Archive of SID

تحقیقی

اثر درمان ترکیبی عصاره هیدروالکلی پسته کوهی و فلووکسامین بر حافظه فضایی موش صحرایی نر تحت استرس بی‌حرکتی

دکتر مهدی محمدزاده[1]، فاطمه بابائی‌فر*[2]، دکتر فرین بابائی[1]

۱- استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

چکیده

زمینه و هدف : *استرس اکسیداتیو موجب اختلال در فرایندهای مغزی مانند حافظه می‌گردد. پسته‌کوهی (Pistacia atlantica kurdica) حاوی ترکیبات آنتی‌اکسیدان، اسیدهای اولئیک و لینولئیک است. فلووکسامین یک داروی ضدافسردگی است که با مهار بازجذب سروتونین عمل می‌کند. این مطالعه به منظور تعیین اثر عصاره هیدروالکلی پسته‌کوهی و فلووکسامین بر حافظه فضایی موش‌های صحرایی نر تحت استرس بی‌حرکتی انجام شد.*

روش بررسی : *در این مطالعه تجربی ۳۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در ۵ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. گروه کنترل تحت استرس بی‌حرکتی قرار نگرفت. گروه استرس فقط تحت استرس بی‌حرکتی، گروه پسته‌کوهی تحت استرس بی‌حرکتی و تجویز عصاره هیدروالکلی پسته‌کوهی (۴۰۰mg/kg/bw)، گروه فلووکسامین تحت استرس بی‌حرکتی و تجویز فلووکسامین (۱۲۰ mg/kg/bw) و گروه پسته‌کوهی توام با فلووکسامین تحت استرس بی‌حرکتی و تجویز عصاره هیدروالکلی پسته‌کوهی (۴۰۰mg/kg/bw) و فلووکسامین (۱۲۰ mg/kg/bw) به‌صورت گاواژ قرار گرفتند. برای سنجش حافظه فضایی از آزمون ماز شعاعی استفاده شد. بعد از ۲۱ روز از شروع مداخله، حیوانات تحت بیهوشی قرار گرفتند و بعد از خونگیری، میزان مالون‌دی‌آلدهید و کاتالاز در بافت هیپوکمپ و میزان کورتیکوسترون و گلوکز سرم اندازه‌گیری شد.*

یافته‌ها : *استرس به‌طور معنی‌دار باعث افزایش زمان رسیدن به هدف، افزایش مالون‌دی‌آلدهید، کورتیکوسترون، گلوکز سرم و کاهش کاتالاز در گروه استرس در مقایسه با گروه کنترل گردید ($P<0/05$). در گروه دریافت‌کننده پسته‌کوهی و گروه پسته‌کوهی توام با فلووکسامین در مقایسه با گروه استرس زمان رسیدن به هدف، مالون‌دی‌آلدهید، کورتیکوسترون و گلوکز سرم به‌طور معنی‌داری کاهش و کاتالاز به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P<0/05$). در حالی که فلووکسامین در مقایسه با گروه کنترل زمان رسیدن به هدف، مالون‌دی‌آلدهید و گلوکز سرم را به‌طور معنی‌داری افزایش و میزان کورتیزول و کاتالاز را کاهش داد ($P<0/05$).*

نتیجه‌گیری : *این مطالعه نشان داد که استرس بی‌حرکتی باعث تضعیف حافظه و تیمار با فلووکسامین به‌عنوان داروی ضدافسردگی باعث تشدید ضعف حافظه و تیمار با عصاره هیدروالکلی پسته‌کوهی باعث بهبود حافظه می‌گردد.*

کلید واژه‌ها : *پسته کوهی ، فلووکسامین ، استرس بی‌حرکتی ، حافظه فضایی ، موش صحرایی*

* نویسنده مسؤول : فاطمه بابائی‌فر ، پست الکترونیکی fatemehbabaei706@yahoo.com

نشانی : ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی، تلفن و نمابر ۰۴۴۳-۱۹۴۲۱۷۴

وصول مقاله : ۱۳۹۵/۶/۲۳ ، اصلاح نهایی : ۱۳۹۶/۲/۶ ، پذیرش مقاله : ۱۳۹۶/۲/۹

مقدمه

استرس اکسیداتیو به‌دلیل عدم تعادل بین تشکیل و تخریب پرواکسیدان‌ها و کاهش مکانیسم‌های حفاظتی آنتی‌اکسیدان‌های سلولی بروز می کند که ممکن است منجر به افزایش آسیب سلولی، آپوپتوز و در نتیجه کاهش حافظه گردد (۱). استرس‌های مزمن فیزیکی یا روانی باعث فعال شدن محور HPA می شود و فعال شدن این محور باعث افزایش گلوکوکورتیکوئیدها و افزایش آنها باعث آسیب اکسیداتیو بافت مغز از جمله هیپوکمپ می گردد (۲) هیپوکمپ دارای نقش کلیدی در پردازش اطلاعات فضایی است. استمرار نوروژنز در هیپوکمپ مانع از تحلیل این ناحیه تحت شرایط مختلف پاتولوژیکی و یا فیزیولوژیکی می شود و عملاً منجر به بهبود حافظه می گردد (۳). رسترینریکی از مدل‌های تجربی حیوانی است که با وارد کردن استرس‌های غیرقابل کنترل، تصور می‌شود باعث القاء رفتار افسردگی گردد (۴). در مطالعه انجام شده روی جوندگان گلوکوکورتیکوئیدها باعث تغییر تقویت سیناپسی دراز مدت در نورون های هیپوکمپ و تقویت حافظه می شوند (۵). این اثر به دلیل

