

# Evaluation The Effect of Intra Central Nucleus of Amygdala Administration of Methyl Jasmonate on Anxiety -Like and Social Behaviors Deficiency in Adult Male Rats Exposed to Acute Stress

Manizhehsadat Ansari-kermani<sup>1</sup>, Mehdi Abbasnejad<sup>2</sup>, Razieh Kooshki<sup>3\*</sup>, Saeed Esmaeili-mahani<sup>4</sup>, Fatemeh Shahsavari<sup>5</sup>

1. MSc in Animal Physiology, Faculty of Sciences, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
2. Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
3. Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Lorestan University, Khorramabad, Iran
4. Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
5. PhD in Animal Physiology, Faculty of Sciences, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

Received: 2023/08/26

Accepted: 2023/12/20

## Abstract

**Background:** The present study was designed to evaluate the effect of intra-central amygdala nucleus (CeA) administration of methyl jasmonate (MeJA) on anxiety-like and social behaviors in adult male rats exposed to acute stress.

**Materials and Methods:** The adult male rats were bilaterally cannulated in CeA. The rats were subjected to restraint stress conditions 1 h daily for a week. Then, the rats were treated with intra-CeA administration of MeJA (2.5, 5 and 10 µg/rat). Rats' behaviors were assessed in elevated plus maze (EPM), open field (OF), and a three-chambered social approach task, respectively.

**Results:** Rats exposed to restraint stress showed significant anxiogenic behaviors in EPM and OF tasks. However, bilateral microinjection of MeJA (5 and 10 µg/rat) in CeA decreased stress induced anxiety-like behavior indices in both tasks ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ ). In addition, stressed rats showed social behavior deficits in the three-chambered social approach task (decreased sniffing time and time spent in compartment with stranger rats) as compared to untreated control rats. However, MeJA (10 µg/rat) ameliorated social behavior deficiency in stressed rats.

**Conclusion:** The data of this study showed MeJA value for attenuating stress-induced anxiety-like and social behavior deficits in rats.

\*Corresponding Author: Razieh kooshki

Address: Department of Biology, Faculty of Sciences, Lorestan University, Khorramabad, Iran.

Tel: 09168568557

E-mail: Kooshki.r@lu.ac.ir

**Keywords:** Anxiety-like behavior, Central amygdala nucleus, Methyl jasmonate, Rats, Stress, Social behavior

**How to cite this article:** Ansari-kermani M.S, Abbasnejad M, Kooshki R, Esmaeili-mahani S, Shahsavari F. Evaluation the effect of intra central nucleus of amygdala administration of methyl jasmonate on anxiety -like and social behaviors deficiency in adult male rats exposed to acute stress, Journal of Sabzevar University of Medical Sciences, 2024; 30(6):756-767.

## Introduction

Nowadays, stress has turned to an inevitable reality of life that triggers a variety of behavioral, physiological and pathological reactions. Multiple brain centers and circuits are complicated in the modulation of stress responses. In particular, the central amygdala (CeA) appears to be one of the most important regions for controlling stress-related emotional and anxiogenic responses.

Jasmonates are a family of stress hormones in plants that act as a mediator in cell signaling pathways. Methyl jasmonate (MeJA) is a member of this family that has been considered for various biological functions. The present study was planned to evaluate the impending effects of intra-CeA administration of MeJA on anxiety-like and social behaviors in adult male rats exposed to acute stress.

## Methodology

In this study, 42 adult male Wistar rats ( $n = 7$  for each group) with an average weight of 200 to 250 g were used. The animals were kept in special cages under conditions of 12 hours light-darkness at room temperature (23 °C) in the animal house. They had free access to water and food. All protocols were approved by the Animal Research Ethics Committee at Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran (IR.UK.VETMED.REC.1400.006).

The rats were anesthetized using intraperitoneal injection of a mixture of ketamine (78 mg/kg) and xylazine (3 mg/kg). Bilateral cannulation was performed in the CeA region by a stereotaxic device. After one week recovery, the animals divided into 6 groups including; intact group: cannulated and received no treatment; stress group: cannulated and subjected to acute restraint stress; sham group: subjected to acute restraint stress followed by intra-CeA administration of MeJA vehicle (normal saline); and three MeJA-treated groups: subjected to acute restraint stress followed by intra-CeA administration of MeJA at 2.5, 5 and 10  $\mu\text{g}/\text{rat}$  doses.

Restraint stress was intended by the immobilization of rats into a tubular translucent plexiglass rodent restrainer. The rats were exposed to a restrainer at a certain time of the day (8:00 am) for 1 hour during a week for induction of stress. After immobilization stress, the rats were returned to their cages. The rats' behaviors were assessed in

elevated plus maze (EPM), open field test (OFT), and social approach task.

The data of the EPM and OF test followed a normal distribution curve. A statistical analysis of each test was performed using one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey post hoc tests. The data of the social approach task test was analyzed with Kruskal–Wallis test. P values of less than 0.05 were considered statistically significant.

## Results

In the EPM, there were significant differences between groups in the time spent in the open arms and the number of open arms entries. Time spent in open arms was significantly decreased in rats treated with restraint stress or restraint stress post-injected with normal saline as compared to the intact group ( $p < 0.05$ ). However, MeJA (10  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) was able to increase time spent in open arms in rats subjected to restraint stress ( $p < 0.01$ ). In addition, the results showed that the number of open arms entries was significantly decreased in restraint stress+normal saline group in comparison to the intact group ( $p < 0.05$ ). However, stressed rats post-treated with MeJA (5 and 10  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) showed an increase of the number of open arms entries as compared to the restraint stress and sham group ( $p < 0.05$ ).

The mean time spent and the number of entries to the central zone of OF maze was significantly increased in the groups of rats exposed to restraint stress ( $p < 0.05$ ) as compared to the untreated intact group. However, restraint stress group post-treated with MeJA (5 and 10  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) showed increases of time spent and the number of entries into central zone in comparison to either restraint stress or normal saline group ( $p < 0.001$ ).

In the social task, the mean time spent around stranger rat 1 and sniffing time around stranger rat 2 decreased in the restraint stress group and the restraint stress post-injected with vehicle group as compared to the intact group ( $p < 0.05$ ). However, post-treatment with MeJA significantly increased the time spent around stranger rat 1 and sniffing time around stranger rat 2 in rats exposed to restraint stress.

## Discussion

The results of the present study showed that injection of MeJA (5 and 10  $\mu\text{g}/\text{rat}$ ) reduced

anxiety-like behaviors in EPM and open field tests in restricted stress rats. Previous studies have already reported the anti-anxiety effects of MeJA in rodents. In a study by Umukoro et al. (2016), MeJA administration reduced the duration and the number of entries in the closed arms in the EPM test in mice exposed to chronic mild stress. In another study, it was shown that administration of MeJA in the acute stress model significantly reduced anxiety-like behaviors in the tail suspension test in mice. In this regard, there is some evidence that MeJA plays a regulatory role in the activation and the modulation of the monoaminergic system. Therefore, it is possible that some of the anti-anxiety effects of MeJA may be related to changes in the serotonergic system in CeA.

