

مطالعه اثرات روغن هسته انگور بر میزان اضطراب و فعالیت های حرکتی رت های نر بالغ نژاد ویستار

زهرا ربیعی (MSc)^۱، زهره داوودی زاده (MSc)^۱، الهام بیجاد (MSc)^۱، ستار کیانی (MSc)^۱، محمود رفیعیان کویایی (PhD)^{۱*}

۱- مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد

دریافت: ۹۴/۸/۲۳، اصلاح: ۹۴/۱۰/۱۶، پذیرش: ۹۴/۱۲/۱۲

خلاصه

سابقه و هدف: اضطراب یک بیماری رایج در جامعه می باشد که نوروترانسمیترهای متعددی در آن دخیل می باشند. استفاده از داروهای شیمیایی برای درمان این بیماری با عوارض جانبی بیشماری همراه است. هدف از مطالعه حاضر بررسی خواص ضد اضطرابی روغن هسته انگور بر موش های صحرایی نر در مدل ماز بعلاوه ای مرتفع است. **مواد و روش ها:** در این مطالعه تجربی رت ها در محدوده وزنی ۲۵۰-۳۰۰ گرم به ۵ گروه آزمایشی ۸ تائی تقسیم و روغن هسته انگور ۵ روز متوالی به روش گاوژ تجویز و تست های رفتاری ۳۰ دقیقه پس از گاوژ انجام شد. خصوصیات ضد اضطرابی روغن هسته انگور توسط مدل ماز بعلاوه ای مرتفع و تعادل حرکتی با استفاده از دستگاه روتارود بررسی شدند. پس از تست های رفتاری، از قلب حیوانات تحت بی هوشی عمیق خونگیری شد و پس از جدا کردن سرم تست ظرفیت آنتی اکسیدانی انجام شد. **یافته ها:** در گروه های دریافت کننده روغن هسته انگور با دوزهای ۵۰ (۱۵±۲/۱)، ۱۰۰ (۲۱/۵±۱/۸) و ۲۰۰ (۲۷/۵±۱/۸) میلیگرم بر کیلوگرم وزن بدن، تعداد دفعات ورود به بازوی باز در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی داری افزایش یافت (p=۰/۰۰۸، p=۰/۰۰۵، p=۰/۰۰۸). همچنین روغن هسته انگور با دوز ۲۰۰ (۱۷۷/۵±۹۵/۱۷) میلیگرم باعث افزایش معنی داری در مدت زمان ماندن در بازوهای باز شد (p=۰/۰۲۳). ظرفیت آنتی اکسیدانی سرم خون در گروه های دریافت کننده روغن هسته انگور به میزان چشمگیری بیشتر بود. **نتیجه گیری:** براساس نتایج این مطالعه، روغن هسته انگور ممکن است از طریق مهار استرس اکسیداتیو باعث کاهش میزان اضطراب در موش های صحرایی نر در مدل ماز به علاوه مرتفع شود. **واژه های کلیدی:** روغن هسته انگور، ماز بعلاوه شکل مرتفع، فعالیت حرکتی.

مقدمه

روغن های نباتی مثل روغن پالم و نارگیل، حاوی منابع طبیعی توکوترنی انولها است. این ترکیبها به طور کلی در مقایسه با توکوفرولها از قدرت آنتی اکسیدانی بسیار بالاتری برخوردارند، بنابراین علیرغم درجه غیراشباع بودن بالا، به دلیل برخورداری از ترکیب های پایدارکننده فوق، در مقابل اکسیداتیو پایدار است (۱۸ و ۱۹). استرس اکسیداتیو به عنوان یک ریسک فاکتور درافزایش لیپیدها و پروتئین های اکسید شده در دستگاه عصبی مرکزی و دیگر ارگان ها مطرح است در نهایت موجب آسیب بافتی می گردد (۲۲-۲۰). تولید رادیکال های آزاد در ارتباط با پروسه های طبیعی سلولی مانند متابولیسم سلولی، تنفس میتوکندریایی، فعالیت لیپواکسیژنازی و سیکلواکسیژنازی است (۲۴-۲۳). تفاوت مقدار (reactive ROS (oxygen species تولیدی در هر نقطه از مغز شاید به میزان مصرف اکسیژن آن ناحیه مربوط باشد. به همین دلیل هیپوکمپ و استراتیوم که مصرف اکسیژن بیشتری دارند، نسبت به مناطق دیگر مغز حساس ترند (۲۷). اگرچه مکانیسم های به وجود آورنده اضطراب هنوز به طور کامل مشخص نشده اند ولی در سالهای اخیر دخالت استرس اکسیداتیو در ایجاد اختلالات اضطرابی نشان داده

