

## بررسی اثر عصاره آبی زعفران برحافظه و یادگیری موش‌های صحرایی نر دیابتی ناشی از تزریق استرپتوزوتوسین (Streptozotocin)

دکتر زهرا کیاسالاری: دانشیار و متخصص فیزیولوژی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی و گروه نوروفیزیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

kiasalari@yahoo.com

\*دکتر محسن خلیلی: استاد و متخصص فیزیولوژی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی و گروه نوروفیزیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد، تهران، ایران. (\*نویسنده مسئول)

najafabady@yahoo.com

لیلا قنبریان: دانش آموخته دوره دکتری پزشکی عمومی، دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد، تهران، ایران. khali@shahed.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۰/۷/۳ تاریخ پذیرش: ۹۱/۱/۳۰

### چکیده

**زمینه و هدف:** دیابت قندی موجب بروز اختلال در روندهای مرتبط با یادگیری، حافظه و شناخت در جامعه انسانی و حیوانات آزمایشگاهی می‌گردد. با توجه به وجود شواهد متعدد مبنی بر اثرات بهبود دهنده دیابت بوسیله گیاه زعفران و اثر تقویت کننده مصرف آن بر حافظه و سلامت روان، در این مطالعه اثر تجویز داخل صفاقی و مزمن عصاره گیاه زعفران (*Crocus sativus*) بر یادگیری و حافظه در موش‌های صحرایی دیابتی بررسی شده است.

**روش کار:** در این تحقیق که یک مطالعه آزمایشگاهی می‌باشد، تعداد ۶۰ سر موش صحرایی نر به دو گروه سالم و دیابتی تقسیم شدند. موش‌های گروه سالم و دیابتی هر کدام به سه زیر گروه عدم درمان و درمان با عصاره آبی زعفران با دوزهای ۳۰ و ۶۰ mg/kg قرار گرفتند. هم‌چنین هر یک از زیر گروه‌های تحقیق با دو روش ماز Y و جعبه شاتل (Shuttle box) مورد آزمون حافظه قرار گرفتند. داده‌های آزمون Y (درصد تناوب رفتار) و جعبه شاتل (تاخیر اولیه و تاخیر حین عبور) در گروه‌های مختلف با آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و تست کمی توکی (Tokey) مورد ارزیابی قرار گرفتند.

**یافته‌ها:** تیمار موش‌های دیابتی با عصاره زعفران از افزایش تاخیر اولیه (کاهش اکتساب یادگیری) بصورت معنی‌دار جلوگیری نمود ( $p < 0/019$ ). هم‌چنین به دنبال تزریق عصاره با دوز ۶۰ mg/kg از کاهش بارز تاخیر حین عبور (یادآوری اطلاعات) در موش‌های دیابتی جلوگیری به عمل آمد ( $p < 0/045$ ). داده‌های آزمون ماز نشان داد که درصد رفتار متناوبی در گروه‌های دیابتی تحت تیمار با عصاره ۳۰ و ۶۰ mg/kg زعفران نسبت به گروه کنترل بترتیب کاهش معنی‌دار با  $p < 0/019$  و  $p < 0/008$  پیدا کرده‌اند.

**نتیجه‌گیری:** مصرف مزمن عصاره زعفران بر توانایی نگهداری اطلاعات درانبارهای حافظه و یادآوری آن‌ها درحیوانات دیابتی موثر است ولی موجب بهبود حافظه فضایی در موش‌های دیابتی نمی‌گردد.

**کلیدواژه‌ها:** زعفران، یادگیری، حافظه، دیابت قندی.

### مقدمه

مرکزی و محیطی از جمله کاهش سرعت هدایت پیام‌های عصبی، اختلال در روند بازسازی (Regeneration) در اعصاب محیطی بدن، و تغییر شکل در فیبرهای عصبی، همراه می‌باشد (۳). از طرف دیگر مشخص شده است که بروز حالت دیابت یکی از ریسک فاکتورهای مهم در ایجاد حالت دمانس (Dementia) پیری می‌باشد، که خود از علایم ظاهر شده در بیماری آلزایمر محسوب می‌گردد (۴). هر چند تا کنون تحقیقات زیادی در مورد ارتباط فیما بین دیابت قندی و نوروپاتی محیطی به انجام رسیده است، ولی در مورد اثرات دیابت بر سیستم اعصاب مرکزی به ویژه مغز از نظر ساختمانی و عملکردی (تغییرات رفتاری شامل