Moreover, the results of social interaction test showed that MeJA (5 and 10 µg/rat) could improve the social interaction index in rats with restraint stress. Most studies on the effects of stress on social behavior have been performed in humans, but studies in rodents have shown the role of amygdala nuclei such as CeA and BLA in

modulating fear and social interactions. This study finding indicated a positive role of MeJA in modulating social behaviors in rats, but the underlying mechanism(s) of such effects is still uncertain.

### **Conclusion**

In the present study, intra-CeA administration of MeJA decreased anxiety-like behavior and social dysfunction in rats with restriction stress. Although, further studies are still required to show the details of MeJA efficiency on anxiety-like behavior and social performance in rats.

### **Acknowledgment**

This present article is extracted from the MSc. thesis of Mrs. Manizhehsadat Ansari-Kermani. The study was approved and financially supported by Shahid Bahonar University of Kerman, Iran.

**Conflict of Interest :** The authors declare no conflict of interest regarding the publication of this manuscript

## بررسی تأثیر تزریق متیل جاسمونات در هسته مرکزی آمیگدال بر رفتار شبه اضطرابی و اختلال در رفتار اجتماعی در موش‌های صحرایی در معرض استرس حاد

منیژه السادات انصاری کرمانی<sup>۱</sup>، مهدی عباس‌نژاد<sup>۲</sup>، راضیه کوشکی<sup>۳\*</sup>، سعید اسماعیلی ماهانی<sup>۴</sup>، فاطمه شهسواری<sup>۵</sup>

۱. کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
۲. استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
۳. استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران
۴. استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
۵. دکتری فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴/۰۹/۰۲۹

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۶/۰۴

### چکیده

**زمینه و هدف:** مطالعه حاضر به منظور بررسی تأثیر تجویز هورمون متیل جاسمونات (MeJA) در هسته مرکزی آمیگدال (CeA) بر رفتارهای شبه اضطرابی و اجتماعی در موش‌های صحرایی نر بالغ در معرض استرس حاد طراحی شد.

**مواد و روش‌ها:** موش‌های صحرایی نر بالغ به صورت دوطرفه در ناحیه CeA کانول‌گذاری شدند. پس از دوره بهبودی، حیوانات به مدت یک هفته روزانه ۱ ساعت تحت استرس بی‌حرکتی قرار گرفتند. سپس درمان با تزریق دوطرفه MeJA در دوزهای ۵، ۲/۵ و ۱۰ میکروگرم به داخل CeA صورت گرفت. رفتار حیوانات به ترتیب در بازه‌های مرتفع (EPM)، میدان باز (OF) و آزمون تعامل اجتماعی بررسی گردید.

**یافته‌ها:** حیوانات قرار گرفته در معرض استرس بی‌حرکتی، در مقایسه با موش‌های کنترل افزایش رفتار اضطرابی در آزمون‌های EPM و OF نشان دادند. با این حال، تزریق MeJA در دوزهای ۵ و ۱۰ میکروگرم در CeA باعث کاهش شاخص‌های رفتار شبه اضطرابی ناشی از استرس در هر دو آزمون گردید ( $p < 0.01$ ). علاوه بر این، حیوانات تحت استرس در مقایسه با موش‌های کنترل، اختلال رفتار اجتماعی را در آزمون تعامل اجتماعی نشان دادند. با این حال، تزریق MeJA در دوز ۱۰ میکروگرم اختلال رفتار اجتماعی را در موش‌های قرار گرفته در معرض استرس بی‌حرکتی بهبود داد ( $p < 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** نتایج این مطالعه نشان می‌دهد MeJA می‌تواند در کاهش رفتارهای شبه اضطرابی و اختلال در تعامل اجتماعی در موش‌های صحرایی قرار گرفته در معرض استرس بی‌حرکتی مؤثر باشد.

\* نویسنده مسئول: راضیه

کوشکی

نشانی: دانشگاه لرستان، دانشکده

علوم پایه، بخش زیست‌شناسی

تلفن: ۰۹۱۶۸۵۶۸۵۵۷

رایانامه:

kooshki.r@lu.ac.ir

شناسه ORCID:

۰۰۰۰-۰۰۰۱-۶۰۲۴-۴۵۰۷

شناسه ORCID نویسنده اول:

۰۰۰۰-۰۰۰۱-۵۷۲۵-۸۶۸۴

### کلیدواژه‌ها:

متیل جاسمونات، هسته مرکزی

آمیگدال، استرس بی‌حرکتی،

رفتار اجتماعی، رفتار.

## ۱. مقدمه

در دنیای مدرن امروزی، استرس، یک پدیده اجتناب‌ناپذیر است که باعث ایجاد انواع واکنش‌های رفتاری، فیزیولوژیکی و آسیب‌شناختی می‌شود [۱، ۲]. بر اساس فراوانی، مدت‌زمان و شدت، استرس را می‌توان به استرس‌های حاد و مزمن طبقه‌بندی کرد. شواهد حاصل از مطالعات بالینی و تجربی نشان می‌دهد که بین استرس‌های حاد و مزمن و اختلالات عاطفی مانند افسردگی و اضطراب، ارتباط وجود دارد [۳، ۴]. مراکز و مدارهای متعدد مغز، در تعدیل پاسخ‌های استرس درگیر هستند. به‌طور ویژه، مطالعات نشان می‌دهد که آمیگدال، نقش مهمی در پاسخ به برخی از اختلالات عصبی-روانی و عاطفی ناشی از استرس مانند اضطراب و ناتوانی اجتماعی دارد [۵-۷]. آمیگدال مرکزی (CeA) یکی از مهم‌ترین مناطق برای کنترل پاسخ‌های هیجانی و اضطراب‌زا مربوط به استرس باشد (۸). گزارش شده است که یک ضایعه دوطرفه در CeA با کاهش رفتار اضطرابی ناشی از استرس مرتبط است (۹). از سوی دیگر، یافته‌های تصویربرداری عصبی و روان‌شناسی عصبی نشان می‌دهد که آمیگدال در مدارهای مغزی که بر رفتارهای اجتماعی تأثیر می‌گذارند، درگیر است [۱۰].

متیل جاسمونات (MeJA) یکی از اعضای خانواده جاسمونات‌ها (هورمون‌های گیاهی استرس) است که برای عملکردهای بیولوژیکی مختلف از جمله فعالیت‌های ضدتوموری، ضدالتهابی، ضداضطراب، ضداسترس و خواص آنتی‌اکسیدانی در انسان و حیوانات مورد توجه قرار گرفته است [۱۱-۱۳]. مطالعات، اهمیت MeJA را برای بهبود عملکردهای عصبی به‌ویژه یادگیری و حافظه و اضطراب در موش‌ها نشان داده‌اند [۱۹، ۲۰].

