مقاله پژوهشی

تاثیر عصاره اتانولی زعفران (*Crocus Sativus L.*) بر بهبود پارامترهای حافظه فضایی در مدل تجربی پارکینسون در رت‌های نر

حمیرا حاتمی*، غلامرضا دهقان

گروه زیست شناسی جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۴/۰۶/۲۲ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۱۱/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: نقش محوری استرس اکسیداتیو در پاتوفیزیولوژی بیماری پارکینسون مشخص گردیده است. از طرفی اختلال در حافظه و یادگیری در بیماری پارکینسون نمود مشخصی دارد. از آنجایی که زعفران دارای اثرات آنتی اکسیدانی قوی می‌باشد، هدف مطالعه حاضر بررسی اثرات تقویتی عصاره زعفران بر حافظه فضایی در رت‌های پارکینسونی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، تعداد ۳۵ سر رت نر با وزن تقریبی ۵۰±۲۵۰ گرم به صورت تصادفی در ۵ گروه شامل: کنترل، شاهد (دریافت کننده سالین+ اسکوربات)، پارکینسونی (تزریق ۶-هیدروکسی دوپامین) و ۲ گروه پارکینسونی+ پیش تیمار عصاره زعفران (µg/rat ۵ و µg/rat ۱۰، به مدت زمان ۵ روز) تقسیم شدند. ایجاد مدل پارکینسونی با تزریق داخل مغزی ۶-هیدروکسی دوپامین (۲/۵ میکروگرم بر میکرولیتر) صورت گرفت. جهت ارزیابی یادگیری و حافظه فضایی از آزمون ماز آبی موریس استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با روش آنالیز واریانس یک طرفه انجام شد.

نتایج: تزریق داخل مغزی۶-هیدروکسی دوپامین باعث افزایش مدت زمان یافتن سکو و تخریب حافظه فضایی گردید ($P<۰/۰۵$). پیش تیمار عصاره زعفران (۵ و ۱۰ میکرو گرم به مدت ۵ روز) حافظه فضایی کاهش یافته در رت‌های پارکینسونی را به طور معنی داری بهبود بخشید ($P<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: عصاره زعفران قادر است پارامترهای وابسته به حافظه فضایی همچون مدت زمان یافتن سکو و مسافت طی شده برای یافتن سکو را در رت‌های پارکینسونی به گروه کنترل نزدیک نماید.

کلمات کلیدی: **پارکینسون، عصاره زعفران، حافظه فضایی، ماز آبی موریس**

مقدمه

پارکینسون که نوعی بیماری مغزی پیشرونده است، یکی از شایع ترین بیماری‌های نورولوژیک می‌باشد (۱). در بیماری پارکینسون اختلال در هوشیاری، حافظه، توانایی ادراک و کاهش عملکرد بینایی- فضایی وجود دارد (۲). پارکینسون توانایی‌های عملکردی و حرکتی افراد را کاهش می‌دهد. در بیماران مبتلا به پارکینسون اختلال در انجام حرکات ارادی بیشتر ناشی از برادی کینزیا (آهستگی در شروع و انجام حرکت) است که به معلولیت کلی در بیماران می‌انجامد (۳). دژنراسیون نورون‌های دوپامینرژیک در هسته جسم سیاه و به دنبال آن نقص در آزادسازی دوپامین در ناحیه استریاتوم مغز به عنوان عامل اصلی ایجاد این بیماری مطرح می‌باشد (۴). دوپامین به عنوان یک سوبسترای بالقوه در شکل پذیری سیناپسی و مکانیسم‌های حافظه معرفی شده است (۵). در مورد نقش دوپامین در حافظه و یادگیری، شواهد فارماکولوژیکی وجود دارد (۶). هر دو گیرنده دوپامینی (D_1 , D_2) در فرآیندهای مختلف یادگیری و حافظه نقش دارند (۷). مشخص شده است که گیرنده‌های دوپامینی موجب افزایش شناخت غیرفعال (۸) و بهبود کارآیی شناختی در موش‌ها می‌شوند و بر یادگیری تاثیری ندارند (۹). در سال‌های

