اثر درمانی کروسین بر فراموشی قبلی ناشی از اسکوپولامین در موش صحرایی نر*

سیدارشاد ندایی[۱]؛ علی پورمتعبد[۲*]؛ مریم آیین‌فر[۳]؛ زهرا سیفی[۳]

چکیده

زمینه: سیستم کولینرژیک، نقش مهمی در یادگیری و حافظه دارد. تجویز زعفران و یا کروسین موجود در آن تشکیل حافظه را تسهیل می‌کند. در مطالعه حاضر، اثر کروسین در مهار فراموشی قبلی القاشده توسط اسکوپولامین (آنتاگونیست گیرنده‌های کولینرژیک) با استفاده از دستگاه شاتل باکس در موش صحرایی بررسی شد.

روش‌ها: برای سنجش یادگیری موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار (۲۵۰-۲۰۰ گرم) از مدل step-through حافظه اجتنابی مهاری استفاده شد. آموزش همه حیوانات توسط شوکی با شدت یک میلی‌آمپر در کف پا انجام گرفت. پس از آموزش موفق، تجویز دارو انجام شد و ۲۴ ساعت بعد از آموزش، تأخیر ورود به خانه سیاه (Step Through Latency= STL) اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: تزریق بعد از آموزش اسکوپولامین (1mg/kg) باعث تخریب عملکرد حافظه در روز آزمون شد. تجویز کروسین (mg/kg ۱۰ یا ۵ یا ۱) سی‌دقیقه بعد از اسکوپولامین، به‌صورت وابسته به دوز، باعث بهبود فراموشی قبلی ایجادشده توسط اسکوپولامین گردید. از طرف دیگر تزریق بعد از آموزش کروسین (mg/kg ۱۰ یا ۵ یا ۱) به‌تنهایی اثری بر حافظه اجتنابی غیرفعال نداشت.

نتیجه‌گیری: با توجه به اثر درمانی تجویز بعد از آموزش کروسین بر فراموشی قبلی ناشی از اسکوپولامین، می‌توان نتیجه گرفت که کروسین در شکل‌گیری حافظه اجتنابی غیرفعال در موش صحرایی با سیستم کولینرژیک بر هم کنش دارد.

کلیدواژه‌ها: اسکوپولامین، کروسین، فراموشی قبلی، شاتل باکس، موش صحرایی

«دریافت: ۱۳۹۰/۳/۲ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۶/۲۲»

۱. گروه علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۲. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

۳. کمیته تحقیقات دانشجویان، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

* **عهده‌دار مکاتبات:** گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، تلفن: ۰۸۳۱-۴۲۷۴۶۱۸

E-mail: apourmotabbed@kums.ac.ir

* **این مقاله منتج از پایان‌نامه دانشجویی خانم مریم آیین فر جهت اخذ درجه دکترای عمومی از دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه می‌باشد.**

مقدمه

برخی مطالعات بالینی (۳-۱) و تجربی (۴ و ۵) نشان داده‌اند که سیستم کولینرژیک، نقش مهمی در فرآیند یادگیری و حافظه بر عهده دارد. گزارش شده که تخریب سیستم کولینرژیک منجر به تغییر در توزیع گیرنده‌های کولینرژیک و کاهش سطح استیل کولین استراز و استیل کولین ترانسفراز در مغز بیماران مبتلا به آلزایمر می‌گردد (۶). همچنین ثابت شده که تجویز داروهای آنتی‌کولینرژیک مانند اسکوپولامین سبب اختلال در حافظه حیوانات می‌شود. لذا تجویز آن‌ها به حیوانات آزمایشگاهی یک مدل سودمند برای بررسی فراموشی انسانی و مشابه با بیماری آلزایمراست (۹-۷).

زعفران (Crocus sativus L.)، گیاهی است که در قسمت‌های مختلفی از جهان مانند ایران، چین، اسپانیا، ایتالیا و یونان پرورش می‌یابد. مادگی زعفران در طب سنتی چین به‌عنوان آرامبخش و قاعدگی‌آور مورد استفاده

