایمری به عنوان داروی خوراکی مؤثر بوده است [۱۰]. از آنجایی که هایپر سین به خوبی از سد خونی- مغزی عبور می‌کند و نسبت به داورهای شیمیایی دارای عوارض جانبی کم تر می‌باشد، در این مطالعه به بررسی اثر هایپر سین بر رفتارهای اضطرابی، تعاملات اجتماعی، افسردگی و رفتارهای تکراری ناشی از جدایی مادر پرداخته شده است. هدف از این مطالعه، تعیین اثر هایپر سین بر رفتارهای شبه اوتیسمی در مدل حیوانی جدایی از مادر در موش صحرایی می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۹۷ در دانشگاه مازندران به انجام گردید. تمامی حیوانات براساس منشور اخلاق زیستی دانشگاه مازندران با کد اخلاق (IR.UMZ.REC.1397.0100) نگهداری شدند. به موش صحرایی نر و ماده نژاد ویستار اجازه جفت‌گیری داده شد. موش‌های باردار در قفس‌های پلاستیکی و در دمای ۲۱ درجه‌ی سانتی‌گراد، رطوبت  $10 \pm 50\%$  درصد و با چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. فرزندان متولد شده به دو گروه کنترل و اوتیسم تقسیم شدند. در گروه کنترل، در تمامی ۲۱ روز پس از تولد، نوزادان در کنار مادر نگهداری شدند و تحت هیچ‌گونه تیماری قرار نگرفتند. موش‌ها در گروه اوتیسم در روز ۱ تا ۹ پس از تولد به مدت ۶۰ دقیقه در یک جعبه پلاستیکی (به قطر ۹ سانتی

اختلالات طیف اوتیسم، اختلال تکامل عصبی است که در سال های اول زندگی ظاهر می‌شود و شیوع آن در پسران ۴ برابر بیش تر از دختران است [۱]. از مهم ترین علائم اوتیسم، نقص در تعاملات اجتماعی، اضطراب، افسردگی همراه با رفتارهای تکراری می‌باشد. مطالعات نشان داده که سطوح بالای تغییرات رفتارهای تکراری و کاهش تعاملات اجتماعی بدلیل تغییرات در سطوح ناقلین عصبی مانند دوپامین، سروتونین و گابا می‌باشد [۲]. علت عمده وقوع اوتیسم شامل تعامل پیچیده میان عوامل محیطی و ژنتیکی می‌باشد [۳]. امروزه مطالعات گسترده نشان داده اند که فیزیولوژی و تکامل عصبی نوزادان تحت تاثیر رابطه مادر و فرزند در دوران اولیه پس از تولد می‌باشد. بنابراین استرس ناشی از جدایی مادر و فرزند در دوران اولیه پس از تولد ممکن است منجر به نقص در فرآیند نورونز و بروز اختلالات رفتارهای عاطفی و احساسی نوزاد می‌شود [۴]. بنابراین مطالعات متعدد نشان دادند که جدایی از مادر در مدل حیوانی منجر به بروز نقص یادگیری و رفتارهای شبه اوتیسم هم‌چون رفتارهای تکراری، افسردگی و اختلالات اجتماعی می‌شود. افسردگی یکی از اختلالات ذهنی رایج است که احتمالاً براساس وقوع عوامل استرس‌زا در مغز به وجود می‌آید و به شدت با نقص یادگیری در ارتباط است. با این وجود مکانیسم دقیق و عوامل به وجود آمدن آن به تحقیقات بیش تر نیاز دارد [۵]. از طرفی مطالعات گزارش کردند ترکیبات ضد افسردگی مانند فلوکستین تا حدودی توانایی بهبود رفتارهای اوتیسمی را دارند [۶]. هایپر سین *Hypericum perforatum* یکی از مهم ترین ترکیبات فعال موجود در گیاه می‌باشد. هایپر سین دارای

$$\text{Sociability} = \frac{\text{مدت زمان سپری شده در اتاقک موش غریبه}}{\text{مدت زمان سپری شده در اتاقک خالی}}$$