دیابت قندی از نظر بالینی یکی از شایع‌ترین بیماری‌های غدد درون ریز است که براساس پیش‌بینی به عمل آمده شیوع آن در جامعه انسانی در آینده افزایش خواهد یافت (۱). عوارض مزمن این بیماری شامل عوارض میکروواسکولر (Microvascular) مانند رتینوپاتی (Retinopathy)، نوروپاتی (Neuropathy) و نفرروپاتی (Nephropathy) و ماکروواسکولر (Macrovascular) مانند بیماری شرایین کرونر، بیماری عروق محیطی و بیماری عروق مغز، می‌باشد (۲). یافته‌های تحقیقاتی اخیر نشان داده است، ظهور حالت دیابت قندی با تغییرات ساختمانی و عملکردی در سیستم اعصاب

مورد نظر)، در ابتدا با اندازه‌گیری قند خون همه موش‌ها، حیواناتی که قند خون زیر  $200 \text{ mg/dl}$  داشتند، بعنوان موش‌های غیر دیابتی انتخاب می‌شدند. با تزریق استرپتوزوتوسین با دوز  $\text{mg/kg}$  ۶۰ بصورت داخل صفاقی، موش‌های سالم طی ۲ هفته کاملاً دیابتی شدند. برای تایید این مسئله دوباره قند خون موش‌ها اندازه‌گیری و قند خون بالاتر از  $250 \text{ mg/dl}$  شاخص دیابتی بودن موش‌ها بوده است.

**روش عصاره‌گیری:** برای تهیه عصاره آبی زعفران، ۱۰ گرم پودر کلالة زعفران را با  $500 \text{ cc}$  آب مقطر درون ظرف شیشه‌ای ریخته و روی حرارت گذاشتیم. پس از ۲۰ دقیقه جوشیدن، و پس از سرد شدن از صافی کاغذی عبور دادیم و به مدت ۲۴ ساعت در دستگاه بن‌ماری قرار داده تا پودر خشک شده عصاره آبی بر حسب وزن پودر کلالة به وزن خشک اولیه به دست آید. از پودر حاصله دوزهای ۳۰ و  $60 \text{ mg/kg}$  با حجم  $0.5 \text{ cc}$  تهیه و روزانه در طول مدت درمان (۲ هفته) به صورت داخل صفاقی به حیوانات تزریق می‌شد.

موش‌های گروه سالم و دیابتی هر کدام به دو زیر گروه درمان و عدم درمان با عصاره گیاه قرار گرفتند. همچنین هر یک از زیر گروه‌های تحقیق با دو روش ماز و شاتل مورد آزمون حافظه قرار گرفتند. به این ترتیب در کل گروه‌های تحقیقاتی زیر بررسی شدند: کنترل آزمون، شاهد (درمان با عصاره زعفران  $30 \text{ mg/kg}$ )، شاهد (درمان با عصاره زعفران  $60 \text{ mg/kg}$ )، دیابتی، آزمون دیابتی (درمان با عصاره زعفران  $30 \text{ mg/kg}$ )، آزمون دیابتی (درمان با عصاره زعفران  $60 \text{ mg/kg}$ ).

**آزمون‌های یادگیری:** در این تحقیق از ماز Y شکل و آموزش احترازی غیر فعال استفاده شد.

**ماز به شکل Y:** دستگاه آزمایش ماز Y شکل از سه بازو از جنس پلکسی گلاس سیاه (Plexiglas) تشکیل شده است. هر بازو ماز Y شکل  $40 \text{ cm}$  طول،  $30 \text{ cm}$  ارتفاع و  $15 \text{ cm}$  پهنا داشته و به صورت زاویه دار به شکل متساوی الاضلاع نسبت به

یادگیری و حافظه) اطلاعات بسیار کمی یافت می‌شود (۵). در این خصوص هر چند یک ارتباط تنگاتنگ بین بروز دیابت قندی و ظهور نقایص در یادگیری و حافظه در موجودات آزمایشگاهی یافت می‌شود، اما مکانیسم‌های مسئول بروز این اختلالات به خوبی مشخص نشده است. مکانیسم‌های پیشنهادی در این موضوع عبارتند از: ۱- استرس اکسیداتیو ناشی از تشدید تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن ۲- کاهش بارز تراکم نورونی در ناحیه شکنج دنداندار (Dentate) که نقش مهمی در روندهای حافظه و یادگیری فضایی ایفا می‌نماید ۳- کاهش بیان آنزیم نیتریک اکسید سنتاز (Nitric Oxide Synthase) نورونی که نقش مهمی در پلاستیسیته سیناپسی و روندهای یادگیری و حافظه ایفا می‌کند (۴, ۷).

