

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

پروین میرزائی<sup>۱</sup>، فرح لطفی کاشانی<sup>۲</sup>، صفیه بهزادی<sup>۳</sup>، هدایت صحرایی<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> استادیار، گروه روان‌شناسی، دانشگاه پیام نور  
<sup>۲</sup> دانشیار، گروه روان‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد رودهن  
<sup>۳</sup> استادیار، گروه فیزیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد رودهن  
<sup>۴</sup> دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشگاه بقیه الله (عج)

### چکیده

**سابقه و هدف:** گیاه پاپاور 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 آنورکسی 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 ۱۵، ۳۰ 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 خون‌گیری از حیوانات انجام و میزان کورتیکوسترون اندازه‌گیری شد.

**یافته‌ها:** عصاره پاپاور رز با مقدار ذکر شده موجب کاهش معنی‌داری در آنورکسی و همچنین افزایش میزان کورتیکوسترون و نیز یادگیری در موش‌های گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل گردید ( $p < 0/05$  و  $p < 0/01$  به ترتیب). به علاوه، استرس موجب افزایش معنی‌داری در غلظت کورتیکوسترون و آنورکسی گروه کنترل مثبت (دریافت کننده استرس) گردید و میانگین حافظه و یادگیری در این گروه کاهش یافت ( $p < 0/05$ ).

**نتیجه‌گیری:** اثر افزایشی کورتیکوسترون مربوط به استرس، یک اثر مرکزی با محوریت هیپوتالاموس از طریق 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، آنورکسی، 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 بر افزایش وابستگی به مورفین (۶)، ترجیح مکان شرطی شده (۷)، حساسیت سازی رفتاری

آدرس نویسنده مسئول: استادیار گروه روان‌شناسی، دانشگاه پیام نور، صندوق پستی ۳۶۹۷-۱۹۳۹۵ تهران  
ایران

(email: dr.mirzaie@ymail.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۹۱/۳/۲۲

تاریخ پذیرش مقاله: ۹۱/۱۰/۲۴

بیماری‌های روحی و جسمی در افراد، وجود استرس در آنهاست و افرادی که دارای استرس بیشتری می‌باشند، امکان ابتلا به بیماری در آنها بیشتر است (۱۶). استرس موجب کاهش قدرت سیستم ایمنی افراد در برابر بیماری‌های خطرناک مانند انواع سرطان‌ها می‌شود (۱۷). حدود یک سوم از افراد استخدامی موسسات مختلف دچار عارضه استرس می‌شوند که این موضوع سالانه بیش از ۱۰ میلیارد دلار هزینه‌های اضافی در بر دارد. در مطالعه دیگری، تاثیر تنش درازمدت و تغییرات هورمون کورتیزول بر عملکرد مغز بررسی شده است و نتایج مشابهی به دست آمده است (۱۹). در تحقیق "تاثیر بالا بودن مزمن هورمون کورتیزول بر عملکرد مغز افراد مسن، جوان و کودک" که توسط لشی انجام گردید، وی دریافت با افزایش سطح کورتیزول در خون افراد مسن ناحیه‌ای از مغز به نام هیپوکامپ که مسئول یادگیری و حافظه است، کوچک می‌شود (۲۰). بررسی تاثیر تنش بر مغز افراد جوان توسط Ander نشان داد حتی افزایش موقتی و کوتاه مدت کورتیزول بر توانایی تفکر و حافظه کودکان تاثیر منفی می‌گذارد (۱۹). نتیجه مطالعه بر روی کودکان و نوجوانان از طبقات متفاوت اجتماعی متوسط نشان دهنده افزایش هورمون کورتیزول خون در این افراد است (۱۹). محققان امریکایی بر این باورند که افراد بزرگسال در برابر استرس حساس‌تر از جوانان هستند و استرس شدید ممکن است بر مغز افراد بزرگسال تاثیر دائم بگذارد. بر اساس مطالعات اندرسون از دانشگاه هاروارد، موش‌هایی که با تنها نگاه داشته شدن در قفس در معرض استرس و تنش‌های عصبی قرار می‌گیرند، در منطقه هیپوکامپ که منطقه‌ای مهم برای یادگیری و حافظه در مغز است با مشکل روبرو می‌شوند و یکی از پروتئین‌های مهم این منطقه از مغز آنان کاهش می‌یابد (۲۱). این پروتئین که سیناپتوفیزین نام دارد برای سنجش چگونگی ارتباط سلول‌های مغزی با دیگر مناطق به کار می‌رود و هر قدر میزان این پروتئین کمتر باشد نشان دهنده کاهش فعالیت مغزی است و این کاهش در موش‌های مسن بیشتر 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 دانشمندان روند یادگیری و نحوه بایگانی اطلاعات در مغز را کشف نموده‌اند و در این راه موش‌های بسیاری قربانی شده‌اند. شباهت ژنتیکی موش‌ها با مجموعه ژنوم انسان باعث شده بسیاری از پژوهش‌ها و آزمایش‌های پزشکی زیست‌شناسی بر روی موش‌ها صورت