قرار می‌گیرد. همچنین نشان داده شده که ترکیبات موجود در عصاره خام و تصفیه‌شده آن از تشکیل تومورهای سرطانی، تصلب شرایین و آسیب‌های کبدی جلوگیری می‌کند (۱۰). در آنالیزهای شیمیایی این گیاه، وجود کاروتینوئیدهای محلول در آب، مونوترپن آلدئید، گلوکوزیدهای سافرانال، پیکروکروسین، فلاونوئیدهای کروستین و کامپفرول نشان داده شده است (۱۱). کروسین و کروستین موجود در زعفران، مهم‌ترین کاروتینوییدهای آن و مسئول رنگ زعفران‌اند. کروسین در بدن متابولیزه شده، به کروستین تبدیل می‌شود. کروستین چندین ویژگی درمانی دارد از جمله این که یک آنتی‌اکسیدان قوی و عامل ضد التهاب در حیوانات آزمایشگاهی است (۱۲). گزارش‌های موجود، نتایج متناقضی را در رابطه با نقش زعفران و ترکیبات آن بر حافظه و یادگیری ارایه داده‌اند. از طرفی گزارش شده که تجویز عصاره تام زعفران موجب بهبود اثر تخریبی اسکوپولامین بر حافظه موش‌های صحرایی در ماز آبی رادیال می‌شود. در حالی که تجویز عصاره تام گیاه به‌تنهایی و بدون تجویز اسکوپولامین، تأثیری بر این نوع حافظه ندارد (۱۳). از طرف دیگر نشان داده شده که سافرانال، به‌عنوان یکی از مواد موجود در زعفران، بر حافظه تخریب‌شده ناشی از هیوسین بدون تأثیر است (۱۴). Abe و همکارانش نشان دادند که تجویز خوراکی عصاره زعفران، اثری بر رفتارهای یادگیری در موش طبیعی ندارد، اما از آسیب‌های یادگیری در موش‌هایی که اتانول دریافت کرده‌اند جلوگیری می‌کند و این اثر به واسطه کروسین موجود در زعفران انجام می‌شود (۱۵). به‌علاوه این عصاره مانع مهار ناشی از اتانول بر پاسخ‌های نورونی هیپوکامپ در موش صحرایی می‌شود (۱۶). از طرفی در مطالعه‌ای، تجویز کروسین در پیشگیری تخریب یادگیری و حافظه فضایی موش‌های صحرایی نر توسط اسکوپولامین در ماز آبی موریس مؤثر واقع شده است، به‌طوری‌که یادگیری‌های جدید پس از دریافت اسکوپولامین مختل گردید، اما تجویز کروسین پیش از آموزش توانست مانع از اثر اسکوپولامین بر ایجاد فراموشی بعدی (anterograde amnesia) گردد. تجویز کروسین به تنهایی، اثری بر فرآیند یادگیری و حافظه فضایی حیوانات سالم نداشت (۱۷).

بدین‌ترتیب با وجود گزارشات متعدد و متفاوت از اثرات مفید درمانی عصاره تام زعفران و مواد موجود در آن و نظر به توجه روزافزون به درمان‌های سنتی، این تحقیق به‌طور اختصاصی به بررسی اثرات کروسین در درمان فراموشی قبلی (retrograde amnesia) ایجاد شده توسط اسکوپولامین در مدل احترازی غیرفعال می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

مطالعه تجربی حاضر بر روی پنجاه سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم انجام شد. حیوانات در داخل قفس‌های پلکسی‌گلاس در اتاقی که شرایط نوری آن ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی بود (سیکل نوری از ساعت ۸ صبح تا ۸ شب) و در درجه حرارت کنترل‌شده محیط (۲۳±۲ °C) نگه‌داری شدند. آزمایشات در مرحله نوری سیکل ۲۴ ساعته انجام می‌شد. حیوانات به‌غیر از زمان انجام آزمایشات، آزادانه به آب و غذای کافی دسترسی داشتند. در کلیه موارد کار با حیوانات، نکات اخلاقی مورد توجه قرار گرفت. ضمناً هر موش تنها یک دوره مورد آزمایش قرار می‌گرفت و پس از انجام آزمایش، بیهوشی عمیق با کلروفرم تا مرگ حیوان اعمال می‌شد.

داروهای مورد استفاده در این آزمایش، اسکوپولامین و کروسین (سیگمای آلمان) بود. هر دو دارو در روز آزمایش، ابتدا در نرمال‌سالین حل شده و به‌صورت تازه مورد استفاده قرار می‌گرفت.

روش اندازه‌گیری حافظه در این تحقیق (step-through passive avoidance learning)، یادگیری احترازی غیرفعال و دستگاه مورد استفاده شاتل باکس (I maze) بود (۱۸).