با توجه به افزایش دانش بشری در مورد هتروژنیته (Heterogenesis) این بیماری، نیاز برای یافتن ترکیبات موثر با عوارض جانبی کمتر جهت جلوگیری و درمان مشکلات ناشی از دیابت، شدیداً احساس می‌گردد. گیاهان دارویی و مشتقات آنها اگر چه از دیر باز در درمان دیابت قندی و عوارض ناشی از آن مطرح بوده‌اند، ولی در مورد اثر بخشی قطعی بسیاری از آنان تا کنون شواهد تحقیقاتی و معتبر یافت نشده است (۸). تحقیقات اخیر نشان داده‌اند که عصاره زعفران اثرات تخریبی ناشی از اتانول را بر حافظه و یادگیری موش‌ها بهبود می‌بخشد (۹). بعلاوه مشخص شده که عصاره زعفران و اجزای فعال آن، کروسین و کروسستین، می‌توانند در درمان اختلالات نورودژنراتیو (Neurodegenerative) و اختلالات حافظه موثر باشند (۱۰). بر مبنای گزارشات، هدف اصلی این مطالعه تحقیقاتی بررسی اثر مهار کننده عصاره آبی زعفران بر تخریب حافظه و یادگیری موش‌های صحرایی نر دیابتی شده با استرپتوزوتوسین می‌باشد.

## روش کار

**حیوانات:** در این مطالعه که از نوع تجربی بوده است، از ۶۰ راس موش صحرایی نر نژاد ویستار، در محدوده وزنی  $240-300 \text{ g}$  استفاده شد. جهت دیابتی کردن موش‌های صحرایی (همه ۶۰ سر موش

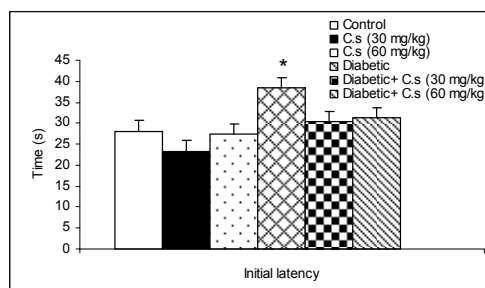
حرکت کند (اگرچه برای پیدا کردن غذا، در بازوها غذایی قرار داده نمی شد). ورود موش به هریک از بازوها به صورت دستی ثبت می گردید (به طور مثال: ACBABCACBCACAC). در این مثال رفتار متناوب حیوان که بعنوان معیاری برای اندازه گیری حافظه فضایی تلقی می گردد، بصورت ورود به ۱۵ بازو (پنج تریاد (triad) سه تایی) بوده که از این تعداد ۶ بازو (دو تریاد سه تایی (ACB و BCA) غیر تکراری می باشد. برای محاسبه درصد تناوب (میزان هوش) هر حیوان از فرمول ذیل استفاده می شود (۱۱):

$$100 \times (2 - \text{تعداد کل بازوی رفته}) / \text{تعداد بازوهای غیر تکراری} = \text{درصد تناوبی}$$

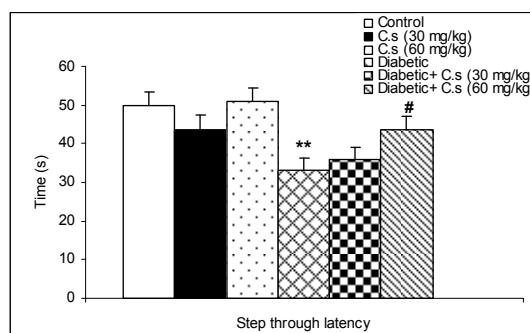
برای مثال ذکر شده در بالا درصد هوش به این ترتیب  $46/15\%$  محاسبه می گردد:

$$\text{درصد تناوبی} = 100 \times (2 - 15) / 46 = 46/15\%$$

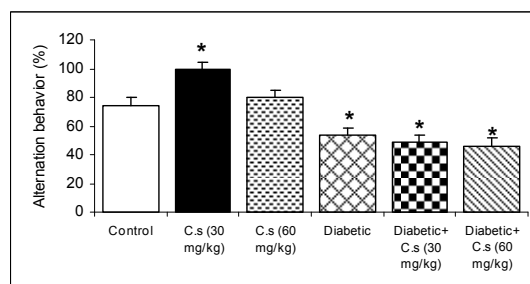
**آزمون احترازی غیر فعال:** برای انجام این آزمون از جعبه شاتل (Shuttle box) استفاده شد. این دستگاه (BPT Co.9 Tehran) شامل یک اتاق دارای چراغ که به یک اتاق تاریک بوسیله یک درب گیوتینی متصل شده است، می باشد. شوک های الکتریکی بوسیله یک محرک مجزا به میله های کف شاتل می رسند. این آزمون برای هر موش در طی چهار روز انجام می پذیرفت. در اولین و دومین روزهای آزمون، هر موش در دستگاه قرار داده شد و برای عادت کردن به دستگاه ۵ دقیقه رها شدند. در روز سوم یک آزمون اکتساب انجام شد. موش ها به صورت انفرادی در اتاق روشن گذاشته شدند. بعد از یک دوره تطابق (۲ دقیقه) درب گیوتینی باز شد و بعد از ورود موش به اتاق تاریک، درب بسته شد و یک شوک الکتریکی در حد دست و پا زدن به حیوان رسید (۱ میلی آمپر، ۱ ثانیه، ۱ بار). در این آزمون، تأخیر ابتدایی (Initial IL = Latency) ورود به اتاق تاریک ثبت شده و موش هایی با ILs بزرگتر از ۶۰ ثانیه از مطالعه خارج شدند. ۲۴ ساعت بعد، هر موش برای ادامه آزمون در اتاق روشن قرار داده شد، فاصله زمانی بین قرار گرفتن در اتاق روشن و ورود به اتاق تاریک اندازه گیری شد و به عنوان زمان تأخیر در حین عبور (STL = Step Through Latency) (حداکثر



نمودار ۱: اثر عصاره آبی زعفران (۳۰ و ۶۰ mg/kg) بر میزان تأخیر اولیه.  $p < 0/05$  و اختلاف با گروه کنترل می باشد. ستون ها نشان دهنده میانگین  $\pm$  انحراف معیار (Mean  $\pm$  SEM) می باشد. Initial latency (تأخیر اولیه)، و تعداد نمونه در هر گروه ۸ سر حیوان می باشد.



نمودار ۲: اثر عصاره آبی زعفران (۳۰ و ۶۰ mg/kg) بر میزان تأخیر حین عبور.  $###$  و  $##$  بترتیب اختلاف  $p$  کمتر از ۰/۰۱ و ۰/۰۵ با گروه کنترل و دیابتی می باشد. ستون ها نشان دهنده میانگین  $\pm$  انحراف معیار (Mean  $\pm$  SEM) می باشد. Step-through latency (تأخیر حین عبور) و تعداد نمونه در هر گروه ۸ سر حیوان می باشد.



نمودار ۳: درصد رفتار تناوبی در آزمون ماز Y در ۳ هفته پس از درمان با عصاره در مقایسه با گروه کنترل و گروه های دیابتی.  $p < 0/05$  و نشان دهنده اختلاف با گروه کنترل می باشد. ستون ها نشان دهنده میانگین  $\pm$  انحراف معیار (Mean  $\pm$  SEM) می باشد. تعداد نمونه در هر گروه ۸ سر حیوان می باشد.

همدیگر قرار می گیرند (که با حروف A, B, C نشانه گذاری می شود). برای آزمون درصد هوش، هر موش که از شب قبل گرسنه مانده است، در انتهای یکی از بازوها قرار گرفته و اجازه داده می شد تا به مدت ۸ دقیقه آزادانه در طول سه بازوی ماز آزادانه

جدول ۱- نتایج آزمون‌ها پس از اتمام تیمار با عصاره زعفران در گروه‌های مورد تحقیق

نوع آزمون	گروه کنترل	سالم تحت تیمار با عصاره زعفران ۳۰ mg/kg	سالم تحت تیمار با عصاره زعفران ۶۰ mg/kg	دیابتی	دیابتی تحت تیمار با عصاره زعفران ۳۰ mg/kg	دیابتی تحت تیمار با عصاره زعفران ۶۰ mg/kg
IL(S)	۲/۲۷۶۵/۹ ±	۲۳/۱ ± ۲/۲۷۵/۷۵	۲/۴۷ ۲۷/۴۸ ±	۲/۳۸۳/۵۵ ± ۲/۳	۲/۳۰۲۵/۴۵ ±	۲/۳۱۴۸/۲۳ ±
STL(S)	۳/۴۹۶۵/۸ ±	۳/۴۳۷۵/۷ ±	۳/۵۰۴۸/۸۹ ±	۳/۳۳۲/۱ ± ۳/۲	۳/۳۵۲۵/۹۸ ±	± ۳/۴۸ ۳/۴۳۴۸/۵
آزمون ماز	۶/۷۳۳۸/۹ ±	۴/۹۹۸۹/۹۸ ± ۴/۸۹	۵/۳۹ ۷۹/۶۳ ±	± ۴/۸۱	± ۵/۲۱	± ۶/۲۵ ۶/۴۵۲۵/۶۲

۶۰ ثانیه) بیان شد.