www.SID.ir

Archive of SID

فعال‌سازی دو نوع از گیرنده‌های کورتیکوئیدی است که شامل گیرنده‌های مینرال کورتیکوئیدی (MRs) و گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی (GRs) است. غلظت گلوکوکورتیکوئیدها در شرایط استرس افزایش می یابد و به گیرندهای GRs متصل و باعث پاسخ سریع بدن به استرس می‌شود و نیز با ذخیره‌سازی اطلاعات (افزایش حافظه) برای پاسخ‌های آینده به استرس کمک می‌کند. گیرنده‌های مینرال کورتیکوئیدی که بیشتر در ساختار سیستم لیمبیک وجود دارند؛ در اثرات سریع فرایندهای شناختی مانند ارزیابی فرایندهای مورد نیاز در رمزگذاری محرک های جدید نقش دارند (۵). گیاهان دارویی و مشتقات آنها امروزه ۲۰ درصد تجویزهای دارویی در کشورهای صنعتی پیشرفته و ۸۰ درصد در کشورهای در حال توسعه را به خود اختصاص می دهند (۶). در طب سنتی گیاهان دارویی مختلف برای تقویت حافظه ذکر شده است. پسته‌کوهی (*Pistacia atlantica kurdica*) از گونه‌های وحشی پسته، میوه درخت بنه از خانواده آناکاردیاسه (*Anacardiaceae*) و دارای کاربردهای اقتصادی، زیست - محیطی و دارویی است. در مناطق خشک و نیمه‌خشک با میزان بارندگی کمتر از ۲۰۰ میلی‌متر می‌روید (۷).

علاوه بر هورمون‌ها و ترکیبات شیمیایی طبیعی، داروهای صناعی متعددی نیز بر بافت مغز و میزان حافظه اثرگذارند. برای مثال داروهای کولینرژیک اثرات مثبت روی حافظه دارند؛ در حالی که داروهای آنتی‌کولینرژیک و داروهای ضدافسردگی منجر به تضعیف حافظه می شوند (۸). فلووکسامین یکی از انواع داروهای ضدافسردگی است که اثرات خود را از طریق مهار ناقلین بازجذب کننده سروتونین در سلول‌های پیش سیناپسی مغز اعمال می‌نماید (۸). سروتونین از مهم‌ترین انتقال‌دهنده‌های پیام‌های عصبی است که توسط مغز تولید می‌شود و کاهش سطح سروتونین مغز منجر به بروز افسردگی می گردد. تحت شرایط اکسیداتیو، به علت آسیب سلول‌های سروتونرژیک مغز احتمال بروز افسردگی افزایش می‌یابد (۹). افسردگی و استرس یکی از مشکلات روزافزون جامعه امروز است و استفاده از داروهای ضدافسردگی می تواند حافظه را متأثر و آن را تضعیف نماید.

به‌دلیل کاربرد زیاد پسته‌کوهی در مناطق محلی و کم بودن تحقیقات انجام شده مرتبط با آن و با توجه به مطالعات انجام شده در اثبات خاصیت آنتی‌اکسیدانی و وجود اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع در پسته کوهی و بیان نقش اسیدهای چرب غیراشباع درافزایش فعالیت گیرنده‌های نیکوتینی استیل‌کولین در هیپوکمپ از طریق پروتئین کیناز C در نورون پیش‌سیناپسی و افزایش سیالیت غشاء و فعالیت گیرنده‌ها و کانال‌های عصبی منجر به تقویت حافظه و تسریع فرایند یادگیری و ترکیبات آنتی‌اکسیدان باعث حفاظت بافت مغز در برابر حملات رادیکال‌های آزاد آسیب‌پذیر می‌گردد (۱۰و۱۱). با توجه به این مطالعات و با استناد به طب سنتی پسته کوهی، برای این مطالعه انتخاب گردید. همچنین در این مطالعه بررسی اثر همزمان پسته کوهی و فلووکسامین انتخاب گردید تا مشخص شود آیا عصاره پسته کوهی می‌تواند از اثر تضعیفی این دارو بر حافظه جلوگیری کند یا خیر؟ با توجه به این که پیش از این مطالعه‌ای مبنی بر بررسی اثر پسته کوهی و فلووکسامین و اثر همزمان آنها بر حافظه فضایی انجام نگرفته است؛ لذا مطالعه حاضر به منظور تعیین اثر عصاره هیدروالکلی پسته‌کوهی و دارویی فلووکسامین بر حافظه فضایی در موش مبتلا به افسردگی ناشی از استرس بی‌حرکتی بود.

روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۳۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۰۰- ۱۵۰ گرم تهیه شده از خانه حیوانات دانشگاه ارومیه در دانشکده علوم دانشگاه ارومیه طی سال‌های ۹۵-۱۳۹۴ انجام شد.

پروتکل اخلاقی کار بر روی حیوانات رعایت شد. موش‌ها در شرایط استاندارد و با رعایت دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۴۰ درصد و با سیکل نوری ۱۲ ساعته روشنایی - تاریکی نگهداری شدند. آب و غذا به‌صورت آزاد در دسترس حیوانات قرار داشت.

برای القاء استرس بی‌حرکتی از محدود کننده‌های مخصوص (رسترینر) متناسب با اندازه حیوانات استفاده شد و حیوان در داخل آن قابلیت حرکت را تا حد ممکن از دست می‌داد. موش‌ها طی ۲۱ روز به مدت ۲ ساعت (ساعت ۹ تا ۱۱ صبح) روزانه داخل مهارکننده‌ها قرار گرفتند. پس از پایان استرس حیوانات به قفس‌های خود بازگردانده و بعد از نیم ساعت استراحت، گاواژ شدند (۱۲).

گروه‌بندی : حیوانات به صورت تصادفی به ۵ گروه ۶ تایی به شرح زیر تقسیم شدند.

گروه کنترل: تحت استرس بی حرکتی قرار نگرفتند و فقط آب مقطر از طریق گاواژ دریافت نمودند.

گروه استرس: فقط تحت استرس بی‌حرکتی قرار گرفتند و هیچ دارو یا عصاره‌ای دریافت ننمودند.

گروه پسته‌کوهی: تحت استرس بی‌حرکتی قرار گرفتند و عصاره هیدروالکلی پسته‌کوهی را با غلظت ۴۰۰mg/kg/bw دریافت کردند.

گروه فلووکسامین: تحت استرس بی‌حرکتی قرار گرفتند و داروی فلووکسامین را با غلظت ۱۲۰ mg/kg/bw دریافت کردند.