(۸) و تحمل به اثرات ضد دردی مورفین (۷) در موش‌ها متمرکز بوده است. با توجه به اینکه بررسی تاثیر عصاره پاپاور رز بر روی علائم متابولیسمی استرس شدید ضروری می‌باشد، مقاله حاضر برای ارزیابی اثرات این عصاره بر علائم متابولیسمی استرس شدید، یادگیری و حافظه بر روی موش‌ها انجام شد. استرس عبارت است از مجموعه فنومن‌ها یا پدیده‌های بیولوژیکی غیراختصاصی که به وسیله عوامل زبان‌آور خارجی ایجاد می‌شوند (۹). استرس می‌تواند بر توانایی یادگیری و حافظه فرد اثرات تخریبی به جا بگذارد (۹). در هنگام ترس یا عصبانیت و استرس، نوعی ترشح سمی در بدن به وجود می‌آید که باعث گرفتگی کانال‌های انرژي و از بین رفتن اشتها، سوء هاضمه، بالا رفتن فشار خون، تپش قلب، بی‌خوابی و بروز احساسات منفی می‌گردد (۱۰). حیواناتی که در معرض استرس اجباری (بی‌وقفه) قرار می‌گیرند، علائم دیگری نظیر اختلال خواب و خوردن، زخم معده و کاهش 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 هورمون‌های استرس ممکن است مغز را کوچک کنند (۱۳). به گفته سونیا لوپین جی، درحال حاضر استرس در زندگی روزانه ما پذیرفته شده است (۱۱). زندگی با استرس زیاد می‌تواند مانند سایر بخش‌های بدن به مغز نیز آسیب برساند. مطالعات پیشین نشان دادند که میانسالان با سطوح زیاد کورتیزول در تست‌های حافظه ضعیف عمل می‌کنند و قسمت هیپوکامپ آنها، بخشی از مغز که مسئول یادگیری و حافظه است، کوچک‌تر است. محققان دانشگاه کالیفرنیا ارواین می‌گویند استرس کوتاه مدت که تنها چند ساعت طول بکشد نیز می‌تواند به سلول‌های مغزی در مناطقی که در یادگیری و حافظه نقش دارند، آسیب بزند (۱۴). دکتر تالی، مجری تحقیقات در زمینه استرس، معتقد است: استرس بخشی از زندگی است و نمی‌توان مانع آن شد. به گفته او این یافته‌ها می‌تواند نقش مهمی در تهیه داروهایی برای جلوگیری از این تاثیرات نامطلوب داشته باشد و این موضوع را توضیح می‌دهد که چرا برخی افراد فراموشکار هستند و یا برای بازیابی اطلاعات در موقعیت‌های پراسترس دچار مشکل می‌شوند. به گفته محققان، با متوقف کردن تعامل مولکول‌های CRH با مولکول‌های گیرنده آنها، آسیبی که به علت استرس، به مناطق مربوط به یادگیری و حافظه وارد شده بود از بین می‌رود (۱۵). مطابق تحقیقات توماس هلز، افرادی که دارای استرس بیشتری هستند، بیشتر بیمار می‌شوند. علت برخی از