امروزه درمان و پیشگیری از اختلالات استرس و اضطراب که می‌تواند ناشی از شرایط بالینی باشد یا در نتیجه قرارگرفتن در معرض عوامل استرس‌زای محیطی ایجاد گردد از اهمیت بالایی برخوردار است. در این خصوص در بسیاری از موارد، نیاز به مداخلات دارویی است که علاوه بر بار اقتصادی می‌تواند با عوارض جانبی نامطلوب همراه است. استفاده از ترکیبات گیاهی که با هزینه کم‌تر و عوارض جانبی پایین‌تر در دسترس باشند می‌تواند در کنترل و کاهش علائم رفتارهای اضطرابی و استرس کمک‌کننده باشد. در مطالعه حاضر، هدف اصلی بررسی تأثیرات بالقوه تزریق MeJA در ناحیه CeA بر رفتارهای شبه‌اضطرابی و اجتماعی در موش‌های صحرایی نر بالغ در معرض استرس حاد می‌باشد.

## ۲. مواد و روش‌ها

در این مطالعه از ۴۲ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم استفاده شد. حیوانات در قفس‌های مخصوص در شرایط ۱۲ ساعت تاریکی ۱۲ روشنایی در دمای اتاق (۲۳ درجه سانتی‌گراد) در خانه حیوانات نگهداری شدند. حیوانات، دسترسی رایگان به آب و غذا داشتند. در تمامی مراحل آزمایش، اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی کاملاً رعایت شد. کمیته اخلاق تحقیقات حیوانی دانشگاه شهید باهنر کرمان (IR.UK.VETMED.REC.1400.006) تمامی دستورالعمل‌ها را تأیید کرد.

متیل جاسمونات (MeJA) (سیگما آلدیج، آمریکا) در نرمال سالین استریل حل شد. حجم کل تزریق ۲ میکرولیتر برای هر موش در ناحیه CeA بود.

جراحی استریوتاکسی: موش‌ها با تزریق داخل صفاقی مخلوطی از کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند (۱۴). پس از بیهوشی، سر حیوان در دستگاه ثابت شد. مختصات CeA بر روی جمجمه حیوان با استفاده از اطلس پاکسینوس-واتسون مشخص شد: (AP = -2 mm, ML = 4.2 ±, DV = -7 mm).

پس از انجام عملیات کانول‌گذاری، با استفاده از سیمان دندانپزشکی کانول گذاشته شده ثابت شد. پیش از تزریق دارو و آزمایش، به هر موش کانول‌گذاری شده یک هفته اجازه داده شد تا پس از جراحی، بهبود یابد. در پایان آزمایش‌های ارزیابی رفتار، همه موش‌ها از نظر موقعیت مناسب کانول مورد بررسی بافت‌شناسی قرار گرفتند.

گروه‌بندی حیوانات: موش‌های صحرایی نر بالغ به‌طور تصادفی در شش گروه (۷ سر در هر گروه) دسته‌بندی شدند شامل گروه دست‌نخورده (کنترل): این گروه هیچ‌گونه تیماری دریافت نکردند، گروه استرس: حیوانات کانول‌گذاری شده و تحت استرس بی‌حرکتی حاد قرار گرفتند، گروه شم: حیوانات کانول‌گذاری شدند و تحت استرس بی‌حرکتی حاد قرار گرفتند و به دنبال آن تجویز داخل CeA حلال MeJA (نرمال سالین) صورت گرفت، سه گروه تحت درمان با MeJA: حیوانات کانول‌گذاری شده در معرض استرس بی‌حرکتی حاد قرار گرفتند و به دنبال آن تزریق MeJA به داخل ناحیه CeA در دوزهای ۲.۵، ۵ و ۱۰ میکروگرم انجام شد [۱۴].

مدل استرس بی‌حرکتی حاد: استرس بی‌حرکتی با قراردادن موش‌ها در یک دستگاه مهارکننده شفاف پلکسی لوله‌ای شکل مخصوص جوندگان ارزیابی شد. موش‌ها در

دقیقه پیش از شروع آزمایش به اتاق آزمایش منتقل شدند. آزمون شامل مرحله تطابق و آزمون رویکرد اجتماعی (مرحله I و II) بود. در مرحله تطابق، محفظه‌های خالی در سمت چپ و راست قرار می‌گیرند و درب ورودی بین قسمت‌های جانبی و وسط باز می‌شود. موش موردآزمایش به مدت ۵ دقیقه در قسمت مرکزی قرار داده شد تا به محیط دستگاه عادت کند و به بررسی آن بپردازد. سپس در مرحله I، یکی از موش‌های غریبه (شماره ۱) داخل محفظه قرار گرفت و سپس درب بین دو قسمت برداشته شد تا موش آزمایشی بتواند حرکت کند و به مدت ۱۰ دقیقه به تمام قسمت‌های دستگاه دسترسی آزاد داشته باشد. سپس مقادیر مدت‌زمان تماس مستقیم بین موش آزمایشگاهی و موش غریبه یا اتاق خالی و مدت‌زمان بوییدن موش (موش آزمایشی) در اطراف موش غریبه یا اتاق خالی محاسبه گردید. قبل از شروع جلسه بعدی، محفظه‌ها با الکل ۷۰ درصد تمیز می‌شدند. در مرحله II، برای ارزیابی ترجیح اجتماعی، موش غریبه (شماره ۲) در یک اتاق خالی در سمت مقابل قرار داده شد. سپس همان شاخص‌هایی که در مرحله I توضیح داده شد به مدت ۱۰ دقیقه مشاهده و ارزیابی شد [۱۷].