گروه پسته‌کوهی توام با فلووکسامین: تحت استرس بی‌حرکتی قرار گرفتند و عصاره هیدروالکلی پسته‌کوهی با غلظت ۴۰۰ mg/kg/bw (۱۳و۱۴) و داروی فلووکسامین با غلظت ۱۲۰ mg/kg/bw را همزمان دریافت کردند. عصاره هیدروالکلی پسته کوهی و داروی فلووکسامین روزانه در آب مقطر تازه حل گردید و با حجم ۰/۵ میلی‌لیتر به هریک از موش‌ها گاواژ شد.

www.SID.ir

Archive of SID

عصاره‌گیری: پسته‌کوهی جمع آوری شده از منطقه دالاهو استان کرمانشاه در مرکز تحقیقات - آموزشی کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان غربی شناسایی (کد هرباریمی ۹۶۸۱) شد. پس از خشک کردن در سایه، به‌وسیله آسیاب برقی پودر گردید و ۵۰۰ گرم پودر حاصله به مدت ۴۸ ساعت در ۴ لیتر حلال هیدروالکلی (با نسبت ۷۰ اتانول به ۳۰ آب) خیسانده شد. سپس از طریق قیف بوخنر صاف شد و اتانول آن با دستگاه روتاری در شرایط خلاء تبخیر گردید. مایع تغلیظ شده در پلیت‌های شیشه‌ای در داخل آون در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا کریستالیزه شود و ماده نهایی که عصاره هیدروالکلی پسته‌کوهی است؛ به‌دست آمد. از عصاره هیدروالکلی پسته‌کوهی با غلظت mg/kg/bw ۴۰۰ به دلیل داشتن خاصیت بالای آنتی اکسیدانی در این غلظت، برای گاواژ حیوانات به مدت ۲۱روز استفاده شد (۱۵).

ارزیابی حافظه با ماز شعاعی (Radial arm maize): از ماز شعاعی که از سال‌ها پیش برای سنجش حافظه فضایی در جوندگان رایج شده استفاده گردید. این دستگاه دارای ۸ بازوی کاملاً یکسان (۴۸×۱۲cm) است که به‌طور شعاعی از یک بخش دایره‌ای (به قطر ۳۲ سانتی‌متر) منشعب می شوند و باید حداقل ۶۰ سانتی متر از سطح زمین ارتفاع داشته باشد. آزمون در یک اتاق ساکت بین ساعات ۸ صبح تا ۴ بعدازظهر انجام شد. روز اول (روز آموزش) شامل آشنایی و سازگاری حیوانات با دستگاه بود. در روز آموزش غذا در بازوی مورد نظر قرار داده شد و به منظور فراهم آوردن انگیزه لازم در حیوان برای جستجو کردن غذا، مقدار غذای حیوان از ۱۲ ساعت قبل از آموزش به میزان ۸۵ درصد کاهش داده شد. وقتی حیوان غذا را پیدا کرد؛ به او اجازه داده شد که کمی غذا بخورد و سپس به قفس بازگردانده شد. در این مرحله چندین علامت قابل دید مانند عروسک، پوستر و اشیاء مختلف بر روی دیوار نصب گردید تا این علایم حیوان را برای پیدا کردن غذا کمک کند. چنانچه حیوان از قدرت یادگیری و حافظه قوی‌تری برخوردار باشد؛ به کمک علایم روی دیوارها بازوی محتوی غذا را به خاطر خواهد سپرد. بعد از یک روز استراحت، در روز سوم (مرحله آزمایش) غذا در همان بازوی معین و حیوان نیز در همان جهت که در روز آموزش قرار گرفته بود؛ قرار گرفت و ارزیابی حافظه فضایی حیوان به‌عمل آمد. بدین منظور فاصله زمانی از هنگام قرار دادن حیوان در مرکز ماز تا زمانی که حیوان با هر چهار پنجه خود وارد بازوی محتوی غذا شد؛ محاسبه گردید. پس از انجام هر آزمون، ماز شعاعی با محلول الکلی ۱۰درصد تمیز شد.

سنجش های بیوشیمیایی و هورمونی: ۲۴ ساعت بعد از آخرین روز گاواژ، حیوان با استفاده از اتر بیهوش و عمل خونگیری از قلب انجام گردید. بعد از عمل خونگیری نمونه‌های خونی به مدت ۱۰ دقیقه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند. سپس نمونه‌های سرم جدا گردید و تا زمان انجام آزمایش در فریزر تحت دمای منفی ۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری شد. هورمون کورتیکوسترون و میزان گلوکز سرم (میزان طبیعی mg/dl ۱۰۰) (۱۶) با روش الایزا در سرم‌های جدا شده اندازه‌گیری گردید. همچنین بافت مغز خارج شد و برای سنجش‌های بیوشیمیایی به فریزر تحت دمای منفی ۷۰ درجه سانتی‌گراد منتقل گردید و برای سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدی (اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدهید [MAD]) و فعالیت آنزیم کاتالاز مورد استفاده قرار گرفت. درجه پراکسیداسیون لیپیدها بر مبنای میزان تشکیل مالون‌دی‌آلدهید به کمک ضریب جذبی MDA در طول موج ۵۳۵ نانومتر محاسبه و به صورت nmol/g wet tissue بیان شد (۱۷). فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس توانایی آن در تجزیه پراکسید هیدروژن به روش Aebi تعیین گردید. تجزیه H2O2 با کاهش جذب در مدت ۳۰ ثانیه در طیف جذبی ۲۴۰ نانومتر بررسی شد و در پایان، مقادیر بر حسب U/g wet tissue بیان گردید (۱۸).

پس از بررسی نرمال بودن توزیع داده ها، نتایج به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-22 و روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه و تست تعقیبی Tukey با ضریب اطمینان (P-value<۰/۰۵) تجزیه و تحلیل شدند. داده‌ها برحسب میانگین و انحراف معیار بیان شدند و نمودارها با نرم‌افزار Excell رسم گردید.