این دستگاه از دو اتاقک مجزا با ابعاد ۳۰×۲۰cm و

ارتفاع ۲۰cm تشکیل شده که به‌وسیله یک دریچه گیوتینی که در هنگام باز بودن، حیوان می‌تواند از آن عبور کند، از هم جدا می شوند. دیواره و کف یکی از اتاقک‌ها سفید (اتاقک روشن) و دیگری سیاه (اتاقک تیره) می‌باشد. کف اتاقک تیره دارای میله‌های فلزی موازی عرضی و با فاصله یک سانتی‌متر است که می‌توان با استفاده از دستگاه استیمولاتور متصل به آن‌ها تحریک الکتریکی با ولتاژ و مدت‌زمان دلخواه به پای حیوان وارد نمود.

آزمایش در این دستگاه شامل سه مرحله بود (۱۸):

الف- مرحله سازش: در این مرحله حیوان به محیط آزمایشگاه منتقل شده و پس از آماده‌سازی (handling) در دستگاه شاتل‌باکس قرار می‌گرفت و درحالی‌که دریچه باز بود، به‌مدت سه دقیقه بین دو اتاقک تاریک و روشن دستگاه حرکت کرده و با آن آشنا می‌گردید. چنان‌چه حیوانی در طول سه دقیقه وارد محفظه تاریک نمی‌شد از آزمایشات کنار گذاشته می‌شد.

ب- مرحله آموزش: بیست و چهار ساعت بعد، حیوان در داخل اتاقک روشن دستگاه قرار گرفته و هنگامی که به‌طور غریزی وارد اتاقک تاریک می‌شد، دریچه گیوتینی بسته شده و پس از بیست ثانیه، شوک الکتریکی با فرکانس پنجاه هرتز و شدت یک میلی‌آمپر به‌مدت سه ثانیه به کف پای حیوان اعمال می‌گردید لذا حیوان به‌طور شرطی یاد می‌گرفت که وارد اتاقک تاریک نشود. پس از بیست ثانیه حیوان از دستگاه خارج می‌گردید. بعد از گذشت دو دقیقه، مجدداً حیوان در داخل دستگاه قرار گرفته و درب گیوتینی باز می‌شد. چنان‌چه در مدت ۱۲۰ ثانیه پس از باز شدن درب، حیوان وارد محفظه تاریک نمی‌شد، آموزش انجام گرفته بود. در غیر این‌صورت دوباره شوک اعمال می‌گردید. در صورتی‌که حیوانی پس از سه بار دریافت شوک، باز هم وارد محفظه تاریک می‌شد از آزمایشات حذف می‌گردید. تزریق داروها در این روز و پس از انجام مرحله آموزش انجام می‌گردید.

ج- مرحله به‌خاطرآوری: این مرحله که اطلاعات لازم برای تجزیه و تحلیل آماری از آن به‌دست آمده بیست و چهار ساعت بعد از مرحله آموزش انجام می‌شد. در این روز، در حالی که دریچه گیوتینی بسته بود، حیوان در داخل قسمت روشن دستگاه قرار می‌گرفت، بعد از بیست ثانیه دریچه باز شده و زمان تأخیر در قدم‌گذاری حیوان به محفظه تاریک به‌عنوان معیار حافظه تعیین و تحت عنوان STL (Step Through Latency) ثبت می‌گردید. زمان cut off (حد نهایی زمان) در این آزمایش ۶۰۰ ثانیه بود.

در ادامه گروه‌بندی آزمایش به‌صورت ذیل انجام شد:

حیوانات به‌صورت تصادفی ساده به چهار گروه اصلی تقسیم شدند:

A) گروه سالین-سالین (شاهد): حیوانات این گروه در روز دوم، پس از آموزش، دو بار به فاصله زمانی سی‌دقیقه تحت تجویز نرمال سالین قرار گرفتند.

B) گروه اسکوپولامین-سالین: حیوانات این گروه نیز در روز فوق‌الذکر ابتدا اسکوپولامین (۱mg/kg) و سی‌دقیقه بعد، نرمال سالین دریافت نمودند.

C) گروه سالین-کروسین: موش‌ها در این گروه، خود به سه زیرگروه تقسیم شده و سپس با توالی مطروحه در گروه‌های A و B ابتدا نرمال‌سالین و سپس کروسین (۱ یا ۵ یا ۱۰mg/kg) دریافت نمودند (۱۷).

D) گروه اسکوپولامین-کروسین: حیوانات این گروه نیز ابتدا به سه زیر گروه تقسیم و پس از آموزش، ابتدا اسکوپولامین (۱mg/kg) و سی‌دقیقه بعد کروسین (۱ یا ۵ یا ۱۰mg/kg) دریافت نمودند (۱۷).

