

Study the Effect of Crocin on Avoidance Memory and Motor Activity Impairment Induced by Doxorubicin Administration in Adult Male Rats

Javad Sohrabi Asadabad¹, Zohreh Ghotbeddin^{2*}, Mohammad Reza Tabandeh³

1. M.Sc Student in Physiology, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

2. Assistant Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

3. Associate Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

Received: 14 Oct 2017, Accepted: 5 Nov 2017

Abstract

Background: A lot of studies indicate that cancer chemotherapy drugs such as doxorubicin results in memory impairment. On the other hand, crocin as the chemical constituent isolated from the Saffron is effective on memory and motor enhancement. So, in this work, we have studied the co-administration effect of crocin and doxorubicin on avoidance memory and motor activity in adult male rat.

Material and Methods: In this study, 50 male rats were divided into 5 groups: control, sham, doxorubicin, crocin and treated rats with coadministration of doxorubicin and crocin. In crocin group, crocin injected 30mg/kg for 21 days and each rat in the chemotherapy group was treated once a week for 3 weeks with doxorubicin (5mg/kg). Treatment group, received doxorubicin and crocin at the same time. Sham groups administrated with saline. All drugs were injected intraperitoneally. After these procure passive avoidance memory, balance and exploratory behaviors were assessed respectively by shuttle box, rotarod and open field instruments.

Results: Memory in rats which have consumed doxorubicin significantly was decreased compared to other groups ($p < 0.001$). Crocin treatment improved memory impairment following doxorubicin injection ($p < 0.001$). Motor activity in open field and rotarod tests in treatment group showed significantly increased compared to doxorubicin group ($p < 0.001$).

Conclusion: Crocin consumption beside of anticancer drugs such as doxorubicin has protective effect on the bad effects of chemotherapy drugs on memory and movement.

Keywords: Avoidance memory, Crocin, Doxorubicin, Motor activity, Rat.

*Corresponding Author:

Address: Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

Email: z.ghotbeddin@scu.ac.ir

بررسی اثر کروسین بر اختلال حافظه احترازی و فعالیت حرکتی ناشی از تجویز دوکسوروبیسین در موش صحرایی نر بالغ

جواد سهرابی اسدآباد^۱، زهره قطب‌الدین^{۲*}، محمدرضا تابنده^۳

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۲. استادیار، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۳. دانشیار، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۷/۲۲، تاریخ پذیرش: ۹۶/۸/۱۴

چکیده

زمینه و هدف: مطالعات بسیاری نشان داده‌اند که داروهای شیمی‌درمانی مانند دوکسوروبیسین باعث اختلال حافظه می‌شوند. از سوی دیگر، کروسین به عنوان یک ماده شیمیایی جدا شده از زعفران در تقویت حافظه و بهبود حرکت موثر است. بدین جهت در این مطالعه اثر تزریق همزمان کروسین و دوکسوروبیسین بر حافظه احترازی و فعالیت حرکتی در موش صحرایی نر بالغ بررسی شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، تعداد ۵۰ سر موش صحرایی به ۵ گروه تقسیم شدند: کنترل، شاهد، دوکسوروبیسین، کروسین و موش‌های تیمار شده با تجویز همزمان دوکسوروبیسین و کروسین. در گروه کروسین، کروسین با دوز ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت روزانه و به مدت ۲۱ روز تزریق شد و در گروه شیمی‌درمانی هر موش به مدت ۳ هفته (هر هفته یک دوز) دوکسوروبیسین را با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت می‌کردند. گروه درمان، کروسین و دوکسوروبیسین را همزمان دریافت کردند. به گروه شاهد سالین تجویز شد. تمام داروها به روش درون صفاقی تزریق شدند. در پایان، حافظه احترازی، تعادل و رفتار جستجوگرانه به ترتیب با شاتل باکس، روتارود و جعبه باز سنجیده شدند.

یافته‌ها: حافظه موش‌هایی که دوکسوروبیسین مصرف کردند در مقایسه با سایر گروه‌ها کاهش معنی‌داری یافت ($p < 0.001$) و تیمار با کروسین باعث بهبود حافظه شد ($p < 0.001$). فعالیت حرکتی با استفاده از آزمون‌های جعبه باز و روتارود، افزایش معنی‌داری را در گروه درمان نسبت به گروه دوکسوروبیسین نشان داد ($p < 0.001$).

نتیجه‌گیری: مصرف کروسین به همراه داروهای ضد سرطان نظیر دوکسوروبیسین می‌تواند یک اثر حفاظتی در مقابل اثرات مضر داروهای شیمی‌درمانی بر حافظه و حرکت داشته باشد.

واژگان کلیدی: کروسین، دوکسوروبیسین، حافظه احترازی، فعالیت حرکتی، موش صحرایی.

*نویسنده مسئول: ایران، اهواز، دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم پایه

Email: z.ghotbeddin@scu.ac.ir

مقدمه

دوکسورویسین یک آنتی‌بیوتیک آنتراسایکلین بسیار قوی می‌باشد که به طور گسترده در درمان انواع مختلفی از سرطان‌ها از جمله سرطان پستان و سارکوم بافت نرم استفاده می‌شود. با وجود داشتن اثر ضدسرطانی گسترده، دوکسورویسین می‌تواند عوارض جانبی زیادی نظیر آسیب‌های سلولی در قلب و نیز اختلالات شناختی و حرکتی در سیستم عصبی بر جای گذارد (۱). داروهای شیمی‌درمانی با عبور از سد خونی مغزی و اثر بر سلول‌های شکنج دندانه‌دار در هیپوکمپ، باعث آسیب این نورون‌ها و اختلال حافظه می‌شوند (۲). تغییر فعالیت شناختی به صورت حاد در هنگام مصرف داروهای شیمی‌درمانی رایج است و در برخی از بیماران حتی برای مدت طولانی بعد از شیمی‌درمانی نیز باقی می‌ماند (۳). تحقیقات بالینی و آزمایشگاهی در مورد نمونه‌های سرطانی نشان داده است که شیمی‌درمانی با اختلالات شناختی و حرکتی طولانی‌مدت ارتباط دارد و بر اساس مطالعات هیستولوژی شیمی‌درمانی بر هیپوکمپ، مخچه و ساختمان‌هایی که در حافظه، یادگیری و حرکت نقش دارند اثر می‌گذارد (۴).