همه انسان ها در زندگی خود دچار اضطراب می شوند، ولی اضطراب مزمن و شدید غیرعادی و مشکل ساز است. تحقیقات و بررسی ها نشان می دهند که اضطراب در خانم ها، طبقات کم درآمد و افراد میان سال و سال خورده بیشتر دیده می شود (۱). با توجه به اثرات جانبی منفی داروهای شیمیایی و هزینه بالای انجام دارو درمانی امروزه محققان به دنبال جست و جو برای یافتن ترکیبات دارویی بدون خطر هستند (۲ و ۳). ترکیبات مشتق شده از گیاهان یکی از گزینه هایی می باشد که در سال های اخیر مطالعات وسیعی را به خود معطوف ساخته اند (۸-۴). این داروها بر بسیاری از بیماری ها اثر درمانی پیشگیری کننده خوبی از خود نشان داده اند (۱۶-۹). انگور یکی از محصولاتی است که در بیشتر مناطق دنیا کشت می شود. در حدود ۴۶٪ انگورهای تازه جهت تولید شراب قرار می گیرند. در طی روند ساخت شراب مقدار زیادی گوشت انگور به عنوان محصول فرعی تولید می شود. هسته انگور دارای ۲۰ تا ۲۶٪ گوشت بوده، دارای مقدار پروتئین بالا و نیز مقدار ۱۰٪ تا ۲۰٪ روغن به همراه مقدار بالای ویتامین E می باشد که اثرات بسیاری بر سلامتی بشر دارند (۱۷). روغن هسته انگور نظیر برخی

□ این مقاله حاصل پایان نامه آقای ستار کیانی دانشجوی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد می باشد.

* مسئول مقاله: دکتر محمود رفیعیان کویایی

آدرس: دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی. تلفن: ۰۳۸-۳۳۳۴۶۷۲۲

و ثبت گردید. افزایش ورود به بازوهای باز و مدت زمان سپری شده در آن شاخص کاهش اضطراب در موش تلقی می شود (۳۲). آزمایشات در ۵ گروه موش ۸ تایی به شرح ذیل انجام گردید:

گروه ۱ (گروه کنترل): حیواناتی که نرمال سالیان را به صورت گاوژ به مدت ۵ روز دریافت کردند.

گروه ۲: حیواناتی که روغن هسته انگور را به صورت گاوژ در دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۵ روز به صورت گاوژ دریافت کردند.

گروه ۳: حیواناتی که روغن هسته انگور را به صورت گاوژ در دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۵ روز به صورت گاوژ دریافت کردند.

گروه ۴: حیواناتی که روغن هسته انگور را به صورت گاوژ در دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۵ روز به صورت گاوژ دریافت کردند.

گروه ۵: حیواناتی که دیازپام را در دوز ۱ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۵ روز به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند.

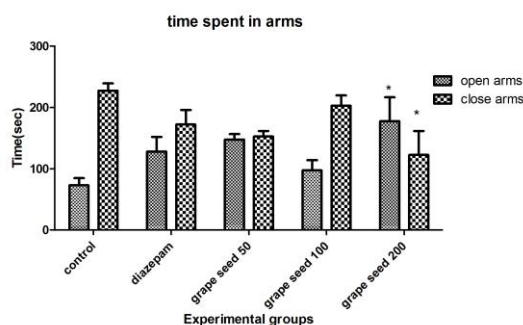
اندازه گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی سرم: بعد از انجام آزمون ها بلافاصله خون گیری از حیوانات انجام شد و ظرفیت آنتی اکسیدانی سرم خون موش ها اندازه گیری شد. اندازه گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی سرم با روش FRAP مورد ارزیابی قرار گرفت. جذب مربوطه با دستگاه اسپکتوفتومتر ثبت شد (۳۳).

