

بررسی اثر آلفا پایین بر رفتارهای شبه اضطرابی در بیماری کولیت السراتیو القاء شده توسط اسید استیک در موش صحرایی: محور روده - مغز

کاوه رحیمی^{*۱}

^۱ استادیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۴/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۶/۷

چکیده

کولیت اولسراتیو می‌تواند با عوارض عصبی متعددی از جمله نوروپاتی محیطی، سردرد، افسردگی، اضطراب و اختلالات شناختی همراه باشد. هدف این مطالعه بررسی تأثیر ضد اضطرابی و ضد التهابی آلفا پایین بر رفتارهای شبه اضطرابی در مدل کولیت القا شده توسط تزریق اسید استیک به کولون در موش‌های صحرایی نر ویستار بود. در این مطالعه ۲۴ موش در چهار گروه (۶ سر در هر گروه) شامل کنترل سالم، کولیت به همراه تجویز نرمال سالین، و دو گروه کولیت همراه با تجویز آلفا پایین به دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم قرار گرفتند. پس از القای کولیت، رفتارهای شبه اضطرابی با استفاده از آزمون فضای باز و ماز به علاوه مرتفع ارزیابی شدند. همچنین، سطح TNF- α در بافت مغز اندازه‌گیری گردید. نتایج نشان داد که کولیت با افزایش رفتارهای شبه اضطرابی و بالا رفتن سطح TNF- α در مغز همراه بود. درمان با آلفا پایین در هر دو دوز مذکور، به طور معنی‌داری رفتارهای شبه اضطرابی را کاهش داده و سطح TNF- α مغزی را پایین آورد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که آلفا پایین دارای اثرات ضد التهابی و ضد اضطرابی قابل توجهی در مدل کولیت است و می‌تواند به عنوان یک گزینه با پتانسیل درمانی برای کاهش عوارض عصبی ناشی از کولیت مورد استفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: آلفا پایین، رفتارهای شبه اضطرابی، کولیت السراتیو، TNF-a، موش صحرایی

مقدمه

کولون را درگیر می‌کند، اما می‌تواند سایر بخش‌های دستگاه گوارش را نیز تحت تأثیر قرار دهد، با تشکیل گرانولوم مشخص می‌شود و معمولاً تمام ضخامت دیواره روده را در بر می‌گیرد. در مقابل، کولیت اولسراتیو یک بیماری التهابی و اولسراتیو است که معمولاً به لایه‌های سطحی کولون (مخاط و بخش سطحی زیرمخاط) محدود می‌شود (Hugot et al, 2001; Ogura et al, 2001; Ostanin et al,)

بیماری‌های التهابی روده (IBD) از اختلالات شناخته شده دستگاه گوارش در انسان هستند، اما این بیماری‌ها در حیوانات نیز مشاهده شده و اغلب مورد مطالعه قرار می‌گیرند. در انسان، IBD که شامل بیماری کرون (CD) و کولیت اولسراتیو (UC) است، به عنوان مجموعه‌ای از بیماری‌های مزمن، ایدیوپاتیک (با علت ناشناخته) و چندعاملی تعریف می‌شود. کرون معمولاً ناحیه ایلیوم و

* نویسنده مسئول: کاوه رحیمی، استادیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

E-mail: K.rahimi@scu.ac.ir



© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).

شبه اضطرابی در بیماری کولیت السراتیو القا شده توسط اسید استیک در موش صحرایی می‌باشد.

مواد و روش کار

در این تحقیق از ۲۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی ۱۸۰ تا ۲۱۰ گرم و در محدوده سنی ۴۲ تا ۵۶ روز استفاده شد. این حیوانات در محیطی با شرایط استاندارد نگهداری شده و به غذای پلت و آب دسترسی کامل داشتند. همچنین چرخه‌های روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته تنظیم گردید. برای تطبیق با شرایط محیط آزمایشگاه، حیوانات به مدت یک هفته پیش از آغاز آزمایش‌ها در محل نگهداری قرار گرفتند. کلیه مراحل اجرایی پژوهش بر اساس اصول اخلاقی و مطابق با مجوز کمیته اخلاق دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، ایران (IR.SCU.REC.1402.049) انجام شد.