مطالعات جدیدتر نشان داده است که مشکلات عصبی ناشی از مصرف دوکسورویسین می‌تواند از طریق تغییرات آندوژنی سطح سایتوکین‌ها مانند فاکتور نکروز دهنده تومور (TNF α) ایجاد شود؛ این واسطه‌های التهابی به صورت سیستمیک افزایش می‌یابند و با عبور از سد خونی مغزی باعث افزایش فاکتورهای التهابی در مغز و افزایش استرس اکسیداتیو، اختلال در عملکرد میتوکندری و در نهایت آپوپتوز می‌شوند (۵). استرس اکسیداتیو در پاتوفیزیولوژی بیماری‌های عصبی متعددی که در نهایت منجر به اختلال شناخت می‌شوند، نقش دارد و یکی از مکانیسم‌های اصلی برای کاهش یادگیری و حافظه است (۶). کاربرد ترکیبات موثره گیاهی در سال‌های اخیر به منظور پیش‌گیری یا کاهش عوارض بیماری‌های مختلف مورد توجه قرار گرفته است.

یکی از این ترکیبات گیاهی که از نظر بالینی مورد توجه قرار گرفته و دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی فراوانی است، «کروسین» است و زعفران غنی از کروسین است.

کروسین یک کاروتنوئید محلول در آب و از مهم‌ترین اجزای فعال زعفران است. مطالعات نشان می‌دهند که عصاره زعفران دارای خواص ضد میکروبی، ضد تشنج، ضد افسردگی، ضد التهاب، ضد تومور و خواص آنتی‌اکسیدانی فراوانی است؛ هم‌چنین در یادگیری، بهبود حافظه و انتشار اکسیژن در بافت‌های مختلف نقش بسزایی دارد (۷). کروسین یکی از سه جزء اصلی زعفران و عامل اصلی رنگ زعفران می‌باشد (۸). کروسین با حذف رادیکال‌های آزاد به عنوان یک آنتی‌اکسیدان عمل کرده، سلول‌ها و بافت‌ها را در برابر اکسیداسیون حفاظت می‌کند (۹). گزارش‌های زیادی در مورد نقش زعفران و ترکیب‌های آن را در تقویت حافظه و یادگیری وجود دارد. امروزه زعفران به صورت گسترده در طب سنتی برای درمان مشکلات حافظه استفاده می‌شود (۱۰). کروسین با اثرات آنتی‌اکسیدانی خود باعث افزایش شناخت و حافظه مختل شده در موش‌هایی می‌شود که تحت اثر استرس مزمن قرار گرفته‌اند (۱۱). هم‌چنین می‌تواند باعث بهبود مهار LTP و اختلال حافظه ایجاد شده به دنبال مصرف اتانول در موش‌های آزمایشگاهی شود (۱۲). با توجه به این که یکی از عوارض جانبی دوکسورویسین اثر بر سیستم عصبی مرکزی، ایجاد استرس اکسیداتیو و به دنبال آن اختلال حافظه و حرکت است و از طرف دیگر بیشتر مطالعات نشان می‌دهند که کروسین با اثر آنتی‌اکسیدانی خود اثر جبرانی در بیشتر مدل‌های اختلال حافظه دارد و می‌تواند به عنوان یک گزینه درمانی مناسب برای پیش‌گیری از آسیب‌های عصبی در زمان درمان با داروهای شیمی‌درمانی مطرح باشد. بنابراین طی این تحقیق، اثر کروسین بر حافظه احترازی غیرفعال و فعالیت حرکتی در موش صحرایی نر بالغ هم‌زمان با تجویز دوکسورویسین مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی از موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار استفاده شد. تمام مراحل آزمایش بر اساس دستور العمل کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز طراحی و اجرا شد. برای انجام این مطالعه، ۵۰ سر موش صحرایی نر بالغ با وزن تقریبی (۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم) انتخاب و در محل مخصوص نگهداری حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی در طول مطالعه نگهداری شدند. دمای محل پرورش موش‌ها 23 ± 1 درجه سانتی‌گراد بود و کلیه گروه‌ها آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند؛ سپس به طور تصادفی به ۵ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. گروه‌های مورد مطالعه عبارت بودند از: (۱) کنترل فاقد تیمار خاص، (۲) گروه شاهد اعمال استرس ناشی از تزریق که به همه آن‌ها سالین تزریق شد، (۳) گروه کروسین: کروسین را به میزان ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و به مدت ۲۱ روز به روش تزریق درون‌صفافی دریافت کردند (۱۳)، (۴) گروه دوکسوروبیسین: دوکسوروبیسین را به میزان ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، طی سه بار تزریق (هر هفته یک دوز) به روش تزریق درون‌صفافی دریافت کردند (۱۴) و (۵) گروه دریافت‌کننده دوکسوروبیسین و کروسین (گروه درمان) هم‌زمان با تزریق دوکسوروبیسین به میزان ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت هفتگی، کروسین را به میزان ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت روزانه به مدت ۲۱ روز به روش تزریق درون‌صفافی دریافت کردند. کلیه آزمایش‌ها در دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز و در زمان روشنایی، بین ساعت ۸ صبح الی ۴ بعد از ظهر به منظور جلوگیری از تأثیر ریتم شبانه‌روزی حیوان بر آزمایش‌ها انجام گرفت. حیوانات یک ساعت قبل از شروع آزمون به آزمایشگاه منتقل می‌شدند تا به شرایط آزمایشگاه عادت کنند. در تمامی گروه‌ها ۲۴ ساعت پس از اتمام تزریقات، به منظور ارزیابی حافظه احترازی غیر فعال، فعالیت حرکتی و تعادل

حیوانات به ترتیب از آزمون‌های شاتل باکس، جعبه باز و روتارود استفاده شد.