* **نویسنده مسئول: حمیرا حاتمی**، گروه زیست شناسی جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. homeirahatami@yahoo.com

اخیر مطالعات زیادی اختلال عملکرد شناختی در بیماران پارکینسون را شرح داده‌اند که به طور قابل توجهی با وضعیت ناتوانی آن‌ها در ارتباط می‌باشد. اختلال عملکرد شناختی ممکن است شامل از دست دادن حافظه، اختلال در تمرکز، کند شدن پردازش اطلاعات و مشکلاتی در تکلیف‌های شناختی مختلف باشد (۱۰). اختلال حافظه یکی از شایع ترین اختلالات عملکرد شناختی در بیماری پارکینسون می‌باشد و در ۴۰ الی ۶۰ درصد بیماران مشاهده می‌شود (۱۱).

از طرفی، به دلیل نیاز مغز به مقدار قابل توجه انرژی و اکسیژن، بافت استریاتوم مستعد آسیب‌های اکسیداتیو بوده و افزایش استرس اکسیداتیو مغز در سنین بالا، زمینه ساز ابتلا به بیماری پارکینسون می‌باشد (۱۲). استرس اکسیداتیو، در نتیجه عدم تعادل بین تشکیل و تخریب پرواکسیدان‌ها وکاهش مکانیسم‌های محافظتی ضد اکسیداسیون سلولی می‌باشد که ممکن است به افزایش آسیب سلولی و کاهش حافظه منجر گردد (۱۳).

زعفران (Crocus sativus L.) گیاهی چند ساله از تیره‌ی زنبق Iridaceaeبه ارتفاع ۱۰ تا ۳۰ سانتی متر و دارای پیازی سخت و مدور و گوشت دار و پوشیده از غشاهای نازک و قهوه‌ای رنگ است (۱۴). چهار ترکیب عمده فعال زیستی در زعفران، کروسین، کروستین، پیکروکروسین و سافرانال می‌باشند که نه تنها در مشخصات حسی زعفران (به ترتیب رنگ، طعم و عطر) بلکه در خواص بهبود دهنده سلامت نیز دخالت دارند (۱۵). مطالعات زیادی نشان داده‌اند که کروسین و کروستین (که ترکیبات فعال زعفران هستند)، قادر هستند اثرات حفاظتی دارویی متنوعی را اعمال کنند که به ظرفیت آنتی اکسیدانی این ترکیبات نسبت داده می‌شود (۱۶). چندین مطالعه گزارش کرده‌اند که عصاره زعفران و دو جزء اصلی آن کروسین و کروستین، حافظه و مهارت‌های یادگیری را در موش‌هایی که رفتار یادگیری آن‌ها با القای اتانول دچار اختلال شده است، بهبود می‌بخشد. این نتایج پیشنهاد می‌کنند که تجویز خوراکی زعفران می‌تواند در درمان بیماری‌های نورودژنراتیو و اختلالات حافظه مربوط به آن مفید باشد (۱۴). بر اساس نتایج Pitsikas و همکاران در سال‌های ۲۰۰۶ و ۲۰۰۷، کروسین‌های مشتق شده از عصاره زعفران با اختلالات وابسته به تأخیر حافظه تشخیصی در موش‌های صحرائی سالم، مقابله می‌کند که نشانگر نقش این کاروتنوئیدها در تعدیل ذخیره و یا فراخوانی اطلاعات می‌باشد. همچنین تیمار با عصاره زعفران اختلالات عملکردی القاء شده توسط اسکوپولامین در رفتار اجتنابی غیرفعال موش‌های صحرائی و در آزمون ماز آبی-شعاعی را بهبود می‌بخشد. این نتایج بیانگر تأثیر عصاره زعفران و ترکیبات فعال آن کروسین‌ها، بر مکانیسم‌های زیربنایی حافظه تشخیصی و فضایی می‌باشد (۱۷).