تمامی تزریق‌ها به‌صورت درون‌صفاقی (ip) و با حجم ۱ml/kg انجام شد. حجم نمونه برحسب مطالعات مشابه (۱۷)، حداقل شش سر موش در هر زیر گروه و در مجموع پنجاه رأس تعیین گردید.

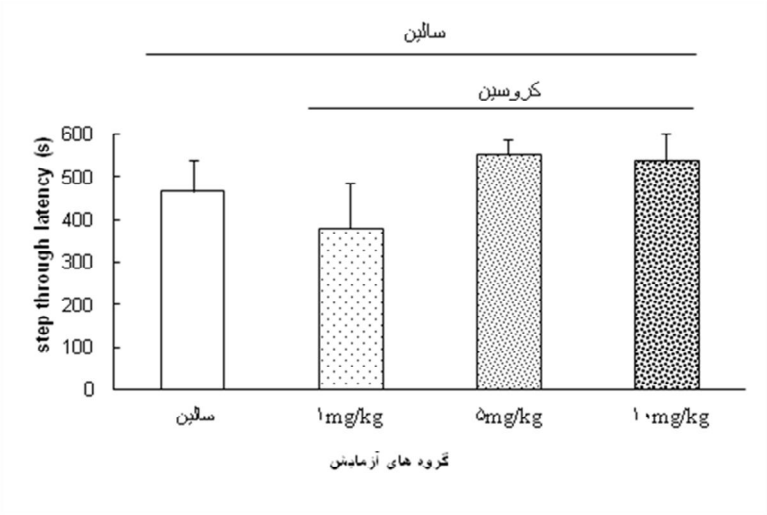
لازم به ذکر است که تجویز اسکوپولامین، سی دقیقه قبل از آموزش در مدل‌های مختلف رفتاری باعث اختلال یادگیری در حیوانات آزمایشگاهی شده است (۱۰ و

۱۳)، لذا برای بررسی اثرات کروسین در ایجاد فراموشی قبلی ناشی از اسکوپولامین، تجویز کروسین سی‌دقیقه بعد از اسکوپولامین انجام شد (۱۷).

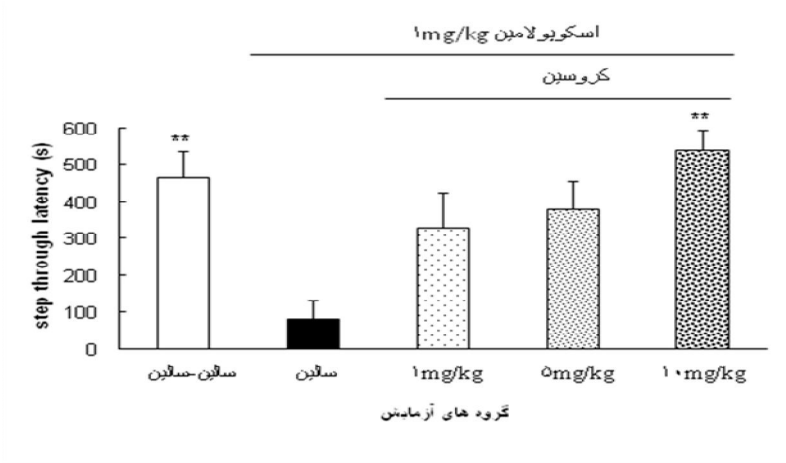
داده‌های کمی نشان‌دهنده فاصله زمانی باز شدن درب گیوتینی تا زمان ورود حیوان به اتاقک تاریک در مرحله به‌خاطرآوری می‌باشد. داده‌ها به‌صورت mean±SEM نمایش داده شده است. نتایج به‌وسیله روش آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه (One- way ANOVA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. پس از انجام آزمون ANOVA، در هر مورد که اختلاف معنادار بود، آزمون تعقیبی توکی انجام گرفت. در هر مورد P<۰/۰۵ به‌عنوان حداقل سطح معنادار بودن اختلاف بین گروه‌های آزمایش در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