سنجش حافظه احترازی غیر فعال از طریق دستگاه

Shuttle box

این دستگاه از دو محفظه تاریک و روشن تشکیل شده است که در محفظه تاریک حیوان شوک دریافت می‌کند. روش کار با این دستگاه شامل ۳ مرحله آموزش، آزمون و مرحله اکتساب (به‌خاطر آوری) است.

(۱) مرحله آموزش: حیوان فقط با دستگاه آشنا

می‌شد (بدون اعمال شوک)

(۲) مرحله آزمون: ۲۴ ساعت بعد از آموزش، شوک

با شدت جریان مشخص (فرکانس ۵۰ هرتز، شدت ۰/۵ میلی‌آمپر و به مدت ۲ ثانیه) به پای حیوان در محفظه تاریک اعمال می‌شد.

(۳) مرحله اکتساب: به منظور تست به خاطر آوری و

حافظه دراز مدت، ۲۴ ساعت بعد از آموزش، موش در قسمت روشن قرار داده می‌شد و مدت زمان تاخیر در ورود به محفظه تاریک و زمان سپری شده در محفظه تاریک به عنوان شاخص‌های حافظه اجتنابی دراز مدت اندازه‌گیری می‌شدند (۱۵).

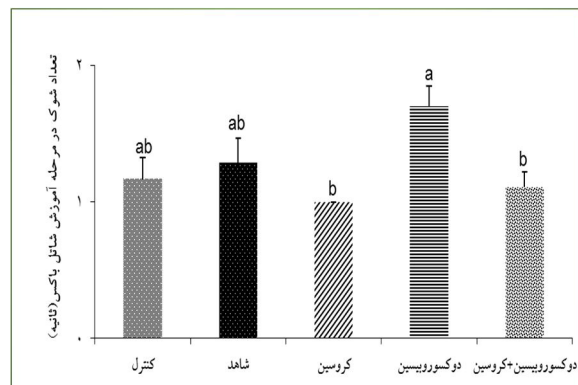
آزمون جعبه باز

تجهیزات این آزمایش شامل یک صفحه چهارگوش ساخته شده از چوب سیاه است و کف آن با خطوطی به ۲۵ مربع تقسیم شده است. در ابتدا هر موش در مرکز صفحه قرار داده می‌شد و فعالیت آن برای ۵ دقیقه ثبت می‌شد و سپس پارامترهای رفتاری شامل کل مسافت جابه‌جا شده، سرعت حرکت و فرکانس بلند شدن روی دو پا، ثبت و مورد بررسی قرار می‌گرفت (۱۶).

آزمون روتارود

برای بررسی فعالیت‌های تعادلی و قدرت هماهنگی حرکتی بین اندام‌ها از دستگاه روتارود استفاده شد. برای ارزیابی فعالیت تعادلی توسط این دستگاه حیوان روی میله

میانگین تعداد شوک‌های دریافتی در اتاقک تاریک در مرحله آموزش (اعمال شوک الکتریکی) در گروه کنترل $1 \pm 0/1$ ثانیه و تعداد آن در گروه‌های شاهد، دوکسوروبیسین، گروه دریافت‌کننده کروسین و گروه درمان (کروسین + دوکسوروبیسین) به ترتیب $1/2 \pm 0/1$ ، $1/7 \pm 0/1$ و $1/1 \pm 0/1$ به دست آمد. مقایسه میانگین تعداد شوک‌های دریافتی در اتاقک تاریک در مرحله آموزش بیان‌گر کاهش معنی‌دار تعداد شوک‌های دریافتی در گروه درمان نسبت به گروه دوکسوروبیسین است ($p < 0/05$). بین گروه دوکسوروبیسین در مقایسه با گروه کنترل و شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۱).



شکل ۱. مقایسه میانگین تعداد شوک‌های دریافتی در اتاقک تاریک در مرحله آموزش در گروه‌های مورد مطالعه؛ گروه‌های با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار آماری می‌باشند. در این نمودار اختلاف معنی‌دار بین گروه دوکسوروبیسین در مقایسه با گروه کروسین در سطح $p < 0/01$ ، و اختلاف بین گروه درمان (دوکسوروبیسین + کروسین) در مقایسه با گروه دوکسوروبیسین در سطح $p < 0/05$ می‌باشد. داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای معیار نشان داده شده‌اند ($n=10$).

الف) ۲- مقایسه میانگین مدت زمان تاخیر در ورود به اتاقک تاریک
میانگین مدت زمان تاخیر در ورود به اتاقک تاریک ۲۴ ساعت بعد از اعمال شوک (آزمون به خاطرآوری) در

افقی چرخنده در حال چرخش که سرعت آن از ۵ به ۴۵ دور در دقیقه در مدت ۳۰۰ ثانیه افزایش داده می‌شد، قرار می‌گرفت و زمان حفظ تعادل و باقی ماندن روی میله برای هر حیوان ثبت می‌شد. ابتدا به هر حیوان دو بار فرصت برای عادت کردن و تطابق با دستگاه داده می‌شد و سپس سه بار دیگر حیوان روی دستگاه قرار می‌گرفت و میانگین زمان به دست آمده محاسبه می‌شد (۱۷).

برای آنالیز آماری از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ استفاده شد. نتایج به صورت میانگین \pm خطای معیار، بیان شد. برای هم‌وزنستی داده‌ها از آزمون لون استفاده شد. در کلیه موارد در صورت وجود اختلاف بین گروه‌ها و هم‌وزن نبودن داده‌ها از پس آزمون توکی و در صورت هم‌وزن نبودن از آزمون Dunnett's C استفاده شد. هم‌چنین در تمامی موارد $p < 0/05$ به عنوان معیار حداقل اختلاف معنی‌دار آماری طی آنالیز داده‌ها در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

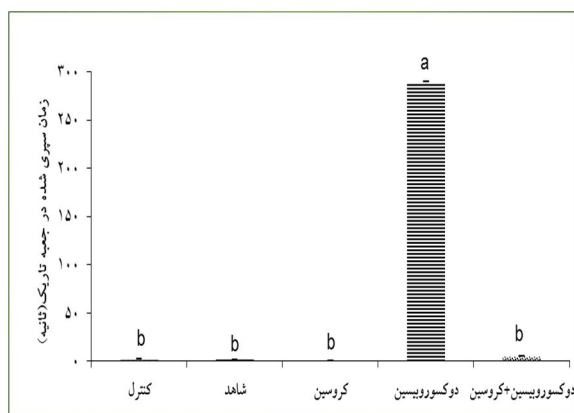
به منظور بررسی اثر کروسین هم‌زمان با تجویز دوکسوروبیسین بر حافظه احترازی غیر فعال، فعالیت حرکتی و تعادل در موش صحرائی نر بالغ به ترتیب از آزمون‌های رفتاری شاتل باکس (الف)، جعبه باز (ب) و روتارود (ج) استفاده شد.