اتاق خیسانده شد. حوضچه به آرامی چرخانده شد. بعد از تصفیه اتانول در فشار کم در دمای ۳۳ درجه سانتی‌گراد تبخیر شد و عصاره خشک منجمد شد. بازده عصاره ۱۵g پودر خشک - 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 کاملاً تعریف شده است (۲۹). به طور خلاصه می‌توان گفت که جعبه ارتباطی از ۹ کمپارتمان مجزا تشکیل شده که در فاصله ۳ و ۱ سانتی‌متری 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 میلی‌ولت 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 گروه‌های 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 قرار داده شدند و هیچگونه شوک الکتریکی صورت نگرفت. وزن حیوانات به صورت روزانه پیش از آزمایش اندازه‌گیری و ثبت می‌شد. علاوه بر آن، مقدار آب و غذای حیوانات نیز ثبت می‌شد. دوره بی‌اشتهایی عصبی (زمانی که باید سپری می‌شد تا موش‌ها غذا خوردن 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

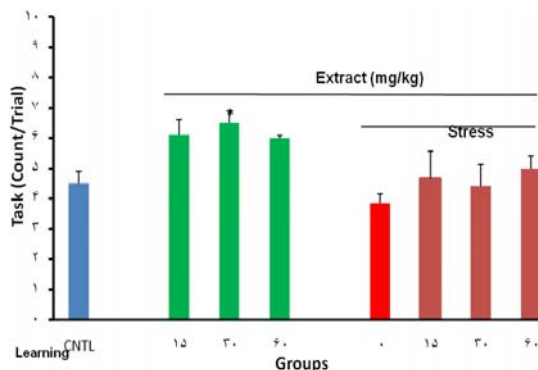
موش‌های کوچک آزمایشگاهی نژاد سویس - وبستر با میانگین وزنی ۲۰-۲۵ گرم به صورت کاملاً تصادفی به ۸ گروه که

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 ۱۰۰ میلیارد تخمین زده می‌شود که با یکدیگر در ارتباط هستند (۲۶). همچنین تحقیقات دوپچه 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 (۲۴، ۲۵). 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 (۲۴، ۲۵). Sakman و Ervin Nere اولین کسانی بودند که توانستند ۳۰ سال پیش جریانی که از این کانال‌های کوچک عبور می‌کند را اندازه‌گیری 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

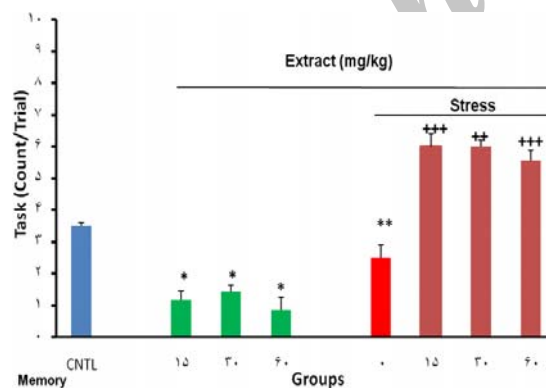
تحقیق به روش تجربی صورت گرفت. برای تهیه عصاره، به ۵۰۰ میلی‌لیتر از اتانول ۵۰٪ در آب، ۵۰ گرم پودر گیاه اضافه شد (میوه، گلبرگ، ریشه، ساقه و برگ) و ۲۰ ساعت در دمای

نسبت به گروه کنترل منفی گردید. در مورد حافظه نیز شاهد کاهش 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 و استرس در میزان یادگیری گروه‌ها. با توجه به نمودار ۱، میزان یادگیری در گروه‌های آزمایش و گروه عصاره نسبت به گروه‌های استرس و کنترل 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.  $P < 0.05^*$  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 و استرس 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.  $P < 0.05^*$  تفاوت از گروه عصاره و  $P < 0.01^{**}$  تفاوت از گروه کنترل معنی‌دار است.  $P < 0.001^{***}$  تفاوت از گروه استرس معنی‌دار است.  $P < 0.01^{**}$  اختلاف از گروه استرس معنی‌دار است.