آزمون زمینه باز (Open field) در اتاقی با نور استاندارد و در سکوت انجام گرفت. حیوانات ابتدا به مدت ۱۵ دقیقه پیش از شروع آزمون به اتاق انتقال داده می‌شوند تا به فضای اتاق عادت کنند. اتاقک تست ۴ ضلعی با ابعاد ۴۰\*۱۰۰\*۱۰۰ سانتی‌متر است. هر آزمون ۱۵ دقیقه به طول می‌انجامد و مدت زمانی که موش در وسط صفحه قرار دارد و شاخص فعالیت حرکتی (line crossing)، مشاهده و به وسیله کورنومتر (مدل 1000-ps ساخت شرکت پارسین) و به صورت دستی شمارش و ثبت شد [۱۴].

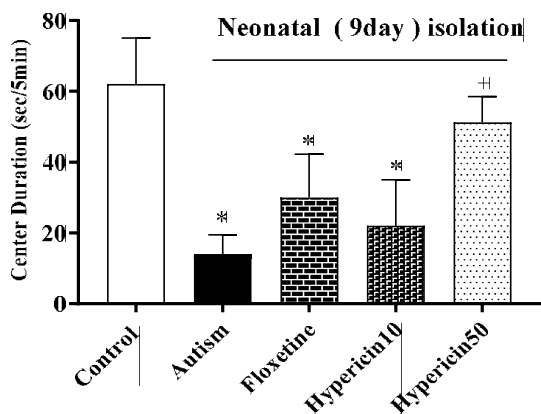
تست گرومینگ (Self-Grooming) در اتاقک زمینه بازی با ابعاد ۶۰ سانتی‌متر \* ۶۰ سانتی‌متر انجام شد. به منظور فرآیند سازش‌پذیری حیوانات به مدت ۵ دقیقه در اتاقک زمینه باز، قرار گرفتند. ۲۴ ساعت بعد از عادت‌پذیری، حیوانات به مدت ۱۵ دقیقه در اتاقک تست قرار داده شده و پارامترهای گرومینگ شامل مدت زمان لیسیدن دست، پاها و اندام تناسلی اندازه‌گیری شد [۱۴]. در ابتدا برای ارزیابی توزیع نرمال داده‌ها از تست Shapiro-Wilk استفاده شد ( $P < 0.05$ ). سپس برای تجزیه و تحلیل آماری و مقایسه بین گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و در صورت معنی‌دار شدن از آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد. تمامی نتایج به صورت (انحراف معیار  $\pm$  میانگین) بیان شدند. تمامی محاسبات با استفاده از نرم‌افزار Graph Pad Prism نسخه ۸ انجام شد و سطح معنی‌داری آزمون‌ها ( $P < 0.05$ ) در نظر گرفته شد.

متر و عمق ۸ سانتی‌متر، دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد) فاقد بستر پوشالی جدا از مادر، نگهداری می‌شدند. فرآیند جدایی از مادر در ساعت ۱۲-۹ صبح انجام می‌گرفت [۱۱]. بعد از اتمام دوره شیردهی، نوزادان جدا شده از مادر به ۴ گروه اوتیسم، فلوکستین، هایپرسیسین ۱۰ و هایپرسیسین ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تقسیم شدند. در گروه‌های اوتیسم تیمار به ترتیب فلوکستین (غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و هایپرسیسین (۱۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) را به مدت ۱۴ روز در ساعت ۱۰ تا ۱۲ به روش گاواژ دریافت می‌کردند [۱۲]. تمامی گروه‌ها در روزهای ۳۶-۳۴ پس از تولد، توسط تست‌های رفتاری مورد آزمون قرار گرفتند [۲۴].