الف: نتایج حاصل از مقایسه حافظه احترازی غیر فعال بین گروه‌های مورد مطالعه با استفاده از دستگاه شاتل باکس

در این بخش میانگین تعداد شوک‌های دریافتی، مدت زمان تاخیر در ورود به اتاقک تاریک و مدت زمان سپری شده در اتاقک تاریک در گروه‌های مختلف بررسی و با یکدیگر مقایسه شدند.

الف) ۱- مقایسه میانگین تعداد شوک‌های دریافتی در اتاقک تاریک

ترتیب $2/1 \pm 1$ ، $0/7 \pm 0/7$ ، $3/2 \pm 289$ و $4/3 \pm 1/7$ ثانیه به دست آمد. نتایج مقایسه میانگین مدت زمان سپری شده در اتاقک تاریک ۲۴ ساعت بعد از اعمال شوک، بیانگر افزایش معنی‌دار مدت زمان سپری شده در اتاقک تاریک در گروه دوکسورویسین نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد بود ($p < 0/001$). گروه درمان نسبت به گروه دوکسورویسین کاهش معنی‌داری یافت ($p < 0/001$) (شکل ۳).



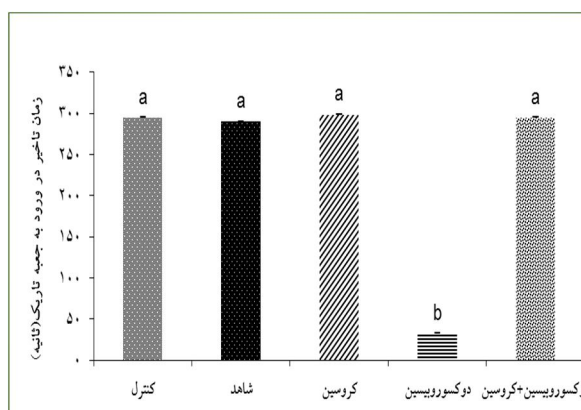
شکل ۳. مقایسه میانگین مدت زمان ماندن در اتاقک تاریک ۲۴ ساعت پس از اعمال شوک (مرحله به خاطرآوری) در گروه‌های مورد مطالعه؛ گروه‌های با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار آماری می‌باشند. در این نمودار اختلاف معنی‌دار بین تمام گروه‌های با حروف متفاوت در سطح $p < 0/001$ می‌باشد. داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای معیار نشان داده شده‌اند ($n=10$).

ب: نتایج حاصل از مقایسه میزان کل جابه‌جایی، سرعت حرکت و فرکانس بلند شدن روی دو پا بین گروه‌های مورد مطالعه با استفاده از آزمون جعبه باز:

در این بخش با استفاده از دستگاه جعبه باز میزان کل جابه‌جایی، سرعت حرکت و فرکانس بلند شدن روی دو پا (Rearing) در گروه‌های مختلف بررسی و مورد مقایسه قرار گرفت.

ب) ۱- مقایسه میانگین میزان کل جابه‌جایی (مسافت طی شده) در آزمون جعبه باز

گروه کنترل 295 ± 3 ثانیه و در گروه‌های شاهد، کروسین، دوکسورویسین و گروه درمان به ترتیب 290 ± 4 ، 298 ± 2 ، 32 ± 2 و 294 ± 18 ثانیه به دست آمد. مقایسه میانگین مدت زمان تاخیر در ورود به اتاقک تاریک ۲۴ ساعت بعد از اعمال شوک به این صورت بود که بین گروه دوکسورویسین و سایر گروه‌ها اختلاف معنی‌دار آماری وجود داشت و مدت زمان تاخیر در ورود به اتاقک تاریک در این گروه نسبت به سایر گروه‌ها کاهش معنی‌دار را نشان داد ($p < 0/001$). گروه درمان نسبت به گروه دوکسورویسین افزایش معنی‌داری یافت ($p < 0/001$) (شکل ۲).

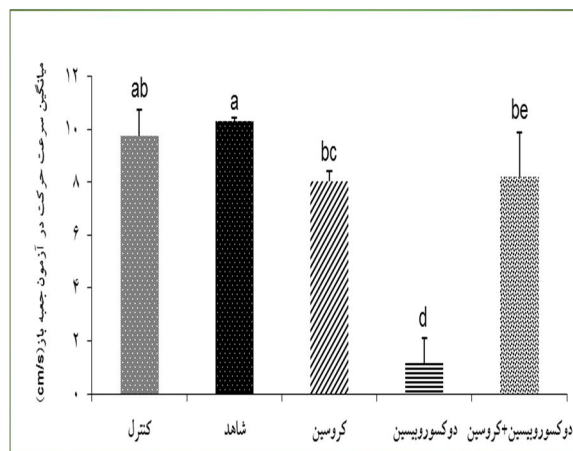


شکل ۲. مقایسه میانگین مدت زمان تاخیر در ورود به اتاقک تاریک ۲۴ ساعت پس از اعمال شوک (مرحله به خاطرآوری) در گروه‌های مورد مطالعه؛ گروه‌های با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار آماری می‌باشند. در این نمودار اختلاف معنی‌دار بین تمام گروه‌های با حروف متفاوت در سطح $p < 0/001$ می‌باشد. داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای معیار نشان داده شده‌اند ($n=10$).