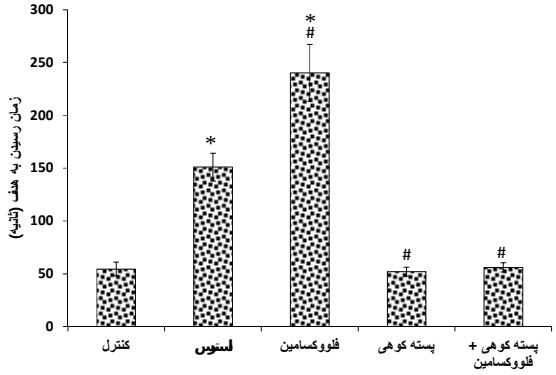
یافته‌ها

نتایج بررسی حافظه و یادگیری با استفاده از ماز شعاعی نشان داد که فاصله زمانی از هنگام قرار دادن موش در مرکز ماز تا زمان پیدا کردن غذا در گروه استرس به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت (P<۰/۰۰۱). تجویز فلووکسامین به موش‌های تحت استرس بی‌حرکتی منجر به افزایش قابل توجه و معنی‌دار زمان پیدا کردن غذا در مقایسه با حیوانات گروه‌های کنترل و استرس گردید (P<۰/۰۰۱). این در حالی است که تجویز عصاره هیدروالکلی پسته‌کوهی به تنهایی یا همراه با فلووکسامین فاصله زمانی افزایش یافته را به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه‌های استرس و فلووکسامین کاهش داد (P<۰/۰۰۱) (نمودار یک).

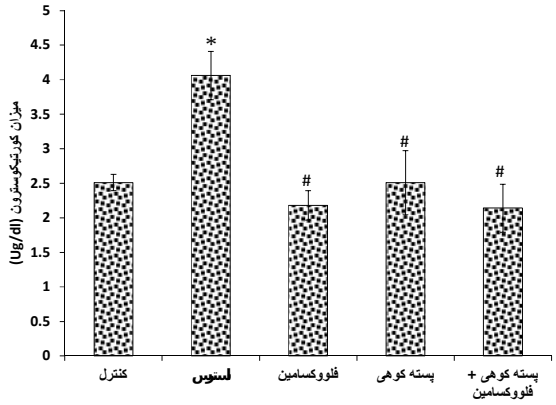
غلظت هورمون کورتیکوسترون در حیوانات تحت استرس بی‌حرکتی (گروه استرس) به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت (P<۰/۰۰۱). تیمار حیوانات با فلووکسامین به تنهایی یا با عصاره هیدروالکلی پسته‌کوهی به تنهایی غلظت کورتیکوسترون را در حیوانات تحت استرس بی‌حرکتی به حد گروه کنترل بازگرداند. همچنین تجویز همزمان فلووکسامین و عصاره هیدروالکلی پسته‌کوهی میانگین غلظت کورتیکوسترون در موش‌های تحت تیمار را در مقایسه با گروه استرس کاهش داد (P<۰/۰۰۱) و آن را به حد کورتیکوسترون موش‌های گروه کنترل رساند (نمودار ۲).

www.SID.ir

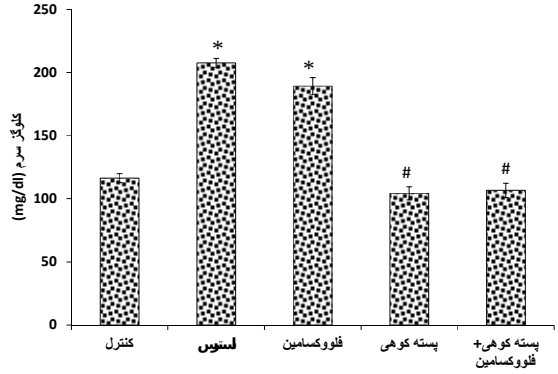
Archive of SID



نمودار ۱ : میانگین و انحراف معیار فاصله زمانی از هنگام قرار گرفتن حیوان در ماز تا زمان پیدا کردن غذا در گروه‌های تحت تیمار
** P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه کنترل*
 # P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه استرس

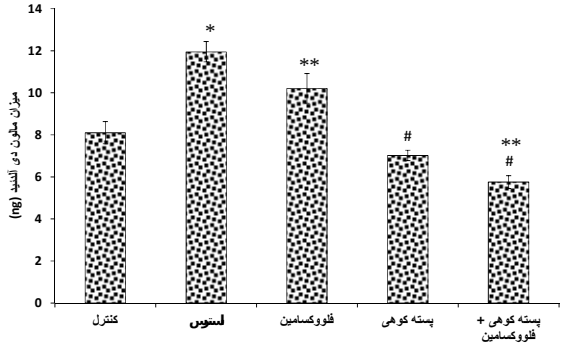


نمودار ۲ : مقایسه میانگین و انحراف معیار میزان هورمون کورتیکوسترون در گروه‌های تحت تیمار
** P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه کنترل*
 # P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه استرس

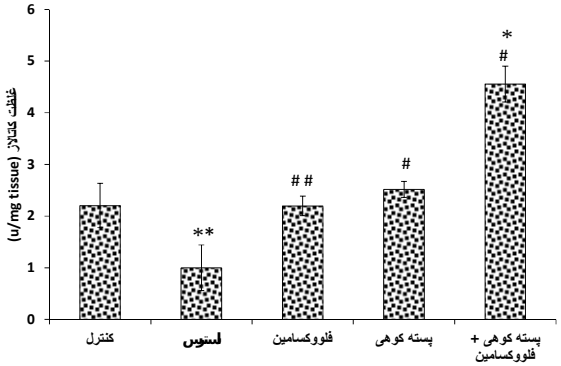


نمودار ۳ : مقایسه میانگین و انحراف معیار میزان گلوکز سرم در گروه‌های تحت تیمار
** P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه کنترل*
 # P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه استرس

اندازه‌گیری میزان گلوکز سرم نشان داد که این شاخص در حیوانات تحت استرس بی‌حرکتی (گروه استرس) در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است (P<۰/۰۰۱). تجویز فلووکسامین به تنهایی اثر معنی‌داری در کاهش میزان گلوکز سرم در مقایسه با گروه استرس نداشت. در حالی که تجویز پسته‌کوهی به تنهایی یا همراه با فلووکسامین گلوکز سرم را در حیوانات تحت استرس بی‌حرکتی به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه استرس کاهش داد (P<۰/۰۰۱) (نمودار ۳).