ابتدا، تست تعامل اجتماعی (Social Interaction test) در دستگاه سه اتاقه انجام شد. این تست به مدت ۵ دقیقه در فضای مستطیل شکلی با ابعاد ۱۹\*۴۳ سانتی‌متر که با دیواره‌هایی با ارتفاع ۲۲ سانتی‌متر به سه قسمت تقسیم شده بود انجام گرفت. دو محفظه سیمی با درب قابل جدا شدن که موش غریبه و آشنا در آن قرار می‌گرفت، در دو اتاقک جانبی قرار داشت. موش مورد آزمون به منظور سازگاری با محیط به مدت ۵ دقیقه در اتاقک خالی قرار داده می‌شد. در روز آزمون هر موش به مدت ده دقیقه با دوربین دیجیتال (Nicon D3500) مورد بررسی قرار می‌گرفتند و مدت زمان گذرانده شده در هر اتاقک ثبت می‌شد [۱۳]. شاخص تعاملات اجتماعی با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

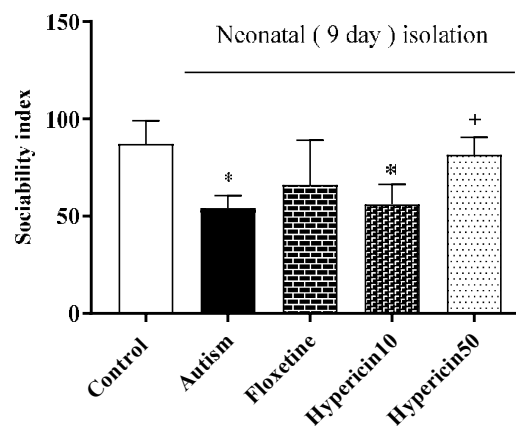
## نتایج

شاخص تعاملات اجتماعی در گروه اوتیسم به طور معنی داری نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است ( $p=0/007$ ). در گروه دریافت کننده هایپر سین با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم، شاخص تعاملات اجتماعی به طور معنی داری نسبت به گروه اوتیسم افزایش یافته است ( $p=0/03$ ).



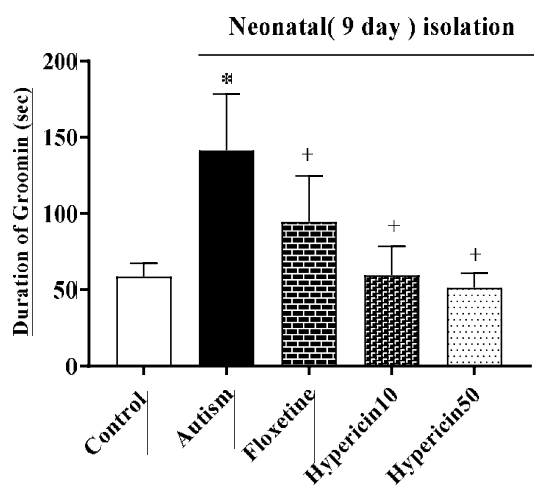
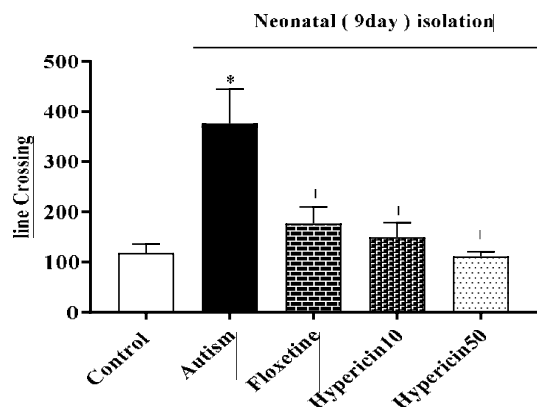
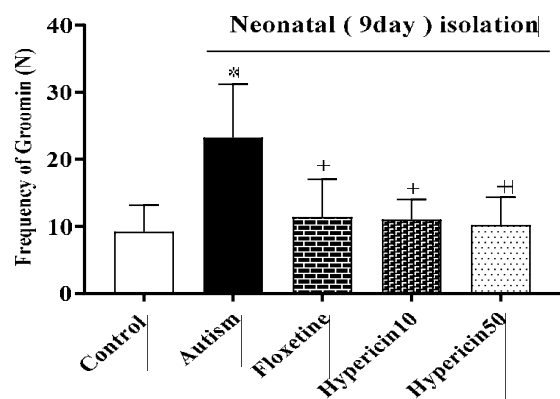
نمودار ۲- اثر هایپر سین بر مدت زمان ماندن در مرکز در موش مدل جدایی از مادر (انحراف معیار  $\pm$  میانگین)، (آزمون تحلیل واریانس یکطرفه، Tukey).  $P < 0/05$  در مقایسه با گروه کنترل،  $P < 0/05$  در مقایسه با گروه اوتیسم.