الف) ۳- مقایسه میانگین مدت زمان سپری شده در اتاقک تاریک

میانگین مدت زمان سپری شده در اتاقک تاریک ۲۴ ساعت بعد از اعمال شوک (آزمون به خاطرآوری)، در گروه کنترل $1/6 \pm 1$ ثانیه و این زمان در گروه‌های شاهد، کروسین، دوکسورویسین و گروه دریافت‌کننده درمان به

کاهش معنی‌دار گروه دوکسورویسین نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد بود ($p < 0.001$). گروه درمان نسبت به گروه دوکسورویسین افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0.001$) (شکل ۵).

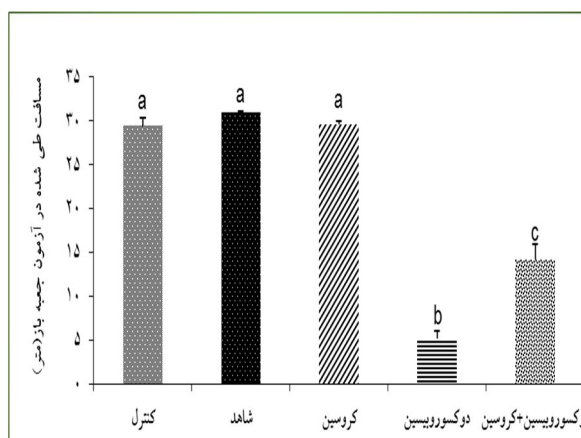


شکل ۵. مقایسه میانگین سرعت حرکت در آزمون جعبه باز بین گروه‌های مورد مطالعه؛ گروه‌های با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار آماری می‌باشند. در این نمودار اختلاف معنی‌دار بین گروه کروسین و گروه درمان در مقایسه با گروه شاهد در سطح $p < 0.05$ ، و اختلاف بین سایر گروه‌های دارای حروف متفاوت در سطح $p < 0.001$ می‌باشد. داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای معیار نشان داده شده‌اند ($n=10$).

(ب) ۳- مقایسه میانگین تعداد بلند شدن روی دو پا در آزمون جعبه باز

میانگین کل تعداد بلند شدن روی دو پا با استفاده از آزمون جعبه باز در گروه کنترل 39.5 ± 1.5 و در گروه‌های شاهد، دوکسورویسین، گروه کروسین و گروه درمان به ترتیب 34.5 ± 1.8 ، 36 ± 0.5 ، 8.5 ± 0.6 و 23 ± 0.8 به دست آمد. مقایسه میانگین تعداد بلند شدن روی دو پا، بیان‌گر کاهش معنی‌دار گروه دوکسورویسین نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد بود ($p < 0.001$)؛ گروه درمان نسبت به گروه دوکسورویسین افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0.001$) (شکل ۶).

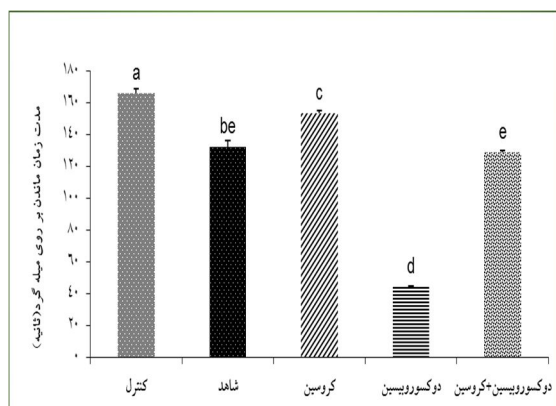
میانگین کل مسافت طی شده با استفاده از آزمون جعبه باز در مدت ۵ دقیقه، در گروه کنترل 29.3 ± 1.2 متر و در گروه‌های شاهد، دوکسورویسین، گروه کروسین و گروه درمان به ترتیب 30.9 ± 2.4 ، 29.5 ± 0.9 ، 5.1 ± 1 و 14.1 ± 0.53 متر به دست آمد. نتایج مقایسه میانگین کل مسافت طی شده، بیان‌گر کاهش معنی‌دار جابه‌جایی کل در آزمون جعبه باز در گروه دوکسورویسین نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد بود ($p < 0.001$). گروه درمان نسبت به گروه دوکسورویسین افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0.001$) (شکل ۴).



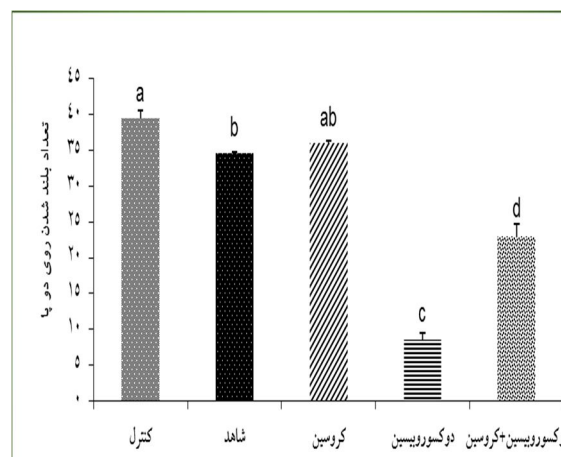
شکل ۴. مقایسه میانگین مسافت طی شده در آزمون جعبه باز بین گروه‌های مورد مطالعه؛ گروه‌های با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار آماری می‌باشند. در این نمودار اختلاف معنی‌دار بین تمام گروه‌های با حروف متفاوت در سطح $p < 0.001$ می‌باشد. داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای معیار نشان داده شده‌اند ($n=10$).

