مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۲۳، شماره ۱، بهار۹۲، صفحات ۲۱ تا ۲۹

Original Article

بررسی اثر عصاره پاپاور رز بر یادگیری ،حافظه، کورتیکوسترون و آنورکسی موش‌های کوچک آزمایشگاهی تحت استرس غیر قابل فرار

پروین میرزائی[۱]، فرح لطفی کاشانی[۲]، صفیه بهزادی[۳]، هدایت صحرایی[۴]

[۱] استادیار، گروه روان‌شناسی، دانشگاه پیام نور
[۲] دانشیار، گروه روان شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد رودهن
[۳] استادیار، گروه فیزیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد رودهن
[۴] دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشگاه بقیه الله (عج)

چکیده

سابقه و هدف: *گیاه پاور رز، گیاه یک ساله‌ای است که از آن در درمان اختلالات خواب، سرفه و التهاب استفاده می‌شود و دارای تاثیرات مسکن و مدر در انسان است. در این تحقیق، اثر عصاره آن و استرس بر حافظه و یادگیری و میزان کورتیکوسترون و آنورکسیا در موش‌های آزمایشگاهی بررسی شد.*

روش بررسی: *در این مطالعه تجربی، ۶۴ سر موش نر بالغ از نژاد سویس- وبستر با وزن تقریبی ۲۵-۲۰ گرم تصادفی انتخاب و به گروه کنترل، شاهد (دریافت کننده نرمال سالین) و گروه‌های تجربی دریافت کننده مقادیر ۳۰،۱۵ و ۶۰ میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن عصاره پاپاور رز تقسیم شدند. این عصاره به مدت یک هفته به صورت داخل صفاقی تزریق شد. در ابتدا و انتهای آزمایش عمل خون گیری از حیوانات انجام و میزان کورتیکوسترون اندازه گیری شد.*

یافته‌ها: *عصاره پاپاور رز با مقادیر ذکر شده موجب کاهش معنی‌داری در انورکسی و همچنین افزایش میزان کورتیکوسترون و نیز یادگیری در موش‌های گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل گردید ($p<۰/۰۵$، $p<۰/۰۰۱$ به ترتیب). به علاوه، استرس موجب افزایش معنی‌داری در غلظت کورتیکوسترون و انورکسی گروه کنترل مثبت (دریافت کننده استرس) گردید و میانگین حافظه و یادگیری در این گروه کاهش یافت ($p<۰/۰۵$).*

نتیجه‌گیری: *اثر افزایشی کورتیکوسترون مربوط به استرس، یک اثر مرکزی با محوریت هیپوتالاموس ازطریق CRF و هیپوفیز از طریق ACTH می‌باشد. اثر افزایشی کورتیکوسترون در عصاره، یک اثر محیطی است که نتیجه اثر مستقیم بر روی آدرنال است.*

واژگان کلیدی: *پاپاور رز، استرس، کورتیکوسترون، انورکسی، حافظه و یادگیری.*

مقدمه

پاپاور رز (Papaver Rhoeas) یک گیاه یک ساله بومی ایران و مناطق متعدد دیگری در جهان می‌باشد (۱). در طب سنتی ایران از عصاره گیاه برای درمان بسیاری بیماری‌ها مانند التهاب، اسهال، اختلالات خواب و سرفه استفاده شده است (۱). همچنین گفته می‌شود پاپاور رز دارای تاثیرات مسکن، مدر و ملین در انسان است (۲). مطالعات شیمیایی وجود اسید رادیک (۱)، اسید پاپاوریک (۳)، روجین (۴) و آنتوسیانین (۵)، به عنوان ترکیبات اصلی عصاره پاپاور رز، را اثبات کرده‌اند (۲). تحقیقات قبلی بر تاثیر پاپاور رز برافزایش وابستگی به مورفین (۶)، ترجیح مکان شرطی شده (۷)، حساسیت سازی رفتاری

آدرس نویسنده مسئول: استادیار،گروه روان شناسی، دانشگاه پیام نور ، صندوق پستی ۳۶۹۷-۱۹۳۹۵تهران ایران
(**email**: dr.mirzaie@ymail.com)
تاریخ دریافت مقاله: ۹۱/۳/۲۲
تاریخ پذیرش مقاله: ۹۱/۱۰/۲۴