روش تجزیه و تحلیل داده ها: تجزیه و تحلیل آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS16 انجام شد. جهت تعیین اختلاف معنی دار بین تیمارها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (One Way ANOVA) و جهت مقایسه میانگین ها از آزمون tukey استفاده گردید و $p < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

مدت زمان ماندن در بازوی باز: روغن هسته انگور با دوز ۲۰۰ میلیگرم بر کیلوگرم وزن بدن در مقایسه با گروه کنترل باعث افزایش معنی داری در مدت زمان ماندن در بازوی باز شد ($p = 0.032$) همچنین روغن هسته انگور با دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلیگرم باعث افزایش زمان ماندن در بازوی باز شد ولی از لحاظ آماری معنی دار نبود (نمودار ۱).

مدت زمان ماندن در بازوهای بسته: روغن هسته انگور با دوز ۲۰۰ میلیگرم باعث کاهش معنی داری در مدت زمان ماندن در بازوی بسته شد ($p = 0.023$). اختلاف معنی داری بین گروه کنترل با سایر گروهها و همچنین بین گروههای دیگر وجود نداشت (نمودار ۱).



نمودار ۱. زمان سپری شده در بازوهای بسته و باز در گروههای

آزمایشی. $p < 0.05$ *

شده است (۲۸). در این مطالعه با توجه به اثرات آنتی اکسیدانی قوی هسته انگور و ارتباط بین استرس اکسیداتیو و اضطراب، اثرات ضد اضطرابی روغن هسته انگور مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

آزمون های مدل حیوانی: در این مطالعه تجربی موش های صحرایی نر بالغ در محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم در ۵ گروه ۸ تایی گروه بندی شدند. حیوانات در شرایط دمایی مناسب (21 ± 2) و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت خاموشی با دسترسی آزاد به آب و غذای یکسان نگهداری شدند.

تهیه روغن هسته انگور: روغن هسته انگور از فروشگاه معتبر در شهرکرد خریداری شد و در آزمایش ها از آن استفاده شد.

آزمون هماهنگی روانی-حرکتی با دستگاه روتارود: دستگاه روتارود شامل یک گردونه است که سرعت چرخیدن آن ۴۰-۰ rpm می باشد. در این بررسی سرعت چرخیدن ۱۰ rpm با شتاب 7 rpm^2 در نظر گرفته شد که تقریباً ۱۰-۱۱ دور در دقیقه است. در هر یک از گروههای دریافت کننده روغن هسته انگور یا کنترل، نیم ساعت بعد از دریافت روغن هسته انگور، موشها بر روی گردونه دستگاه روتارود قرار گرفتند. به مدت ۳۰۰ ثانیه (ماکزیمم) گردونه چرخید و مدت زمانی را که موش توانست تعادل خود را حفظ، و در مقابل حرکت گردونه مقاومت کند، بعنوان زمان مقاومت موش ثبت شد و این عمل برای هر موش ۳ مرتبه تکرار و میانگین آن محاسبه شد (۲۹).

روش ایجاد استرس: رت های هر گروه آزمایشی در طول ۵ روز دریافت روغن هسته انگور قبل از دریافت روغن هسته انگور به مدت ۱۰ دقیقه در رسترن در یخچال با دمای ۴ درجه قرار داده شدند تا در آنها استرس هیپوترمی ایجاد شود و در روز پنجم نیم ساعت بعد از دریافت روغن هسته انگور تست اضطراب توسط ماز بعلاوه ای شکل مرتفع انجام شد (۳۰ و ۳۱). روغن هسته انگور هر روز و به صورت گاوژ به حیوانات داده شد و دیازپام نیز هر روز به صورت تزریق داخل صفاقی به حیوانات داده شد. تمام داروها در ساعت ۱۱ صبح هر روز به حیوانات داده شد.