زعفران به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی با گرفتن رادیکال‌های آزاد، فعالیت‌های یادگیری و حافظه را تحت تاثیر قرار می‌دهد. همچنین زعفران به عنوان یک عامل حفاظتی در درمان نقایص شناختی محسوب می‌شود. بنابراین به نظر می‌رسد عصاره زعفران به واسطه تعدیل وضعیت ردوکس سلول‌های تحت شرایط استرس اکسیداتیو، به ویژه سلول‌های مغزی، اثرات حفاظتی خود را بر سیستم اعصاب مرکزی و عملکرد شناختی در شرایط پاتولوژیک اعمال می‌کند. از این رو در مطالعه حاضر تاثیر عصاره زعفران بر بهبود حافظه فضایی در رت‌های پارکینسونی پیش تیمار با زعفران بررسی شد.

مواد و روش‌ها

حیوانات: در این مطالعه تجربی از ۳۵ سر موش صحرائی نر با محدوده وزنی ۵۰±۲۵۰ گرم استفاده شد که به طور تصادفی در پنج گروه هفت تایی قرار داده شدند. همه رت‌ها دارای شرایط یکسان دمایی ۲±۲۲ درجه سانتی گراد و دوره ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی بودند. کلیه آزمایشات بر اساس پروتکل و موازین اخلاقی حمایت از حیوانات آزمایشگاهی به انجام رسید.

گروه‌های آزمایشی:

گروه کنترل (هیچ تیماری روی آن‌ها صورت نمی‌گیرد).

گروه شاهد (به دنبال جراحی، تزریق حلال نرمال سالین ۰/۹ درصد که حاوی اسید اسکوربیک ۰/۲ درصد می‌باشد به درون مغز میانی انجام می‌گیرد).

گروه پارکینسونی (به دنبال جراحی، جهت القای پارکینسون ۶-هیدروکسی دوپامین (۲/۵ میکروگرم بر میکرولیتر) داخل مغز میانی تزریق می‌گردد).

گروه پیش تیمار رت‌های پارکینسونی با عصاره زعفران (با دوز ۵ µg/rat) به مدت ۵ روز.

گروه پیش تیمار رت‌های پارکینسونی با عصاره زعفران (با دوز ۱۰ µg/rat) به مدت ۵ روز.

تهیه عصاره الکلی زعفران: زعفران مورد استفاده از شرکت نوین زعفران (مشهد ایران) تهیه گردید. ابتدا کلاله زعفران پودر گردید. سپس با استفاده از حلال اتانولی اقدام به عصاره گیری به روش سوکسله گردید. در این روش عصاره گیری، ۱۰ گرم پودر کلاله زعفران در ۳۰۰ میلی لیتر اتانول ۸۰٪ به مدت سه روز خیسانده شد. پس از صاف کردن محلول به دست آمده با صافی، حلال توسط دستگاه اواپوراتور تحت خلاء و در دمای ۶۰-۵۰ °C حذف شد. عصاره به دست آمده تا زمان استفاده در یخچال نگه داری شد (۱۸).

روش القاء پارکینسون به شیوه جراحی: حیوانات با استفاده از کتامین (۱۰۰ mg/kg) و زایلازین (۵ mg/kg) به شیوه درون صفاقی بیهوش شدند (۱۹). سپس سر آن‌ها در دستگاه استریوتاکسیک جراحی مغز ثابت شد و با ایجاد شکاف طولی در بخش خلفی سر، جمجمه نمایان گردید. بعد از مشخص کردن مختصات استریوتاکس طبق اطلس پاکسینوس (DV = -۸/۳؛ ML = ۱/۶ AP = -۴/۸؛ (۲۰) با کمک دریل دو سوراخ در جمجمه ایجاد گردید و کانول مخصوص تزریق به آرامی وارد جسم سیاه شد. تزریق ۶-هیدروکسی دوپامین در گروه‌های پارکینسونی با استفاده از سرنگ همیلتون با حجم ۲/۵ میکرولیتر در هر جایگاه انجام شد. گروه شاهد نیز به همین روش تحت جراحی قرار گرفتند ولی به جای ۶-هیدروکسی دوپامین حجم مساوی از سالین اسکوربات دریافت کردند (۲۱).