(۸) و تحمل بـه اثـرات ضـد دردی مـورفین (۷) در مـوش‌هـا متمرکز بوده است. با توجه به اینکه بررسی تاثیر عصاره پاپـاوز رز برروی علایم متابولیسمی استرس شدید ضروری می‌باشـد، مقالـه حاضـر بـرای ارزیـابی اثـرات ایـن عصـاره بـر علایـم متابولیسمی استرس شدید، یادگیری و حافظه بر روی موش‌ها انجام شـد. اسـترس عبـارت اسـت از مجموعـه فنـومن‌هـا یـا پدیده‌هـای بیولـوژیکی غیراختصاصـی کـه بـه وسـیله عوامـل زیان‌آور خارجی ایجاد می‌شوند (۹). استرس می‌تواند بر توانایی یادگیری و حافظه فرد اثرات تخریبـی بـه جـا بگـذارد (۹). در هنگام ترس یا عصبانیت و استرس، نوعی ترشح سمی در بدن به وجود می‌آید که باعث گرفتگی کانال‌هـای انـرژی و از بـین رفتن اشتها، سوء هاضمه، بالا رفتن فشـار خـون، تـپش قلـب، بی‌خوابی و بروز احساسات منفی می‌گردد (۱۰). حیواناتی کـه در معرض استرس اجباری (بی وقفه) قـرار مـی‌گیرنـد، علایـم دیگری نظیر اختلال خواب و خـوردن، زخـم معـده و کـاهش ایمنی را نشان می‌دهند، مگر اینکه اثر استرس از آنها برداشته شود. این پدیده، بیماری‌های قلبی و سایر بیماری‌ها را افزایش می‌دهد (۱۱). مطالعات جدید نشان می‌دهند که هورمون‌هـای استرس ممکن است مغز را کوچک کنند (۱۳). به گفته سـونیا لوپین جی، درحال حاضر استرس در زندگی روزانه ما پذیرفتـه شده است (۱۱). زندگی با استرس زیاد می‌توانـد ماننـد سـایر بخش‌های بدن به مغز نیـز آسـیب برسـاند. مطالعـات پیشـین نشـان دادنـد کـه میانسـالان بـا سـطوح زیـاد کـورتیزول در تست‌های حافظه ضعیف عمل می‌کننـد و قسـمت هیپوکامـپ آنها، بخشـی از مغـز کـه مسـئول یـادگیری و حافظـه اسـت، کوچک‌تر است. محققان دانشگاه کالیفرنیا اروایـن مـی‌گوینـد استرس کوتاه مدت کـه تنهـا چنـد سـاعت طـول بکشـد نیـز می‌تواند به سلول‌های مغـزی در منـاطقی کـه در یـادگیری و حافظه نقـش دارنـد، آسـیب بزنـد (۱۴). دکتـر تـالی، مجـری تحقیقات در زمینه استرس، معتقـد اسـت: اسـترس بخشـی از زندگی است و نمی‌توان مانع آن شد. به گفته او ایـن یافتـه‌هـا می‌تواند نقش مهمی در تهیه داروهایی برای جلوگیری از ایـن تاثیرات نامطلوب داشته باشد و این موضوع را توضیح می‌دهـد که چـرا برخـی افـراد فراموشـکار هسـتند و یـا بـرای بازیـابی اطلاعات در موقعیت‌های پراسترس دچار مشکل می‌شـوند. بـه گفته محققان، با متوقف کردن تعامـل مولکـول‌هـای CRH بـا مولکول‌های گیرنده آنها، آسیبی که به علت استرس، به مناطق مربوط به یادگیری و حافظه وارد شده بود از بین می‌رود (۱۵). مطـابق تحقیقـات تومـاس هلـز، افـرادی کـه دارای اسـترس بیشـتری هسـتند، بیشـتر بیمـار مـی‌شـوند. علـت برخـی از بیماری‌های روحی و جسمی در افراد، وجـود اسـترس در آنهـا است و افرادی که دارای استرس بیشتری می‌باشند، امکان ابتلا به بیماری در آنها بیشتر است (۱۶). اسـترس موجـب کـاهش قدرت سیستم ایمنی افراد در برابر بیماری‌های خطرناک مانند انـواع سـرطان‌هـا مـی‌شـود (۱۷). حـدود یـک سـوم از افـراد استخدامی موسسات مختلف دچار عارضه استرس می‌شوند که این موضوع سالانه بیش از ۱۰میلیارد دلار هزینه‌هـای اضـافی در بر دارد. در مطالعه دیگری، تاثیر تنش درازمدت و تغییـرات هورمون کورتیزول بر عملکرد مغز بررسی شـده اسـت و نتـایج مشابهی به دست آمده است (۱۹). در تحقیق "تاثیر بالا بـودن مزمن هورمون کورتیزول بر عملکرد مغز افراد مسـن، جـوان و کودک" که توسط لشلی انجام گردید، وی دریافت بـا افـزایش سطح کورتیزول در خون افراد مسن ناحیـه‌ای از مغـز بـه نـام هیپوکامپ که مسئول یادگیری و حافظه است، کوچـک مـی-شود (۲۰). بررسی تاثیر تنش بر مغز افراد جوان توسط Ander نشان داد حتی افـزایش مـوقتی و کوتـاه مـدت کـورتیزول بـر توانایی تفکر و حافظه کودکان تاثیر منفـی مـی گـذارد (۱۹). نتیجه مطالعه بر روی کودکان و نوجوانـان از طبقـات متفـاوت اجتماعی متوسط نشان دهنده افزایش هورمون کورتیزول خون دراین افراد است (۱۹). محققان امریکایی بـر ایـن باورنـد کـه افراد بزرگسال در برابر استرس حساس‌تر ازجوانترها هسـتند و استرس شدید ممکن است بر مغز افـراد بزرگسـال تـاثیر دائـم بگـذارد. بـر اسـاس مطالعـات اندرسـون از دانشـگاه هـاروارد، موش‌هایی که با تنها نگاه داشـته شـدن در قفـس در معـرض اسـترس و تـنش‌هـای عصـبی قـرار مـی‌گیرنـد، در منطقـه هیپوکامپ که منطقه‌ای مهم برای یادگیری و حافظـه در مغـز است با مشکل روبرو می شوند و یکی از پروتئین‌های مهم این منطقه از مغز آنان کـاهش مـی‌یابـد (۲۱). ایـن پـروتئین کـه سـیناپتوفیزین نـام دارد بـرای سـنجش چگـونگی ارتبـاط سلول‌های مغزی با دیگر منـاطق بـه کـار مـی‌رود و هـر قـدر میزان این پروتئین کمتر باشد نشـان دهنـده کـاهش فعالیـت مغـزی اسـت و ایـن کـاهش در مـوش‌هـای مسـن بیشـتر از موش‌های جوان است (۲۱). دانشمندان با توجه به شباهت‌های میان موش و انسان معتقدند این نتیجه را می‌توان به انسان نیز تعمیم داد (۲۳). بر اساس تحقیقات دویچه وله مغز هر موجود دارای قدرت یادگیری است و قرن‌هاست که دانشـمندان رونـد یادگیری و نحوه بایگانی اطلاعات در مغز را کشف نمـوده‌انـد و در این راه موش‌های بسیاری قربانی شده‌اند. شـباهت ژنتیکـی موش‌ها با مجموعه ژنوم انسان باعث شده بسیاری از پژوهش‌ها و آزمایش‌های پزشکی زیست شناسی بر روی موش‌ها صـورت