(ب) ۲- مقایسه میانگین میزان سرعت حرکت در آزمون جعبه باز

میانگین سرعت حرکت در آزمون جعبه باز در گروه کنترل 9.7 ± 0.4 سانتی‌متر بر ثانیه و در گروه‌های شاهد، دوکسورویسین، گروه کروسین و گروه درمان به ترتیب 10.3 ± 0.8 ، 8 ± 0.8 ، 1.1 ± 0.1 و 8 ± 0.1 سانتی‌متر بر ثانیه به دست آمد. مقایسه میانگین سرعت حرکت، بیان‌گر



شکل ۷. مقایسه میانگین مدت زمان ماندن بر روی میله گرد پس از سه بار آزمایش با استفاده از آزمون روتارود در گروه‌های مورد مطالعه؛ گروه‌های با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار آماری می‌باشند. در این نمودار اختلاف معنی‌دار بین گروه کروسین در مقایسه با گروه کنترل در سطح $p < 0.05$ ، و اختلاف بین سایر گروه‌های دارای حروف متفاوت در سطح $p < 0.001$ می‌باشد. داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای معیار نشان داده شده‌اند ($n=10$).



شکل ۶. مقایسه میانگین تعداد بلند شدن روی دو پا با استفاده از آزمون جعبه باز در گروه‌های مورد مطالعه، گروه‌های با حروف متفاوت دارای اختلاف معنی‌دار آماری می‌باشند. در این نمودار اختلاف معنی‌دار بین گروه شاهد در مقایسه با گروه کنترل در سطح $p < 0.05$ ، و اختلاف بین سایر گروه‌های دارای حروف متفاوت در سطح $p < 0.001$ می‌باشد. داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای معیار نشان داده شده‌اند ($n=10$).

بحث

یافته‌های به دست آمده از این تحقیق بیان‌گر این مطلب است که دوکسوروبیسین باعث افزایش تعداد شوک، کاهش مدت زمان تاخیر در ورود به اتاقک تاریک و افزایش مدت زمان سپرس شده در اتاقک تاریک در مقایسه با سایر گروه‌ها شد. بنابراین در این آزمایش حافظه احترازی غیرفعال در گروه دریافت‌کننده دوکسوروبیسین نسبت به سایر گروه‌ها کاهش معنی‌داری را نشان داد. در راستای این نتایج، مطالعه آنتی‌کوسز-میشالوک و همکاران در سال ۲۰۱۶ بیان‌گر اختلال حافظه به دنبال شیمی‌درمانی با دوکسوروبیسین است. این اختلال نه تنها در طول شیمی‌درمانی بلکه مدت‌ها بعد از آن هم ماندگار است (۱۸). هم‌چنین دوکسوروبیسین باعث اختلال در حافظه فضایی و عملکرد تشخیص شیء در موش‌های صحرائی نر می‌شود (۱۹). دوکسوروبیسین با عبور از سد خونی-مغزی منجر به التهاب سیستمیک گسترده و استرس اکسیداتیو در دستگاه‌های بدن از جمله مغز می‌شود. این دارو با القای استرس اکسیداتیو باعث کاهش نورون‌های هیپوکامپ

ج: نتایج حاصل از مقایسه تعادل حرکتی در گروه‌های مورد مطالعه با استفاده از دستگاه روتارود: جهت اندازه‌گیری تعادل حرکتی از دستگاه روتارود استفاده شد. میانگین مدت زمان ماندن بر روی دستگاه در گروه کنترل $166/1 \pm 2/8$ ثانیه و این زمان در گروه‌های شاهد، دوکسوروبیسین، گروه دریافت‌کننده کروسین و گروه درمان به ترتیب $132/2 \pm 4/3$ ، $153/4 \pm 1/9$ ، $44/3 \pm 0/9$ و $128/6 \pm 1/54$ ثانیه به دست آمد. مقایسه میانگین مدت زمان ماندن بر روی دستگاه روتارود، بیان‌گر کاهش معنی‌دار گروه دوکسوروبیسین نسبت به گروه‌های کنترل و شاهد بود ($p < 0.001$). گروه درمان نسبت به گروه دوکسوروبیسین افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0.001$) (شکل ۷).

و اختلال در حافظه و یادگیری می‌شود (۱۹). در مطالعه دیگر، تزریق هم‌زمان آدریمایسین و سیتوکسان در موش‌های ماده ۱۰ ماهه باعث اختلال شدید در عملکرد حافظه در آزمون اجتنابی غیرفعال شد و در گروهی که ترکیب آنتی‌اکسیدان N-acetyl cysteine را در طی شیمی‌درمانی دریافت کرده بودند هیچ‌گونه اختلال حافظه‌ای دیده نشد (۲۰). طبق تحقیقات یانگ گزارش شده که شیمی‌درمانی با مرگ نوروهای هیپوکمپ در موش‌های صحرايي، عملکرد اصلی هیپوکمپ که شامل یادگیری و حافظه می‌باشد را تغییر می‌دهد (۲۱). به نظر می‌رسد هدف اصلی داروهای شیمی‌درمانی سلول‌های در حال تکثیر است و برخی از این داروها از سد خونی- مغزی عبور می‌کنند. پیشنهاد شده است که اختلال حافظه ناشی از مصرف این داروها می‌تواند به دلیل تأثیر مستقیم این داروها بر سلول‌های در حال تکثیر در نواحی نوروزنیک مغز نظیر شکنج دندانه‌ای در هیپوکمپ باشد. علاوه بر حافظه، فعالیت حرکتی و تعادل نیز در موش‌های دریافت کننده دوکسوروبیسین نسبت به سایر گروه‌ها کاهش معنی‌داری پیدا کرد. بخش مهم دیگری از سیستم عصبی مرکزی که تحت تأثیر داروهای شیمی‌درمانی قرار می‌گیرد، مخچه است. در آزمون جعبه باز متعاقب تجویز دوکسوروبیسین کاهش فعالیت حرکتی اثبات شده است (۱۹). دوکسوروبیسین باعث کاهش قابل توجه در فعالیت مرکز حرکتی می‌شود (۲۲). دوکسوروبیسین با اثراتی مخربی که در مخچه بر جای می‌گذارد، باعث اختلال در حرکت و حفظ تعادل می‌شود (۱۹). دوکسوروبیسین منجر به ایجاد استرس اکسیداتیو در قشر مغز و مخچه می‌شود (۵). این دارو از طریق افزایش استرس اکسیداتیو باعث ضعف عضلانی و تحلیل عضلات اسکلتی می‌شود (۲۳). همان‌طور که اشاره شد مکانیسم احتمالی برای اختلال عملکرد نواحی مهم مرتبط با کنترل حرکت به دنبال تزریق دوکسوروبیسین، افزایش رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو است. با توجه به این که افزایش استرس اکسیداتیو به عنوان مکانیسم اصلی برای