روش ارزیابی میزان اضطراب: برای ارزیابی میزان اضطراب از دستگاهی به نام ماز بعلاوه ای شکل مرتفع که مدل استاندارد جهت ارزیابی سطح اضطراب در جوندگان است، استفاده شد. این دستگاه شامل دو بازوی باز (هر کدام به ابعاد 50×5 سانتی متر) و دو بازوی بسته (هر کدام به ابعاد $50 \times 5 \times 40$ سانتی متر) و یک کفه مرکزی (به ابعاد 5×5 سانتی متر) است. به طوری که بازوهای باز روبروی هم و بازوهای بسته نیز روبروی هم قرار دارند و در حدود ۵۰ سانتی متر بالاتر از کف اتاق قرار می گیرند. این مدل سنجش اضطراب غیر شرطی بوده و نیازی به آموزش و یادگیری حیوان ندارد. بعد از تزریق داروهای مورد نظر در روز آزمون به حیوانات، هر موش به طور جداگانه، ۵ دقیقه قبل از آزمایش به اتاق کار منتقل شد و در جعبه ای مشکی از جنس پلکسی گلاس به ابعاد $40 \times 40 \times 30$ سانتی متر قرار گرفت تا فعالیت جستجوگرانه (Explorative activity) حیوان افزایش یابد. سپس برای سنجش سطح اضطراب، حیوان در ماز بعلاوه ای شکل مرتفع (در قسمت کفه و رو به بازوی باز) قرار داده شد و به مدت ۵ دقیقه فعالیت های جستجوگرانه، تعداد ورود به بازوهای باز و مدت زمان ماندن در بازوهای باز ارزیابی

در متابولیسم آنتی اکسیداتیو هستند خیلی زیاد با فنوتیپ های مربوط با اضطراب مرتبط است. علاوه بر این آنها پی بردند فعالیت این آنزیم ها در موش های مضطرب نسبت به موش های غیر مضطرب بالاتر است (۳۴).

اگرچه تا کنون مطالعه ای در ارتباط با اثرات ضداضطرابی روغن هسته انگور صورت نگرفته، اما تحقیقات انجام شده در طب مدرن بر روی این گیاه نشان داده که این گیاه دارای خواص متعدد درمانی است. عصاره هسته انگور غنی از ترکیبات آنتی اکسیدان بسیار قوی از جمله پروآنتی سیانیدین و پلی فنول ها می باشد. اثر پروآنتی سیانیدین در بدن ۲۰ برابر ویتامین C و ۵۰ برابر ویتامین E است. این ترکیبات آنتی اکسیدان با خنثی نمودن رادیکال های آزاد، جلوی تخریب سلولی ناشی از اثر رادیکال های آزاد را می گیرند به همین دلیل از عصاره هسته انگور در درمان اختلالاتی که همراه با افزایش رادیکال های آزاد هستند؛ استفاده می گردد (۲۹).

میوه انگور که به راحتی با فرم آب در بازار وجود دارد، شامل بسیاری از فلاونوئیدها، پلی فنول ها و پروآنتوسیانیدین با خواص آنتی اکسیدانی است. علاوه بر این، گزارش شده است که رسوراترول، که یک آنتی اکسیدان پلی فنولیک در شراب قرمز است، جزء فعال در پیشگیری از بیماری های قلبی بوده، همچنین دارای یک اثر حفاظتی در طول آسیب ایسکمیک مغزی است (۳۶). گزارش شده است که پیش تیمار محیط کشت سلولهای گلیال با عصاره پروآنتوسیانیدین دانه انگور باعث افزایش تعداد سلولهای زنده بعد از استرس اکسیداتیو ایجاد شده با H_2O_2 شده است. همچنین هسته انگور باعث افزایش تولید نیتریک اکساید داخل سلولی در محیط کشت آسترولگلیال مغز رت می شود (۳۷). گزارش شده است که رسوراترول تولید ROS های میتوکندریایی القا شده در موش و پراکسیداسیون لیپیدی را کاهش می دهد و همچنین اثر محافظتی در برابر آسیب اکسیداتیو DNA در موش دارای سکنه مغزی مستعد به فشار خون بالا دارد (۳۸).