نمودار٤ : مقایسه میانگین و انحراف معیار میزان مالون‌دی‌آلدهید در گروه‌های تحت تیمار
** P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه کنترل، ** P<۰/۰۱ در مقایسه با گروه کنترل، # P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه استرس*



نمودار ۵ : مقایسه میانگین و انحراف معیار میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در بین گروه‌های تحت تیمار
** P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه کنترل، ** P<۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل، # P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه استرس*
P<۰/۰۱ در مقایسه با گروه استرس

سنجش میزان مالون‌دی‌آلدهید در مغز نشان‌دهنده افزایش معنی دار میزان پراکسیداسیون لیپیدی در گروه استرس در مقایسه با گروه کنترل بود (P<۰/۰۰۱). همچنین تجویز فلووکسامین به تنهایی نیز میزان پراکسیداسیون لیپیدها را در مغز موش های تحت تیمار در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی داری افزایش داد (P<۰/۰۱). این در حالی است که تجویز عصاره هیدروالکلی پسته‌کوهی میزان مالون‌دی‌آلدهید را در مقایسه با گروه استرس به‌طور معنی‌داری کاهش داد (P<۰/۰۰۱). تجویز همزمان عصاره هیدروالکلی پسته‌کوهی و فلووکسامین نیز منجر به کاهش معنی‌دار پراکسیداسیون لیپیدها در مقایسه با گروه استرس (P<۰/۰۰۱) و گروه کنترل (P<۰/۰۵)گردید (نمودار ۴).

www.SID.ir

Archive of SID

غلظت آنزیم کاتالاز در مغز موش‌های تحت استرس بی‌حرکتی (گروه استرس) به‌طور معنی داری در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت (P<۰/۰۵). تجویز فلووکسامین یا عصاره هیدروالکلی پسته کوهی به تنهایی منجر به افزایش غلظت کاتالاز در حیوانات تحت استرس گردید و سطح این آنزیم به حد گروه کنترل رسید. تجویز همزمان فلووکسامین و عصاره هیدروالکلی پسته‌کوهی میانگین غلظت کاتالاز را در مغز موش‌های تحت استرس بی‌حرکتی به‌طور معنی دار در مقایسه با سایر گروه‌ها افزایش داد (P<۰/۰۰۱) (نمودار ۵).

بحث

در مطالعه حاضر اعمال استرس بی‌حرکتی به موش‌های صحرایی نر بالغ منجر به افزایش ترشح کورتیکوسترون و گلوکز سرم گردید. از طرفی استرس باعث کاهش قدرت آنتی‌اکسیدانی و افزایش پراکسیداسیون سلول‌های مغزی و در نهایت تضعیف قدرت یادگیری و حافظه گردید. در موش‌های تحت استرس عصاره هیدروالکلی پسته کوهی باعث کاهش زمان پیدا کردن غذا ، کاهش میزان کورتیکوسترون، کاهش میزان گلوکز سرم، کاهش میزان مالون دی‌آلدهید و افزایش غلظت کاتالاز گردید. همچنین در موش‌های تحت استرس داروی فلووکسامین باعث افزایش زمان پیدا کردن غذا، کاهش میزان کورتیکوسترون شد؛ ولی اثر کاهشی بر گلوکز سرم نداشت و سبب افزایش میزان مالون دی‌آلدهید و افزایش غلظت کاتالاز گردید. تجویز همزمان پسته‌کوهی و فلووکسامین باعث کاهش زمان پیدا کردن غذا،کاهش میزان کورتیکوسترون،کاهش گلوکز سرم ،کاهش میزان مالون دی‌الدهید و افزایش غلظت کاتالاز در موش‌های تحت استرس گردید.