موش‌های صحرایی به صورت تصادفی در چهار گروه شش تایی تقسیم شدند. گروه کنترل تنها از طریق رکتال نرمال سالین دریافت کرد و سپس به مدت یک هفته همان محلول را از طریق خوراکی دریافت نمود. در گروه دوم، برای القای کولیت از اسید استیک ۴ درصد به صورت داخل روده‌ای استفاده شد و پس از ۲۴ ساعت، تجویز خوراکی نرمال سالین به مدت هفت روز انجام گرفت. گروه سوم نیز مشابه گروه دوم با اسید استیک تحت تیمار قرار گرفت، ولی پس از یک روز، آلفا پائین با دوز ۵۰ میلی‌گرم کیلوگرم وزن بدن (soltani et al, 2024) به صورت خوراکی دریافت کرد. گروه چهارم با اسید استیک تحت تیمار قرار گرفت، پس از یک روز، آلفا پائین با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم کیلوگرم وزن بدن (soltani et al, 2024) به صورت خوراکی دریافت کرد. آلفا پائین مورد استفاده از شرکت سیگما، آمریکا تهیه شد.

برای ایجاد مدل تجربی کولیت، موش‌های صحرایی ۲۴ ساعت قبل از القاء تحت محدودیت غذایی قرار گرفتند. حیوانات با ترکیب کتامین ۸۰ mg/kg و زایلازین mg/kg ۸ بیهوش شدند. سپس، در وضعیت خوابیده به پشت، ۱

IBD (2009). در حیوانات، به ویژه در حیوانات خانگی مانند سگ‌ها، به دلیل مزمن بودن، پیچیدگی تشخیص و تأثیر قابل توجه بر رفاه حیوانات، از اهمیت ویژه‌ای در دامپزشکی برخوردارند. این بیماری‌ها با علائم گوارشی مداوم از جمله استفراغ، اسهال، کاهش وزن و بی‌اشتهایی شناخته می‌شوند که ناشی از التهاب مخاط روده هستند (Allenspach, 2011; Cerquetella et al, 2010).

بررسی‌های اپیدمیولوژیک نشان می‌دهند که اضطراب در بیماران مبتلا به IBD به مراتب شایع‌تر از جمعیت عمومی است (Choi et al, 2019; Tarar et al, 2022). وجود اختلالات روانشناختی نه تنها واکنشی طبیعی به بیماری است، بلکه ممکن است در تشدید علائم و پیشرفت بیماری نیز نقش داشته باشد. اضطراب می‌تواند با افزایش شدت نشانه‌ها، کاهش تبعیت از درمان، افزایش دفعات عود و افت کیفیت زندگی ارتباط داشته باشد (Neuendorf et al, 2016; Zhang et al, 2013).

محور ارتباطی مغز و روده، که از طریق مسیرهای عصبی، ایمنی، هورمونی و میکروبی عمل می‌کند، بستر فیزیولوژیکی تعامل روان و بدن را فراهم می‌سازد. اضطراب می‌تواند بر عملکرد دستگاه گوارش، از جمله حرکات روده، نفوذپذیری مخاطی و تعادل ایمنی تأثیر گذاشته و از این طریق موجب تشدید التهاب شود (Neuendorf et al, 2016; Zhang et al, 2013). از سوی دیگر، التهاب مزمن روده ممکن است با تغییر در عملکرد مغز منجر به اضطراب شود (Mawdsley and Rampton, 2005). نشان داده شده است که التهاب محیطی می‌تواند منجر به ایجاد التهاب در سیستم عصبی گردد (Rahimi et al, 2023). همچنین گزارش شده است که افزایش سایتوکاین‌های التهابی مانند TNF- α می‌تواند به بروز علائم اختلالات عصبی کمک کند (Dowlati et al, 2010).

با توجه به این که تا کنون مطالعه‌ای در رابطه با اثر آلفا پائین بر عوارض عصبی ناشی از بیماری کولیت انجام نشده است، هدف مطالعه فعلی بررسی اثر آلفا پائین بر رفتارهای

گیوتین، نمونه‌هایی از بافت قشر مغز برداشت گردید. نمونه‌ها تا زمان بررسی، در دمای منفی ۷۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

بافت‌های نمونه‌برداری شده از قشر مغز در بافر لیز حاوی مهارکننده‌های پروتئاز هموژنیزه و سپس سانتریفیوژ شدند. سوپرناتانت جمع‌آوری شده جهت سنجش TNF- α با استفاده از کیت ELISA تجاری کیا زیست، ایران (طبق دستور شرکت سازنده) به کار رفت. جذب نوری در طول موج ۴۵۰ نانومتر خوانده و غلظت بر اساس منحنی استاندارد محاسبه شد.

تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار گراف پد پریم نسخه ۸ (GraphPad Software, San Diego, California, USA) انجام شد. ابتدا به منظور بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها و یکنواختی واریانس، از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف استفاده گردید. پس از تأیید نرمال بودن داده‌ها، جهت مقایسه میان گروه‌های مختلف، تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) انجام شد و برای بررسی تفاوت‌های بین گروهی، آزمون تعقیبی توکی (Tukey) به کار رفت. سطح معنی‌داری برابر با $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

در آزمون فضای باز تعداد دفعات بلند شدن روی دو پا در گروه اسید استیک (A.A) به طور معنی‌داری از گروه کنترل کم‌تر بود ($P < 0.001$). در گروه‌های تیمار با آلفا پائین ۵۰ میلی‌گرم ($A.A + \alpha Pi 50$) و آلفا پائین ۱۰۰ میلی‌گرم ($A.A + \alpha Pi 100$) تعداد دفعات بلند شدن روی دو پا به طور معنی‌داری از گروه اسید استیک بیش‌تر بود (به ترتیب $P < 0.01$ و $P < 0.001$) (Figure 1 A). تعداد دفعات خود تیماری در گروه اسید استیک (A.A) به طور معنی‌داری از گروه کنترل کم‌تر بود ($P < 0.001$). در گروه‌های آلفا پائین ۵۰ میلی‌گرم ($A.A + \alpha Pi 50$) و آلفا پائین ۱۰۰ میلی‌گرم ($A.A + \alpha Pi 100$) تعداد دفعات خود تیماری به طور معنی‌داری از گروه اسید استیک بیش‌تر بود (به ترتیب $P < 0.05$ و $P < 0.05$) (Figure 1 B).

میلی‌لیتر محلول اسید استیک ۴ درصد با استفاده از لوله پلی‌اتیلنی از طریق رکتوم به داخل کولون تزریق شده و پس از یک دقیقه با ۱/۵ میلی‌لیتر نرمال سالین شستشو داده شد (Mohammadi et al, 2025).

برای ارزیابی فعالیت حرکتی کلی و نشانه‌های اضطراب، از آزمون فضای باز (Open Field Test) استفاده شد. در این آزمون، هر موش به صورت انفرادی در مرکز یک محفظه مربعی شکل با ابعاد ۱۰۰ در ۱۰۰ سانتی‌متر و ارتفاع دیواره ۴۰ سانتی‌متر قرار گرفت. رفتار حیوانات به مدت ۵ دقیقه مورد مشاهده و ثبت قرار گرفت. شاخص‌های رفتاری اندازه‌گیری شده شامل موارد زیر بودند:

- تعداد دفعات ایستادن روی پاهای عقب (Rearing) که نشان‌گر میزان کنجکاوی و توجه حیوان به محیط بود.
- تکرار رفتار نظافت (Grooming) مجموع تعداد لیس زدن یا خاراندن بدن به عنوان شاخصی از واکنش‌های هیجانی یا سطح استرس در نظر گرفته شد.

برای بررسی رفتارهای اضطرابی، از آزمون ماز به علاوه مرتفع (Elevated Plus Maze) استفاده شد. این دستگاه شامل دو بازوی باز با ابعاد ۵۰ در ۱۰ سانتی‌متر و دو بازوی بسته به طول و عرض مشابه، اما با دیواره‌هایی به ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر بود. همه بازوها از یک سکوی مرکزی مربعی شکل به اندازه ۱۰ در ۱۰ سانتی‌متر منشعب شده بودند و کل سازه در ارتفاع ۵۰ سانتی‌متری از سطح زمین قرار داشت. هر حیوان به گونه‌ای در مرکز ماز قرار گرفت که صورت آن به سمت یکی از بازوهای باز باشد و به حیوان اجازه داده شد که به مدت ۵ دقیقه در ماز حرکت و کاوش کند. مدت زمان سپری شده در بازوهای باز یا بسته ثبت شد.

پس از انجام آزمون‌های رفتاری برای انجام نمونه-برداری، موش‌های صحرائی با استفاده از ترکیب کتامین (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند. پس از قطع سر حیوان توسط

میلی‌گرم (A.A+ α Pi 50) و آلفا پاینن ۱۰۰ میلی‌گرم (A.A+ α Pi 100) مرتفع مدت زمان سپری شده در بازوهای بسته به طور معنی‌داری از گروه اسید استیک کم‌تر بود (به ترتیب $P < 0.05$ و $P < 0.01$) (Figure 1 D). سطح TNF- α بافت قشر مغز در گروه اسید استیک (A.A) به طور معنی‌داری از گروه کنترل بیش‌تر بود ($P < 0.001$). در گروه‌های آلفا پاینن ۵۰ میلی‌گرم (A.A+ α Pi 50) و آلفا پاینن ۱۰۰ میلی‌گرم (A.A+ α Pi 100) سطح TNF- α به طور معنی‌داری از گروه اسید استیک کم‌تر بود (به ترتیب $P < 0.01$ و $P < 0.001$) (Figure 2).