شاخص فعالیت حرکتی (line crossing) محاسبه شده در تست زمینه باز در نمودار ۳ به نمایش گذاشته شده است. در گروه اوتیسم به طور معنی داری نسبت به گروه کنترل افزایش نشان داده است ( $p=0/001$ ). این درحالی است که این شاخص در گروههای دریافت کننده فلوکستین و هایپر سین با دوز ۱۰ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم به طور معنی داری نسبت به گروه اوتیسم کاهش یافته است ( $p=0/001$ ).



نمودار ۱- اثر هایپر سین بر شاخص تعاملات اجتماعی در موش مدل جدایی از مادر. (انحراف معیار  $\pm$  میانگین)، (آزمون تحلیل واریانس یکطرفه، Tukey).  $P < 0/05$  در مقایسه با گروه کنترل،  $P < 0/05$  در مقایسه با گروه اوتیسم.

نمودار ۲ نشان دهنده مدت زمان ماندن در مرکز در تست زمینه باز می باشد. مدت زمان ماندن در مرکز در گروه اوتیسم به طور معنی داری نسبت به گروه کنترل کاهش



نمودار ۳- اثر هایپرین بر فعالیت حرکتی در موش مدل جدایی از مادر ( انحراف معیار  $\pm$  میانگین )، (آزمون تحلیل واریانس یکطرفه، Tukey).  $P < 0.05$ ، در مقایسه با گروه کنترل،  $P < 0.05$  در مقایسه با گروه اوتیسم.

نمودار ۴ نشان دهنده مدت زمان و تعداد دفعات گرومینگ می باشد. همان طور که مشاهده می شود، مدت زمان و تعداد دفعات گرومینگ به طور معنی داری در گروه اوتیسم نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است ( $p=0.003$ )، ( $p=0.001$ ). در حالی که این دو شاخص در گروه های دریافت کننده فلوکستین ( $p=0.015$ )، ( $p=0.038$ )، هایپرین در دوز ۱۰ ( $p=0.002$ )، ( $p=0.011$ ) و ۵۰ ( $p=0.001$ )، ( $p=0.006$ ) نسبت به گروه اوتیسم کاهش معنی داری داشته اند.

نمودار ۴- اثر هایپرین بر (الف) تعداد دفعات (ب) مدت زمان گرومینگ در موش مدل جدایی از مادر ( انحراف معیار  $\pm$  میانگین )، (آزمون تحلیل واریانس یکطرفه، Tukey).  $P < 0.05$ ، در مقایسه با گروه کنترل،  $P < 0.05$  در مقایسه با گروه اوتیسم.

## بحث

مطالعه حاضر نشان می دهد که موش های صحرایی جوانی که در شرایط جدایی از مادر در روزهای ۱ تا ۹ تولد قرار گرفتند، رفتارهای شبه اوتیسم مانند اختلال تعامل اجتماعی، رفتارهای تکراری و افسردگی/ اضطراب نشان می دهند. مطالعات پیشین نشان داده است که بروز این رفتارهای ناهنجار همراه با تغییر نورون زایی در نواحی مختلف مغز از

جمله هیپوکمپ می‌باشد [۱۱]. علاوه بر این در این مطالعه مشاهده شده است که تجویز هایپرین بلافاصله بعد از جدایی از مادر سبب بهبود رفتارهای اوتیستیک می‌شود. در مجموع این مطالعه نشان می‌دهد که فرآیند جدایی از مادر می‌تواند سبب القاء رفتارهای شبه اوتیسم شود، این درحالی است که هایپرین می‌تواند پتانسیل درمان مؤثر بر افسردگی و رفتارهای اوتیستیک ناشی از فرآیند جدایی از مادر داشته باشد.