روش مطالعه یادگیری فضایی در ماز آبی موریس: جهت ارزیابی پارکینسون القا شده توسط ۶-هیدروکسی دوپامین و نیز اثرات حفاظتی عصاره زعفران بر حافظه و یادگیری فضایی، روش ماز آبی موریس استفاده شد. این دستگاه از یک حوضچه استوانه‌ای شکل سیاه رنگ تشکیل شده که تا ارتفاع ۲۵ سانتی متر آن با آب ۲۰±۱°C پر شد. یک سکوی کوچک از جنس فلز تیره رنگ با قطر ۱۰ سانتی متر و یک سانتی متر زیر سطح آب در مرکز ربع دایره جنوب غربی قرار دارد. هر یک از حیوانات به طور تصادفی از یکی از ربع‌های حوضچه آزاد شده و زمان پیدا کردن سکو توسط آزمایشگر ثبت گردید.

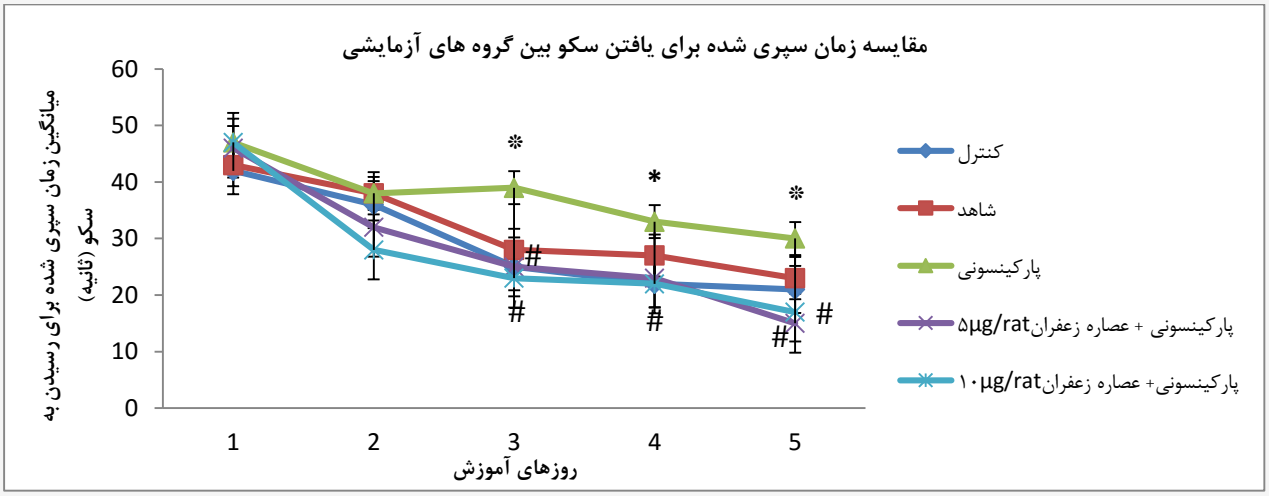
هر رت به مدت ۵ روز و هر روز یک نوبت (هر نوبت شامل ۴ تجربه) از ۴ ربع حوضچه به طور تصادفی تحت آزمایش قرار گرفت. یک تجربه، زمانی به اتمام می‌رسید که رت بر روی سکو رفته و یا ۶۰ ثانیه می‌گذشت. سپس ۱۵ ثانیه به حیوان فرصت داده می‌شد و پس از آن تجربه بعدی شروع می‌گردید. رت‌هایی که محل سکو را پیدا نمی‌کردند توسط آزمایشگر به روی سکو منتقل شده و اجازه می‌یافتند ۱۵ ثانیه در آن جا بمانند. پس از اتمام تجربه چهارم، رت‌ها از حوضچه خارج می‌شدند. در این مطالعه از ماز آبی موریس برای سنجش حافظه‌ی فضایی استفاده شد زیرا انجام فعالیت‌های لازم در این سیستم، نیازمند عملکرد درست حافظه است (۲۲).

روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها: جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی Tukey استفاده و P<۰/۰۵ از لحاظ آماری معنی دار تلقی شد.

نتایج

القای مدل تجربی پارکینسون با استفاده از تزریق درون بطنی ۶-هیدروکسی دوپامین (۲/۵ میکروگرم بر میکرولیتر) سبب کاهش حافظه و یادگیری در موش‌های مورد مطالعه شد. نتایج آزمایشات انجام شده در ماز آبی موریس در طی ۵ روز متوالی از مرحله یادگیری، نشان داد که بین رت‌های گروه کنترل، شاهد، پارکینسونی و گروه پیش تیمار موش‌های پارکینسونی با عصاره زعفران با دو دوز متفاوت ۵µg/rat و ۱۰ µg/ra به مدت ۵ روز تفاوت معنی داری از نظر میزان یادگیری مشاهده می‌شود (p<۰/۰۵). تفاوت معنی داری بین گروه‌ها از نظر سن، وزن و میانگین سرعت شنا کردن مشاهده نشد، اما تفاوت معنی داری در پارامتر مسافت طی شده و مدت زمان لازم برای یافتن سکو، در گروه‌های مختلف نشان داده شد، به طوری که رت‌های گروه کنترل، شاهد و رت‌های دریافت کننده عصاره زعفران با دوز ۵µg/rat و ۱۰ µg/rat به مدت ۵ روز مسافت کمتری را نسبت به رت‌های پارکینسونی برای پیدا کردن سکو طی کردند (p<۰/۰۵).

در روز اول آموزش تفاوت معنی داری بین گروه‌های آزمایش در متوسط زمان یافتن سکو مشاهده نشد (نمودار ۱). در روز دوم آموزش مدت زمان یافتن سکو برای رت‌های پارکینسونی پیش تیمار با عصاره زعفران با دو دوز ۵µg/rat و ۱۰ µg/rat به مدت ۵