در آزمون ماز به علاوه مرتفع مدت زمان سپری شده در بازوهای باز در گروه اسید استیک (A.A) به طور معنی‌داری از گروه کنترل کم‌تر بود ($P < 0.001$). در گروه‌های آلفا پاینن ۵۰ میلی‌گرم (A.A+ α Pi 50) و آلفا پاینن ۱۰۰ میلی‌گرم (A.A+ α Pi 100) مدت زمان سپری شده در بازوهای باز به طور معنی‌داری از گروه اسید استیک بیش‌تر بود (به ترتیب $P < 0.05$ و $P < 0.01$) (Figure 1 C). مدت زمان سپری شده در بازوهای بسته در آزمون ماز به علاوه مرتفع در گروه اسید استیک (A.A) به طور معنی‌داری از گروه کنترل بیش‌تر بود ($P < 0.001$). در گروه‌های آلفا پاینن ۵۰

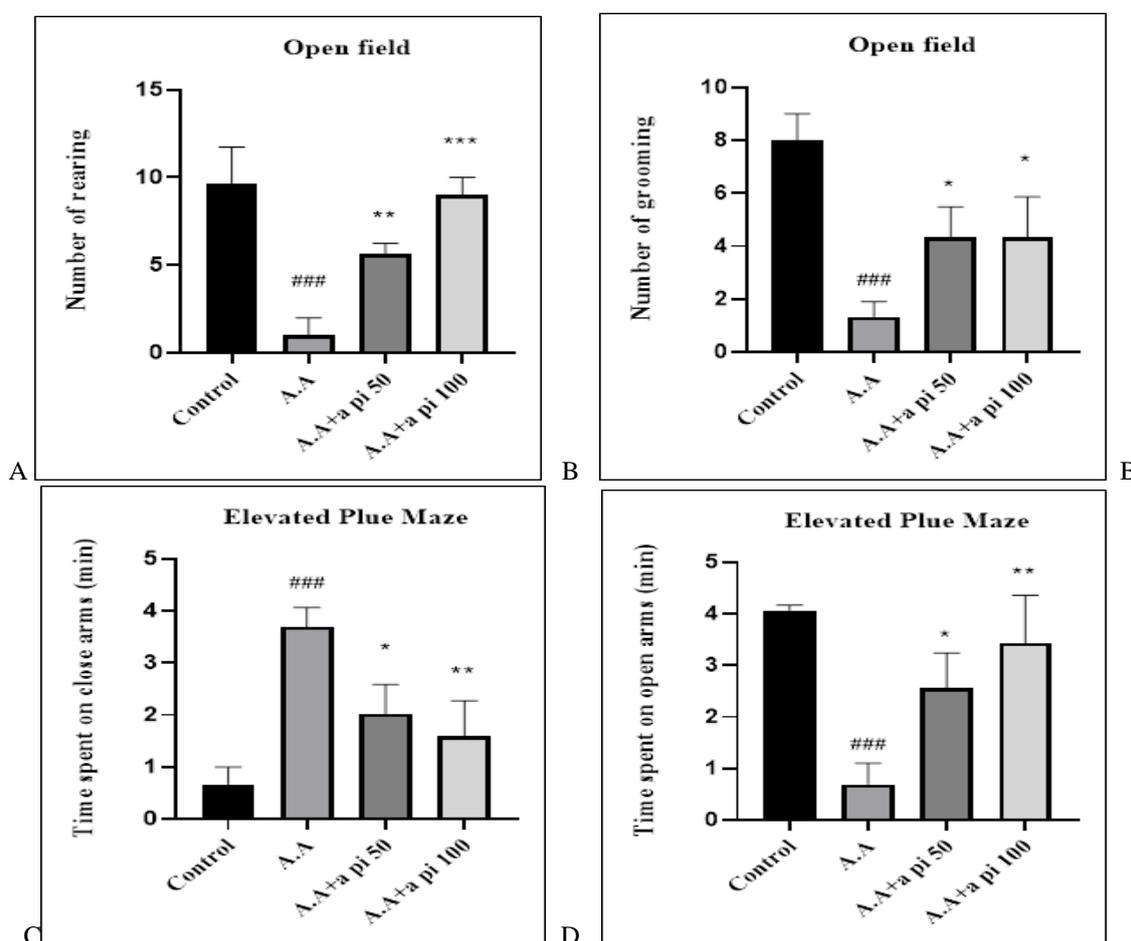


Figure 1: Behavioral test results. Open field test: (A) number of rearing events and (B) number of grooming episodes. Elevated plus maze: (C) time spent in the open arms and (D) time spent in the closed arms. Groups included Control, acetic acid (A.A), and α -pinene-treated groups at 50 (A.A+ α Pi 50) and 100 (A.A+ α Pi 100) mg/kg. $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, and ### $p < 0.001$ indicate significant differences of the acetic acid group compared with the Control group. $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, and * $p < 0.001$ indicate significant differences of the (A.A+ α Pi 50) and (A.A+ α Pi 100) groups compared with the acetic acid group (n = 6). Data are presented as mean \pm standard deviation.**