استرس بی حرکتی منجر به القاء افسردگی در حیوانات تحت آزمون می گردد و مکانیسم این فرایند می تواند ناشی از بهم‌ریختگی سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن و به‌دنبال آن آسیب سلول‌های منوآمینرژیک مغز باشد. در حالی که تعادل منوآمین های مغز برای جلوگیری از افسردگی ضروری است (۱۹و۲۰). استرس‌های فیزیکی یا روانی می‌توانند سطوح هورمون کورتیکوسترون را در موش‌های تحت بررسی افزایش دهند. افزایش این هورمون، افزایش گلیکوژنولیز و گلوکونئوژنز را در سلول‌ها به‌دنبال دارد و در نتیجه سطوح گلوکز سرم نیز افزایش می‌یابد (۱۹). به این ترتیب نتایج حاصل از این مطالعه مبنی بر کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی مغز و افزایش سطوح کورتیکوسترون و گلوکز سرم در موش‌های گروه استرس (تحت استرس) هم‌راستا با نتایج مطالعه Pawar و Hugar بود (۱۹). اگرچه کورتیکوئیدها در کوتاه مدت قادر به تنظیم فعالیت‌های نورونی هیپوکمپ و تقویت حافظه هستند (۴و۵)؛ اما احتمال دارد در بلندمدت به‌واسطه افزایش گلوکز سرم و تشدید شرایط پراکسیداسیونی در سلول‌های عصبی، اثرات مخرب بر بافت هیپوکمپ و در نتیجه بر قدرت یادگیری و حافظه داشته باشند. همچنان که در این بررسی مشاهده گردید اعمال استرس مزمن، علاوه بر افزایش ترشح کورتیکوسترون، توان یادگیری و حافظه را در حیوانات مورد مطالعه کاهش داد. پیش از این موسوی و همکاران اختلال در یادگیری و حافظه را در حیوانات متاثر از استرس نشان داده‌اند (۲۰) که موید یافته‌های مطالعه حاضر است. همچنین استرس باعث کاهش نوروژنز و افزایش تخریب سلول‌ها در هیپوکمپ می‌شود (۲۳-۲۱). در مطالعه کنونی همزمان با القاء استرس و افسردگی در حیوانات، داروی ضد افسردگی فلووکسامین تجویز گردید. نتایج حاصل بیانگر اثرات کاهشی این دارو بر توان یادگیری و حافظه و تاثیر نسبی این دارو بر توان آنتی‌اکسیدانی مغز بود. به نحوی که منجر به افزایش غلظت کاتالاز گردید. اما از سوی دیگر اثر معنی‌داری بر کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدها نداشت. به این ترتیب فلووکسامین (ضدافسردگی SSRI) با مهار بازجذب سروتونین مانع از تشدید افسردگی در مبتلایان می شود؛ اما به‌طور توانمند قادر به کاهش تخریب سلول‌های مغزی ناشی از القاء استرس نیست. پیش از این مطالعه‌ای مبنی بر اثر فلووکسامین بر حافظه انجام نشده است. احتمال می‌رود اثر کاهشی فلووکسامین بر حافظه ناشی از ناتوانی آن در پیشگیری از شرایط پراکسیداسیونی مغز به‌خصوص در ناحیه هیپوکمپ به عنوان مرکز حافظه باشد. تیمار حیوانات تحت استرس بی‌حرکتی با عصاره هیدروالکلی پسته‌کوهی مبین تقویت حافظه در مقایسه با گروه استرس بود. یافته‌های بیوشیمیایی نشان دادند که عصاره هیدروالکلی پسته‌کوهی ظرفیت آنتی اکسیدانی مغز را در حیوانات تحت استرس به‌طور معنی داری بهبود بخشیده است. لذا احتمال دارد پسته‌کوهی از طریق ممانعت از تخریب سلول‌های مغز و به‌خصوص هیپوکمپ از کاهش حافظه در حیوانات تحت استرس جلوگیری کند. پیش از این مطالعه‌ای مبنی بر اثر پسته کوهی بر حافظه فضایی حیوانات تحت استرس اعم از استرس فیزیکی یا روانی انجام نگرفته است و در این مطالعه برای اولین بار اثرات بهبودبخش پسته کوهی بر قدرت یادگیری و حافظه نشان داده شد. استرس اکسیداتیو با افزایش تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن (ROS) و پراکسیداسیون بیومولکول‌ها نقش مهمی در بروز بیماری‌های نورودژنراتیو مانند افسردگی و تضعیف حافظه ایفا می‌کنند. ترکیبات آنتی‌اکسیدان نقش محافظتی مهمی در برابر رادیکال‌های فعال اکسیژن دارند. همچنین این ترکیبات با افزایش تولید میانجی عصبی نیتریک اکساید و با افزایش آزادسازی دوپامین و استیل کولین در تقویت حافظه نیز نقش دارند (۲۴). ترکیبات فنولی و فلانوئیدی موجود در پسته کوهی بیان کننده فعالیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه است. فلانوئیدها نقش مستقیمی در پاک‌سازی ROS و بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بدن دارند (۲۳و۲۵و۲۶). به این ترتیب احتمالاً پسته کوهی به واسطه

www.SID.ir

Archive of SID

ترکیبات آنتی‌اکسیدانی خود از نورودژنراسیون هیپوکمپ و در نتیجه از تضعیف حافظه جلوگیری کرده است. همچنین در مطالعه حاضر اثرات تجویز همزمان عصاره هیدروالکلی پسته‌کوهی با داروی ضدافسردگی فلووکسامین بر حافظه فضایی موش‌های تحت استرس فیزیکی بررسی گردید. نتایج نشان داد علی‌رغم آنکه فلووکسامین به تنهایی منجر به تضعیف شدید حافظه شده است؛ اما مصرف همزمان آن با عصاره هیدروالکلی پسته‌کوهی از بروز چنین اثراتی جلوگیری نمود. بر اساس یافته‌های بیوشیمیایی حاضر، تجویز همزمان این دو ماده ظرفیت آنتی اکسیدانی مغز را به میزان قابل توجهی افزایش داد. به نظر می‌رسد که مصرف همزمان فلووکسامین و پسته‌کوهی اثرات سینرژیستی بر غلظت کاتالاز مغز دارند. همچنین فلووکسامین به‌تنهایی اثری بر کاهش سطوح مالون دی آلدهید نداشت؛ اما با همراهی پسته‌کوهی این شاخص به‌طور کاملاً معنی‌داری کاهش یافت. لذا بهبود حافظه فضایی در اثر تجویز همزمان فلووکسامین و پسته کوهی منطقی به نظر می رسد. همانطور که در مقدمه ذکر گردید به دلیل وجود اسیدهای چرب غیراشباع و ترکیبات آنتی‌اکسیدان موجود در پسته کوهی باعث افزایش سیالیت غشاء، فعالیت گیرنده‌ها و کانال‌های عصبی و جلوگیری از تخریب بافت مغز در برابر استرس اکسیداتیو منجر به بهبود حافظه گردید و احتمالاً به‌واسطه همین مکانیسم‌ها از اثرات تضعیفی داروی فلووکسامین بر حافظه جلوگیری نموده است (۱۰و۱۱). در خصوص تغییرات هورمون کورتیکوسترون می توان گفت اساساً تحت شرایط استرس، میزان ترشح گلوکوکورتیکوئیدها افزایش می‌یابد. بنابراین انتظار می‌رود داروهای کاهنده استرس، میزان ترشح کورتیکوسترون را در حیوانات تحت استرس بی حرکتی کاهش دهد و آن را تعدیل نماید. چنین نتیجه ای در مطالعه حاضر در گروه دریافت کننده پسته‌کوهی به‌تنهایی و یا گروه دریافت کننده فلووکسامین و پسته کوهی به‌طور همزمان مشاهده شد؛ اما در گروه تحت تیمار با داروی فلووکسامین افت گلوکز سرم مشاهده نگردید. از دیدگاه فیزیولوژیکی، طبیعی است که کاهش هورمون‌های گلوکوکورتیکوئیدی منجر به کاهش گلوکز سرم گردد. بنابراین افت غلظت گلوکز سرم در گروه تحت درمان با پسته کوهی و همزمان با فلووکسامین قابل توجیه است. احتمالاً پسته کوهی از طریق مکانیسم‌های دیگری نیز علاوه بر کاهش گلوکوکورتیکوئیدها بر میزان کاهش گلوکز سرم موثر است. پیش از این نشان داده شده تجویزعصاره پسته‌کوهی می‌تواند میزان گلوکز سرم را به میزان قابل ملاحظه‌ای کاهش دهد. احتمالاً کاهش گلوکز سرم در مصرف همزمان پسته کوهی و فلووکسامین به دلیل مکانیسم های احتمالی پسته کوهی است (۲۷). در مطالعه حاضر، داروی فلووکسامین اثر معنی‌داری بر کاهش میزان گلوکز سرم نداشت. احتمالاً فلووکسامین بر مکانیسم‌های بازجذب گلوکز اثر چندانی نداشته است که این یافته هم راستا با نتایج مطالعه حاضر است؛ اما تاکنون اثرات کاهندگی پسته کوهی بر میزان ترشح کورتیکوسترون نشان داده نشده بود.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که القاء استرس ناشی از بی‌حرکتی در موش‌های صحرایی منجر به تضعیف سیستم یادگیری و حافظه می گردد. علی‌رغم آن که فلووکسامین منجر به کاهش عوارض افسردگی در مبتلایان می گردد؛ اما عوارض جانبی مانند کاهش شدید حافظه را به دنبال دارد. استفاده از گیاهان از جمله پسته‌کوهی می تواند علاوه بر تعدیل شرایط آنتی‌اکسیدانی و هورمونی بدن، تضعیف حافظه ناشی از مصرف داروهای شیمیایی را در موش‌های صحرایی کاهش دهد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه خانم فاطمه بابائی‌فر (شماره ۳۶-۲ ع) برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته فیزیولوژی جانوری از دانشکده علوم دانشگاه ارومیه و با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه ارومیه به انجام رسید. بدین‌وسیله از همه همکاران گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه ارومیه تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Cunnane SC, Plourde M, Pifferi F, Bégin M, Féart C, Barberger-Gateau P. Fish, docosahexaenoic acid and Alzheimer's disease. Prog Lipid Res. 2009 Sep; 48(5): 239-56. doi: 10.1016/j.plipres.2009.04.001