تحلیل داده‌ها به‌صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد میانگین ارائه شده است. نتایج آزمون ماز به‌علاوه مرتفع و میدان باز از منحنی توزیع نرمال پیروی کردند و تجزیه و تحلیل آماری هر آزمون با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و سپس آزمون تعقیبی توکی انجام شد. داده‌های آزمون تعامل اجتماعی توزیع نرمال نشان نداد و با آزمون ناپارامتریک کروسکال والیس تجزیه و تحلیل شد. علاوه بر این، آزمون U Mann-Whitney برای بررسی تفاوت‌ها بین گروه‌های آزمایشی انجام شد. مقادیر P کمتر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

### ۳. یافته‌ها

#### آزمون ماز به‌علاوه مرتفع

زمان صرف‌شده در بازوهای باز در موش‌هایی که تحت درمان با استرس بی‌حرکتی یا استرس بی‌حرکتی به‌اضافه تزریق داخل CeA نرمال سالین قرار گرفتند در مقایسه با گروه کنترل به‌طور قابل توجهی کاهش یافت ( $p < 0/05$ ) (شکل ۱A). با این حال، تجویز دوز ۱۰ میکروگرم MeJA داخل CeA زمان گذرانده‌شده در بازوهای باز را در حیوانات تحت استرس محدودیت افزایش داد ( $p < 0/01$ ) (شکل ۱A). علاوه بر این، نتایج نشان داد که تعداد ورود به بازوهای باز در گروه استرس بی‌حرکتی + نرمال سالین نسبت به گروه کنترل، کاهش

ساعت معینی از روز (۸ صبح) به مدت ۱ ساعت در هفته برای القای استرس در معرض استرس بی‌حرکتی قرار گرفتند. در طول دوره استرس، تا حد امکان از سایر عوامل استرس‌زا مانند سروصدا، نور یا تغییرات دما اجتناب شد. پس از استرس بی‌حرکتی، موش‌ها به قفس خود بازگردانده شدند [۱۵].

#### آزمون‌های رفتاری

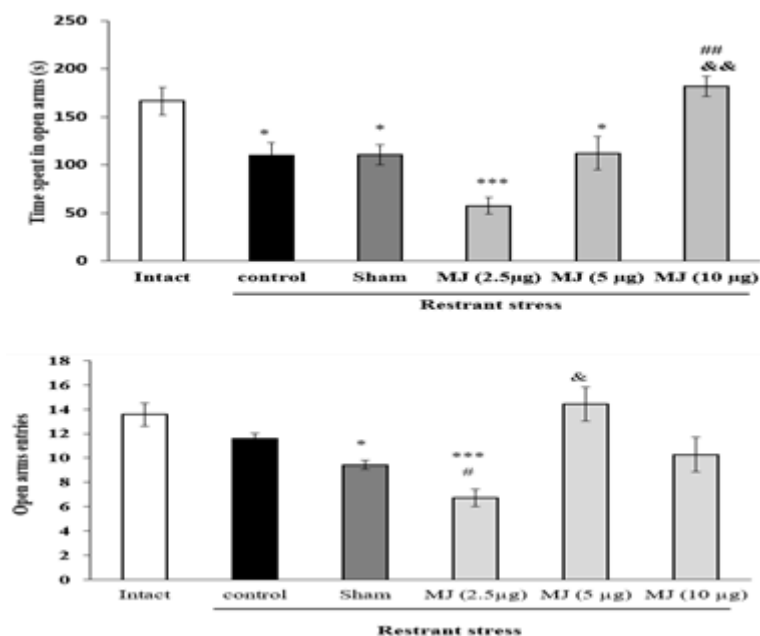
ماز به‌علاوه مرتفع: این دستگاه یک ماز چوبی به شکل پلاس (+) است که از چهار بازو (دو بازو باز و دو بازوی بسته) تشکیل شده است. یک مربع (۱۰ × ۱۰ سانتی‌متر) در تقاطع چهار بازو قرار دارد. این ماز توسط چهار پایه در ارتفاع ۵۰ سانتی‌متری از سطح زمین پشتیبانی می‌شود. برای شروع آزمایش، هر موش در بخش مرکزی ماز قرار داده شد و اجازه داده می‌شود به مدت ۵ دقیقه آزادانه در ماز کاوش کند. بازوهای باز توسط یک لبه ۰/۵ سانتی‌متری برای جلوگیری از سقوط موش محصور شده است. یک دوربین فیلمبرداری از سقف درست بالای مرکز ماز آویزان شده بود. مقدار زمان گذرانده‌شده در بازوهای باز و تعداد کل ورود به بازوی باز به‌طور خودکار در طول یک دوره آزمایشی ۵ دقیقه‌ای با استفاده از نرم‌افزار Any maze اندازه‌گیری شد [۱۶].

**آزمون میدان باز:** این ماز شامل یک تخته چوبی سیاه (۸۰ × ۸۰ سانتی‌متر) است که توسط دیوارهای چوبی سیاه‌رنگ (۵۰ سانتی‌متر ارتفاع) احاطه شده است. در شروع آزمایش، هر موش در گوشه‌ای از میدان باز قرار می‌گرفت و اجازه داده می‌شد به مدت ۵ دقیقه در ماز کاوش کند. مجموع مسافت طی‌شده (متر) در ماز، تعداد ورود و زمان سپری‌شده در ناحیه مرکزی داده‌ها در طول ۵ دقیقه زمان آزمون ثبت و با استفاده از نرم‌افزار Any-Maze تجزیه و تحلیل شد [۱۶].

**آزمون رفتار اجتماعی:** دستگاه اندازه‌گیری تعامل اجتماعی یک جعبه مستطیلی سه قسمتی از پلکسی شفاف، شامل یک قسمت مرکزی و دو قسمت سمت چپ و راست به ابعاد ۵۳×۵۵ سانتی‌متر می‌باشد. در وسط ماز بین قسمت مرکزی و چپ و راست یک درب به ابعاد ۹×۳۰ سانتی‌متر برای حرکت آزادانه حیوان تعبیه شده است. دو قفس یا محفظه در وسط دستگاه تعبیه شده است که می‌توان آنها را جابه‌جا کرد. آنها برای نگه‌داشتن موش‌های ناآشنا در طول آزمایش استفاده می‌شوند. محفظه‌ها اتاقک‌های کوچک سیمی گنبدی هستند تا امکان تبادل هوا و جلوگیری از اتصال فیزیکی مستقیم بین حیوان در داخل محفظه با حیوان در خارج را فراهم کنند. در این آزمایش علاوه بر گروه‌های موش‌های آزمایشگاهی، از دو موش صحرائی به‌عنوان موش‌های بیگانه یا کنترل که در اتاقک قرار می‌گرفتند استفاده شد. در روز آزمایش، حیوانات ۳۰

بی‌حرکتی و نرمال سالیین نشان دادند ( $p < 0.05$ ) (شکل B). (۱)

معنی‌داری دارد ( $p < 0.05$ ). با این حال، موش‌های تحت استرس پس از درمان با MeJA در دوزهای ۵ و ۱۰ میکروگرم افزایش تعداد ورود به بازوهای باز را در مقایسه با گروه استرس



شکل ۱. مقایسه مدت‌زمان گذرانده‌شده (A) و تعداد ورود به بازوهای باز (B) در ماز به علاوه مرتفع گروه سالم (intact)، گروه استرس بی‌حرکتی (control)، گروه دریافت‌کننده نرمال سالیین + استرس بی‌حرکتی (Sham) و گروه‌های استرس بی‌حرکتی درمان‌شده با متیل جاسمونات (MJ) در هسته مرکزی آمیگدال. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد میانگین ارائه شده است. تعداد حیوانات در هر گروه ۶ عدد می‌باشد.