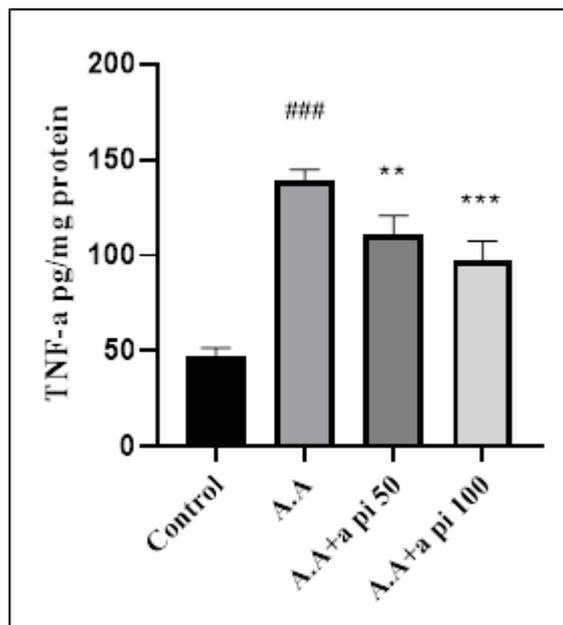


Figure 2: TNF- α levels in the cerebral cortex tissue of rats in the Control, acetic acid (A.A), and α -pinene-treated groups at 50 (A.A+ α Pi 50) and 100 (A.A+ α Pi 100) mg/kg.

p < 0.05, ## p < 0.01, and ### p < 0.001 indicate significant differences of the acetic acid group compared with the Control group.

p < 0.05, ** p < 0.01, and * p < 0.001 indicate significant differences of the (A.A+ α Pi 50) and (A.A+ α Pi 100) groups compared with the acetic acid group (n = 6). Data are presented as mean \pm standard deviation.**

بحث

مانند TNF- α ، IL-1 β و IL-6 در هیپوکامپ، قشر مغز و هیپوتالاموس گردیده است (Dempsey et al, 2019; Riazi et al, 2008; Wang et al, 2010; Zonis et al, 2015). علاوه بر این، پژوهشگران بیان بیش از حد گیرنده شبه تول ۴ (TLR-4)، زیرواحد فسفریله شده NF- κ B p65، پاسخ اولیه تمایز میلوئیدی ۸۸ (Myd88) و پروتئین گیرنده شبه نوکلئوتیدی ۳ (NLRP3) را در هیپوکامپ حیوانات گروه‌های مبتلا به IBD در مقایسه با گروه‌های کنترل گزارش کرده‌اند که بیان‌گر فعال‌سازی مسیر التهابی TLR4/NF- κ B و اینفلامازوم‌های NLRP3 در CNS است (Haj-Mirzaian et al, 2017; Jang et al, 2018; Zhou et al, 2022). این شواهد نشان می‌دهد که کولیت می‌تواند منجر به التهاب CNS شود و در نهایت به بروز رفتارهای غیرطبیعی در حیوانات بیانجامد. در مطالعه فعلی در مدل کولیت ناشی از تزریق اسید استیک به داخل کولون رفتارهای شبه اضطرابی در آزمون فضای باز با کاهش

نتایج این مطالعه نشان داد که در مدل کولیت ناشی از تزریق اسید استیک به داخل کولون رفتارهای شبه اضطرابی در موش صحرائی مشاهده می‌شود. همچنین تزریق اسید استیک به داخل کولون موجب افزایش سطح TNF- α در قشر مغز گردید. با این حال درمان با آلفا پاین موجب کاهش رفتارهای شبه اضطرابی و همچنین کاهش سطح TNF- α در قشر مغز شد.