از آنجایی که بیماری‌های انسانی مثل اوتیسم از تعامل عوامل ژنتیکی و محیطی به وجود می‌آیند، ایجاد مدل حیوانی بسیار دشوار است. اما مدل جدایی از مادر به طور گسترده‌ای به عنوان مدل حیوانی برای مطالعه تغییرات طولانی مدت شامل اختلالات یادگیری، کاهش حساسیت به درد و افزایش افسردگی / اضطراب مورد قبول می‌باشد [۱۵، ۱۱]. این مطالعه نیز در راستای مطالعات پیشین [۱۷-۱۶] تأیید شد که مدل جدایی از مادر به عنوان یک مدل قابل قبول برای ارائه رفتارهای شبه اوتیسمی می‌باشد. در این مطالعه مشاهده شد که جدایی از مادر سبب افزایش اضطراب، افسردگی و رفتارهای تکراری می‌شود. علاوه بر این مطالعات ما نشان داد که جدایی از مادر منجر به بروز اختلال در تعامل اجتماعی نیز می‌گردد. در راستای این مطالعه، Wu و همکارانش نشان دادند که جدایی از مادر سبب بروز اختلال افسردگی، اضطراب و تعاملات اجتماعی می‌شود که همراه با اختلال در نوروژنزی در موش‌های بالغ می‌باشد [۱۱]. مطالعات متعدد، بروز رفتارهای اوتیستیک را در مدل جدایی از مادر به همراه کاهش نوروژنزی در نواحی مختلف مغز گزارش کرده‌اند [۱۹-۱۸].

Račekov و همکاران گزارش کرده‌اند که جدایی از مادر در روزهای اولیه پس از تولد سبب تغییر در پلاستیسیته و کاهش نوروژنزی در قسمت‌های مختلف مغز نوزادان می‌شود که این کاهش نوروژنزی در نوروپاتوژنز اوتیسم دخیل می‌باشد [۱۸]. khalaj و همکارانش نشان دادند که افزایش فاکتورهای التهابی سبب بروز رفتارهای اوتیستیک می‌شود. هم‌چنین مطالعات اخیر تغییرات اپی‌ژنتیک را در بروز رفتارهای اوتیستیک مرتبط دانسته‌اند. بنابراین تحقیقات بیش‌تر برای بررسی عوامل اپی‌ژنتیک در بهبود و کاهش استرس ناشی از جدایی مادر لازم است [۲۰-۲۱].

علاوه بر این مطالعات متعدد توانایی هایپرین به عنوان تثبیت‌کننده خلق و خوی را در درمان افسردگی گزارش کرده‌اند و هم‌چنین هایپرین را به عنوان ترکیب ضد افسردگی طبیعی قوی معرفی کرده‌اند. در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۶ گزارش شده است که هایپرین با اثر ضدالتهابی و سرکوب فاکتورهای التهابی، دارای پتانسیل درمانی در بیماری تحلیل عصبی مانند آلزایمر می‌باشد [۱۲]. براساس این شواهد علمی در این مطالعه به بررسی اثر هایپرین بر درمان اوتیسم پرداخته شد. براساس داده‌های این مطالعه مشاهده شد که هایپرین توانایی بهبود ویژگی‌های اوتیستیک مانند نقص در رفتارهای اجتماعی، افزایش اضطراب، رفتار تکراری گرومینگ و افسردگی در مدل حیوانی جدایی از مادر دارد. هم‌چنین مشاهده شده است که تفاوت معنی‌داری در بین گروه هایپرین و فلوکستین به عنوان داروی افسردگی مشاهده نشده است. در راستای این مطالعه Zhang و همکارانش نشان دادند که هایپرین توانایی بهبود اختلالات یادگیری در مدل