اختلال شناخت و فعالیت حرکتی ناشی از تجویز دوکسوروبیسین مطرح است، کاربرد ترکیبات آنتی‌اکسیدان نظیر کروسین می‌تواند به عنوان یک استراتژی درمانی جدید مطرح باشد. مطالعات انجام شده در این راستا نشان داد که کروسین با اثرات آنتی‌اکسیدانی خود باعث افزایش شناخت و حافظه مختل شده در موش‌هایی شد که تحت اثر استرس مزمن قرار گرفته‌اند (۱۱). تزریق کروسین به روش وابسته به دوز نیز اختلال حافظه فضایی ناشی از تزریق اسکوپولامین در ماز آبی موریس را آنتاگونیست نمود (۲۴).

یافته‌های خلیلی و همکاران نشان داد که تزریق کروسین تعداد پاسخ‌های صحیح را در آزمون Y-maze به دنبال مدل آلزایمر با استرپتوزوتوسین افزایش داد (۲۵). بررسی رفتاری و الکتروفیزیولوژی نیز نشان داد که عصاره زعفران اختلالات حافظه ناشی از مصرف اتانول را بهبود می‌بخشد (۲۶). مطالعات جدید نشان می‌دهد که کروسین با جلوگیری از تشکیل بتا آمیلوئید و انهدام بتا آمیلوئیدهای تجمع یافته خاصیت ضد آمیلوئیدوزنیک دارد (۲۷). در مورد اثر مثبت کروسین بر فعالیت حرکتی، مطالعات پیشین نشان داده‌اند که تجویز کروسین با دوز ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، به مدت ۶ هفته در یک مدل آزمایشگاهی پارکینسون باعث جلوگیری از آسیب جسم مخطط و اختلال حرکت می‌شود؛ از آنجایی که استرس اکسیداتیو مهم‌ترین عامل در پاتوژنز بیماری پارکینسون و سایر بیماری‌های نورودژنراتیو است، کروسین با خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود نقش حفاظتی در بیماری پارکینسون دارد (۲۸). یافته‌های اتحادی و همکاران نیز نشان داد که تزریق عصاره آبی زعفران به روش وابسته به دوز باعث افزایش غلظت دوپامین در مغز می‌شود (۲۹). هم- چنین مطالعات نشان می‌دهند که پیش‌درمانی با زعفران در موش‌های آزمایشگاهی باعث محافظت از سلول‌های دوپامینرژیک در بخش متراکم جسم سیاه در مدل پارکینسونی MPTP می‌شود (۲۹). اختلال در عملکرد میتوکندری در سلول‌های دوپامینرژیک جسم سیاه علت اصلی برای اختلال

al. Anticancer agents are potent neurotoxins in vitro and in vivo. *Annals of neurology*. 2004;56(3):351-60.

5. Marques-Aleixo I, Santos-Alves E, Balça M, Moreira P, Oliveira P, Magalhães J, et al. Physical exercise mitigates doxorubicin-induced brain cortex and cerebellum mitochondrial alterations and cellular quality control signaling. *Mitochondrion*. 2016;26:43-57.

6. Muriach M, López-Pedrajas R, Barcia JM, Sanchez-Villarejo MV, Almansa I, Romero FJ. Cocaine causes memory and learning impairments in rats: involvement of nuclear factor kappa B and oxidative stress, and prevention by topiramate. *Journal of neurochemistry*. 2010;114(3):675-84.

7. Naghizadeh B, Mansouri SMT, Mashhadian NV. Crocin attenuates cisplatin-induced renal oxidative stress in rats. *Food and chemical toxicology*. 2010;48(10):2650-5.

8. Kabiri M, Rezadoost H, Ghassempour A. A comparative quality study of saffron constituents through HPLC and HPTLC methods followed by isolation of crocins and picrocrocin. *LWT-Food Science and Technology*. 2017.

9. Melnyk JP, Wang S, Marcone MF. Chemical and biological properties of the world's most expensive spice: Saffron. *Food Research International*. 2010;43(8):1981-9.

10. Akhondzadeh S, Sabet MS, Harirchian M, Togha M, Cheraghmakani H, Razeghi S, et al. Saffron in the treatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease: a 16-week, randomized and placebo-controlled trial. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics*. 2010;35(5):581-8.

11. Ghadroost 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. *European journal of pharmacology*. 2011;667(1):222-9.

12. Zhang Y, Shoyama Y, Sugiura M, Saito H. Effects of *Crocus sativus* L. on the ethanol-induced impairment of passive avoidance

حرکت در مدل پارکینسون با MPTP است. بیشتر مطالعات در مدل‌های حیوانی حاکی از نقش آنتی‌اکسیدان‌ها برای جلوگیری از اختلال در عملکرد میتوکندری و محافظت از نورون‌های مسیر دوپامینرژیک است (۳۰). کروسین و زعفران با خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود اثر محافظتی در بیماری پارکینسون دارند و به عنوان عامل درمانی برای بیماری پارکینسون و سایر بیماری‌های نورودژنراتیو که با افزایش استرس اکسیداتیو ایجاد می‌شوند، پیشنهاد می‌شود (۳۱).

نتیجه‌گیری

کروسین می‌تواند اثرات مخرب دوکسوروبیسین بر حافظه و حرکت را بهبود بخشد و به عنوان یک مکمل دارویی در شیمی‌درمانی، جهت جلوگیری از اختلال «حافظه» و «فعالیت حرکتی» به همراه دوکسوروبیسین استفاده شود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان این مقاله از کلیه عزیزانی که در انجام این مقاله همکاری نموده‌اند، به خصوص کارکنان بخش فیزیولوژی دانشکده دام‌پزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، کمال قدردانی و تشکر را دارند.