نشان داده شده است که در بیماران مبتلا به IBD، میانجی‌های پیش‌التهابی در گردش خون ممکن است از عوامل اصلی در ایجاد التهاب سیستم عصبی مرکزی (CNS) باشند. در نتیجه، شواهد فزاینده‌ای حاکی از آن است که اختلالات خلقی با تغییر در وضعیت‌های التهابی در CNS مرتبط هستند (Abautret-Daly et al, 2017; Craig et al, 2020; Frenkel et al, 2022). در برخی مطالعات که از مدل‌های حیوانی کولیت تجربی استفاده شده است، التهاب محیطی باعث افزایش سطوح سایتوکاین‌های پیش‌التهابی

انفارکتوس و بهبود عملکرد عصبی می‌شود (Weston-Green et al, 2021). در مطالعات مدل درد فرمالین نیز، تجویز پیش‌درمانی آلفا پائین منجر به کاهش شاخص‌های رفتاری درد، کاهش غلظت $TNF-\alpha$ و $IL-1\beta$ در بافت نخاع و بهبود شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر افزایش SOD، GSH و CAT و کاهش MDA شده است (Kaveh Rahimi et al, 2023). مجموعه این یافته‌ها نشان می‌دهد که آلفا پائین از طریق مهار مسیرهای کلیدی التهاب و تعدیل استرس اکسیداتیو، پتانسیل بالایی در پیشگیری و مدیریت بیماری‌های التهابی و نوروزنیک دارد. در مطالعه ما آلفا پائین در مدل کولیت ناشی از تزریق اسید استیک به داخل کولون رفتارهای شبه اضطرابی در آزمون فضای باز و ماز به علاوه مرتفع را کاهش داد. این اثرات ممکن است ناشی از کاهش سطح $TNF-a$ در قشر مغز باشد.

این مطالعه نشان داد که القای کولیت با اسید استیک موجب بروز رفتارهای شبه‌اضطرابی و افزایش $TNF-\alpha$ در قشر مغز موش‌های صحرایی می‌شود. درمان با آلفاپائین توانست این تغییرات را به طور معنی‌داری کاهش دهد که احتمالاً ناشی از مهار مسیرهای التهابی و تعدیل پاسخ‌های عصبی-ایمنی است. این نتایج بیان‌گر پتانسیل آلفا پائین به عنوان یک عامل مداخله‌گر در اختلالات رفتاری مرتبط با التهاب روده است.

رفتارهای $rearing$ و $grooming$ مشاهده شد. همچنین در ماز به علاوه مرتفع زمان حضور حیوان در بازوی باز کم‌تر از گروه کنترل بود که نشانه رفتارهای شبه اضطرابی می‌باشد. این اثرات احتمالاً ناشی از افزایش سطح $TNF-a$ در قشر مغز به دنبال تزریق اسید استیک به داخل کولون می‌باشد. با این حال مطالعات کامل‌تر در این زمینه توصیه می‌گردد.

مطالعات متعددی اثرات ضدالتهابی آلفا پائین را از طریق مکانیسم‌های مولکولی و مدل‌های مختلف بیماری بررسی کرده‌اند. شواهد نشان می‌دهد که α -پائین با مهار مسیرهای MAPKs و $NF-\kappa B$ در ماکروفاژهای صفاقی موش، تولید سایتوکاین‌های پیش‌التهابی نظیر $TNF-\alpha$ ، $IL-6$ و نیتریک اکسید (NO) را کاهش می‌دهد و همچنین بیان iNOS و COX-2 را سرکوب می‌کند (Kim et al, 2015). این ویژگی‌های مهار بر مسیرهای التهابی، در مدل‌های آسیب عصبی نیز تأیید شده است؛ به طوری که در مدل ایسکمی مغزی، آلفا پائین با کاهش بیان $NF-\kappa B$ p65، iNOS، Caspase-3 و COX-2 در بافت‌های مغزی، از نوروپاتی‌ها در برابر آسیب ایسکمیک محافظت می‌کند (Shabani et al, 2023). علاوه بر این، بررسی‌ها نشان داده‌اند که آلفا پائین در محیط‌های سلولی تحریک شده با LPS، پاسخ‌های التهابی را با کاهش $IL-6$ ، $TNF-\alpha$ و NO سرکوب کرده و در مدل‌های نورولوژیک، باعث کاهش اندازه ناحیه

تشکر و قدردانی

نویسندگان مراتب قدردانی خود را از حمایت شورای پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز (SCU.VB1403.50857) اعلام می‌دارند.

تعارض منافع

نویسندگان اظهار می‌دارند که هیچ‌گونه تعارض منافی ندارند.

منابع مالی

این پژوهش با حمایت معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز انجام شده است.