\*  $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.001$  vs intact group

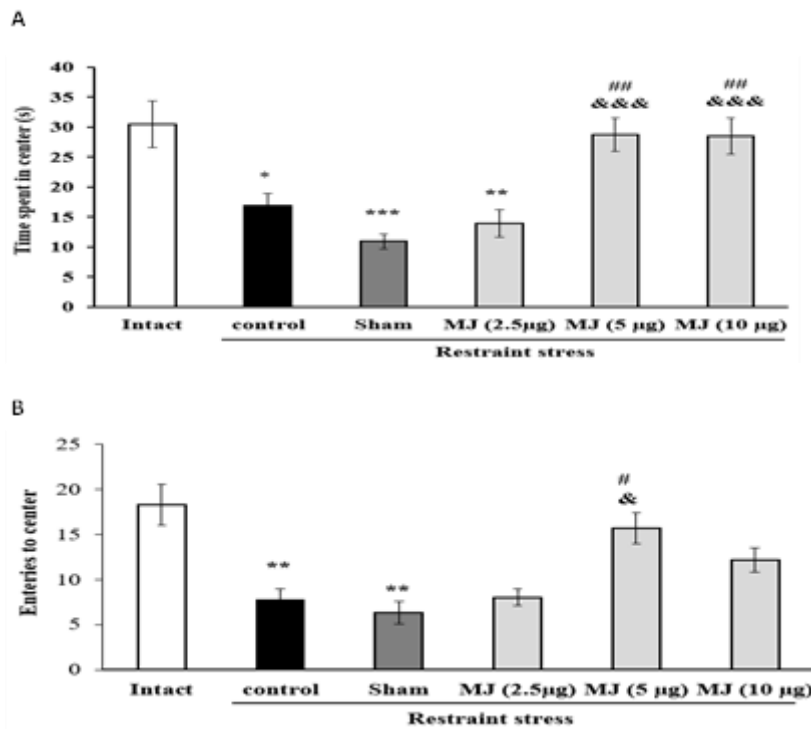
#  $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$  vs control+ restraint stress group

$P < 0.05$ , && $P < 0.01$  vs sham+ restraint stress group

ورود به ناحیه مرکزی در گروه تحت استرس بی‌حرکتی و شم نسبت به گروه کنترل، کاهش معنی‌داری داشت ( $p < 0.01$ ). با این حال، در موش‌هایی که تحت استرس بی‌حرکتی قرار گرفتند تزریق MeJA در دوز ۵ میکروگرم توانست تعداد ورود به ناحیه مرکزی را در مقایسه با گروه‌های استرس بی‌حرکتی و شم افزایش دهد ( $p < 0.05$ ) (شکل 2 B).

### آزمون میدان باز

میانگین زمان سپری‌شده در ناحیه میانی دستگاه در گروه‌های قرار گرفته در معرض استرس بی‌حرکتی نسبت به گروه بدون تیمار افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). با این حال، درمان با MeJA در دوزهای ۵ و ۱۰ میکروگرم زمان گذرانده‌شده در ناحیه مرکزی را در موش‌های صحرائی قرارگرفته در معرض استرس بی‌حرکتی افزایش داد ( $p < 0.01$ ) (شکل 2 A). همچنین تعداد



شکل ۲. مقایسه مدت زمان گذرانده شده (A) و تعداد ورود به مرکز در آزمون میدان باز در گروه سالم (intact)، گروه استرس بی حرکتی (control)، گروه دریافت کننده نرمال سالیین + استرس بی حرکتی (Sham) و گروه‌های استرس بی حرکتی درمان شده با متیل جاسمونات (MJ) در هسته مرکزی آمیگدال. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد میانگین ارائه شده است. تعداد حیوانات در هر گروه ۶ عدد می‌باشد.

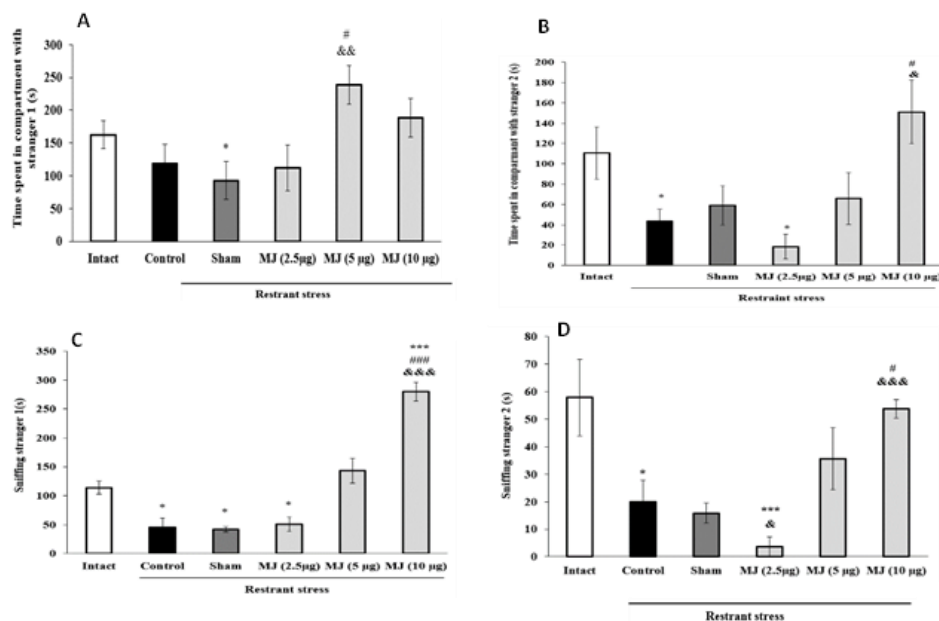
\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  vs intact group  
 # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$  vs control+ restraint stress group  
 & $P < 0.05$ , && $P < 0.05$  vs sham+ restraint stress group

### آزمون رفتار اجتماعی

در آزمون رفتار اجتماعی، میانگین زمان صرف شده در اطراف موش غریبه ۱ در حیوانات گروه‌های استرس بی حرکتی و استرس بی حرکتی درمان شده با نرمال سالیین در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت ( $p < 0.05$ ). با این حال، تزریق داخل CeA دوز ۵ میکروگرم MeJA به طور قابل توجهی زمان صرف شده در اطراف موش غریبه ۱ را در حیوانات قرار گرفته در معرض استرس بی حرکتی افزایش داد (شکل ۳ A). علاوه بر این، میانگین زمان صرف شده در اطراف موش غریبه ۲ در گروه درمان شده با دوز ۲/۵ میکروگرم MeJA در مقایسه با گروه کنترل کاهش نشان داد ( $p < 0.05$ ). با این حال، زمان صرف شده در اطراف موش غریبه ۲ به طور قابل توجهی در حیوانات قرار گرفته در معرض استرس بی حرکتی که تحت