همان‌طور که عنوان شد زمان تأخیر در قدم‌گذاری حیوان به محفظه تاریک در مرحله به‌خاطرآوری به‌عنوان معیار حافظه، تعیین و تحت عنوان STL (Step Through Latency) ثبت می‌گردید. تصویر ۱ اثر تجویز کروسین را بر میانگین زمان تأخیر در ورود حیوانات به محفظه تاریک در مرحله به‌خاطرآوری نشان می‌دهد. همان‌گونه که در شکل مشخص است تجویز دوزهای مختلف کروسین به‌تنهایی (۱ یا ۵ یا ۱۰mg/kg, i.p.) نتوانست تأثیر معناداری بر این شاخصه داشته باشد [P=۰/۳۳ و $F_{3,20}$=۱/۲۱]. تصویر ۲ نیز عملکرد حیوانات گروه‌های شاهد و دریافت‌کننده اسکوپولامین را با یا بدون درمان با کروسین در شاتل‌باکس نشان می‌دهد. آنالیز آماری نشان داد که به‌طورکلی بین گروه‌های آزمایش تفاوت معناداری وجود دارد [P<۰/۰۱ و $F_{4,27}$=۱/۲۱]. آنالیز post hoc نشان داد که تجویز اسکوپولامین، پاسخ احترازی غیرفعال را در حیوانات تضعیف می‌کند به‌گونه‌ای که سبب کاهش معناداری در میانگین زمان ورود حیوانات به داخل محفظه تاریک در گروه اسکوپولامین–سالین نسبت به گروه سالین–سالین در مرحله به‌خاطرآوری شده است. همچنین تجویز کروسین پس از اسکوپولامین به‌صورت وابسته به دوز، سبب بهبود عملکرد حیوانات در دستگاه شاتل‌باکس شد و با تجویز کروسین با دوز ۱۰mg/kg به حد معناداری رسید (P<۰/۰۱).



تصویر ۱– اثر تجویز دوزهای مختلف کروسین (۱ یا ۵ یا ۱۰mg/kg, i.p.) بر میانگین زمان تأخیر در ورود حیوان به داخل محفظه تاریک در مرحله به‌خاطرآوری (n=۶)



تصویر ۲- اثر تجویز دوزهای مختلف کروسین (۱ یا ۵ یا ۱۰mg/kg, i.p.) بر اختلال ناشی از اسکوپولامین در میانگین زمان تأخیر در ورود حیوان به محفظه تاریک در مرحله به‌خاطر آوری. ** P<0.01 نسبت به گروه اسکوپولامین- سالین (n=۶-۷).

بحث

در پژوهش حاضر، اثر درمانی کروسین بر فراموشی بعدی ناشی از اسکوپولامین در موش صحرایی نر توسط دستگاه شاتل‌باکس مورد بررسی قرار گرفت. همانند مطالعات گذشته (۱ و ۸)، تجویز داخل صفاقی اسکوپولامین، به‌عنوان آنتاگونیست گیرنده‌های کولینرژیک، موجب تخریب یادگیری احترازی غیرفعال در موش صحرایی شد. به‌طوری‌که اسکوپولامین موجب کاهش زمان تأخیر در ورود حیوان به اتاقک تیره در روز آزمایش گردید که نشان‌دهنده آسیب یادگیری احترازی غیرفعال در حیوان می‌باشد. از طرف دیگر تجویز دوزهای ۱، ۵ و یا ۱۰mg/kg کروسین به‌تنهایی، تغییری در زمان ورود حیوان به محفظه تاریک نسبت به گروه شاهد (سالین-سالین) نشان نداد. در این آزمایش، تجویز کروسین با دوزهای ۱ یا ۵mg/kg هرچند سبب افزایش زمان تأخیر در ورود به محفظه تاریک در موش‌هایی که اسکوپولامین دریافت کرده بودند شد، اما این افزایش زمان از لحاظ آماری معنادار نبود، اما تجویز کروسین با دوز ۱۰mg/kg به‌صورت معناداری موجب بهبود اختلال عملکرد یادگیری ناشی از تجویز اسکوپولامین گردید، به‌طوری‌که میانگین زمان تأخیر در ورود حیوان به اتاقک تاریک به‌صورت معناداری در مقایسه با گروه اسکوپولامین-سالین افزایش یافت. به‌طورکلی نتایج این مطالعه نشان داد که تجویز کروسین می‌تواند در درمان فراموشی قبلی ناشی از اسکوپولامین مؤثر باشد. از آن‌جا که تجویز دوزهای مختلف کروسین به‌تنهایی تأثیری بر عملکرد یادگیری حیوانات نداشت لذا می‌توان چنین نتیجه گرفت که کروسین با تداخل با عملکرد اسکوپولامین، اثرات خود را بر یادگیری اعمال می‌کند .