در هر گروه ۸ سر موش قرار داشتند، تقسیم شدند. در مجموع ۶۴ سر موش به صورت نمونه گیری تصادفی ساده از یک جامعه هزار تایی 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 و عصاره را دریافت نمود، تقسیم گردیدند. با استفاده از ماز تی T شکل میزان یادگیری و حافظه مورد بررسی و اندازه گیری قرار گرفت. جهت تعیین تغییرات کورتیکوسترون 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

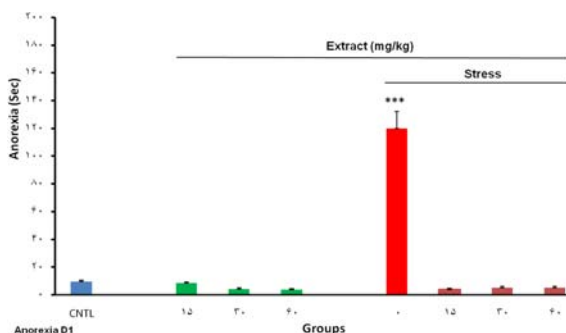
داده‌ها به صورت میانگین نمایش داده شده‌اند. از آنالیز واریانس دو طرفه MANOVA و آزمون تعقیبی توکی برای ارزیابی گروه‌های خاص استفاده گردید.  $p < 0.05$  معنی‌دار تلقی شد.

## 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 (۱۵، ۳۰، 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 گروه‌هایی که سالین و عصاره را دریافت کرده بودند، کاهش یافت. در این تحقیق با توجه به نمودار ۱، در گروه‌های آزمایش و گروه عصاره نسبت به گروه‌های استرس و کنترل میزان یادگیری افزایش یافته بود. استرس موجب کاهش یادگیری

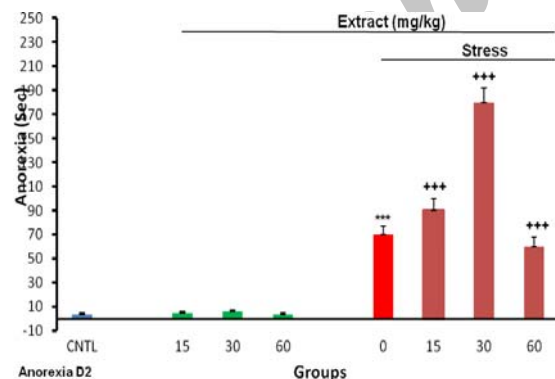
همچنان که نمودار ۴ نشان می‌دهد در روز آخر نیز شاهد تاثیر استرس در افزایش میزان کورتیکوسترون در گروه آزمایش هستیم (حدود سه برابر).

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.



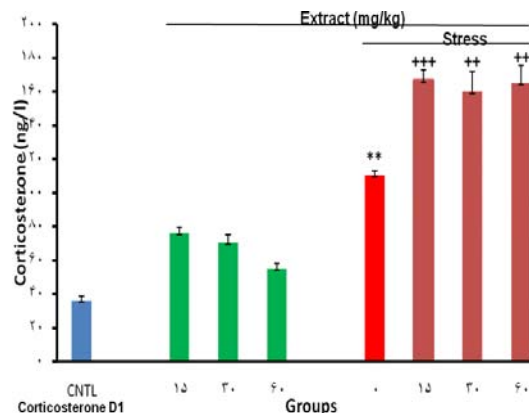
**نمودار ۵-** مقایسه میانگین گروه‌ها در ارتباط با تاثیر عصاره واسترس در میزان انورکسی در روز اول. عصاره به تنهایی میزان انورکسی را کاهش داد.  $P < 0.001$  \*\*\* تفاوت از گروه کنترل معنی‌دار است.

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 ۳۰ mg/kg بیشتر از سایر گروه‌ها بود. در گروه عصاره انورکسی کاهش یافت.



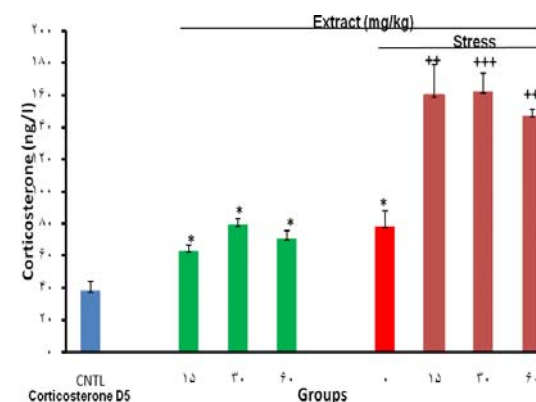
**نمودار ۶-** مقایسه میانگین گروه‌ها در ارتباط با تاثیر عصاره واسترس در میزان انورکسی در روز دوم.  $P < 0.001$  \*\*\* تفاوت از گروه کنترل معنی‌دار است.  $P < 0.001$  \*\*\* اختلاف از گروه استرس معنی‌دار است.