درمان با MeJA در دوز ۱۰ میکروگرم قرار گرفتند، افزایش یافت ( $p < 0.05$ ) (شکل ۳ B). مدت زمان بوییدن در اطراف موش غریبه ۱ در گروه استرس بی حرکتی یا گروه استرس بی حرکتی تزریق شده با MeJA در دوز ۱۰ میکروگرم در مقایسه با موش‌های سالم ( $p < 0.001$ ) به طور قابل توجهی کاهش یافت (شکل ۳ C). گروه‌های استرس بی حرکتی و استرس بی حرکتی درمان شده با نرمال سالیین مدت زمان کمتری صرف بوییدن در اطراف موش غریبه ۲ در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند ( $p < 0.05$ ). با این حال، درمان با دوز ۱۰ میکروگرم MeJA قادر به افزایش مدت زمان بوییدن در اطراف موش غریبه ۲ در موش‌های قرار گرفته در معرض استرس بی حرکتی در مقایسه با گروه‌های استرس بی حرکتی و شم گردید (شکل ۳ D).





شکل ۳. مقایسه مدت زمان گذرانده شده اطراف موش غریبه ۱ (A) و موش غریبه ۲ (B) و مدت زمان بوییدن موش غریبه ۱ (C) و موش غریبه ۲ (D) در آزمون تعامل اجتماعی در گروه سالم (intact)، گروه استرس بی حرکتی (control)، گروه دریافت کننده نرمال سالین + استرس بی- حرکتی (Sham) و گروه‌های استرس بی حرکتی درمان شده با متیل جاسمونات (MJ) در هسته مرکزی آمیگدال. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد میانگین ارائه شده است. تعداد حیوانات در هر گروه ۶ عدد می‌باشد.

\*P<0.05 and \*\*\*P<0.001vs intact group

#P<0.05 and ###P<0.001 vs control+ restranint stress group

&P<0.05, &&P<0.01 and &&&P<0.001 vs sham+ restraint stress group

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تزریق MeJA در دوزهای ۵ و ۱۰ میکروگرم باعث کاهش رفتارهای شبه‌اضطرابی در آزمون‌های EPM و میدان باز در موش‌های با استرس بی حرکتی شد. در آزمون میدان باز، درمان با دوز ۲.۵ میلی گرم MeJA تغییرات معنی‌دار در مقایسه با گروه‌های شاهد و کنترل استرس بی حرکتی ایجاد نکرد. با این وجود، در آزمون EPM، حیوانات درمان شده با دوز ۲/۵ میلی گرم MeJA کاهش در تعداد ورود به بازوی باز دستگه در مقایسه با گروه‌های کنترل استرس نشان دادند. این اثر متناقض می‌تواند تا حدودی مرتبط با تعداد کم حیوانات استفاده شده در گروه باشد. به-هرصورت به‌منظور تعیین تأثیرات دوز پاسخ هورمون MeJA مطالعات تکمیلی موردنیاز است.

برخی از مطالعات تأثیرات ضداضطرابی MeJA را در جوندگان گزارش کرده‌اند. در مطالعه Umukoro و همکاران (۲۰۱۶) تجویز MeJA مدت‌زمان و تعداد ورود را در بازوهای بسته در آزمایش EPM در موش‌هایی که در معرض استرس خفیف مزمن قرار داشتند کاهش داد [۲۶]. در مطالعه دیگری نشان داده شد که تجویز MeJA در مدل استرس حاد به‌طور

#### ۴. بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر، القای استرس بی حرکتی با افزایش اضطراب و اختلال در رفتار اجتماعی در موش‌های صحرائی همراه بود. در راستای نتایج، مطالعات گذشته نیز تأثیرات نامطلوب استرس بی حرکتی بر اضطراب و رفتارهای اجتماعی در موش‌های صحرائی را نشان داده‌اند [۲۲، ۲۱]. با این وجود، در برخی مطالعات، ارتباطی بین استرسی بی حرکتی و تغییرات قابل توجه در رفتار اضطرابی گزارش نشده است. قرارگرفتن در معرض استرس حاد باعث تغییر سیستم‌های انتقال عصبی از جمله گلوتامات، گابا، نورآدرنالین و سروتونین در CeA می‌شود که ممکن است با افزایش رفتارهای اضطرابی مرتبط باشد [۱۸-۲۰]. علاوه بر این، فعال‌سازی سیستم گابارژیک و افزایش هورمون آزادکننده کورتیکوتروپین (CRH) در CeA می‌تواند حالت ضداضطراب را در موش القا [۲۱-۲۳] کند. همچنین، افزایش غلظت گلوکوکورتیکوئیدها و CRH در CeA باعث افزایش فعالیت نوراپی نفرین در لوکوس سرلوس می‌گردد که منجر به رفتارهای مرتبط با اضطراب می‌شود [۲۴، ۲۵].

مدل استرس نیاز است میزان هورمون‌های مرتبط با استرس شامل کورتیزول در پلاسما حیوانات اندازه‌گیری شود که به دلیل محدودیت مالی در این مطالعه، اندازه‌گیری سطوح هورمون‌های استرس انجام نگردید. همچنین به دلیل ملاحظات اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی، حداقل تعداد حیوانات در هر گروه استفاده شد که می‌تواند بر نتایج آزمایش‌ها تأثیرگذار باشد.

در مجموع، در مطالعه حاضر، تجویز MeJA داخل CeA باعث کاهش رفتار شبه‌اضطرابی و اختلال عملکرد اجتماعی در موش‌های مبتلا به استرس بی‌حرکتی گردید. این رفتارها ممکن است در نتیجه خواص ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی مرتبط با MeJA در سیستم عصبی رخ داده باشد. با این وجود، مطالعات بیشتری برای نشان دادن جزئیات پتانسیل درمانی MeJA بر بهبود رفتار شبه‌اضطرابی و اختلال عملکرد اجتماعی در موش‌های صحرایی موردنیاز است.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید باهنر کرمان به دلیل حمایت مالی تشکر می‌کنند.

### ملاحظات اخلاقی

در این مطالعه، تمام آزمایش‌ها مطابق با اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی و با تأیید کمیته اخلاق تحقیقات حیوانی دانشگاه شهید باهنر کرمان (IR.UK.VETMED.REC.1400.006) انجام شد.

### سهم نویسندگان

منیژه السادات انصاری کرمانی: آزمایش‌های تجربی، مهدی عباس‌نژاد: طراحی مطالعه، ویرایش مقاله، راضیه کوشکی: ایده مطالعه، نگارش و ویرایش مقاله، سعید اسماعیلی ماهانی: طراحی آزمایش‌ها، فاطمه شهبواری گوغری: آزمایش‌های تجربی، آنالیز داده‌ها را انجام دادند.