اثر مصرف تزریقی عصاره آبی زعفران بر حافظه فضایی در آزمون ماز Y: همانگونه که در نمودار ۳ و جدول ۱ ملاحظه می‌شود، میانگین درصد رفتار تناوبی (هوش) در گروه سالم تحت تیمار با عصاره زعفران ۳۰ mg/kg نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌دار پیدا کرده است ( $p < 0/019$ ). در گروه دیابتی بدون درمان کاهش بارز در میزان درصد تناوبی پیدا شد، به طوری که تیمار با دوزهای مختلف عصاره هم نتوانست از کاهش آن جلوگیری کند.

### بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این بررسی نشان داد تیمار موش‌های سالم با عصاره آبی زعفران با دوزهای ۳۰ و ۶۰ mg/kg به مدت سه هفته موجب تغییر معنی‌دار در میزان تاخیر اولیه (اکتساب یادگیری) نگردید. همچنین درمان موش‌های دیابتی با عصاره‌های گیاه نتوانست از افزایش تاخیر اولیه (کاهش اکتساب یادگیری) جلوگیری کند. از طرفی درمان موش‌های دیابتی با دوز ۶۰ mg/kg عصاره به طور معنی‌داری از کاهش تاخیر حین عبور جلوگیری نمود یا به عبارتی سبب تقویت بیان (Recall) اطلاعات گردید. داده‌های آزمون ماز که بیان‌کننده حافظه فضایی در موش می‌باشند، نشان داد که دوز ۳۰ mg/kg عصاره در موش‌های سالم توانایی افزایش این نوع حافظه را دارد، اما در موش‌های دیابتی این توانایی ایجاد نشد. بر اساس یافته‌های قبلی، بروز حالت دیابت قندی در موجودات آزمایشگاهی (نظیر موش صحرائی) و جامعه انسانی با اختلالاتی در روندهای شناختی و حافظه و یادگیری، تحلیل مغز و افزایش احتمال ابتلا

آنالیز آماری: تمام نتایج به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شده است. برای مقایسه بین گروه‌ها داده‌ها توسط نرم افزار سیگما استات و با آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و تست تکمیلی توکی مورد مقایسه قرار گرفتند. در تمام بررسی‌ها،  $p < 0/05$  به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

اثر مصرف تزریقی عصاره آبی زعفران بر میزان تأخیر اولیه (IL): همان طور که در نمودار و جدول شماره ۱ نشان داده شده است، در موش‌های دیابتی میزان تأخیر اولیه (IL)  $2/30 \pm 38/55$  ثانیه بدست آمد که نسبت به گروه کنترل ( $2/65 \pm 27/9$ ) افزایش معنی‌دار نشان می‌دهد. هم‌چنین میزان تأخیر اولیه در گروه‌های دیابتی تحت درمان با عصاره کاهش بارز داشته، اما از لحاظ آماری معنی‌دار نمی‌باشد.

اثر مصرف تزریقی عصاره آبی زعفران بر میزان تأخیر حین عبور (STL): همان طور که در نمودار و جدول ۱ نشان داده شده است، میزان تاخیر حین عبور (STL) در گروه‌های دیابتی ( $3/2 \pm 33/1$ ) نسبت به گروه کنترل ( $3/65 \pm 49/8$ ) کاهش معنی‌دار پیدا کرده است. درمان موش‌های دیابتی با دوز ۶۰ mg/kg عصاره از کاهش معنی‌دار STL در موش‌های دیابتی جلوگیری کرده و آن را به عدد  $3/48 \pm 43/5$  رسانده است ( $p < 0/045$ ).

شده، تقویت حافظه بیماران آلزایمری بدنبال مصرف داروهای (Anti-NSAID Inflammatory Drug) و تخریب حافظه بدنبال بروز پروسه‌های التهابی، نقش التهاب در تخریب حافظه را تایید می‌کند (۱۹). با توجه به اینکه فرایند التهاب با تولید متابولیت‌های التهابی (بخصوص تولید بتا آمیلوئیدها) به دنبال بیماری دیابت در سطح خون افزایش می‌یابد (۲۰)، از طرفی چون رادیکال‌های آزاد بعنوان واسطه مسمومیت عصبی ناشی از پروتیین بتا آمیلوئید در ایجاد بیماری آلزایمر شناخته شده‌اند، به طوری که طبق گزارشات موجود بتا آمیلوئید تولید رادیکال آزاد و اکسیداسیون لیپیدها را در سلولهای عصبی افزایش داده، منجر به مرگ سلولی می‌شود، بنابراین درمان با عصاره زعفران بعنوان یک مانع ایجاد واکنش‌های اکسیداسیون ناشی از بتا آمیلوئید، می‌تواند در بهبود حافظه موثر باشد (۲۰ و ۲۱).