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

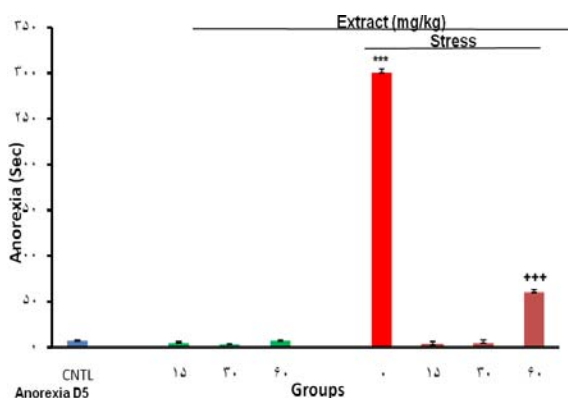


**نمودار ۳-** مقایسه میانگین گروه‌ها در ارتباط با تاثیر عصاره واسترس در میزان کورتیکوسترون در روز اول. عصاره نیز مقدار کورتیکوسترون را کمی افزایش داد. این افزایش در دوز mg/Kg ۱۵ بیشتر بود.  $P < 0.01$  \*\* تفاوت از گروه کنترل معنی‌دار است.  $P < 0.001$  \*\*\* اختلاف از گروه استرس معنی‌دار است.

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

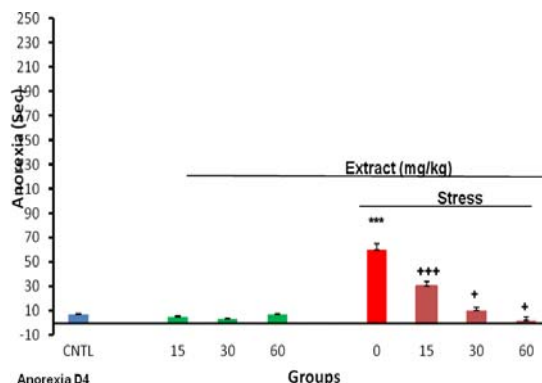


**نمودار ۴-** مقایسه میانگین گروه‌ها در ارتباط با تاثیر عصاره واسترس در میزان کورتیکوسترون در روز آخر. اثرافزایشی عصاره در حضور استرس یک اثر جمع شونده داشت. این افزایش با دوز ۳۰ mg/Kg بیشتر است. افزایش در گروه عصاره نیز نسبت به روز اول کمتر گردید.  $P < 0.05$  \* تفاوت از گروه کنترل و گروه عصاره معنی‌دار است.  $P < 0.01$  \*\* اختلاف از گروه استرس معنی‌دار است.  $P < 0.001$  \*\*\* اختلاف از گروه استرس معنی‌دار است.



**نمودار ۹.** مقایسه میانگین گروه‌ها در ارتباط با تاثیر عصاره و استرس در میزان انورکسی در روز آخر.  $P < 0.001^{***}$  تفاوت از گروه کنترل معنی دار است.  $P < 0.001^{***}$  اختلاف از گروه استرس معنی دار است.

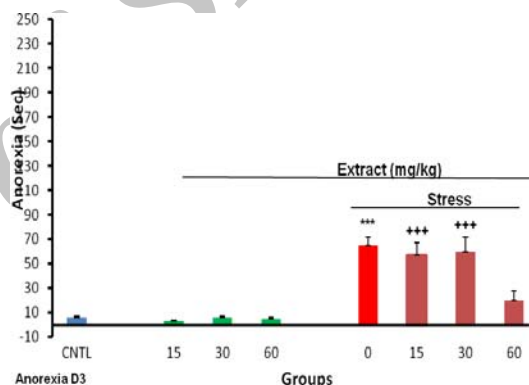
عصاره افزایش انورکسی با دوز ۳۰ mg/kg بیشتر از سایر گروه‌ها بود. در گروه عصاره کاهش انورکسی مشاهده شد.