بگیرد (۲۴). ساکمن زیست شناس معروف آلمانی معتقد است، روند یادگیری و نحوه بایگانی اطلاعات در مغز انسان شباهت بسیاری به مغز موش‌ها دارد، با این تفاوت که آموخته‌های بایگانی شده در مغز انسان به راحتی پاک نمی‌شود و تعداد این سلول‌ها در مغز انسان بیش از ۱۰۰میلیارد تخمین زده می‌شود که با یکدیگر در ارتباط هستند (۲۶). همچنین تحقیقات دویچه وله نشان می‌دهد، ارتباط میان سلول‌ها ارتباط "سیناپسی" نامیده می‌شود. گاه میان دو سلول ۱۰ هزار ارتباط سیناپسی وجود دارد و با تکرار و تمرین در یادگیری، این ارتباطات سیناپسی میان سلول‌ها بیشتر و قوی‌تر می‌شوند (۲۴). سلول‌های مغزی به طور مداوم در حال تبادل اطلاعات هستند و مجموعه ارتباطات مغزی، جریانی الکتریکی است که با دستگاه‌های مخصوص ثبت امواج مغزی قابل اندازه‌گیری است (۲۵،۲۴). در محوطه بیرونی یک سلول که غشای خارجی سلول نامیده می‌شود، ذرات یا عناصر بارداری قرار گرفته‌اند که حضورشان موجب برقراری و روان شدن این جریان الکتریکی می‌شود و این جریان با عبور از سوراخ‌های کوچکی که در غشای خارجی سلول موجودند، از یک سلول مجاور منتقل می‌شود (۲۵،۲۴). Sakman و Ervin Nere اولین کسانی بودند که توانستند ۳۰ سال پیش جریانی که از این کانال‌های کوچک عبور می‌کند را اندازه گیری کنند (۲۶). استفاده از موش‌ها در این تحقیقات به علت آنکه نه تنها موش‌ها قدرت یادگیری بالایی دارند، بلکه قابل دستکاری ژنتیکی هستند،کمک می‌کند تا با تغییرات مشخص ژنتیکی بر روی نحوه عمل سلول‌های مغزی دستکاری شده را با سلول‌های سالم، بهتر مقایسه و بررسی کرد (۲۶). مطالعات فیزیولوژیک نشان داده که در شرایط پایه ترشح گلوکوکورتیکوئیدها به صورت پالسی و وابسته به سیکل شبانه روزی می‌باشد (۲۷). اما در شرایط استرس این الگو تغییر نموده و ترشح این هورمون‌ها افزایش می‌یابد. همچنین علاوه بر اثراتی چون تنظیم قند خون، فشارخون و پاسخ‌های ایمنی، این هورمون‌ها به دلیل لیپوفیل بودن قادرند که از سد خونی – مغزی عبور نموده و بر عملکردهای عصبی و رفتاری تاثیر بگذارند (۲۸).

مواد و روشها

تحقیق به روش تجربی صورت گرفت. برای تهیه عصاره، به ۵۰۰ میلی‌لیتر از اتانول ۵۰٪ در آب، ۵۰ گرم پودر گیاه اضافه شد (میوه، گلبرگ، ریشه، ساقه و برگ) و ۲۰ ساعت در دمای اتاق خیسانده شد. حوضچه به آرامی چرخانده شد. بعد از تصفیهٔ اتانول در فشار کم در دمای ۳۳ درجه سانتی‌گراد تبخیر شد و عصاره خشک منجمد شد. بازده عصاره ۱۵g پودر خشک ـ منجمد برای ۱۰۰g گیاه خشک بود. عصاره در محلول نمک نرمال حل شده به داخل صفاق موش‌ها تزریق شد و میزان تزریق بر مبنای mg عصاره در هر کیلوگرم وزن بود.

القای استرس

ابزارهای مورد استفاده برای القای استرس همراه با اصلاحاتی در موارد دیگر کاملا تعریف شده است (۲۹). به طور خلاصه می‌توان گفت که جعبه ارتباطی از ۹ کمپارتمان مجزا تشکیل شده که درفاصله ۳ و ۱سانتی‌متری از همدیگر قرار داده شده است. کف کمپارتمان‌ها به ژنراتور وصل بوده که با استفاده از رایانه کنترل می‌شود و جریان الکتریکی به مقدار ۴۰ میلی ولت را تولید می‌کند تا بتواند شوک الکتریکی را به مدت ۶۰ ثانیه در پای موش‌ها به وجود آورد. شوک الکتریکی به مدت ۵ روز متوالی انجام گردید. در همین راستا، ر کدام از حیوانات به صورت تصادفی در گروه‌ای آزمایش و گواه قرار داده شدند. حیوانات یک ساعت قبل از آزمایش به محل آزمایش برده شدند تا با محیط سازگار شوند. در ادامه حیوانات استرسی در کمپارتمان‌های جداگانه قرار داده شدند و سی دقیقه بعد شوک الکتریکی به پای موش‌ها وارد شد. پس از پایان شوک الکتریکی، حیوانات به مدت سی دقیقه دیگر در کمپارتمان‌ها ماندند و در ادامه به قفس اصلی بازگردانده شدند.گروه گواه تنها به مدت ۶۰ دقیقه در کمپارتمان قرارداده شدند و هیچگونه شوک الکتریکی صورت نگرفت. وزن حیوانات به صورت روزانه پیش از آزمایش اندازه گیری و ثبت می‌شد. علاوه بر آن، مقدار آب و غذای حیوانات نیز ثبت می‌شد. دوره بی‌اشتهایی عصبی (زمانی که باید سپری می‌شد تا موش‌ها غذاخوردن را پس از بازگشت به قفس آغاز کنند) نیز به عنوان شاخص استرس ثبت گردید. نمونه‌های خونی از سینوس رترو اربیتال در روزهای اول و آخر آزمایش از موش‌ها گرفته شد. سپس نمونه‌ها در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد چرخانده شدند و سرم شناور در آب برای تعیین سطح کورتیکوسترون جمع‌آوری شد. غلظت کورتیکوسترون با استفاده از کیت ELISA در ۴۵۰ نانومتر تعیین گردید.

روش تحقیق

موش‌های کوچک آزمایشگاهی نژاد سویس- وبستر با میانگین وزنی ۲۰-۲۵ گرم به صورت کاملا تصادفی به ۸ گروه که

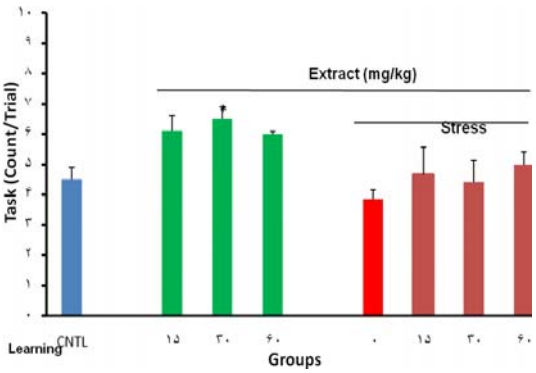
درهرگروه ۸ سر موش قرار داشتند، تقسیم شدند. در مجموع ۶۴ سر موش به صورت نمونه گیری تصادفی ساده از یک جامعه هزارتایی انتخاب گردیدند. ۸ گروه دوباره به شیوه تصادفی به یک گروه کنترل مثبت (دریافت کننده استرس)، سه گروه آزمایش (استرس + عصاره) که استرس و دوزهای مختلف عصاره را دریافت نمودند، سه گروهی که دوزهای مختلف عصاره را دریافت نموده بدون آنکه شوکی الکتریکی دریافت نمایند و یک گروه کنترل منفی که هیچ یک از استرس وعصاره را دریافت ننمود، تقسیم گردیدند. با استفاده از ماز تی T شکل میزان یادگیری وحافظه مورد بررسی و اندازه گیری قرار گرفت. جهت تعیین تغییرات کورتیکواسترون روز اول آزمایش قبل از وارد نمودن شوک الکتریکی خون-گیری از موش‌ها صورت گرفت. در روز آخر اعمال استرس نیز دوباره خونگیری انجام پذیرفت.