نهایتاً تحقیق حاضر نشان داد که درمان با عصاره زعفران توانسته است به طور معنی‌داری مانع آسیب‌های حافظه ایجاد شده از تزریق داخل بطن مغزی استرپتوزوتوسین شود. این نتیجه نشان دهنده توانایی احتمالی عصاره زعفران در جلوگیری از فراموشی پیری و اختلالات تخریب عصبی وابسته به سن و اختلالات شناختی می‌باشد. به هر حال برای دیگر اثرات رفتاری عصاره زعفران و مکانیسم‌های احتمالی آن، بررسی‌های پاراکلینیک و استفاده از مدل‌های واقعی اختلالات حافظه (مثلاً موش‌های صحرایی پیر) مورد نیاز است. در نتیجه این پژوهش، درصد رفتار تناوب در گروه‌های سالم تحت تیمار با عصاره زعفران (۳۰ mg/kg) نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌دار می‌یابد ولی در گروه‌های دیابتی تحت تیمار با عصاره زعفران کاهش میزان درصد تناوبی به دنبال ایجاد دیابت جبران نمی‌گردد، بنابراین عصاره زعفران در گروه‌های دیابتی تاثیری در بهبودی تخریب حافظه فضایی توسط استرپتوزوتوسین را ندارد، اما در گروه‌های سالم حافظه فضایی نسبت به گروه کنترل بهتر شده است. این نتیجه با نتایج ارائه شده توسط پتسیکاس هم راستا می‌باشد (۲۲). احتمالاً مهمترین علت این مسئله ترکیب کروسین (ماده موثره) موجود در گیاه

به دمانس همراه می‌باشد. هر چند که مکانیسم بروز این اختلالات در جامعه دیابتی به خوبی شناخته نشده است، ولی مشخص شده است که دو ناحیه قشر مغز و هیپوکامپ که از نواحی اصلی مرتبط با این روندها محسوب می‌شوند، به میزان زیاد بدنبال دیابتی شدن تحت تأثیر قرار می‌گیرند. در این ارتباط بروز دیابت قندی موجب تشدید استرس اکسیداتیو (Oxidative Stress) و پراکسیداسیون لیپیدی (Lipid Peroxidation) در برخی نواحی مغزی شامل هیپوکامپ می‌گردد (۱۲). از طرف دیگر، حالت دیابت قندی موجب کاهش سطح فاکتورهای رشد شبه انسولین (IGF= Insulin-Like Growth Factor) و فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF=Brain Derivative Neurotrophic Factor) در برخی نواحی مغز می‌گردد و با توجه به ضرورت وجود چنین فاکتورهایی برای کسب اطلاعات، ذخیره، و بیادآوری اطلاعات (با اثر گذاری بر عملکرد سیناپس و انتقال سیناپسی)، لذا اختلالات شناختی و نظایر آن در این بیماری ظاهر می‌گردد (۱۳). بعلاوه، اختلال در سیستم کولینرژیک (Cholinergic) که مسئول فرآیندهای مهمی نظیر حافظه و تثبیت اطلاعات می‌باشد، بدنبال دیابتی شدن موجودات آزمایشگاهی گزارش شده است. این اختلال در اصل بعلت بالا بودن سطح گلوکز خون در بیماری دیابت بوجود می‌آید که البته خود با تغییراتی در سطح تحرک و پویایی حیوان دیابتی همراه می‌باشد (۱۴).

یکی از مهمترین دلایل توجیهی در بهبود شناخت و حافظه، اثرات محافظت‌کنندگی عصبی، آنتی‌اکسیدانیو پاک‌کننده رادیکال آزاد توسط این گیاه می‌باشد (۱۵-۱۷). همچنین بالا رفتن سطح فعالیت سیستم کولینرژیک مغز، به عنوان یکی از مهم‌ترین سیستم‌های درگیر در حافظه که مسئول ذخیره و بازیابی موضوعات در حافظه می‌باشد، می‌تواند در بهبود علائم نقص در حافظه موثر باشد. گزارشات مبنی بر اثرات آنتاگونیزه‌کننده (Antagonize) زعفران بر کاهش اثرات نقص حافظه ناشی از اسکوپالامین است که به صورت مستقیم یا غیرمستقیم فرضیه فعالیت کولینرژیک عصاره زعفران را تقویت می‌کند (۱۸). با توجه به بررسی‌های انجام

plasticity. *Neuroreport*, 2002;13:1801-1804.