در مطالعه ای فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره هسته انگور دو برابر عصاره رزماری تعیین گردیده است. هسته انگور حاوی ۶-۲۰ درصد روغن است. روغن هسته انگور سرشار از اسیدهای چرب ضروری است که در تغذیه انسان حائز اهمیت است. اسید لینولئیک که مؤثرترین اسید چرب برای کاهش کلسترول خون می باشد، اسید چرب غالب در واریته های مختلف روغن هسته انگور بوده و حدود ۵۲/۶-۶۹/۶ درصد از کل اسیدهای چرب آن را تشکیل داده است (۳۹). در مطالعه ای مصرف دوزهای بالای پروآنتوسیانیدین عصاره هسته انگور موجب کاهش آسیب بافتی در کولیت القاء شده توسط تری نیتروبنزن سولفونیک اسید گردید که یک مدل مزمن کولیت اولسراتیو تجربی است. رادیکال های آزاد نقش

مهمی در پاتوژنز کولیت السراتیو دارند. تولید رادیکال های آزاد در این بیماری افزایش می یابد و تحت شرایط فیزیولوژیک آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز، گلووتاتیون پراکسیداز و کاتالاز از سلول در مقابل عوامل اکسیدکننده مقاومت می کنند؛ ولی در کولیت اولسراتیو فعالیت این آنزیم ها کاهش می یابد. لذا تقویت سیستم حفاظت سلول با به کار بردن پاک کننده های رادیکالهای آزاد از اهداف درمانی در کولیت السراتیو است و از ترکیبات آنتی اکسیدان مختلف تاکنون استفاده شده است. عصاره هسته انگور دارای ترکیبات آنتی اکسیدان از جمله پروآنتی سیانیدین ها می باشد که موجب خنثی شدن اثر رادیکال های آزاد و منع پراکسیداسیون اسیدهای چرب غشاء گشته و مانع از فعال شدن عامل رونویسی NF- κ B می گردد (۴۰). ترکیبات موثره انگور و پروآنتوسیانیدین های آن مرگ سلولی القا شده توسط گلوتامات را از طریق مهار سیگنال های کلسیمی و مهار تشکیل نیتریک اکساید در محیط کشت سلولهای هیپوکامپی مهار می کنند. اثر محافظتی عصاره هسته انگور بر اختلالات حافظه و مهار LTP به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی و مهار آنتاگونیستی عصاره هسته انگور بر فعالیت گلوتامات در مغز می باشد (۲۹). مطالعه Sarkaki و همکاران نشان داد عصاره هسته انگور باعث کاهش معنی دار آسیب مغزی ناشی از ایسکمیک فوکال مغزی و خونرسانی مجدد می شود و همچنین باعث کاهش معنی دار میزان مالون دی آلدئید مغزی که نشانگر میزان پراکسیداسیون لیپیدی است، نیز می شود (۴۱). به طور خلاصه نتایج پژوهش حاضر نشان داد که روغن هسته انگور دارای خصوصیات ضداضطرابی است و سبب کاهش اضطراب در موش های صحرایی نر می شود. بعلاوه طبق مطالعات پیشین انجام شده اثر روغن هسته انگور بر سطح مالون دی آلدئید مغز و اثر کاهندگی آن بر سطح مالون دی آلدئید بیان کننده اثرات ممانعت کنندگی آن در برابر استرس های اکسیداتیو می باشد. روغن هسته انگور با داشتن خاصیت آنتی اکسیدانی قوی و همانطور که نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد ظرفیت آنتی اکسیدانی سرم در موش های دریافت کننده روغن هسته انگور با دوز ۲۰۰ نسبت به گروه کنترل بالاتر است بنابراین می توان نتیجه گرفت شاید این اثر ضداضطرابی ناشی از خاصیت آنتی اکسیدانی این روغن باشد هر چند مطالعات بیشتری برای تعیین مکانیسم دقیق اثرات ضداضطرابی روغن هسته انگور و اثرات ممانعت کنندگی آن در برابر استرس های اکسیداتیو نیاز است.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از تمامی کسانی که در انجام این تحقیق ما را یاری نمودند، تشکر و قدردانی می گردد.