آنالیز آماری

داده‌ها به صورت میانگین نمایش داده شده‌اند. از آنالیز واریانس دو طرفه MANOVA و آزمون تعقیبی توکی برای ارزیابی گروه‌های خاص استفاده گردید. p<۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شد.

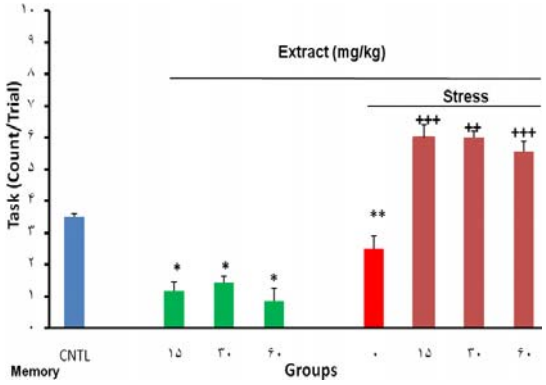
یافته‌ها

نتایج نشان دهنده اثرات افزایشی عصاره الکلی و آبی پاپاور رز در سطح کورتیکوسترون خون و همچنین تاثیرات استرس بر افزایش غلظت کورتیکوسترون خون بود و اثربخشی عصاره پاپاور رز (۳۰،۱۵، و ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) به همراه استرس (عصاره +استرس) به صورت تشدید این اثر مشاهده شد. استرس شوک در پا توانست سطح کورتیکوسترون پلاسما را در گروه آزمایش افزایش دهد. اثرات عصاره آبی و الکلی پاپاور رز بر بی‌اشتهایی عصبی، جذب غذا و افزایش وزن در نتیجه استرس القایی پس از هر جلسه زمانی که حیوانات به قفسه‌های اصلی خود بازگردانده شدند و زمان سپری شده برای از سرگیری مصرف غذا ثبت گردید. داده‌های ما نشان داد که گروه‌های آزمایشی به زمان بیشتری برای غذا خوردن نیاز داشتند. جذب غذا پس از اعمال استرس در گروه-هایی که سالین و عصاره را دریافت کرده بودند،کاهش یافت. در این تحقیق با توجه به نمودار ۱، در گروههای آزمایش وگروه عصاره نسبت به گروه‌های استرس وکنترل میزان یادگیری افزایش یافته بود. استرس موجب کاهش یادگیری نسبت به گروه کنترل منفی گردید. در مورد حافظه نیز شاهدکاهش مقدار حافظه در گروه دریافت کننده استرس بودیم. عصاره نیز موجب کاهش در حافظه شد. در گروه آزمایش، میزان حافظه در مقایسه با گروه کنترل منفی افزایش یافت.

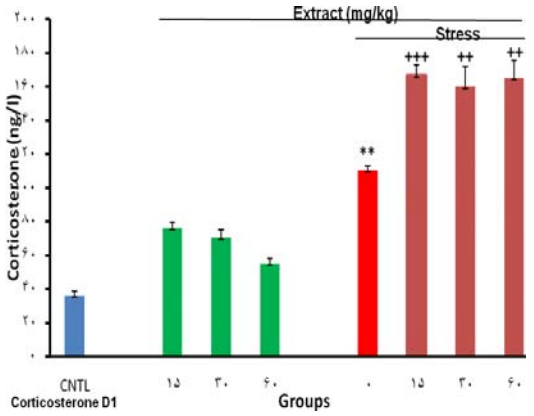


نمودار ۱- مقایسه میانگین تاثیر عصاره واسترس در میزان یادگیری گروه‌ها. با توجه به نمودار ۱، میزان یادگیری در گروه‌های آزمایش وگروه عصاره نسبت به گروه‌های استرس وکنترل افزایش یافت که این افزایش در تجویز عصاره با دوز ۳۰ mg/Kg بیشتر بود. استرس به تنهایی موجب کاهش یادگیری نسبت به گروه کنترل منفی گردید. *P<۰/۰۵ تفاوت از گروه کنترل معنی‌دار است.

در مورد حافظه نیز (نمودار ۲) شاهد کاهش در مقدار حافظه در گروه دریافت کننده استرس نسبت به گروه کنترل بودیم.

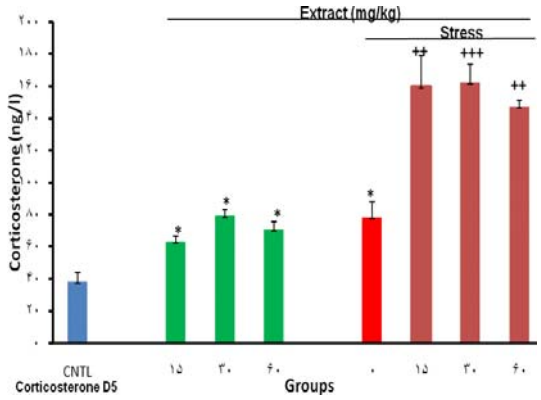


نمودار ۲- مقایسه میانگین گروه‌ها در ارتباط با تاثیر عصاره واسترس در میزان حافظه. در گروه آزمایش میزان حافظه در مقایسه با گروه کنترل منفی افزایش یافت که این افزایش با دوز ۱۵ mg/Kg بیشتر بود. *P<۰/۰۵ تفاوت از گروه عصاره و**P<۰/۰۱ تفاوت از گروه کنترل معنی‌داراست. +++P<۰/۰۰۱ از گروه استرس معنی دار است. ++P<۰/۰۱ اختلاف از گروه استرس معنی‌دار است.