- Abautret-Daly, A., Dempsey, E., Riestra, S., de Francisco-Garcia, R., Parra-Blanco, A., Rodrigo, L., Medina, C., Connor, T. J., & Harkin, A. (2017). Association between psychological measures and inflammatory and disease-related markers of inflammatory bowel disease. *International Journal of Psychiatry in Clinical Practice*, 21(3), 221–230.
- Allenspach, K. (2011). Clinical immunology and immunopathology of the canine and feline intestine. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 41(2), 345–360.
- Cerquetella, M., Spaterna, A., Laus, F., Tesei, B., Rossi, G., Antonelli, E., Villanacci, V., & Bassotti, G. (2010). Inflammatory bowel disease in the dog: Differences and similarities with humans. *World Journal of Gastroenterology*, 16(9), 1050–1056.
- Choi, K., Chun, J., Han, K., Park, S., Soh, H., Kim, J., Lee, J., Lee, H. J., Im, J. P., & Kim, J. S. (2019). Risk of anxiety and depression in patients with inflammatory bowel disease: A nationwide, population-based study. *Journal of Clinical Medicine*, 8(5), 654.
- Craig, C. F., Filippone, R. T., Stavely, R., Bornstein, J. C., Apostolopoulos, V., & Nurgali, K. (2022). Neuroinflammation as an etiological trigger for depression comorbid with inflammatory bowel disease. *Journal of Neuroinflammation*, 19(1), Article 4.
- Dempsey, E., Abautret-Daly, A., Docherty, N. G., Medina, C., & Harkin, A. (2019). Persistent central inflammation and region-specific cellular activation accompany depression- and anxiety-like behaviours during the resolution phase of experimental colitis. *Brain, Behavior, and Immunity*, 80, 616–632.
- Dowlati, Y., Herrmann, N., Swardfager, W., Liu, H., Sham, L., Reim, E. K., & Lanctôt, K. L. (2010). A meta-analysis of cytokines in major depression. *Biological Psychiatry*, 67(5), 446–457.
- Frenkel, S., Bernstein, C. N., Sargent, M., Jiang, W., Kuang, Q., Xu, W., & Hu, P. (2020). Copy number variation-based gene set analysis reveals cytokine signalling pathways associated with psychiatric comorbidity in patients with inflammatory bowel disease. *Genomics*, 112(1), 683–693.
- Haj-Mirzaian, A., Amiri, S., Amini-Khoei, H., Hosseini, M.-J., Haj-Mirzaian, A., Momeny, M., Rahimi-Balaei, M., & Dehpour, A. R. (2017). Anxiety- and depressive-like behaviors are associated with altered hippocampal energy and inflammatory status in a mouse model of Crohn's disease. *Neuroscience*, 366, 124–137.
- Hugot, J.-P., Chamaillard, M., Zouali, H., Lesage, S., Cézard, J.-P., Belaiche, J., Almer, S., Tysk, C., O'Morain, C. A., & Gassull, M. (2001). Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature*, 411(6837), 599–603.
- Jang, S., Lim, S., Jeong, J., Jang, H., Lee, H., Han, M., & Kim, D. (2018). Gastrointestinal inflammation by gut microbiota disturbance induces memory impairment in mice. *Mucosal Immunology*, 11(2), 369–379.
- Kim, D. S., Lee, H. J., Jeon, Y. D., Han, Y. H., Kee, J. Y., Kim, H. J., Shin, H. J., Kang, J., Lee, B. S., Kim, S. H., Kim, S. J., Park, S. H., Choi, B. M., Park, S. J., Um, J. Y., & Hong, S. H. (2015). Alpha-Pinene Exhibits Anti-Inflammatory Activity Through the Suppression of MAPKs and the NF-κB Pathway in Mouse Peritoneal Macrophages. *The American journal of Chinese medicine*, 43(4), 731–742.
- Mawdsley, J. E., & Rampton, D. S. (2005). Psychological stress in IBD: New insights into pathogenic and therapeutic implications. *Gut*, 54(10), 1481–1491.
- Mohammadi, M., Rahimi, K., Rezaie, A., & Tabandeh, M. R. (2025). The role of fecal microbiota transplantation on the NLRP3-caspase 1 pathway and anxiety-like behavior in a rat model of ulcerative colitis. *Scientific Reports*, 15(1), Article 14831.
- Neuendorf, R., Harding, A., Stello, N., Hanes, D., & Wahbeh, H. (2016). Depression and anxiety in patients with inflammatory bowel disease: A systematic review. *Journal of Psychosomatic Research*, 87, 70–80.
- Ogura, Y., Bonen, D. K., Inohara, N., Nicolae, D. L., Chen, F. F., Ramos, R., Britton, H., Moran, T., Karaliuskas, R., & Duerr, R. H. (2001). A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature*, 411(6837), 603–606.
- Ostanin, D. V., Bao, J., Koboziev, I., Gray, L., Robinson-Jackson, S. A., Kosloski-Davidson, M., Price, V. H., & Grisham, M. B. (2009). T cell transfer model of chronic colitis: Concepts, considerations, and tricks of the trade. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 296(2), G135–G146.
- Rahimi, K., Zalaghi, M., Shehznad, E. G., Salari, G., Baghdezfali, F., & Ebrahimifard, A. (2023). The effects of alpha-pinene on inflammatory