Evaluation of the Effects of Grape Seed Oil on the Anxiety Level and Motor Coordination of Male Wistar Rats

Z. Rabiei (MSc)¹, Z. Davoodizade (MSc)¹, E. Bijad (MSc)¹, S. Kiyani (MSc)¹, M. Rafieian-kopaei(MD)^{*1}

1. Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Science, Shahrekord, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 18(6); Jun 2016; PP: 52-58

Received: Nov 14th 2015, Revised: Jan 16th 2016, Accepted: Mar 2th 2016

Abstract

BACKGROUND AND OBJECTIVES: Anxiety is a common psychological disorder in developing societies, in which several neurotransmitters are involved. Use of pharmaceutical drugs in the treatment of anxiety has been associated with numerous side effects. This study aimed to evaluate the anxiolytic effects of grape seed oil on male rats in the elevated plus maze (EPM) model.

METHODS: This experimental study was conducted on rats weighing 250- 300 grams divided into five groups of eight. Animals were administered with grape seed oil via gavage for five consecutive days, and behavioral tests were carried out 30 minutes after the intervention. Anxiolytic properties of grape seed oil were evaluated using the EPM model, and motor coordination of rats was assessed using the Rotarod apparatus. After behavioral evaluations, the animals were deeply anesthetized, and blood samples were obtained from their heart. After the extraction of blood serum, the antioxidant capacity test was performed.

FINDINGS: In animals administered with grape seed oil at doses of 50 (15±2.1), 100 (21.5±1.8), and 200 (27.5±1.8) milligram per kilogram of body weight, the number of open arm entries in EPM increased significantly compared to the control group (p=0.008, p=0.005, p=0.008). Moreover, gavage of grape seed oil at the dose of 200 mg/kg (177.5±95.17) significantly increased the time spent in the open arms of EPM (p=0.023). In addition, serum antioxidant capacity was significantly higher in rats receiving grape seed oil compared to control subjects.

CONCLUSION: According to the results of this study, grape seed oil could be effective in the reduction of anxiety levels through the inhibition of oxidative stress in rats in the EPM model.

KEY WORDS: *Grape seed oil, Elevated plus maze (EPM), Locomotor activity.*

Please cite this article as follows:

Rabiei Z, Davoodizade Z, Bijad E, Kiyani S, Rafieian-kopaei M. Evaluation of the Effects of Grape Seed Oil on the Anxiety Level and Motor Coordination of Male Wistar Rats. J Babol Univ Med Sci. 2015;18(6):52-8.

*Corresponding author: M. Rafieian-kopaei (PhD)

Address: Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Science, Shahrekord, I.R.Iran