8. Scartezzini P, Speroni E. Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity. *J Ethnopharmacol*. 2000; 71:23-43.

9. Zhang Y, Shoyama Y, Sugiura M, Saito H. Effects of *Crocus sativus* L. on the ethanol-induced impairment of passive avoidance performances in mice. *Biol Pharm Bull*. 1994; 17: 217-21.

10. Abe K, Saito H. Effects of saffron extract and its constituent crocin on learning behaviour and long-term potentiation. *Phytother. Res*. 2000; 14: 149-152.

11. Roghani M., Joghataie M.T., Jalali M.R., Baluchnejadmojarad T. Time Course of Changes in Passive Avoidance and Y-maze Performance in Male Diabetic Rats. *Iran.Biomed. J.* (2006); 2: 99-104.

12. Mansouri E, Panahi M, Ghaffari MA, Ghorbani A. Effects of grape seed proanthocyanidin extract on oxidative stress induced by diabetes in rat kidney. *Iran Biomed J*. 2011; 15(3): 100-6.

13. Nitta A, Murai R, Suzuki N, Ito H, Nomoto H, Katoh G, Furukawa Y. Diabetic neuropathies in brain are induced by deficiency of BDNF. *Neurotoxicol Teratol.* 2002; 24: 695-701.

14. Bhutada P, Mundhada Y, Bansod K, Tawari S, Patil S, Dixit P. Protection of cholinergic and antioxidant system contributes to the effect of berberine ameliorating memory dysfunction in rat model of streptozotocin-induced diabetes. *Behav Brain Res*. 2011; 220(1): 30-41.

15. Akhondzadeh S, Sabet MS, Harirchian MH, Togha M, Cheraghmakani H, Razeghi S. Saffron in the treatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease: a 16-week, randomized and placebo-controlled trial. *J Clin Pharm Ther*. 2010; 35(5): 581-8.

16. Ghadrdoost B, Vafaei AA, Rashidy-Pour A, Hajisoltani R, Bandegi AR, Motamedi F. 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; 667(1-3): 222-9.

17. Papandreou MA, Tsachaki M, Efthimiopoulos S, Cordopatis P, Lamari FN, Margaritis M. Memory enhancing effects of saffron in aged mice are correlated with antioxidant protection. *Behav Brain Res*. 2011; 19(2): 197-204.

18. Carr DB, Goate A, Morris JC. Current concepts in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Am J Med*. 1997; 103: 3-10.

19. Tariot PN, Federoff HJ. Current treatment for Alzheimer disease and future prospects. *Alzheimer Dis Assoc Disord*. 2003; 17: 105-113.

20. Chu WZ, Qian CY. Expressions of Abeta1-40, Abeta1-42, tau202, tau396 and tau404 after intracerebroventricular injection of streptozotocin in rats. *Di Yi Jun*. 2005; 25: 168-170.

21. Heo HJ, Kim DO, Shin SC, Kim MJ, Kim BG, Shin DH. Effect of antioxidant flavanone, naringenin, from *Citrus junoson* neuroprotection. *J Agric Food*

باشد. کروسین بعنوان یک ماده آنتی اکسیدان و تقویت کننده سیستم کولینرژیک نقش بسزایی در تقویت حافظه فضایی بازی می کند (۲۳ و ۲۴).

نهایتاً نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مصرف مزمن عصاره زعفران بشکل داخل صفاقی می تواند بر توانایی اکتساب اطلاعات و حافظه فضایی در موش‌های سالم، و از طرفی در جلوگیری از تخریب بیان مجدد اطلاعات یاد گرفته شده موثر باشد. مکانیسم‌های مولکولی و دقیقتر این موضوع نیاز به تحقیقات بیشتر دارد که در مطالعات بعدی مد نظر قرار خواهد گرفت.

### تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل پایان نامه دکتر لیلا قنبری در مقطع پزشکی عمومی به راهنمایی خانم دکتر زهرا کیاسالاری و مشاوره آقای دکتر محسن خلیلی در سال ۱۳۸۸ و کد ۳۹۱/۸۰-پ می باشد که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی شاهد اجرا شده است.