- responses and oxidative stress in the formalin test. *Brain Research Bulletin*, 203, 110774.
- Riazi, K., Galic, M. A., Kuzmiski, J. B., Ho, W., Sharkey, K. A., & Pittman, Q. J. (2008). Microglial activation and TNF- α production mediate altered CNS excitability following peripheral inflammation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(44), 17151–17156.
- Shabani, M., Erfani, S., Abdolmaleki, A., Afzali, F. E., & Khoshnazar, S. M. (2023). Alpha-pinene modulates inflammatory response and protects against brain ischemia via inducible nitric oxide synthase–nuclear factor-kappa B–cyclooxygenase-2 pathway. *Molecular Biology Reports*, 50(8), 6505–6516.
- Soltani, M., Ghotbeddin, Z., Rahimi, K., & Tabandeh, M. R. (2024). Effects of alpha-pinene on oxidative stress and inflammatory response in acute gastric ulcers in rats. *Iranian Veterinary Journal*, 20(3), 101–113.
- Tarar, Z. I., Zafar, M. U., Farooq, U., Ghous, G., Aslam, A., Inayat, F., & Ghouri, Y. A. (2022). Burden of depression and anxiety among patients with inflammatory bowel disease: Results of a nationwide analysis. *International Journal of Colorectal Disease*, 37(2), 313–321.
- Wang, K., Yuan, C.-P., Wang, W., Yang, Z.-Q., Cui, W., Mu, L.-Z., et al. (2010). Expression of interleukin-6 in brain and colon of rats with TNBS-induced colitis. *World Journal of Gastroenterology*, 16(18), 2252–2259.
- Weston-Green, K., Clunas, H., & Jimenez Naranjo, C. (2021). A review of the potential use of pinene and linalool as terpene-based medicines for brain health: Discovering novel therapeutics in the flavours and fragrances of cannabis. *Frontiers in Psychiatry*, 12, 583211.
- Zhang, C. K., Hewett, J., Hemming, J., Grant, T., Zhao, H., Abraham, C., Oikonomou, I., Kanakia, M., Cho, J. H., & Proctor, D. D. (2013). The influence of depression on quality of life in patients with inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Diseases*, 19(8), 1732–1739.
- Zhou, F., Jiang, H., Kong, N., Lin, J., Zhang, F., Mai, T., Cao, Z., & Xu, M. (2022). Electroacupuncture attenuated anxiety- and depression-like behavior via inhibition of hippocampal inflammatory response and metabolic disorders in TNBS-induced IBD rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022, 8295580.
- Zonis, S., Pechnick, R. N., Ljubimov, V. A., Mahgerefteh, M., Wawrowsky, K., Michelsen, K. S., & Chesnokova, V. (2015). Chronic intestinal inflammation alters hippocampal neurogenesis. *Journal of Neuroinflammation*, 12(1), Article 65.

Received: 06.07.2025

Accepted: 29.08.2025

The effect of alpha-pinene on anxiety-like behaviors in acetic acid-induced ulcerative colitis in rats: The gut-brain axis

Kaveh Rahimi^{1*}

¹ Assistant Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Received: 06.07.2025

Accepted: 29.08.2025

Abstract

Ulcerative colitis is associated with various neurological complications including peripheral neuropathy, headache, depression, anxiety, and cognitive impairments. This study aimed to evaluate the anxiolytic and anti-inflammatory effects of alpha-pinene on anxiety-like behaviors in an acetic acid-induced colitis model in male Wistar rats. Twenty-four rats were randomly assigned into four groups (n=6): control, colitis with normal saline treatment, and two colitis groups treated with alpha-pinene at doses of 50 and 100 mg/kg. Following colitis induction, anxiety-like behaviors were assessed using the open field test and elevated plus maze. Additionally, TNF- α levels in brain tissue were measured. The results of the study showed that colitis significantly increased anxiety-like behaviors and elevated TNF- α levels in the brain. Treatment with alpha-pinene at both doses markedly reduced anxiety-like behaviors and brain TNF- α levels. These findings suggest that alpha-pinene exerts notable anti-inflammatory and anxiolytic effects in the acetic acid-induced colitis model and may serve as a potential therapeutic agent to alleviate neurological complications associated with colitis.

Key words: Alpha-pinene, Anxiety-like behaviors, Ulcerative colitis, TNF-a, Rats

* **Corresponding Author:** Kaveh Rahimi, Assistant Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
E-mail: K.rahimi@scu.ac.ir



© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).