### حمایت مالی

این مقاله حاصل نتایج پایان‌نامه کارشناسی ارشد خانم منیژه السادات انصاری کرمانی می‌باشد. نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید باهنر کرمان به دلیل حمایت مالی تشکر می‌کنند.

### تضاد منافع

هیچ‌گونه تضاد منافع برای گزارش وجود ندارد.

قابل توجهی باعث کاهش رفتارهای شبه‌اضطرابی در آزمون تعلیق دم در موش صحرایی می‌شود [۲۷]. در این رابطه، شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد MeJA نقش تنظیمی در فعال‌سازی و تعدیل سیستم مونوآمینرژیک در سیستم عصبی مرکزی دارد [۲۸]. از آنجایی که MeJA می‌تواند بر سطوح گیرنده و همچنین عملکرد گیرنده 5-HT در فرایند اضطراب تأثیر بگذارد، ممکن است برخی از تأثیرات ضداضطرابی MeJA به تغییرات در سیستم سروتونرژیک در CeA مربوط باشد. علاوه بر این، MeJA به‌طور قابل توجهی سطح استیل کولین را از طریق مهار فعالیت استیل کولین استراز در مغز موش افزایش می‌دهد [۲۹، ۳۰]. بنابراین، به نظر می‌رسد در مطالعه حاضر، حداقل بخشی از تأثیرات ضداضطرابی MeJA در موش‌های صحرایی در معرض استرس ناشی از تغییر در میزان انتقال‌دهنده‌های عصبی در ناحیه CeA باشد.

قرارگرفتن در معرض استرس، آزادشدن سایتوکاین‌های پیش‌التهابی را افزایش می‌دهد که یک مشخصه توسعه التهاب عصبی است و متعاقباً می‌تواند با بروز اختلالات اضطرابی همراه باشد. در این خصوص، مشخص شده است که MeJA تأثیرات ضدالتهابی را از طریق مهار آزادسازی واسطه‌های التهابی و افزایش میزان عوامل آنتی‌اکسیدان‌ها در موش‌های صحرایی با آرتریت روماتوئید اعمال می‌کند [۳۱]. درمان با MeJA میزان واسطه‌های التهابی مانند اینترکوکین ۶، TNF- $\alpha$ ، سیکلواکسیژناز، نیتریک اکساید و NF-KB را در مغز موش‌های سوری پس از تزریق لیپوپلی‌ساکراید کاهش می‌دهد [۳۲]. با توجه به شباهت ساختاری بین MeJA و پروستاگلاندین‌های ضدالتهابی به‌نظر می‌رسد حداقل بخشی از تأثیرات ضداضطرابی MeJA از طریق کاهش عوامل التهابی صورت گرفته باشد.

همچنین نتایج آزمون تعامل اجتماعی نشان داد که MeJA در دوزهای ۵ و ۱۰ میکروگرم می‌تواند شاخص تعامل اجتماعی را در موش‌های دارای استرس بی‌حرکتی بهبود بخشد. بیشتر مطالعات در مورد تأثیرات استرس بر رفتار اجتماعی در انسان انجام شده است اما مطالعات روی جوندگان، نقش هسته‌های آمیگدال مانند CeA و BLA را در تعدیل ترس و تعاملات اجتماعی نشان داده‌اند [۱۷]. گزارش شده است که چندین عامل استرس‌زا و اختلالات محور HPA می‌توانند بر انواع رفتارهای اجتماعی در جوندگان تأثیر بگذارند [۳۳]. یافته‌های این مطالعه نشان‌دهنده نقش مثبت MeJA در تعدیل رفتارهای اجتماعی در موش‌ها بود اما مکانیسم(های) زیربنایی چنین تأثیری، مشخص نیست.

در اجرای مطالعه حاضر، چند محدودیت وجود داشت. پس از قرارگرفتن حیوانات در معرض استرس بی‌حرکتی برای تأیید