### منابع

- King H, Aubert RE, Herman WH. Global burden of diabetes 1995-2025. *Diabetes Care*. 1998; 21(9): 1414-31.
- Gleckman R, Morr J. Diabetes-related foot infection. *Contemp Intern Med*. 1994; 6: 57-64.
- Galer BS, Gianas A, Jensen MP. Painful diabetic polyneuropathy: epidemiology, pain description, and quality of life. *Diabetes Res Clin Pract*. 2000; 47:123-128.
- Jackson-Guilford J, Leander JD, Nisenbaum LK. The effect of streptozotocin-induced diabetes on cell proliferation in the rat dentate gyrus. *Neurosci Lett*. 2000; 293:91-94.
- Biessels GJ, Smale S, Duis SE, Kamal A, Gispen WH. The effect of gamma-linolenic acid-alpha-lipoic acid on functional deficits in the peripheral and central nervous system of streptozotocin-diabetic rats. *J Neurol Sci*. 2001; 182: 99-106.
- Parihar MS, Chaudhary M, Shetty R, Hemnani T. Susceptibility of hippocampus and cerebral cortex to oxidative damage in streptozotocin treated mice: prevention by extracts of *Withania somnifera* and *Aloe vera*. *J Clin Neurosci*. 2004; 11:397-402.
- Reagan LP, McEwen BS. Diabetes, but not stress, reduces neuronal nitric oxide synthase expression in rat hippocampus: implications for hippocampal synaptic

Chem. 2004; 52:1520-5.

22. Pitsikas N, Zisopoulou S, Tarantilis PA, Kanakis CD, Polissiou MG, Sakellaridis N. Effects of the active constituents of *Crocus sativus* L., crocins on recognition and spatial rats' memory. *Behav Brain Res.* 2007; 183(2): 141-6.

23. Ghadrdoost B, Vafaei AA, Rashidy-Pour A, Hajisoltani R, Bandegi AR, Motamedi F. 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; 667(1-3): 222-9.

24. Choi JG, Yang WM, Kang TH, Oh MS. Effects of optimized-SopungSunkiwon on memory impairment and enhancement. *Neurosci Lett.* 2011; 491(2): 93-8.





## The effect of aqueous *Crocus sativus* L. (saffron) extract on learning and memory in male streptozotocin-induced diabetic rats

**Zahra Kiasalari, PhD.** Assistant Professor of Physiology, Department of Physiology, Neurophysiology and Herbal Medicine Research Center, School of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran. kiasalari@yahoo.com

\* **Mohsen Khalili, PhD.** Professor of Physiology, Department of Physiology, Neurophysiology and Herbal Medicine Research Center, School of Medicine, Shahed University Tehran, Tehran, Iran. (\*Corresponding author) najafabady@yahoo.com

**Leyla Ghanbarian, MD** student, Department of Physiology, School of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran. khalili@shahed.ac.ir

### Abstract

**Background:** Diabetes mellitus is accompanied with disturbances in learning, memory, and cognitive skills in the human society and experimental animals. Considering the potential anti-diabetic effect of the medicinal plant *Crocus sativus* (Saffron) and the augmenting effect of its consumption on the memory and mental health, this study was conducted to evaluate the effect of chronic interaperitoneal administration of *Crocus.S* extract on learning and memory in diabetic rats.

**Methods:** In this experimental study a total of 60 male rats were divided into normal and diabetic groups. Then, each of these groups was divided into three subgroups. Two of these subgroups received 30 and 60 mg/kg *crocus.s* extract in the treatment periods, but the third group didn't receive any treatment. At the end of treatment period, each of these subgroups was evaluated by two ways: Y-maze (alternative behavior percentage) and shuttle box (initial latencies (IL) and step-through latencies (STL)) in passive avoidance test. Finally, obtained data were subjected to one way ANOVA test and post hoc Tokey analysis.

**Results:** Treatment of the diabetic animals with the extract could antagonized the augmenting effect of diabetics on initial latency ( $P < 0.05$ ). Also, treatment of the diabetic rats with the extract (60 mg/kg) increased the reduced step through latency time (recall of the data) induced by diabetic in the animals ( $P < 0.05$ ). However, obtained data from Y maze test show that the extract could not improved the spatial memory disruption due to diabetics.

**Conclusion:** Chronic *Crocus.S* injection is effective on the capability of maintaining information in the stores memory and reminding in the diabetic rats. However, the extract could not improve the spatial memory in the diabetic rats.

**Keywords:** *crocus sativus*, Learning, Memory, Diabetes mellitus.