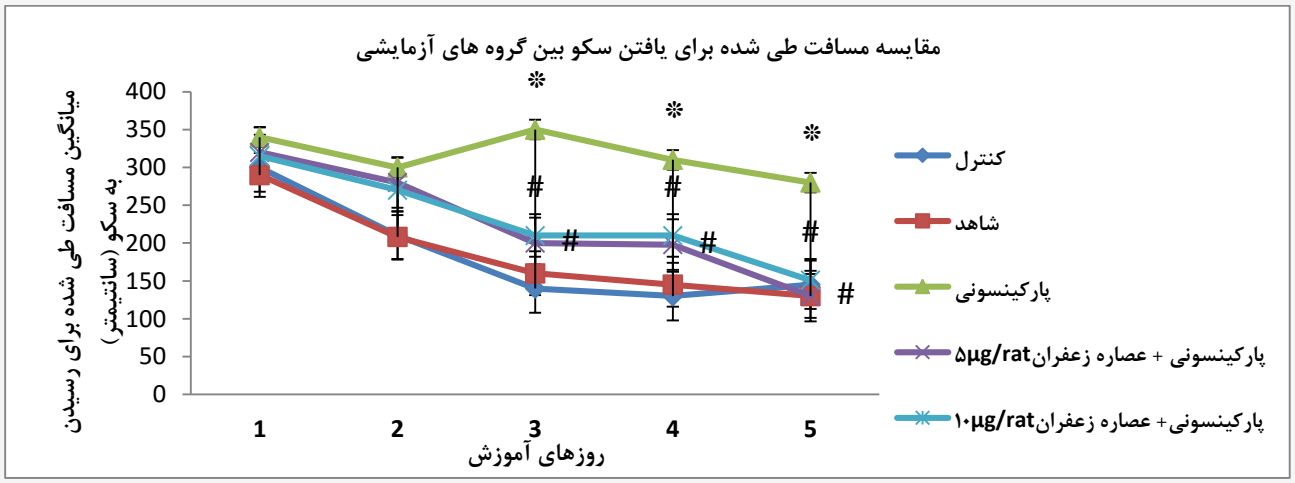


نمودار ۱. مقایسه میانگین زمان سپری شده برای یافتن سکو در روزهای آموزش در گروه‌های کنترل، گروه دریافت کننده سالین اسکوربات (sham)، گروه PD، گروه پارکینسونی پیش تیمار با عصاره زعفران ۵ µg/rat به مدت ۵ روز و گروه پارکینسونی پیش تیمار با عصاره زعفران ۱۰ µg/rat به مدت ۵ روز. ۰.۰۵ >P* بیانگر اختلاف معنی داری نسبت به گروه کنترل می‌باشد. ۰.۰۵>P≠ بیانگر اختلاف معنی داری نسبت به گروه پارکینسونی می‌باشد.

روز با این که از لحاظ آماری معنی دار نبود ولی نسبت به گروه پارکینسونی کمتر بود (نمودار ۱). نتایج نشان داد که رت‌های کنترل و پیش تیمار با عصاره زعفران با دو دوز ۵µg/rat و ۱۰µg/rat به مدت ۵ روز به شکل معنی داری به مدت زمان

پارکینسونی پیش تیمار با عصاره زعفران با دوزهای ۵µg/rat و ۱۰µg/rat نسبت به گروه پارکینسونی کم تر بود (نمودار ۱).

در روز ۴ و ۵ آموزش، رت‌های کنترل و پیش تیمار با عصاره زعفران با دو دوز ۵ و ۱۰ میکروگرم بر رت به شکل معنی داری



نمودار ۲. مقایسه میانگین مسافت طی شده برای یافتن سکو در روزهای آموزش در گروه‌های کنترل، گروه دریافت کننده سالین اسکوربات (sham)، گروه PD، گروه پارکینسونی پیش تیمار با عصاره زعفران ۵ µg/rat به مدت ۵ روز و گروه پارکینسونی پیش تیمار با عصاره زعفران ۱۰ µg/rat به مدت ۵ روز. ۰.۰۵ >P* بیانگر اختلاف معنی داری نسبت به گروه کنترل می‌باشد. ۰.۰۵>P≠ بیانگر اختلاف معنی داری نسبت به گروه پارکینسونی می‌باشد.

کمتری برای پیدا کردن سکو نسبت به رت‌های پارکینسونی نیاز دارند (p<۰/۰۵). در روز سوم آموزش مدت زمان برای رت‌های

به مدت زمان کمتری برای پیدا کردن سکو نسبت به رت‌های پارکینسونی نیاز داشتند (p<۰/۰۵) (نمودار ۱).

در روز اول و دوم آموزش تفاوت معنی داری بین گروه‌ها در مسافت طی شده برای یافتن سکو مشاهده نشد. در روز سوم آموزش مسافت طی شده توسط رت‌های پارکینسونی نسبت به سایر گروه‌ها بیشتر بود ($p<۰/۰۵$). در روز ۴ و ۵ آموزش مسافت طی شده توسط رت‌های کنترل، شاهد و رت‌های پارکینسونی پیش تیمار با عصاره زعفران با دوز ۵ و ۱۰ میکروگرم بر رت به مدت ۵ روز به طور معنی داری کمتر از مسافت طی شده توسط رت‌های پارکینسونی بود ($p<۰/۰۵$) (نمودار ۲).

بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه کاهش مسافت و زمان طی شده در گروه‌های پیش تیمار با عصاره زعفران در یافتن سکو در مقایسه با گروه پارکینسونی مشاهده شد. با توجه به کاهش معنی دار زمان لازم برای پیدا کردن سکو در رت‌های پیش تیمار با عصاره زعفران (با دوز 5µg/rat و ۱۰ µg/rat) نسبت به گروه پارکینسونی و کاهش معنی دار مسافت طی شده برای یافتن سکو در رت‌های پیش تیمار با عصاره زعفران (با دوز ۵ µg/rat و ۱۰ µg/rat) نسبت به گروه پارکینسونی، می‌توان نتیجه گرفت که عصاره زعفران در تخفیف بیماری پارکینسون می‌تواند موثر باشد. اخیراً پیشنهاد شده است که اثر مثبت زعفران بر روی فرآیندهای یادگیری و حافظه، به دلیل فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیبات فعال آن می‌باشد (۲۳). به نظر می‌رسد کروسین به عنوان ترکیب و آنتی اکسیدان اصلی در زعفران، عامل اثرات بهبود دهنده‌ی عصاره‌ی زعفران بر روی حافظه باشد (۲۴).

بر اساس نتایج مطالعه رفتاری انجام شده توسط قدمی و همکارش در سال۲۰۰۹، تزریق داخل صفاقی کروسین به مدت ۶ روز متوالی، اثرات تخریبی اسکوپولامین در روند یادگیری و حافظه فضایی موش صحرائی را به صورت وابسته به دوز بهبود بخشید (۲۵). همچنین، مطالعه انجام گرفته توسط خلیلی و همکارش در سال ۲۰۱۲، در رابطه با ارتباط بین ترکیبات فعال زعفران یعنی کروسین‌ها و نقایص شناختی در بیماری آلزایمر نشان می‌دهد که استفاده از کروسین به عنوان تیمار به مدت سه هفته در موش‌های صحرائی که با تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین بیماری آلزایمر در آن‌ها القا شده بود؛ به طور قابل توجهی یادگیری، حافظه و مهارت‌های شناختی فضایی را بهبود می‌بخشد (۱۹).

دشتی و همکاران گزارش کردند که عصاره هیدروالکلی زعفران در پیشگیری و درمان اختلالات یادگیری و نقایص حافظه القا شده توسط D- گالاکتوز و نیتریت سدیم، در آزمون‌های اجتنابی فعال و غیر فعال موثر می‌باشد (۲۶). در بررسی دیگری که عصاره زعفران و جزء فعال آن کروسین به عنوان تیمار انتخاب شده بود باعث بهبودی نقایص شناختی القا شده توسط هیپوپرفیوژن مزمن مغزی در موش‌های صحرائی شد (۲۴).

بر طبق تحقیقات انجام شده، مصرف خوراکی عصاره گیاه زعفران باعث توقف تخریب سلولی در جسم سیاه و کاهش ظهور اختلالات عملکردی در موش‌های پارکینسونی شده، می‌شود (۲۷). در مطالعه‌ای دیگر، مشخص شد که عصاره برگ این گیاه باعث کاهش اختلالات رفتاری ناشی از آسیب‌های ایجاد شده توسط ۶-هیدروکسی دوپامین می‌شود (۲۸). زعفران در موش صحرایی با تاثیر بر گیرنده‌های دخیل در یادگیری و حافظه فضایی در سلول‌های عصبی، موجب بهبود در پردازش اطلاعات فضایی می‌شود (۲۹).

براساس نتایج خلیلی و همکاران در سال ۲۰۰۹، تجویز عصاره آبی زعفران به طور قابل توجهی اختلالات یادگیری و حافظه در آزمون اجتنابی غیرفعال را در مدل‌های تجربی آلزایمر بهبود می‌بخشد (۳۰).