### نتیجه گیری

به طور کلی مطالعه حاضر نشان داده است که ایزولاسیون فرزندان و استرس جدایی از مادر در دوره بحرانی پس از تولد می تواند سبب بروز رفتارهای اوتیستیک شود، هایپرسیس توانایی تعدیل رفتارهای اوتیسمی نظیر افسردگی و اضطراب و نقص در تعامل اجتماعی را دارد. هرچند مکانیسم دقیق اثر هایپرسیس بر مدل اوتیسم نیاز به مطالعات بیشتر در آینده دارد، احتمالاً هایپرسیس از طریق مهار التهاب و تعدیل نوروترانسمیترها سبب بهبود رفتارهای اوتیسمی شده است.

### تشکر و قدردانی

از حمایت‌های معاونت علمی پژوهشی دانشگاه شهید بهشتی تشکر و قدردانی می‌شود. همچنین از حمایت‌های بی دریغ جناب دکتر محمد نبوی در تهیه هایپرسیس و جناب آقای علی اسلامی در مراحل عملی آزمایش، نهایت تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

آزایمر را دارد که این ویژگی به توانایی هایپرسیس در کاهش سیتوکین‌های التهابی در هیپوکمپ نسبت داده‌اند [۱۲]. همچنین گزارش شده است که هایپرسیس سبب مهار تولید فاکتورهای التهابی مانند اینترلوکین -۱۲ و اینترلوکین -۱ می‌شود. Tusevski و همکارانش نشان دادند، خاصیت ضد افسردگی هایپرسیس از طریق افزایش نوروترانسمیترها مانند دوپامین و سروتونین میانجی می‌شود [۲۳]. در این مطالعه نیز احتمالاً هایپرسیس از طریق تعدیل نوروترانسمیترها و مهار التهاب القاء شده در مدل اوتیسم سبب بهبود و مهار رفتارهای اوتیستیک در مدل حیوانی جدایی از مادر شده است. به دلیل طی کردن دوران بارداری و پیر شدن مادر، در این مطالعه از نوزادان مادرهای متفاوت استفاده شد که از محدودیت‌های مطالعه می‌باشد، همچنین پیشنهاد می‌شود در مطالعات آتی از تست‌های بالینی و ژنتیکی برای بررسی بیشتر و دقیقتر مکانیسم اثرات هایپرسیس بر نوزادان مدل حیوانی جدایی از مادر استفاده شود.

## References

- [1] Lyall K, Croen L, Daniels J, Fallin MD, Ladd-Acosta C, Lee BK, Park BY, Snyder NW, Schendel D, Volk H, Windham GC. The changing epidemiology of autism spectrum disorders. *Annual review of public health* 2017 20(38): 81-102.
- [2] Juruena MF, Erer F, Cleare AJ, Young AH. The Role of Early Life Stress in HPA Axis and Anxiety. *In Anxiety Disorders* 2020 (pp. 141-53).
- [3] Zhang R, Zhou J, Ren J, Sun S, Di Y, Wang H, An X, Zhang K, Zhang J, Qian Z, Shi M. *Transcriptional and splicing dysregulation in the prefrontal cortex in valproic acid rat*