مطالعات گذشته نیز بر اثرات درمانی عصاره کامل زعفران بر درمان اختلالات یادگیری و حافظه دلالت دارند، به‌طوری‌که Pitsikas و همکاران پیشنهاد دادند که عصاره زعفران می‌تواند در ذخیره و بازیابی اطلاعات مؤثر باشد. آن‌ها نشان دادند که تجویز درون صفاقی عصاره کامل زعفران به‌صورت وابسته به دوز، موجب بهبود اثر تخریبی اسکوپولامین بر حافظه فضایی در ماز رادیال می‌شود، اما تأثیری بر یادگیری موش‌های صحرایی طبیعی ندارد (۱۳). همچنین Abe و همکارانش نشان دادند که تجویز عصاره زعفران می‌تواند اثر تخریبی اتانول بر حافظه و همچنین بر القاء تقویت طولانی‌مدت (LTP=Long-term potentiation) هیپوکامپی را مهار کند اما اثری بر رفتارهای یادگیری در موش‌های طبیعی ندارد و این اثرات توسط کروسین موجود در عصاره زعفران ایجاد می‌گردد (۱۵). به‌علاوه تحقیقات نشان داده که

کروسین، مانع مهار ناشی از اتانول بر پاسخ‌های نرونی میانجی‌شده توسط گیرنده‌های ان-متیل دی آسپارتات (NMDA) در هیپوکامپ موش صحرایی می‌شود (۱۶). در مطالعات گذشته آزمایشگاه ما نیز تأثیر کروسین در پیشگیری از تخریب یادگیری و حافظه فضایی القاءشده توسط اسکوپولامین در ماز آبی موریس بررسی شد. نتایج آن تحقیق نشان داد که تجویز اسکوپولامین باعث اختلال در فرایند یادگیری فضایی در حیوانات می‌شود، به‌طوری‌که یادگیری فضایی پس از دریافت دوز ۰/۵mg/kg اسکوپولامین مختل گردید و تجویز کروسین با دوزهای ۱ یا ۵ یا ۱۰mg/kg قبل از اسکوپولامین توانست مانع از اثر اسکوپولامین در ایجاد فراموشی بعدی (anterograde amnesia) شود. اما تجویز کروسین به‌تنهایی هیچ‌گونه اثری بر شکل‌گیری یادگیری و حافظه فضایی نداشت (۱۷). همچنین گزارش شده که عصاره زعفران و سافرانول (یکی از مواد موجود در زعفران) توانسته تخریب حافظه ناشی از هیوسین را در موش‌های صحرایی در ماز آبی موریس کاهش دهد، این تحقیق نشان داد که عصاره زعفران فقط در دوز پایین (۰/۰۰۵gr/kg) باعث تقویت حافظه در موش‌ها می‌شود درحالی‌که دوزهای بالاتر بر حافظه بی‌تأثیر بودند، از طرف دیگر سافرانول به‌تنهایی حافظه فضایی را تخریب کرد. لذا محققین پیشنهاد نمودند که احتمالاً اثرات عصاره زعفران را می‌توان تا حد زیادی به کروسین نسبت داد (۱۴). همچنین در ژاپن با بررسی بر روی موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر گزارش شده است که تجویز خوراکی عصاره کامل زعفران به خودی خود بر رفتار یادگیری موش‌ها در آزمون‌های احترازی غیرفعال بی‌تأثیر است ولی قادر است اختلالات حافظه ناشی از اتانول (مهارکننده سیناپس‌های تحریکی از طریق گیرنده‌های NMDA) را به مقدار قابل‌توجهی بهبود بخشد (۱۹).