2. Ghadrdoost B, Vafaei AA, Rashidy-Pour A, Hajisoltani R, Bandegi AR, Motamedi F, et al. Protective effects of saffron extract and its active constituent crocin against oxidative stress and spatial learning and memory deficits induced by chronic stress in rats. Eur J Pharmacol. 2011 Sep; 667(1-3): 222-9. doi: 10.1016/j.ejphar.2011.05.012

3. Zamani Z, Reisi P, Alaei H, PilehvarianA. [Effect of royal jelly on improving passive avoidance learning and spatial learning and memory in rats]. J Shahid Sadoughi Univer of Med Scien. 2012; 20(2): 211-19. [Article in Persian]

4. Poleszak E, Wla P, Kedzierska E, Nieoczym D, Wyska E, Szymura-Oleksiak J, et al. Immobility stress induces depression-like behavior in the forced swim test in mice: effect of magnesium and imipramine. Pharmacol Rep. 2006 Sep-Oct; 58(5): 746-52.

5. Van Ast VA, Cornelisses S, Marin MF, Ackermann S, Garfinkel S, Abercrombie HC. Modulatory mechanisms of cortisol effects on emotional learning and memory: Novel perspectives. Psyendocrinology. 2013 Sep; 38(9): 1874-82. doi: 10.1016/j.psyneuen.2013.06.012

6. Ameri F, Vahabi MR, Khatoon Abadi A, Andalibi L. [On the relevance of medicinal plants consumers in Iran: investigating statistics for consumers, states of consumption, informative and source area]. Teb va Tazkieh. 2013; 22(3): 37-42. [Article in Persian]

7. Ben Hamed S, Lefi E. Dynamics of growth and phytomass allocation in seedlings of Pistacia atlantica desf versus Pistacia vera L under salt stress. International Journal of Agronomy and

www.SID.ir

Archive of SID

Agricultural Research. 2015; 6(1): 16-27.

8. Yamauchi M, Miyara T, Matsushima T, Imanishi T. Desensitization of 5-HT2A receptor function by chronic administration of selective serotonin reuptake inhibitors. Brain Res. 2006 Jan; 1067(1): 164-9. doi:10.1016/j.brainres. 2005.10.075

9. Hashemi S S, Jelodar G A, Rafati A. [Investigating the effects of Fluoxetine on Cortisol and thyroid hormone levels in rats]. J Arak Univ Med Sci. 2014; 17(2): 82-89. [Article in Persian]

10. Tamadonfard Z, Sepehrara L, Johari H. [The effect of nigella sativa extract on learning and spatial memory of adult male rats]. Pars Journal of Medical Sciences. 2014; 12(1): 29-37. [Article in Persian]

11. Rashidi S, Askari N, Abbasnejad M. Anxiolytic-like effect of Pistacia atlantica fruit in intact and gonadectomized rats subjected to chronic stress. J Occu Health Epidemiol. 2014; 3(3): 152-59.

12. Mozafar A, Keshavarz M, Zareian P, Johary H, Kargarjahromi H, Hoseini S. [The effect of immobilization stress on the HPG axis (hypothalamic-pituitary-gonad) hormones and the number of spermatogonia]. J Fasa Uni Med Sci. 2013; 3(3): 280-84. [Article in Persian]

13. Bahrebar M, Mirzaei A, Mantegheyan E, Bahrebar A. [In vivo and in vitro antioxidant activity of hydro-alcoholic extract of Pistacia Atlantica]. Armaghane Danesh. 2013; 17(6): 540-51. [Article in Persian]

14. Mokhtari M, Shariatie M, Tavakoli F. [Effect of fluvoxamine on concentration of testosterone, FSH, LH and histological changes in testis in adult male rat]. Feyz. 2007; 10(4): 31-36. [Article in Persian]

15. Hosseini M, Shemshaki A, Saghebjoo M, Gharari Arefi R. [Effect of aerobic training and Pistacia atlantica extract consumption on plasma levels of lipocalin-2 and insulin resistance index in Streptozotocin-induced diabetic rats]. Horizon Med Sci. 2016; 22(1): 27-33. [Article in Persian]

16. Braslasu ED, Bradatan C, Cornila M, Savulescu I, Cojmaleata R, Braslasu MC. Normal blood glucose in white wistar rat and its changes following anesthesia. Lucari Stiintifice Medicina Veterinara. 2007; 40: 120-23.

17. Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. Methods Enzymol. 1990; 186: 407-21.

18. Aebi H. Catalase in vitro. Methods Enzymol. 1984; 105: 121-26.

19. Pawar VS, Hugar S. Adaptogenic activity of Trigonella foenumgraecum (Linn) seeds in rodents exposed to anoxia and immobilization stress. Asian Pac J Trop Biomed. 2012; 2(1): S208-S211. https://doi.org/10.1016/ S2221-1691(12)60161-0

20. Moosavi M, Naghdi N, Maghsoudi N, Zahedi Asl S. Insulin protects against stress-induced impairments in water maze performance. Behav Brain Res. 2007 Jan; 176(2): 230-36. doi: 10.1016/j.bbr.2006.10.011

21. LI SQ, SU ZH, PENG JB, ZOU ZM, YU CY. In vitro and in vivo antioxidant effects and the possible relationship between the antidepression efficacy of traditional chinese medicine formulation chaihu Shugan San. Chin J Nat Med. 2010; 8(5): 353-61. https://doi.org/10.1016/S1875-5364(10)60042-8

22. Abdel-Salam OME, Morsy SMY, Sleem AA. The effect of different antidepressant drugs of oxidative stress after lipopolysaccharide administration in mice. EXCLI Journal. 2011; 10: 290-302. http://dx.doi.org/10.17877/DE290R-5131

23. Afshari M, Farokhi F, Ebrahimi S, Larti B. [Histopathological study of the hypocampal neurons in male rats treatedwith citalopram and aqueous extract of saffron]. J Rafsanjan Univ Med Sci. 2013; 12(1): 27-34. [Article in Persian]

24. Rahimi Asl F, Farbood Y, Sarkaki AR, Hosseini SE. [Effect of gallic acid on passive avoidance memory under brain ischemia conditions in mature female rats]. Horizon of Medical Sciences. 2014; 20(1): 23-27. [Article in Persian]

25. Ghasemloo E, Rahnema M, Bigdeli M. [Brain edema and neurologic deficits in rat stroke model: the effect of hydroalcoholic extract of Salvia officinalis]. J Fasa Univ Med Sci. 2015; 5(3): 378-86. [Article in Persian]

26. Hatamnia AA, Abbaspour N, Darvishzadeh R. Antioxidant activity and phenolic profile of different parts of Bene (Pistacia atlantica subsp. kurdica) fruits. Food Chem. 2014 Feb; 145: 306-11. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.08.031

27. Hamdan II, Afifi FU. Studies on the in vitro and in vivo hypoglycemic activities of some medicinal plants used in treatment of diabetes in Jordanian traditional medicine. J Ethnopharmacol. 2004 Jul; 93(1): 117-21.

www.SID.ir

Archive of SID

Original Paper

Combination thrapy of hydroalcoholic extract of *Pistacia atlantica kurdica* and fluvoxamine on spatial memory of immobilization rat

Mohammadzadeh M (Ph.D)[1], Babaeifar F (B.Sc)*[2], Babaei F (Ph.D)[1]

[1]Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Urmia University, Urmia, Iran.
[2]M.Sc Student in Animal Physiology, Department of Biology, Faculty of Sciences, Urmia University, Urmia, Iran.

Abstract

Background and Objective: Oxidative stress causes disorder in the brain processes including memory. *Pistacia atlantica kurdica* (pistachio) contains antioxidant compounds, oleic and linoleic acid. Fluvoxamine is an antidepressant medicine which inhibits serotonin reuptake. This study was done to determine the effect of hydroalcoholic extract of pistachio and fluvoxamine on spatial memory of male rats under immobilization stress.

Methods: This experimental study was done on 30 adult male Wistar rats in 5 groups (n=6). The control group was not under immobilization stress. Animals in the stress group were just under immobilization stress. Animals in the pistachio group were under immobilization stress and were received 400 mg/kg/bw hydroalcoholic extract of pistachio. Animals in the fluvoxamine group under immobilization stress were received 120 mg/kg/bw fluvoxamine. Animals under immobilization stress, in the pistachio plus fluvoxamine group were received 400 mg/kg/bw hydroalcoholic extract of pistachio and fluvoxamine 120 mg/kg/bw. The radial arm maze test was used for evaluation of spatial memory. After the animals' decapitation, the malondialdehyde and catalase level in hippocampus and the serum level of corticosterone and blood glucose were measured.

Results: The stress significantly increased the time of reaching to target, malondialdehyde, corticoestron and blood glucose level, and reduced the catalase in stress group in comprasion with controls ($P<0.05$). In the pistachio and the pistachio+fluvoxamine treated groups, the time of reaching to target, malondialdehyde, corticoestron and blood glucose level significantly reduced and the catalase level significantly increased in comprasion with stress group ($P<0.05$) but fluvoxamine significantly increased the time of reaching to target, malondialdehyde and blood glucose, and reduced the corticoestron and catalase in compared to controls ($P<0.05$).

Conclusion: The immobilization stress led to attenuation of spatial memory and the fluvoxamine administration as an antidepressant drug caused to deterioration of memory,while the treatment with pistachio extract lead to improve the memory.

Keywords: *Pistacia atlantica kurdica*, Fluvoxamine, Immobilization stress, Spatial memory, Rat

*** Corresponding Author: Babaeifar F (B.Sc), E-mail: fatemehbabaei706@yahoo.com**

Received 13 Sep 2016 **Revised** 26 Apr 2017 **Accepted** 29 Apr 2017

Cite this article as: Mohammadzadeh M, Babaeifar F, Babaei F. [Combination thrapy of hydroalcoholic extract of *Pistacia atlantica kurdica* and fluvoxamine on spatial memory of immobilization rat]. J Gorgan Univ Med Sci. Autumn 2017; 19(3): 24-31. [Article in Persian]

www.SID.ir