- model of autism. Reproductive Toxicology* 2018 1(77): 53-61.
- [4] Javaheri ES, Bigdeli MR, Zibaii MI, Dargahi L, Pouretamad HR. Optogenetic Stimulation of the Anterior Cingulate Cortex Ameliorates Autistic-Like Behaviors in Rats Induced by Neonatal Isolation, Caudate Putamen as a Site for Alteration. *Neuromolecular Medicine* 2019; 21(2): 132-42.
- [5] Kambali MY, Anshu K, Kutty BM, Muddashetty RS, Laxmi TR. Effect of early maternal separation stress on attention, spatial learning and social interaction behaviour. *Experimental brain research* 2019; 237(8): 1993-2010.
- [6] March J, Silva S, Petrycki S, Curry J, Wells K, Fairbank J, Burns B, Domino M, McNulty S, Vitiello B, Severe J. Fluoxetine, cognitive-behavioral therapy, and their combination for adolescents with depression: Treatment for Adolescents with Depression Study (TADS) randomized controlled trial. *Jama* 2004; 292(7): 807-20.
- [7] Yow CM, Tang HM, Chu ES, Huang Z. Hypericin-mediated photodynamic antimicrobial effect on clinically isolated pathogens. *Photochemistry and Photobiology* 2012; 88(3): 626-32.
- [8] Kang BY, Chung SW, Kim TS. Inhibition of interleukin-12 production in lipopolysaccharide-activated mouse macrophages by parthenolide, a predominant sesquiterpene lactone in *Tanacetum parthenium*: involvement of nuclear factor- $\kappa$ B. *Immunology Letters* 2001; 77(3): pp:159-63.
- [9] Zhai XJ, Chen F, Chen C, Zhu CR, Lu YN. LC-MS/MS based studies on the anti-depressant effect of hypericin in the chronic unpredictable mild stress rat model. *Journal of Ethnopharmacology*. 2015; (169): 363-9.
- [10] Saroya AS, Singh J. Neuropharmacology of Genus Hypericum: Hypericin and Hyperforin. In *Pharmacotherapeutic Potential of Natural Products in Neurological Disorders Springer* 2018 (pp. 17-41).
- [11] Wu X, Bai Y, Tan T, Li H, Xia S, Chang X, Zhou Z, Zhou W, Li T, Wang YT, Dong Z. Lithium ameliorates autistic-like behaviors induced by neonatal isolation in rats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 2014 26(8):234.
- [12] Zhang M, Wang Y, Qian F, Li P, Xu X. Hypericin inhibits oligomeric amyloid  $\beta$ 42-induced inflammation response in microglia and ameliorates cognitive deficits in an amyloid  $\beta$  injection mouse model of Alzheimer's disease by suppressing MKL1. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2016 2; 481(1-2): 71-6.
- [13] Ha S, Park H, Mahmood U, Ra JC, Suh YH, Chang KA. Human adipose-derived stem cells ameliorate repetitive behavior, social deficit and anxiety in a VPA-induced autism mouse model. *Behavioural Brain Research* 2017; 15(317): 479-84.

- [14] Won H, Lee HR., Gee HY, Mah W, Kim JI, Lee J, Park SG. Autistic-like social behaviour in Shank2-mutant mice improved by restoring NMDA receptor function. *Nature* 2012; 486(7402): 261.
- [15] Rincel M, Darnaudey M. Maternal separation in rodents: a journey from gut to brain and nutritional perspectives. *Proceedings of the Nutrition Society* 2020; 79(1): 113-32.
- [16] Loke YJ, Hannan AJ, Craig JM. The role of epigenetic change in autism spectrum disorders. *Frontiers in Neurology* 2015; 26(6)107.
- [17] Tan T, Wang W, Xu H, Huang Z, Wang YT, Dong Z. Low-frequency rTMS ameliorates autistic-like behaviors in rats induced by neonatal isolation through regulating the synaptic GABA transmission. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 2018; 28(12)46.
- [18] Toda T, Gage FH. Adult neurogenesis contributes to hippocampal plasticity. *Cell and Tissue Research* 2018; 373(3): 693-709.
- [19] Račeková E, Lievajová K, Danko J, Martončíková M, Flešárová S, Almašiová V, Orendáčová J. Maternal separation induced alterations of neurogenesis in the rat rostral migratory stream. *Cellular and Molecular Neurobiology* 2009; 29(6-7): 811-9.
- [20] Kambali MY, Anshu K, Kutty BM, Muddashetty RS, Laxmi TR. Effect of early maternal separation stress on attention, spatial learning and social interaction behaviour. *Experimental Brain Research* 2019 1;237(8): 1993-2010.
- [21] Marco EM, Valero M, de la Serna O, Aisa B, Borcel E, Ramirez MJ, Viveros MP. Maternal deprivation effects on brain plasticity and recognition memory in adolescent male and female rats. *Neuropharmacology* 2013; 1(68)223-31.
- [22] Kang BY, Chung SW, Kim TS. Inhibition of interleukin-12 production in lipopolysaccharide-activated mouse macrophages by parthenolide, a predominant sesquiterpene lactone in *Tanacetum parthenium*: involvement of nuclear factor- $\kappa$ B. *Immunology Letters* 2001;77(3): 159-63.
- [23] Tusevski O, Krstikj M, Stanoeva JP, Stefova M, Simic SG. Phenolic profile and biological activity of *Hypericum perforatum* L.: Can roots be considered as a new source of natural compounds?. *South African Journal of Botany* 2018; 1(117) 301-10.
- [24] Khalaj, R., Moghaddam, A.H. and Zare, M. Hesperetin and its nanocrystals ameliorate social behavior deficits and oxido-inflammatory stress in rat model of autism. *International Journal of Developmental Neuroscience* 2018; 69: pp.80-7.