در مورد مکانیسم عمل کروسین بر روی اختلالات یادگیری و حافظه نمی‌توان به‌طور قاطع اظهار نظر کرد اما می‌دانیم که در بیماری آلزایمر و کاهش حافظه وابسته به سن، درجه نارسایی شناختی با درجه اختلال عملکرد نورون‌های کولینرژیک قاعده مغز قدامی که به هیپوکامپ انشعاب می‌دهند مرتبط است (۲۰ و ۲۱)، همچنین عملکرد بی‌نقص سیستم کولینرژیک مرکزی برای یادگیری و حافظه فضایی در مدل ماز آبی موریس (۲۲) و یادگیری در مدل احترازی غیرفعال اهمیت دارد (۱۰)، آسیب سلولی ناشی از رادیکال‌های آزاد می‌تواند سبب استحاله سیستم اعصاب مرکزی در بیماری‌هایی مانند آلزایمر و پارکینسون شود، لذا با توجه به وجود کاروتنوئیدهای فراوان در عصاره زعفران که دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی قوی و توانایی محافظت از سیستم اعصاب مرکزی را در برابر آسیب‌های ناشی از استرس‌های اکسیداتیو دارند می‌توان نتیجه گرفت که عصاره زعفران یا مواد مؤثره آن به‌خصوص کروسین با اثرات آنتی‌اکسیدانی قادر است اختلال یادگیری و حافظه را بهبود بخشد (۱۴). از میان مکانیسم‌های مهم احتمالی دیگر باید به القاء تقویت طولانی‌مدت (LTP) هیپوکامپی که نوعی از شکل‌پذیری سیناپسی وابسته به فعالیت است اشاره نمود، که ممکن است اساس یادگیری و حافظه باشد. این مکانیسم در برخی مطالعات گذشته مورد بحث قرار گرفته است به‌طوری‌که با توجه به اثرات محافظتی عصاره زعفران و کروسین در سرکوب LTP هیپوکامپی ناشی از اتانول، می‌توان پیشنهاد نمود که فعالیت گیرنده‌های ان-متیل دی آسپارتات (NMDA) و ورود کلسیم به داخل سلول پس سیناپسی از طریق کانال‌های NMDA باعث فعالیت آنزیم‌های مربوطه شده و از مسیری دیگر بر شکل‌گیری یادگیری و حافظه مؤثر است (۱۵). با توجه به آن‌که ناحیه آمیگدال در به‌یادآوری اطلاعات گذشته نقش اساسی دارد، لذا تخریب آمیگدال سبب ناتوانی حیوان در بازیابی اطلاعات گذشته شده و منجر به ایجاد فراموشی قبلی (retrograde amnesia) می‌گردد. از طرفی اساس کاربرد دستگاه شاتل‌باکس در مدل احترازی غیرفعال بر پایه تنبیه استوار است. زیرا در این مدل، شوک الکتریکی به کف پای حیوان اعمال شده و

لذا حیوان با این تنبیه یاد می‌گیرد که وارد اتاقک سیاه نشود. از آن‌جا که آمیگدال یکی از نواحی مغزی مؤثر در این نوع یادگیری در پستانداران است (۲۳)، نتایج تحقیقات متعددی نشان می‌دهند که ایجاد تداخل در عملکرد طبیعی آمیگدال و یا سیستم‌های نروترانسمیتری مرتبط با آن، یادگیری در مدل احترازی غیرفعال را مختل می‌کند (۲۷-۲۴). بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که نقاط مختلف سیستم مرکزی اعصاب در اثرات درمانی کروسین بر بهبود نقصان عملکرد ایجاد شده توسط اسکوپولامین بر گیرنده‌های کولینرژیک مؤثرند. لذا مطالعات تکمیلی بر روی تعامل کروسین و سیستم‌های نروترانسمیتری مؤثر در فرایند حافظه و بررسی رابطه آن‌ها با سیستم کولینرژیک و همچنین بررسی‌های میکرودیالیز می‌تواند در روشن ساختن مکانیسم‌های اثرات کروسین بر حافظه مؤثر باشد.

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی نتایج حاصل از آزمایشات ما نشان می‌دهد که کروسین به‌عنوان یکی از مواد موجود در عصاره زعفران می‌تواند به‌صورت وابسته به دوز، موجب درمان فراموشی قبلی ناشی از اسکوپولامین در مدل احترازی غیرفعال گردد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مالی حوزه معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه انجام گرفته است.