**نمودار ۷-** مقایسه میانگین گروه‌ها در ارتباط با تاثیر عصاره و استرس در میزان انورکسی در روز سوم.  $P < 0.001^{***}$  تفاوت از گروه کنترل معنی دار است.  $P < 0.001^{***}$  اختلاف از گروه استرس معنی دار است.

### بحث

در این تحقیق، تاثیر استرس و عصاره گیاه شقایق بر حافظه و یادگیری و پاسخ‌های استرس از جمله میزان کورتیکوسترون و انورکسی بررسی شد. نتایج نشان داد که استرس موجب افزایش هورمون کورتیکوسترون می‌گردد که با نتایج قبلی همخوانی دارد (۸،۷،۲). ریچارد ریپی در تحقیقات اخیر خود در ارتباط با استرس و سلامتی بدن هورمون کورتیکوسترون در خون را کشف نمود که ارتباط تنگاتنگی با استرس بدن افراد دارد (۳۰-۳۳). در این تحقیق همچنین به این نتیجه رسیدیم که عصاره اثر تحریک کننده رهاسدن کورتیکوسترون را دارد و این اثر بیشتر محیطی بوده و در نتیجه مستقیم بر روی آدرنال می‌باشد (۷). استرس به شدت کورتیکوسترون را افزایش داد (حدوده برابر). کورتیکوسترون که از آدرنال رها شده باعث آزاد شدن مکانیزم‌های دفاعی بدن می‌شود که 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 جمع شونده است. دارد. کورتیکوسترون در روز آخر آزمایش نیز افزایش یافت. این افزایش در گروه استرس نسبت به روز اول به میزان کمتری بود که آن به دلیل تطابق با عوامل استرس‌زا می‌باشد. زمانی که استرس از فاز حاد به فاز مزمن وارد می‌شود، بعضی پارامترها اثرات خود را خوب نشان نمی‌دهند (۲). در گروه عصاره و گروه عصاره + استرس، افزایش کورتیکوسترون بیشتری را مشاهده کردیم. اثر افزایشی کورتیکوسترون در عصاره، یک اثر محیطی است که نتیجه اثر مستقیم، بر روی آدرنال است (۸). اثر افزایشی کورتیکوسترون مربوط به



**نمودار ۸-** مقایسه میانگین‌های گروه‌های عصاره و استرس در میزان انورکسی روز چهارم.  $P < 0.001^{***}$  تفاوت از گروه کنترل معنی دار است.  $P < 0.001^{***}$  اختلاف از گروه استرس معنی دار است.  $P < 0.05^{+}$  اختلاف از گروه استرس معنی دار است.

با توجه به نمودار ۸، استرس میزان انورکسی را افزایش داد. افزایش انورکسی در گروه استرس + عصاره نیز مشاهده شد. این افزایش در گروه دریافت کننده با دوز ۱۵ mg/Kg بیشتر بود. در گروه دریافت کننده عصاره با دوز ۳۰ mg/Kg کاهش انورکسی داشتیم.

در روز آخر با توجه به نمودار ۹، افزایش شدیدی در انورکسی در گروه استرس و گروه آزمایش (گروهی که عصاره و استرس دریافت نموده‌اند) دیده شد. این افزایش در دوز افزایش با دوز ۶۰ mg/kg بیشتر بود. در گروه‌های دریافت کننده عصاره نیز کاهش انورکسی نسبت به گروه کنترل دیده می‌شود. این کاهش با دوز ۳۰ mg/Kg بیشتر است.