## References

- [1]. Kalisch R, Baker DG, Basten U, Boks MP, Bonanno GA, Brummelman E, et al. The resilience framework as a strategy to combat stress-related disorders. *Nature human behaviour*. 2017;1(11):784-90. doi: 10.1038/s41562-017-0200-8.
- [2]. Novais A, Monteiro S, Roque S, Correia-Neves M, Sousa N. How age, sex and genotype shape the stress response. *Neurobiology of stress*. 2017;6:44-56. doi: 10.1016/j.ynstr.2016.11.004
- [3]. Quinn ME, Shields GS. The insidious influence of stress: An integrated model of stress, executive control, and psychopathology. *Clinical Psychological Science*. 2023; 11(5): 773–800. doi: 10.1177/21677026221149736
- [4]. Firth-Cozens J. A perspective on stress and depression. *Understanding doctors' performance*: CRC Press; 2023. p. 22-37.
- [5]. Gilpin NW, Herman MA, Roberto M. The central amygdala as an integrative hub for anxiety and alcohol use disorders. *Biological psychiatry*. 2015;77(10):859-69. doi: 10.1016/j.biopsych.2014.09.008.
- [6]. Gaffrey MS, Luby JL, Belden AC, Hirshberg JS, Volsch J, Barch DM. Association between depression severity and amygdala reactivity during sad face viewing in depressed preschoolers: an fMRI study. *Journal of affective disorders*. 2011;129(1-3):364-70. doi: 10.1016/j.jad.2010.08.031
- [7]. Etkin A, Klemenhagen KC, Dudman JT, Rogan MT, Hen R, Kandel ER, et al. Individual differences in trait anxiety predict the response of the basolateral amygdala to unconsciously processed fearful faces. *Neuron*. 2004;44(6):1043-55. doi: 10.1016/j.neuron.2004.12.006.
- [8]. Gao F, Huang J, Huang G-B, You Q-L, Yao S, Zhao S-T, et al. Elevated prefrontal cortex-to-basolateral amygdala circuit activity mediates comorbid anxiety-like behaviors associated with chronic pain. *The Journal of Clinical Investigation*. 2023;133(9). doi: 10.1172/JCI166356.
- [9]. Ventura-Silva AP, Melo A, Ferreira AC, Carvalho MM, Campos FL, Sousa N, et al. Excitotoxic lesions in the central nucleus of the amygdala attenuate stress-induced anxiety behavior. *Frontiers in behavioral neuroscience*. 2013;7:32. doi: 10.3389/fnbeh.2013.00032.
- [10]. Bickart KC, Wright CI, Dautoff RJ, Dickerson BC, Barrett LF. Amygdala volume and social network size in humans. *Nature neuroscience*. 2011;14(2):163-4. doi: 10.1038/nn.2724
- [11]. Ward EL. Jasmonic acid and methyl jasmonate attenuate neuroinflammation via crosstalk with the prostaglandin E2/receptor EP2 signaling axis. *bioRxiv*. 2023:2023.10.31.564983. doi: <https://doi.org/10.1101/2023.10.31.564983>
- [12]. Zhang M, Zhang MW, Zhang L, Zhang L. Methyl jasmonate and its potential in cancer therapy. *Plant signaling & behavior*. 2015;10(9):e1062199. doi: 10.1080/15592324.2015.1062199
- [13]. Besson JCF, de Carvalho Picoli C, Matioli G, Natali MRM. Methyl jasmonate: a phytohormone with potential for the treatment of inflammatory bowel diseases. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2018;70(2):178-90. doi: 10.1111/jphp.12839.
- [14]. Hemati T, Abbasnejad M, Mollashahi M, Esmaeili-Mahani S, Shahraki A. Activation of L-type calcium channels and attenuation of oxidative stress are involved in the improving effect of methyl jasmonate on learning and memory and its anxiolytic property in rats. *Behavioural pharmacology*. 2021;32(4):286-94. doi: 10.1097/FBP.0000000000000611.
- [15]. Gameiro GH, da Silva Andrade A, de Castro M, Pereira LF, Tambeli CH, de Arruda Veiga MCF. The effects of restraint stress on nociceptive responses induced by formalin injected in rat's TMJ. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2005;82(2):338-44. doi: 10.1016/j.pbb.2005.09.003.
- [16]. de Figueiredo Cerqueira MM, Castro MML, Vieira AA, Kurosawa JAA, do Amaral Junior FL, de Siqueira FdCC, et al. Comparative analysis between Open Field and Elevated Plus Maze tests as a method for evaluating anxiety-like behavior in mice. *Heliyon*. 2023;9(4). doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e14522.
- [17]. Askari-Zahabi K, Abbasnejad M, Kooshki R, Raouf M, Esmaeili-Mahani S, Pourrahimi AM, et al. The role of basolateral amygdala orexin 1 receptors on the modulation of pain and psychosocial deficits in nitroglycerin-induced migraine model in adult male rats. *The Korean Journal of Pain*. 2022;35(1):22-32. doi: 10.3344/kjp.2022.35.1.22
- [18]. Ma S, Morilak DA. Norepinephrine release in medial amygdala facilitates activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in response to acute immobilisation stress. *Journal of neuroendocrinology* 17(1):22-8. doi: 10.1111/j.1365-2826.2005.01279.x..
- [19]. Myers DA, Gibson M, Schulkin J, Van-Meerveld BG. Corticosterone implants to the amygdala and type 1 CRH receptor regulation: effects on behavior and colonic sensitivity. *Behavioural brain research*. 2005; 3;161(1):39-44. doi: 10.1016/j.bbr.2005.03.001.
- [20]. Nuss P. Anxiety disorders and GABA neurotransmission: a disturbance of modulation. *Neuropsychiatric disease and treatment*. 2015:165-75. doi: 10.2147/NDT.S58841
- [21]. Raise-Abdullahi P, Meamar M, Vafaei AA, Alizadeh M, Dadkhal M, Shafia S, et al. Hypothalamus and post-traumatic stress disorder : a review. *Brain sciences*. 2023;13(7):1010. doi: 10.3390/brainsci13071010
- [22]. Pomrenze MB, Tovar-Diaz J, Blasio A, Maiya R, Giovanetti SM, Lei K, et al. A corticotropin releasing factor network in the extended amygdala for anxiety. *Journal of Neuroscience*. 2019;39(6):1030-43. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2143-18.2018.
- [23]. Ventura-Silva AP, Borges S, Sousa N, Rodrigues AJ, Pêgo JM. Amygdalar corticotropin-releasing factor mediates stress-induced anxiety. *Brain research*. 2020;1729:146622. doi: 10.1016/j.brainres.2019.146622.
- [24]. Giustino TF, Ramanathan KR, Totty MS, Miles OW, Maren S. Locus coeruleus norepinephrine drives stress-induced increases in basolateral amygdala firing and impairs extinction learning. *Journal of neuroscience*. 2020;40(4):907-16. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1092-19.2019.
- [25]. McBurney-Lin J, Lu J, Zuo Y, Yang H. Locus coeruleus-norepinephrine modulation of sensory processing and perception: a focused review. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2019;105:190-9. doi: 10.1016/j.neubiorev.2019.06.009.
- [26]. Umukoro S, Aluko OM, Eduviere AT, Owwoye O. Evaluation of adaptogenic-like property of methyl jasmonate in mice exposed to unpredictable chronic mild stress. *Brain Research Bulletin*. 2016;121:105-14. doi: 10.1016/j.brainresbull.2015.11.016.
- [27]. Adebesin A, Adeoluwa OA, Eduviere AT, Umukoro S. Methyl jasmonate attenuated lipopolysaccharide-induced depressive-like behaviour in mice. *Journal of psychiatric research*. 2017;94:29-35. doi: 10.1016/j.jpsychires.2017.06.007.
- [28]. Aluko OM, Umukoro S. Methyl jasmonate reverses chronic stress-induced memory dysfunctions through modulation of monoaminergic neurotransmission, antioxidant defense system, and Nrf2 expressions. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 2020;393(12):2339-53. doi: 10.1007/s00210-020-01939-6.
- [29]. Chen RJ, Nabila A, Phalke S, Castro DF, Toth JG, Bergin P, et al. Serotonin-1A receptor, a psychiatric disease risk factor, influences offspring immunity via sex-dependent genetic nurture. *Iscience*. 2022;25(12). doi: 10.1016/j.isci.2022.105595.

- [30]. Eduviere AT, Umukoro S, Aderibigbe AO, Ajayi AM, Adewole FA. Methyl jasmonate enhances memory performance through inhibition of oxidative stress and acetylcholinesterase activity in mice. *Life sciences*. 2015;132:20-6. doi: 10.1016/j.lfs.2015.04.007.
- [31]. Pereira-Maróstica HV, Castro LS, Gonçalves GA, Silva FM, Bracht L, Bersani-Amado CA, et al. Methyl jasmonate reduces inflammation and oxidative stress in the brain of arthritic rats. *Antioxidants*. 2019;8(10):485. doi: 10.3390/antiox8100485.
- [32]. Kim M, Kim S, Park K, An H, Choi Y, Lee N, et al. Methyl jasmonate inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory cytokine production via mitogen-activated protein kinase and nuclear factor- $\kappa$ B pathways in RAW 264.7 cells. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2016;71(9):540-3. doi: 10.1691/ph.2016.6647.
- [33]. Knezevic E, Nenic K, Milanovic V, Knezevic NN. The Role of Cortisol in Chronic Stress, Neurodegenerative Diseases, and Psychological Disorders. *Cells*. 2023;12(23):2726. <https://doi.org/10.3390/cells12232726>