Tel: +98 38 33346722

E-mail: rafieian@yahoo.com

References

1. Papez JW. A proposed mechanism of emotion. *Arch Neurol Psychiatry*. 1937;38(4):725-43.
2. Rafieian-Kopaei M. Medicinal plants and the human needs. *J HerbMed Pharmacol*. 2012; 1(1):1-2.
3. Heidarian E, Rafieian-Kopaei M. Protective effect of artichoke (*Cynara scolymus*) leaf extract against lead toxicity in rat. *Pharm Biol*. 2013;51(9):1104-9.
4. Asadi SY, Parsaei P, Karimi M, Ezzati S, Zamiri A, Mohammadzadeh F, Rafieian-Kopaei M. Effect of green tea (*Camellia sinensis*) extract on healing process of surgical wounds in rat. *Int J Surg*. 2013;11(4):332-7.
5. Parsaei P, Karimi M, Asadi SY, Rafieian-Kopaei M. Bioactive components and preventive effect of green tea (*Camellia sinensis*) extract on postlaparotomy intra-abdominal adhesion in rats. *Int J Surg*. 2013; 11(9):811-5
6. Rafieian-Kopaei M, Baradaran A, Merrikhi A, Nematbakhsh M, Madihi Y, Nasri H. Efficacy of Co-Administration of garlic extract and metformin for prevention of gentamicin-renal toxicity in wistar rats: A biochemical study. *Int J Prev Med*. 2013;4(3):258-64.
7. Nasri H, Nematbakhsh M, Rafieian-Kopaei M. Ethanolic extract of garlic for attenuation of gentamicin-induced nephrotoxicity in Wistar rats. *Iran J Kidney Dis*. 2013;7(5):376-82.
8. Bahmani M, Sarrafchi A, Shirzad H, Rafieian-Kopaei M. Autism: pathophysiology and promising herbal remedies. *Curr Pharm Des*. 2016; 22(3):277-285.
9. Sarrafchi A, Bahmani M, Shirzad H, Rafieian-Kopaei M. Oxidative stress and Parkinson's disease: New hopes in treatment with herbal antioxidants. *Curr Pharm Des*. 2016; 22(2): 238 -46.
10. Shaygani E, Bahmani M, Asgary S, Rafieian-Kopaei M. Inflammaging and cardiovascular disease: Management by medicinal plants, *Phytomedicine*. 2015;(1-8).
11. Nasri H, Shirzad H, Baradaran A. Rafieian-kopaei M. Antioxidant plants and diabetes mellitus. *J Res Med Sci*.2015; 20(5):491-50
12. Rafieian-Kopaei M, Asgary S, Adelnia A, Setorki M, Khazaei M, Kazemi S, Shamsi F. The effects of cornelian cherry on atherosclerosis and atherogenic factors in hypercholesterolemic rabbits. *J Med Plants Res*. 2011; 5(13): 2670-6.
13. Nasri H, Shabnam Hajian Sh, Ahmadi A, Baradaran A, Kohi G, Nasri P, Rafieian-Kopaei M. Ameliorative Effect of Green Tea Against Contrast-induced Renal Tubular Cell Injury, *Iran J KID DIS*. 2015;9(6):421-6.
14. Rafieian-Kopaei M, Setorki M, Douidi M, Baradaran A, Nasri H. Atherosclerosis: Process, Indicators, Risk Factors and New Hopes. *Int J Prev Med*. 2014;5(8):927- 46.
15. Mirhosseini M, Baradaran A, Rafieian-Kopaei M. *Anethum graveolens* and hyperlipidemia: A randomized clinical trial. *J Res Med Sci*.2014;19(8):758-61
16. Rafieian-Kopaei M, Shahinfard N, Rouhi-Boroujeni H, Gharipour M, Darvishzadeh-Boroujeni P. Effects of *Ferulago angulata* extract on serum lipids and lipid peroxidation. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2014(20):491-502.
17. Sedighi A, Gholami M, Rafieian-kopaei M. Study of the effect of plant growth regulators, size, and cultivar of the grape inflorescence explant on production of phenolic compounds in an in vitro condition. *J HerbMed Pharmacol*. 2014; 3(1): 35-40.
18. Bahmani M, Zargaran A, Rafieian-Kopaei M, Saki M. Ethnobotanical study of medicinal plants used in the management of diabetes mellitus in the urmia, northwest Iran. *Asian Pac J Trop Med*.2014; 7(1): 348-354.
19. Delfan B, Bahmani M, Hassanzadazar H, Saki K, Rafieian-Kopaei M. Identification of medicinal plants affecting on headaches and migraines in lorestan province, west of Iran. *Asian Pac J Trop Med*.2014; 7(1): 376-9.
20. Rabiei Z, Rafieian-Kopaei M, Mokhtari S, Alibabaei Z, Shahrani M. The effect of pretreatment with different doses of *Lavandula officinalis* ethanolic extract on memory, learning and nociception. *Biomed Aging Pathol*. 2014;4(1):71-6.
21. Madihi Y, Merrikhi A, Baradaran A, Rafieian-kopaei M, Shahinfard N, Ansari R, Shirzad H, Mesripour A. Impact of sumac on postprandial high-fat oxidative stress. *Pak J Med Sci*. 2013; 29 (1): 340-5.
22. Nasri H, Shirzad H, Baradaran A. Rafieian-kopaei M. Antioxidant plants and diabetes mellitus. *J Res Med Sci*. 2015; 20(5):491-50.
23. Rafieian-Kopaei M, Baradaran A. Plants antioxidants: From laboratory to clinic. *J Nephropathol*. 2013; 2(2): 152-3.
24. Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Medicinal plants and antioxidants: Why they are not always beneficial?. *Iran J Public Health*. 2014. 43(2):255-7.

25. Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Protective effects of herbal antioxidants on diabetic kidney disease. *J Res Med Sci.* 2014;19(1):82-3.
26. Baradaran A, Nasri H, Nematbakhsh M, Rafieian-Kopaei M. Antioxidant activity and preventive effect of aqueous leaf extract of Aloe Vera on gentamicin-induced nephrotoxicity in male Wistar rats. *Clinica Terapeutica.* 2014;165(1):7-11.[In Persian].
27. Al Rouq F, El Eter E. PPAR- γ activator induces neuroprotection in hypercholesterolemic rats subjected to global cerebral ischemia/reperfusion injury: In vivo and in vitro inhibition of oxidative stress. *Exp Geront.* 2014;51:1-7.
28. Bouayed J, Rammal H, Soulimani R. Oxidative stress and anxiety: relationship and cellular pathways. *Oxid Med Cell Longev.* 2009;2(2):63-7.
29. Rabiei Z, Rafieian-kopaei M, Heidarian E, Saghaei E, Mokhtari S. Effects of Zizyphus jujube extract on memory and learning impairment induced by bilateral electric lesions of the nucleus basalis of meynert in rat. *Neuroche Res.* 2014;39(2):353-60.
30. Saki K, Bahmani M, Rafieian-Kopaei M. The effect of most important medicinal plants on two important psychiatric disorders (anxiety and depression)-a review. *Asian Pac J Trop Med.* 2014; 7(1): 34-42.
31. Akhlaghi M, Shabani Gh, Rafieian-Koupaei M, Parvin N, Saadat M, Akhlaghi M. Citrus aurantium Blossom and Preoperative Anxiety. *Rev. Bras. Anesthesiol.* 2011; 61(6):702-12.
32. Rabiei Z, Rafieian M. Effects of zizyphus jujuba extract on motor coordination impairment induced by bilateral electric lesions of the nucleus basalis of meynert in rat. *Physiol Pharmacol.* 2014;17(4):469-77.
33. Sharafati R, Sharafati F, Rafieian-kopaei M. Biological characterization of Iranian walnut (*Juglans regia*) leaves. *Turk J Biol.* 2011:635-9.
34. Hovatta I, Tennant RS, Helton R, Marr RA, Singer O, Redwine JM, et al. Glyoxalase 1 and glutathione reductase 1 regulate anxiety in mice. *Nature.* 2005;438(7068):662-6.
35. Rammal H, Bouayed J, Younos C, Soulimani R. Evidence that oxidative stress is linked to anxiety-related behaviour in mice. *Brain Behav Immun.* 2008;22(8):1156-9.
36. Huang SS, Tsai MC, Chih CL, Hung LM, Tsai SK. Resveratrol reduction of infarct size in Long-Evans rats subjected to focal cerebral ischemia. *Life sci.* 2001;69(9):1057-65.
37. Roychowdhury S, Wolf G, Keilhoff G, Bagchi D, Horn T. Protection of primary glial cells by grape seed proanthocyanidin extract against nitrosative/oxidative stress. *Nitric Oxide.* 2001;5(2):137-49.
38. Mizutani K, Ikeda K, Yamori Y. Resveratrol inhibits AGEs-induced proliferation and collagen synthesis activity in vascular smooth muscle cells from stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;274(1):61-7.
39. Nevin K, Rajamohan T. Beneficial effects of virgin coconut oil on lipid parameters and in vitro LDL oxidation. *Clinic biochem.* 2004;37(9):830-5.
40. Nasiri Asl M, Hosseinzadeh H. Review of the pharmacological effects of *Vitis vinifera* (grape) and its bioactive compounds. *Phyto Res.* 2009;2(4):14-8.
41. Sarkaki A, Rafieirad M, Hossini SE, Farbood Y, Motamedi F, Mansouri SMT, et al. Improvement in memory and brain long-term potentiation deficits due to permanent hypoperfusion/ischemia by grape seed extract in rats. *Iran J Basic Med Sci.* 2013;16(9):1004.