منابع

1. Siswanto S, Arozal W, Juniantito V, Grace A, Agustini FD. The Effect of Mangiferin Against Brain Damage Caused by Oxidative Stress and Inflammation Induced by Doxorubicin. *HAYATI Journal of Biosciences*. 2016;23(2):51-5.
2. Mustafa S, Walker A, Bennett G, Wigmore PM. 5-Fluorouracil chemotherapy affects spatial working memory and newborn neurons in the adult rat hippocampus. *European Journal of Neuroscience*. 2008;28(2):323-30.
3. Ahles TA, Saykin AJ. Candidate mechanisms for chemotherapy-induced cognitive changes. *Nature reviews Cancer*. 2007;7(3):192.
4. Rzeski W, Pruski S, Macke A, Felderhoff Mueser U, Reiher AK, Hoerster F, et

- performances in mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 1994;17(2):217-21.
13. Bandegi AR, Rashidy-Pour A, Vafaei AA, Ghadrdoost B. Protective effects of *Crocus sativus* L. extract and crocin against chronic-stress induced oxidative damage of brain, liver and kidneys in rats. *Advanced pharmaceutical bulletin*. 2014;4(Suppl 2):493.
 14. Mohebbati R, Abbsnezhad A, Khajavi Rad A, Mousavi S, Haghshenas M. Effect of hydroalcoholic extract of *Nigella sativa* on doxorubicin-induced functional damage of kidney in rats. *The Horizon of Medical Sciences*. 2016;22(1):13-20.
 15. Ghotbeddin Z, Moazedi AA, Parham GA. Effect of combined administration of Zinc chloride and Aluminum chloride on memory and motor activity of young rats. *Physiology and Pharmacology*. 200. ۵۲-۱۴۶:(۲)۱۱;۷
 16. Shabani M, Larizadeh MH, Parsania S, Asadi Shekaari M, Shahrokhi N. Profound destructive effects of adolescent exposure to vincristine accompanied with some sex differences in motor and memory performance. *Canadian journal of physiology and pharmacology*. 2012;90(4):379-86.
 17. Shabani M, Hosseinmardi N, Haghani M, Shaibani V, Janahmadi M. Maternal exposure to the CB1 cannabinoid agonist WIN 55212-2 produces robust changes in motor function and intrinsic electrophysiological properties of cerebellar Purkinje neurons in rat offspring. *Neuroscience*. 2011;172:139-52.
 18. Antkiewicz-Michaluk L, Krzemieniecki K, Romanska I, Michaluk J, Krygowska-Wajs A. Acute treatment with doxorubicin induced neurochemical impairment of the function of dopamine system in rat brain structures. *Pharmacological Reports*. 2016;68(3):627-30.
 19. Salas-Ramirez KY, Bagnall C, Frias L, Abdali SA, Ahles TA, Hubbard K. Doxorubicin and cyclophosphamide induce cognitive dysfunction and activate the ERK and AKT signaling pathways. *Behavioural brain research*. 2015;292:133-41.
 20. Konat GW, Kraszpulski M, James I, Zhang H-T, Abraham J. Cognitive dysfunction induced by chronic administration of common cancer chemotherapeutics in rats. *Metabolic brain disease*. 2008;23(3):325-33.
 21. Yang M, Kim J-S, Song M-S, Kim S-H, Kang SS, Bae C-S, et al. Cyclophosphamide impairs hippocampus-dependent learning and memory in adult mice: possible involvement of hippocampal neurogenesis in chemotherapy-induced memory deficits. *Neurobiology of learning and memory*. 2010;93(4):487-94.
 22. Lira FS, Esteves AM, Pimentel GD, Rosa JC, Frank MK, Mariano MO, et al. Sleep pattern and locomotor activity are impaired by doxorubicin in non-tumor-bearing rats. *Sleep Science*. 2016;9(3):232-5.
 23. Louw MJ, Crandall AD, Murphy TS, Reynolds MS, Bernhisel D, Hancock CR. Exercise Limits Loss of Respiratory Function Seen with Doxorubicin Treatment without Affecting Muscle Function. *The FASEB Journal*. 2016;30(1 Supplement):1288.6-6.
 24. Ghadami MR, Pourmotabbed A. The effect of crocin on scopolamine induced spatial learning and memory deficits in rats. *Physiology and Pharmacology*. 2009;12(4):287-95.
 25. Khalili M, Hamzeh F. Effects of active constituents of *Crocus sativus* L., crocin on streptozocin-induced model of sporadic Alzheimer's disease in male rats. *Iranian biomedical journal*. 2010;14(1-2):59.
 26. SUGIURA M, SHOYAMA Y, SAITO H, NISHIYAMA N. Crocin improves the ethanol-induced impairment of learning behaviors of mice in passive avoidance tasks. *Proceedings of the Japan Academy, Series B*. 1995;71(10):319-24.
 27. Huang H-C, Jiang Z-F. Accumulated amyloid- β peptide and hyperphosphorylated tau protein: relationship and links in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2009;16(1):15-27.
 28. Hosseini M, Rajaei Z, Alaei H, Tajadini M. The Effects of Crocin on 6-OHDA-Induced Oxidative/Nitrosative Damage and Motor

Behaviour in Hemiparkinsonian Rats. The Malaysian journal of medical sciences: MJMS. 2016;23(6):35.

29. Ettehadi H, Mojabi, S. N., Ranjbaran, M., Shams, J., Sahraei, H., Hedayati, M., & Asefi, F. . Aqueous Extract of Saffron (*Crocus sativus*) Increases Brain Dopamine and Glutamate Concentrations in Rats. 2013.

30. Schapira AH. Molecular and clinical pathways to neuroprotection of dopaminergic drugs in Parkinson disease. Neurology. 2009;72(7 Supplement 2):S44-S50.

31. Rao SV, Yeniseti SC, Rajini PS. Evidence of neuroprotective effects of saffron and crocin in a *Drosophila* model of parkinsonism. NeuroToxicology. 2016;52:230-42.