نمودار۳- مقایسه میانگین گروهها در ارتباط با تاثیر عصاره و استرس در میزان کورتیکوسترون در روز اول. عصاره نیز مقدارکورتیکوسترون را کمی افزایش داد. این افزایش در دوز mg/Kg ۱۵بیشتر بود. $P<۰/۰۱^{**}$ تفاوت از گروه کنترل معنی‌دار است. $P<۰/۰۱^{++}$ اختلاف از گروه استرس معنی‌دار است. $P<۰/۰۰۱^{+++}$ اختلاف از گروه استرس معنی‌دار است.

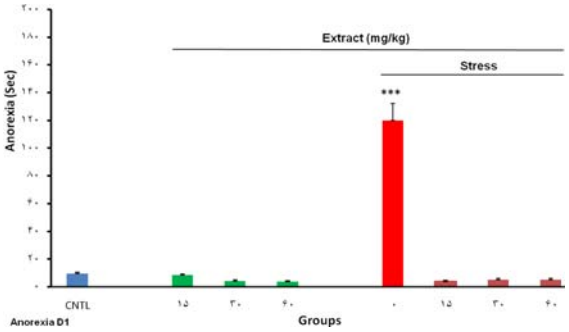
همان طور که نمودار ۳ نشان می‌دهد در روز اول آزمایش، استرس اثر تحریک کننده رها شدن کورتیکوسترون را داشت. درگروه آزمایش، میزان افزایش کورتیکوسترون حدود سه برابر است.



نمودار ۴- مقایسه میانگین گروهها در ارتباط با تاثیر عصاره و استرس در میزان کورتیکوسترون در روز آخر. اثرافزایشی عصاره در حضور استرس یک اثر جمع شوندگی داشت. این افزایش با دوز mg/Kg ۳۰ بیشتراست. افزایش درگروه عصاره نیز نسبت به روز اول کمتر گردید. $P<۰/۰۵^{*}$ تفاوت از گروه کنترل وگروه عصاره معنی‌دار است. $P<۰/۰۱^{++}$ اختلاف از گروه استرس معنی‌دار است. $P<۰/۰۰۱^{+++}$ اختلاف از گروه استرس معنی‌دار است.

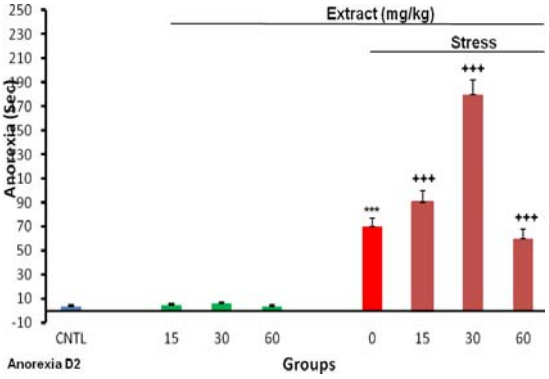
همچنان که نمودار ۴ نشان می‌دهد در روز آخر نیز شاهد تاثیر استرس در افزایش میزان کورتیکوسترون در گروه آزمایش هستیم (حدود سه برابر).

باتوجه به نمودار ۵، در روز اول پس از القای استرس، انورکسی شدید در حیوانات گروه استرس دیده می‌شود. ولی انورکسی در گروه‌های عصاره+استرس، هیچگونه افزایشی نداشت.



نمودار ۵- مقایسه میانگین گروهها در ارتباط با تاثیر عصاره واسترس در میزان انورکسی در روز اول. عصاره به تنهایی میزان انورکسی را کاهش داد. $P<۰/۰۰۱^{***}$ تفاوت از گروه کنترل معنی‌دار است.

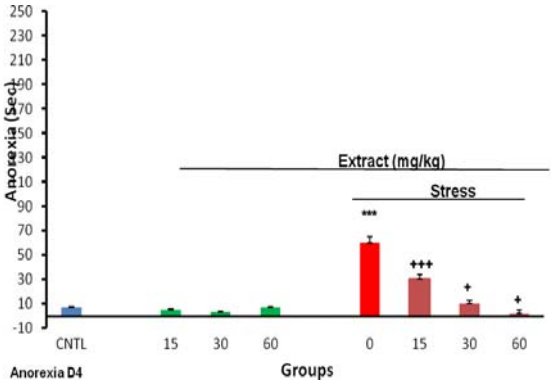
با توجه به نمودار ۶، استرس موجب افزایش انورکسی به میزان چند برابر نسبت به گروه کنترل گردید. گروه عصاره + استرس نیز میزان انورکسی را افزایش دادند. این افزایش در گروه با دوز mg/kg ۳۰ بیشتر از سایر گروهها بود. درگروه عصاره انورکسی کاهش یافت.



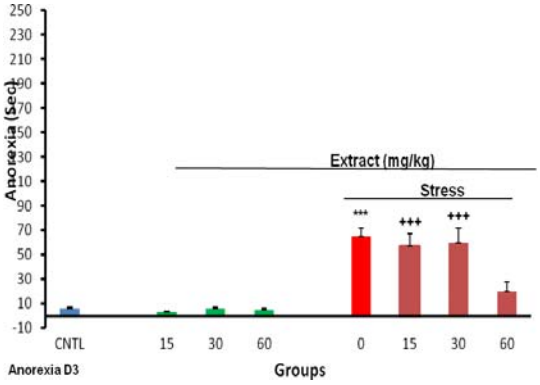
نمودار ۶- مقایسه میانگین گروهها در ارتباط با تاثیر عصاره و استرس در میزان انورکسی در روز دوم. $P<۰/۰۰۱^{***}$ تفاوت از گروه کنترل معنی‌دار است. $P<۰/۰۰۱^{+++}$ اختلاف از گروه استرس معنی‌دار است.

با توجه به نمودار ۷، در روز سوم نیز شاهد افزایش آنورکسی در گروه دریافت کننده استرس هستیم. در گروه استرس +

عصاره افـزایش آنورکسـی بـا دوز ۳۰ mg/kg بیشـتر از سـایر گروه‌ها بود. در گروه عصاره کاهش انورکسی مشاهده شد.