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 جمع‌آوری 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 گلوکوکورتیکوئید 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، دچار کمبود 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 شرکت‌کننده‌هایی 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 شرکت‌کننده‌هایی 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 دریافت‌کننده استرس بودیم. در گروه آزمایش میزان حافظه در مقایسه با گروه کنترل منفی افزایش یافت. این یافته با نتایج تحقیق لثلی و همچنین تحقیقات پروفوسور هرپی هرزوغ هماهنگی دارد (۲۰، ۱۷). همچنین نتایج پژوهش ما با تحقیق کوپ همسویی دارد. مطالعه

استرس، یک اثر مرکزی با محوریت هیپوتالاموس از طریق 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 دریافت‌کننده عصاره+استرس کاملا کاهش یافت. عصاره به تنهایی نیز توانایی ایجاد انورکسی یا تغییر در آن را نداشت. در روز دوم گروه‌های دریافت‌کننده عصاره نتوانستند از انورکسی ناشی از استرس جلوگیری کنند و حتی میزان انورکسی 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 ادپتاسیون موجود نسبت به استرس در روزهای قبل می‌باشد. در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره، کاهش انورکسی نسبت به گروه کنترل دیده شد. گروه دریافت‌کننده استرس انورکسی را افزایش داد. به نظر می‌رسد که تداخل عصاره با استرس در زمینه انورکسی به تاثیر مستقیم اجزا اپیوئیدی موجود در عصاره با مراکز کنترل‌کننده 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 (۸، ۳۲). 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 کاپاهای اپیوئیدی انجام می‌گیرد (۳۲). بنابراین به نظر می‌رسد در حال حاضر نیز عصاره شقایق که حاوی الکلویدهای شبیه پپتیدهای اپیوئیدی درون‌زا می‌باشد (۸، ۱۳) نیز همین اثر را بر مراکز کنترل تغذیه در مغز نظیر هیپوتالاموس و آمیگدال داشته است (۲۸).

ما با تحقیقات انجام شده پرفسور هربی هرزوغ در ۲۰۰۸، جی پی ری در ۱۹۹۹، دویچه وله در ۲۰۰۷، برت اکمن در ۲۰۰۹، ساکمن در ۲۰۰۵، صحرایی در ۲۰۰۶، پورمتبد در ۲۰۰۴، زرگری در ۱۹۹۵ و سلیمانی در ۲۰۰۱ هماهنگ است (۱، ۲، ۴، ۶، ۱۷، ۲۶-۲۴).

### تشکر و قدردانی

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

"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 گلوکوکورتیکوئیدی (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 گلوکوکورتیکوئیدی قرار گیرد (۳۰). همین طور نتایج تحقیق

### REFERENCES

- Zargari A. Papaver rhoeas. In: Zargari A, Editor. Medical lants, 6<sup>th</sup> ed. Tehran: Tehran University Press;1995; 2: 145-52.
- Soulimani R, Younos C, Jarmoni-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.
- Slavik J, Slavikov L, Bochorakova J. Alkaloids from Papaver rhoeas. Collection of Czechoslovak Chem Comm 1989; 54: 1112-1118.
- Rey JP, Levesque J, Kposset JP, Rolot F. Analytical studies of isorhoadine and rhoeagenine in petal extracts of Papaver rhoeas L. using high-performance liquid chromatography. J Chromatography 1992; 596: 276-80.
- 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.
- 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 Ethnopharmacology 2004; 95:431-35.
- 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.
- 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.
- Morgan D, Donled F. Stress hormones: good and bad. Neurobiol Dis 2005; 7:540-42.
- Selye H. Stress-induced expression of immediate early genes in the brain and peripheral organs of the rat. Journal of Affective Disorder 1997; 29: 183-207.
- Lupien JS. A role for brain stress systems in addiction. Neuron 2008; 59: 11-34.
- Buller KM, Anderson S, Day TA. Effects of chronic oestrogen replacement on stress-induced activation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis control pathways. J Neuroendocrinol 2000; 12:784-94.
- Harison LM, Kastin AJ, Zadina JE. Opiate tolerance and dependence: receptor G- proteins and antiopiates. Peptides 1998; 19:1603-30.
- 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.
- Nestler EJ. Molecular mechanisms of drug addiction. J Neurosci 1992; 12: 2439-50.
- Toomas H. Clinical and psychosocial correlates of antenatal depression: A review. Psychotherapy and Psychosomatics 2007. P. 416-25.
- 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 neurosteroid building in brain embryo *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 Neuroendocrinol* 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 addiction. *Ann NY Acad Sci* 2000;90:170-85.
28. Koob GF. A role for brain stress systems in addiction. *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 psychiatry*. 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  $\mu$ -and  $\kappa$ -opioid agonists. *J Pharmacol Eeperi Therape* 2008; 325:313-18.

Archive of SID