## The Effect of Hypericin on Autism Like Behavior in Maternal Separation Animal Model: An Experimental Study

S. Khanjani Jelodar<sup>۱</sup>, M. Bigdeli<sup>۲</sup>, A. Hajizadeh Moghaddam<sup>۳</sup>

Received: 16/04/2020 Sent for Revision: 09/05/2020 Received Revised Manuscript:13/05/2020 Accepted: 20/05/2020

**Background and Objectives:** The stress caused by maternal separation in the early days after birth induces autistic behaviors. Hypericin has many biological properties, including antidepressant and anti-inflammation. Therefore, this study aimed at determining hypericin effect on autism behaviors that induced by maternal separation model.

**Materials and Methods:** In this experimental study, Wistar rats were divided into two control and maternal separation groups. The rats in the maternal separation group were subjected to individual separation from their mother for 1 h per day (postnatal day1-9). The maternal separation group was divided into 4 subgroups: Autism, fluoxetine, hypericin (10mg/kg), hypericin (50mg/kg). Treatment was gavaged in pups on postnatal day 21-34. In the end of day 34, neurobehavioral tests (grooming, social interaction and open field test) were carried out. Statistical analysis and between group comparison were performed using one-way ANOVA followed by Tukey's test.

**Results:** In the pups subjected to individual isolations from their mother, social deficits ( $p=0.007$ ), excessive repetitive behavior ( $p=0.001$ ), and anxiety ( $p=0.001$ ) were increased. Whereas, hypericin could reduce repetitive behaviors index ( $p=0.011$ ), anxiety ( $p=0.001$ ) and social interaction deficits ( $p=0.031$ ) in the maternal isolation autism rat model.

**Conclusion:** These findings indicated that maternal separation may produce autistic-like behaviors, and hypericin through antidepressant effect may be a potential therapeutic agent against autistic-like behavior.

**Key word:** Hypericin, Maternal separation, Autistic-like behaviors, Rat

**Funding:** This study did not have any funds. **Conflict of interest:** None declared.

**Ethical approval:** The animal experiments were approved by the Institutional Animal Ethics Committee (IR.UMZ.REC.1397.0100), which follows the principles of the University of Mazandaran for the Use of Animals.

**How to cite this article:** Khanjani Jelodar S, Bigdeli M, Hajizadeh Moghaddam A. The Effect of Hypericin on Autism Like Behavior in Maternal Separation Animal Model: An Experimental Study. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2020; 19 (5): 569-78. [Farsi]

1- PhD Student of Physiology, Dept. of Animal Science, Faculty of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran, ORCID: 0000-0003-0902-5514

2-Prof. of Physiology, Dept. of Animal Science, Faculty of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran, ORCID: 0000-0003-4331-1047

3- Associate Prof. of Physiology, Dept. of Animal Science, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran, ORCID: 0000-0002-0843-8440