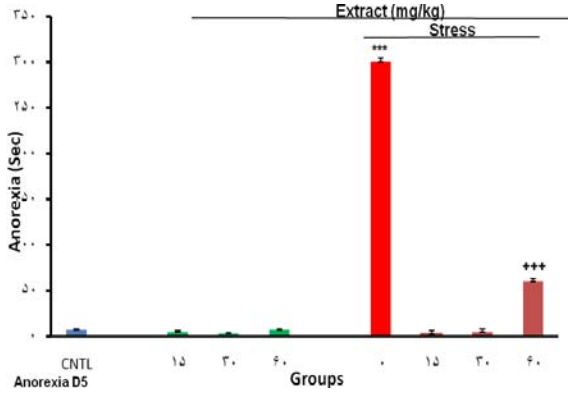
نمودار ۷- مقایسه میانگین گـروه‌هـا در ارتبـاط بـا تـاثیر عصـاره و استرس در میزان انورکسی در روز سوم. ***P<۰/۰۰۱ تفاوت از گروه کنترل معنی‌دار است. +++ P<۰/۰۰۱ اخـتلاف از گـروه اسـترس معنـی‌دار است.



نمودار ۸- مقایسه میـانگین‌هـای گـروه‌هـای عصـاره و اسـترس در میزان آنورکسی روز چهارم. ***P<۰/۰۰۱ تفاوت از گروه کنترل معنی‌دار اسـت. +++ P<۰/۰۰۱ اخـتلاف از گـروه اسـترس معنـی‌دار اسـت. + P<۰/۰۵ اختلاف از گروه استرس معنی‌دار است.

با توجه به نمودار ۸، استرس میـزان آنورکسـی را افـزایش داد. افزایش آنورکسی درگروه استرس+ عصاره نیـز مشـاهده شـد. این افزایش در گروه دریافت کننده بـا دوز ۱۵ mg/Kg بیشـتر بود. در گروه دریافت کننده عصاره بـا دوز ۳۰mg/Kg کـاهش آنورکسی داشتیم.

در روز آخر با توجه به نمودار ۹، افزایش شدیدی در انورکسـی در گروه استرس و گروه آزمایش (گروهی که عصـاره واسـترس دریافت نموده‌اند) دیده شد. این افزایش در دوز افزایش بـا دوز ۶۰ mg\kg بیشتر بود. در گروه‌های دریافت کننده عصاره نیـز کاهش انورکسی نسبت به گروه کنتـرل دیـده مـی‌شـود. ایـن کاهش با دوز ۳۰ mg/Kg بیشتر است.



نمودار۹. مقایسـه میـانگین گـروه‌هـا در ارتبـاط بـا تـاثیر عصـاره و استرس در میزان انورکسی در روز آخـر. ***P<۰/۰۰۱ تفـاوت از گـروه کنترل معنی‌دار است. +++ P<۰/۰۰۱ اختلاف از گروه استرس معنی‌دار است.

بحث

در این تحقیق، تاثیر استرس و عصاره گیاه شقایق بر حافظـه و یادگیری و پاسخ‌های استرس از جمله میزان کورتیکوسترون و انورکسی بررسی شـد. نتـایج نشـان داد کـه اسـترس موجـب افزایش هورمون کورتیکوسترون می‌گردد کـه بـا نتـایج قبلـی همخوانی دارد (۸،۷،۲). ریچارد ریهی در تحقیقات اخیـر خـود در ارتباط با استرس و سلامتی بدن هورمـون کورتیکوسـترون در خون را کشف نمود که ارتباط تنگـاتنگی بـا اسـترس بـدن افراد دارد (۳۳-۳۰). در این تحقیق همچنین بـه ایـن نتیجـه رسیدیم که عصاره اثر تحریک کننده رهاشدن کورتیکوسترون را دارد و این اثر بیشتر محیطی بوده و در نتیجـه مسـتقیم بـر روی آدرنال می‌باشد (۷). استرس به شدت کورتیکوسـترون را افزایش داد (حدوده برابر). کورتیکوسترون کـه از آدرنـال رهـا شده باعث آزاد شدن مکانیزم‌های دفـاعی بـدن مـی‌شـود کـه نشان دهنده حالت محافظت کنندگی آن می‌باشد (۸). استرس + عصاره به شدت موجب افزایش کورتیکوسترون گردیده است. اثر افزایشی عصاره در حضور استرس یک اثر جمـع شـوندگی دارد. کورتیکوسترون در روز آخر آزمایش نیـز افـزایش یافـت. این افـزایش در گـروه اسـترس نسـبت بـه روز اول بـه میـزان کمتری بود که آن به دلیل تطابق با عوامل استرس‌زا می‌باشـد. زمانی که استرس از فاز حاد به فاز مزمن وارد می‌شود، بعضـی پارامترها اثرات خود را خوب نشـان نمـی‌دهنـد (۲). در گـروه عصـاره و گـروه عصـاره +اسـترس، افـزایش کورتیکوسـترون بیشـتری را مشـاهده کـردیم. اثـر افزایشـی کورتیکوسـترون درعصاره، یک اثر محیطی است که نتیجه اثر مستقیم، بر روی آدرنـال اسـت (۸). اثـر افزایشـی کورتیکوسـترون مربـوط بـه

استرس، یک اثر مرکزی با محوریت هیپوتالاموس ازطریق CRF و هیپوفیز از طریق ACTH می‌باشد (۲۷،۸،۷). بر اساس نتایج تحقیقات قبلی، یکی از اثرات استرس افزایش در میزان انورکسی است (۸-۶) که با نتایج تحقیق ما مطابقت دارد.

در این تحقیق، در روز اول پس از استرس، انورکسی در حیوانات گروه استرس دیده شد، ولی انورکسی در گروه‌های دریافت کننده عصاره+استرس کاملا کاهش یافت. عصاره به تنهایی نیز توانایی ایجاد انورکسی یا تغییر درآن را نداشت. در روز دوم گروه‌های دریافت کننده عصاره نتوانستند از انورکسی ناشی از استرس جلوگیری کنند و حتی میزان آنورکسی در گروه عصاره + استرس افزایش یافت. در روز سوم، تجویز عصاره به صورت معنی‌داری انورکسی ناشی از استرس را در گروه عصاره + استرس کاهش داد. در روز چهارم، این کاهش به صورت وابسته به دوز خود را نشان داد. در روز آخر، افزایش شدیدی در انورکسی در گروه استرس +عصاره با دوز mg/kg ۶۰ دیده شد که این افزایش به منزله کاهش اداپتاسیون موجود نسبت به استرس درروزهای قبل می‌باشد.