References

1. Beatty WW, Butters N, Janowsky DS. Pattern of memory failure after scopolamine treatment: implications for cholinergic hypothesis of dementia. Behav Neural Biol. 1986; 45: 196–211.
2. Eagger SA, Levy R, Sahakian BJ. Tacrine in Alzheimer's disease. Lancet. 1991; 337: 989–992.
3. Jones GM, Sahakian BJ, Levy R, Warburton DM, Gray JA. Effects of acute subcutaneous nicotine on attention, information processing and short-term memory in Alzheimer's disease. Psychopharmacol (Berl). 1992; 108: 485–94.
4. Dunnett SB, Toniolo G, Fine A, Ryan CN, Björklund A, Iversen SD. Transplantation of embryonic ventral forebrain neurons to the neocortex of rats with lesions of nucleus basalis magnocellularis-II. Sensorimotor and learning impairments. Neuroscience. 1985; 16: 787–97.
5. Eidi M, Zarrindast MR, Eidi A, Oryan S, Parivar K. Effects of histamine and cholinergic systems on memory retention of passive avoidance learning in rats. Eur J Pharmacol. 2003; 465: 91–6.
6. Rogers J, Bloom FE. Neurotransmitter metabolism and function in the aging central nervous system. In: Finch GE, Schneider EL, Handbook of the biology of aging. 2nd ed. New York: Van Nosupand Reidhold. 1985; 113–47.
7. Blokland A. Acetylcholine: a neurotransmitter for learning and memory? Brain Res Rev. 1995; 21: 285-300.
8. Chen Z, Kamei C. Facilitating effect of histamine on spatial memory deficit induced by scopolamine in rats. Acta Pharmacol Sci. 2000: 21: 814-8.
9. Sitaram N, Weingartner H, Gillin JC. Human serial learning enhancement with arecholine and choline impairment with scopolamine. Science. 1978: 201: 274-6.
10. Pitsikas N, Sakellaridis N. Crocus sativus L. extracts antagonize memory impairments in different behavioral tasks in the rat. Behav Brain Res. 2006; 173: 112–5.
11. Tarantilis PA, Tsoupras G, Polissiou M. Determination of saffron (Crocus Sativus L.) compartment in crude plant extract using high performance liquid chromatography-UV/Visible photodiode-array detection-mass spectrometry. J Chromatogr. 1991; 699: 107-18.
12. Martin G, Goh E, Neff AW. Evaluation of the developmental toxicity of crocetin on Xenopus. Food Chem Toxicol. 2002; 40: 956-64.
13. Pitsikas N, Ziscopoulou S, Tarantilis PA, Kanakis CD, Polissiou MG. Sakellaridis N. Effect of The active constituent of Crocus sativus L., crocin on recognition and spatial rats' memory. Behav Brain Res. 2007; 183: 141-6.
14. Hosseinzadeh H, Ziaei T. [Evaluation of the effect of saffron and its effective articles, safranal and crocin, on intact and hyosin induced spatial learning and memory deficits in rats (Persian)]. J Med Plants. 2006; 19: 40-50.

15. Abe K, Saito H. Effects of Saffron extract and its constituent Crocin on learning behaviour and long-term potentiation. Phytoter Res. 2000; 14: 149-52.
16. Abe K, Sugiura M, Shoyama Y, Saito H. Crocin antagonizes ethanol inhibition of NMDA receptor–mediated responses in rat hippocampal neurpons. Brain Res. 1998; 787: 132-8.
17. Ghadami MR, Pourmotabbed A. [Effect of Crocin on scopolamine induced spatial learning and memory deficits in rats (Persian)]. Physiology and Pharmacology. 2009; 12: 287-95.
18. Harrod S, Flint R, Riccio D. MK801 induced retrieval, but not acquisition, deficits for passive avoidance conditioning. Pharmacol Biochem Behav. 2001; 69: 585-93.
19. Zhang Y, Shoyama Y, Sugiura M, Saito H. Effect of Crocus sativus L. on the ethanol-induced impairment of passive avoidance performances in mice. Biol Pharm Bull. 1994; 17: 217-21.
20. Meneses A. Physiological, Pathophysiological and therapeutic roles in learning multiple 5-HT systems. Rev Neurosci. 1998; 9: 275-89.
21. Gage FH, Bjirklund HA, Stenevi U, Dunnett SB, Kelly PAT. Intrahippocampal septal grafts ameliorate learning impairments in aged rats. Science Wash DC. 1984; 225: 533-6.
22. Mc Namara RK, Skelton RW. The neuropharmacological and neurochemical basis of place learning in Morris water maze. Brain Res Rev. 1993; 18: 33-49.
23. Guyton A, Hall J. Textbook of medical Physiology. 11th ed. Philadelphia, Pennsylvania: Elsevier. 2006; 737-8.
24. Zhu-Ge ZB, Fang Q, Jin CL, Chen Z. Effects of amygdala kindled seizures on memory retention of passive-avoidance test in rats. Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban. 2008; 37: 463-7.
25. Blozovski D, Duméry V. Development of amygdaloid cholinergic mediation of passive avoidance learning in the rat. II. Nicotinic mechanisms. Exp Brain Res. 1987; 67: 70-6.
26. Kertes E, László K, Berta B, Lénárd L. Effects of substance P microinjections into the globus pallidus and central nucleus of amygdala on passive avoidance learning in rats. Behav Brain Res. 2009; 198: 397-403.
27. Dumery V, Derer P, Blozovski D. Enhancement of passive avoidance learning through small doses of intra-amygdaloid physostigmine in the young rat. Its relation to the development of acetylcholinesterase. Dev Psychobiol. 1988; 21: 553-65.