در گروه‌های دریافت کننده عصاره، کاهش انورکسی نسبت به گروه کنترل دیده شد. گروه دریافت کننده استرس آنورکسی را افزایش داد. به نظر می‌رسد که تداخل عصاره با استرس در زمینه انورکسی به تاثیر مستقیم اجزا اپیوئیدی موجود در عصاره با مراکز کنترل کننده اشتها در آمیگدال مرتبط باشد. آزمایشات قبلی نشان داده‌اند که فاکتور رها کننده ACTH که از آمیگدال رها می‌شود نقش مهمی را در بروز انورکسی در هنگام استرس دارد و رها شدن این ماده تحت کنترل اپیوئیدها می‌باشد. به همین دلیل به نظر می‌رسد که سیستم اپیوئیدی می‌تواند به کاهش انورکسی در افراد استرس دیده کمک کند (۳۲،۸). یکی از مهم‌ترین دلایل بروز وابستگی به اپیوئیدها عملکرد شدید سیستم استرسی در مغز می‌باشد. به همین دلیل هنگامی که سیستم اپیوئیدی به صورت خارجی (با استفاده از مواد اپیوئیدی) تحریک شود، اشتهای فرد نیز بهبود می‌یابد (۳۲) که این نشان دهنده تاثیر مثبت اپیوئیدها در واکنش‌های مربوط به تغذیه در مغز است که طبق بعضی گزارش‌ها از طریق داینورفین‌ها (یکی از پپتیدهای اپیوئیدهای مغز) واسطه‌گری گیرنده‌های کاپای اپیوئیدی انجام می‌گیرد (۳۲). بنابراین به نظر می‌رسد در حال حاضر نیز عصاره شقایق که حاوی الکالوییدهای شبیه پپتیدهای اپیوئیدی درون‌زا می‌باشد (۸،۱۳) نیز همین اثر را بر مراکز کنترل تغذیه در مغز نظیر هیپوتالاموس و آمیگدال داشته است (۲۸).

یافته‌های ما همچنین با نتایج تحقیقات بارام هماهنگ است. بارام و همکارانش در تحقیق خود افراد جدیدی را شناسایی کردند که در آن استرس موجب این تاثیرات می‌شد (۳۳). این پژوهشگران دریافتند بیش از نقش کورتیزول (هورمون شناخته شده استرس) که در سراسر بدن جریان دارد، استرس شدید مولکول‌هایی موسوم به کورتیکوتروپین آزادکننده هورمون‌ها (CRH) را فعال می‌کند که در نتیجه آن، فرایند جمع آوری اطلاعات ذخیره آنها در مغز مختل می‌شود (۳۳) که تطابق نتیجه‌ای با تحقیقات ما دارد. نتایج ما نشان داد که استرس در مقایسه با گروه آزمایش موجب کاهش در میزان حافظه گردیده که با نتایج قبلی در این زمینه همخوانی دارد (۹،۱۸). از آنجایی که قرار گرفتن در معرض استرس می‌تواند به هیپوکامپ آسیب برساند (۳۰). آسیب از نوعی واکنش زنجیره‌ای یا حلقه بازتابی، حاصل می‌شود. چرخه وقتی شروع می‌شود که غدد فوق کلیوی هورمون‌های استروئید به نام گلوکوکوتیکوئید که معمولا معروف به کورتیکواستروئید یا کورتیزول هستند را به جریان خون آزاد می‌کنند (۳۰). هیپوکامپ ظرفیت بالایی از گیرنده‌ها را برای گلوکوکورتیکوئیدها دارد و تحت شرایط نرمال تولید هورمون‌های استرس را تنظیم می‌کند. در نتیجه آسیب، هورمون‌های استرس در سطوح افزوده ترشح می‌شوند و منجر به آسیب بیشتر به هیپوکامپ می‌شوند (۳۰). مطالعات قبلی نشان داده‌اند که موش‌هایی که در معرض سطوح بالای هورمون‌های استرس قرار می‌گیرند، دچارکمبود حافظه می‌شوند (۳۱). این مطالعات در واقع نشان داده‌اند که استرس به طور منفی حافظه را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۳۱). برای مثال، محققان در دانشگاه پزشکی واشنگتن متوجه شدند که شرکت کننده‌هایی که مقادیری از کورتیزول در سطوح مربوط به زمان‌های استرس متوسط یا زیاد دریافت کردند، قادر نبودند که اطلاعات را از پاراگراف‌های کوتاه به اندازه شرکت کننده‌هایی که به آنها شبه دارو داده شده بود، به خاطر بیاورند (۹). در این تحقیق، میزان یادگیری در گروه‌های آزمایش و گروه عصاره نسبت به گروه‌های استرس و کنترل منفی افزایش یافت. استرس موجب کاهش یادگیری نسبت به گروه کنترل منفی گردید. در مورد حافظه نیز شاهد کاهش چشمگیری در مقدار حافظه در گروه دریافت کننده استرس بودیم. در گروه آزمایش میزان حافظه در مقایسه با گروه کنترل منفی افزایش یافت. این یافته با نتایج تحقیق لشلی و همچنین تحقیقات پروفسور هربی هرزوگ هماهنگی دارد (۲۰،۱۷). همچنین نتایج پژوهش ما با تحقیق کوپ همسویی دارد. مطالعه

"ارزیابی اثرات استرس حاد و کورتیکوسترون بر فرآیند یادگیری و حافظه" که توسط کوپ انجام گرفت نشان داد که یکی از عواملی که بر یادگیری و حافظه اثر می‌گذارد استرس و وقایع هیجانی هستند که اثرات آنها به خوبی حفظ می‌شوند (۲۸). از طرفی، مطالعات چند دهه گذشته نشان داده است که هورمون‌های گلوکوکورتیکوییدی (کورتیکوسترون در موش‌ها و کورتیزول در انسان‌ها) که در طی استرس یا تجربیات هیجانی آزاد می‌شوند بر بسیاری از اعمال شناختی تاثیر می‌گذارند (۳۰) و پیشنهاد شده که فازهای مختلف فرایند یادگیری و حافظه هیجانی می‌تواند تحت تاثیر هورمون‌های گلوکوکورتیکوییدی قرار گیرد (۳۰). همین طور نتایج تحقیق ما با تحقیقات انجام شده پرفسور هربی هرزوگ در ۲۰۰۸، جی پی ری در ۱۹۹۹، دویچه وله در ۲۰۰۷، برت اکمن در ۲۰۰۹، ساکمن در ۲۰۰۵، صحرایی در ۲۰۰۶، پورمتبد در۲۰۰۴، زرگری در ۱۹۹۵ و سلیمانی در ۲۰۰۱ هماهنگ است (۱، ۲، ۴، ۶، ۱۷، ۲۶-۲۴).

تشکر و قدردانی

بدین وسیله ازکارشناسان محترم آزمایشگاه دانشگاه بقیه الله (عج) تشکر و قدردانی می‌شود.

REFERENCES

1. Zargari A. Papaver rhoeas. In: Zargari A, Editor. Medical lants, 6th ed. Tehran: Tehran University Press;1995; 2: 145-52.
2. Soulimani R,Younos C, Jarmouni-Idrissi S, Bousta D, Khalouki F, Laila A. Behavioral and phaco-toxicological study of Papaver Rhoeas L. in mice. J Ethnopharmacol 2001; 74:265-74.
3. Slavik J, Slavikov L, Bochorakova J. Alkaloids from Papaver rhoeas. Collection of Czechoslovak Chem Comm 1989; 54: 1112-1118.
4. Rey JP, Levesque J, Kposset JP, Rolot F. Analytical studies ofisorhoeadine and rhoeagenine in petal extracts of Papaver rhoeas L. using high-performance liquid chromatography. J Chromatography 1992; 596: 276-80.
5. Matysik G, Benesz M. Thin-layer chromatography and densitometry of anthocyanins in the petals of red poppy during development of the flowers Chromatographia 1991; 32: 19-22.
6. Pourmotabbed A, Rotamian B, Manouchehri G, Sahraei H,Ghoshooni H , Zardooz H , Kamalnegad M. Effects of Papaver rhoeas extract on the expression and development of morphine-dependence in mice. J Ethnipharmacology 2004; 95:431-35.
7. Sahraei H, Fatemi SM, Pashei-Rad S, Faghih-Monzavi Z, Salimi SH, Kamalinegad M. Effects of Papaver rhoeas extract on the acquisition and expression of morphine-induced conditioned place preference in mice. J Ethnopharmacol 2006; 103: 420-24.
8. Sahraei H, Faghih-Monzavi Z, Faghih-Monzavi Z, Salimi SH, Kamalinegad M. Effects of Papaver rhoeas extract on the acquisition and expression of morphine-induced behavioral sensitization in mice. Phytother Res 2006;11:309-15.
9. Morgan D, Donled F. Stress hormones: good and bad. Neurobiol Dis 2005;7:540-42.
10. Selye H. Stress-induced expression of immediate earlygenes in the brain and peripheral organs of the rat. Journal of Affective Disorder 1997; 29: 183-207.
11. Lupien JS. A role for brain stress systems in addiction. Neuron 2008; 59: 11-34.
12. Buller KM, Anderson S, Day TA. Effects of chronic oestrogen replacement on stress-induced activation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis control pathways. J Neuroendorinol 2000; 12:784-94.
13. Harison LM, Kastin AJ, Zadina JE. Opiate tolerance and dependence: receptor G- proteins and antiopiates. Peptides 1998; 19:1603-30.
14. Brow, ES, Woolston DJ, Frol A, Bobadilla L, Khan DA, Hanczyc M, et al. Hippocampal ,Spectroscopy, cognition, and mood inpatients receiving corticosteroid therapy. Biol Psychiatry 2004; 55:538-45.
15. Nestler EJ. Molecular mechanisms of drug addiction. J Neurosci 1992; 12: 2439-50.
16. Toomas H.Clinical and psychosocial correlates of antenatal depression: A review. Psychotherapy and Psychosomatics 2007. P. 416-25.
17. Herzook H, Michaels CC. Early Postnatal stress alters place conditioning to both M-and k-opioid Agonists./ JPET 2008;325:313-18.

18. Izicoridow H, Kastin AJ, Zadina JE . Opiate tolerance and dependence: receptors, G-proteins, and anti-opiates 2004; 19: 1603-30.

19. Ander J, Onaka T. Suppressive vasopressin response to emotional stress: the neuroactive substance that may be involved. Ann NY Acad Sci 2007; 689: 685-88.

20. Lesheli A, Nguyen P. Pregnancy stress and neurosteriod building in brain emberyo JPET 2007;325:313-18.

21. Anderson S, Day TA. Effects of chronic oestrogen replacement on stress-induced activation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis control pathways. J Neuroendorinol 2001; 12:784-94.

22. Tim´ar J, Gyarmati Z, F¨urst J. The development of tolerance to locomotor effects of morphine and the effect of various opioid receptor antagonists in rats chronically treated with morphine. Brain Research Bulletin 2005; 64: 417–24.

23. Ebner K, Wotjak CT, Landgraf R, Engelmann M. A single social defeat experience selectively stimulates the release of oxytocin, but not vasopressin, within the septal brain area of male rats. Brain Res 2000; 827:87-92.

24. Veleh D. Stress eating and reward system .Journal of Health Physiology 2007; p.1-10.

25. Bret A, Van de Kar LD. Neuroendocrine pharmacology of stress. Eur J of Pharmacol 2009; 463:235-72.

26. Sakman B, Arvinter G. Stress-induced expression of immediate early genes in the brain and peripheralorgans of the rat,Journal of Clinical Oncology 2005; 29:183-207.

27. Koob GF. Neurobiology of addicion. Ann NY Acad Sci 2000;90:170-85.

28. Koob GF. A role for brain stress systems inaddiction. Neuron 2008;59: 11-34.

29. Robinson TE, Berridge KC. Addiction. Annu Rev Psychol 2003;54: 25-53.

30. de Kloet ER. Steroids, stability and stress. Front Neuroendocrinol 1995;16:416-25.

31. Kaplan HI, Sadock BJ, Editors. Synapsis of psychiatery. NewYork: Williams & Wilkins; 1998.p:581-85.

32. Douglas AJ, Johnstone HA, Wigger A, Landgraf R, Russell JA. The role of endogenous opioids in neurohypophysial and hypothalamo-pituitary-adrenal axis hormone secretory responses to stress in pregnant rats. J Endocrinol 1998; 158: 285-93.

33. Michaels CC, Holtzman SG. Early postnatal stress alters place conditioning to both μ-and κ-opioid agonists. J Pharmacol Eeperi Therape 2008; 325:313-18.