با توجه به نتایج این مطالعه می‌توان فهمید که تزریق درون مغزی ۶-هیدروکسی دوپامین با القاء پارکینسون سبب اختلال پیشرونده در حافظه و یادگیری و متابولیسم انرژی می‌شود. همچنین پیش تیمار موش‌های پارکینسونی با عصاره زعفران می‌تواند اثر ۶-هیدروکسی دوپامین را در کاهش حافظه فضایی در طی بیماری پارکینسون کم تر کند. با وجود این که علت مرگ نورون‌ها در پارکینسون به طور دقیق مشخص نیست، مطالعات نشان داده است که عملکرد نادرست میتوکندری با افزایش استرس اکسیداتیو می‌تواند آپوپتوز نورون‌ها را افزایش دهد و سبب کاهش حافظه فضایی گردد (۳۱). با توجه به جستجوی نویسندگان اثرات تزریق درون مغزی زعفران با دوزهای یاد شده

در بهبود حافظه فضایی طی مدل تجربی پارکینسون مورد بررسی قرار نگرفته است، بنابراین محتمل است که زعفران با اثر آنتی اکسیدانی خود سبب بهبود حافظه فضایی در بیماران پارکینسونی گردد. از آنجایی که مصرف زعفران در تقویت حافظه موثر است؛ لذا گنجاندن آن در رژیم غذایی توصیه می‌گردد.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی محترم دانشگاه تبریز در تامین اعتبار لازم قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده اند.

References

1. Saunders Pullman R. Estrogens and Parkinson disease: neuroprotective, symptomatic, neither, or both. Endocrine. 2005; 21 (1): 81-7.
2. Sullivan RM, Gratton A. Relationships between stress-induced increases in medial prefrontal cortical dopamine and plasma corticosterone levels in rats: role of cerebral laterality. Neurosci. 1998; 83:81–91.
3. Platz T, Brown RG, Marsden CD. Training improves the speed of aimed movement in Parkinson's disease. Brain. 1998;121: 505- 14.
4. Dauer W, Przedborski S. Parkinson's Disease: Mechanisms and Models. Neuron. 2003;39(6): 889-909.
5. Jay TM. Dopamine: A potential substrate for synaptic plasticity and memory mechanisms. Progress in Neurobiology. 2003; 69:375-390.
6. Nail-Boucherie K, Dourmap N, Jaffard R, Costentin J. The specific dopamine uptake inhibitor GBR 12783 improves learning of inhibitory avoidance and increases hippocampal acetylcholine release. Cognitive Brain Research. 1998;7(2): 203-205.
7. Pakard MG, White NM. Memory facilitation produced by dopamine agonists: Role of receptor subtypes and mnemonic requirements. Pharmacology, Biochemistry and Behavioral. 1989; 33:511-518.
8. Bernabeun R, Bevilaqua L, Ardenghi P., Bromberg E, Schmitz P, Bianchin M, Izquierdo I, Medina JH. Involvement of hippocampal cAMP/cAMP-dependent protein kinase signaling pathways in a late memory consolidation phase of aversively motivated learning in rats. Procceding of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1997; 94(13):7041-7046.
9. Wilkerson A, Levin ED. Ventral hippocampal dopamine D1 and D2 systems and spatial working memory in rats. Neuroscience. 1999;89(3):743-749.
10. Fauci AS, Kasper DL, B raunwald E, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, et al. Harrison's Principles of Internal Medicine. 74th ed. USA: McGraw-Hill's access medicine; 2008.
11. Guimarães J, Sá MJ. Cognitive dysfunction in Multiple Sclerosis. Frontiers in Neurology. 2012;3(74): 1-8.
12. Victor M, Ropper A. Adams and victor's principles of neurology. 7th ed. London: McGraw-Hill; 2001,158-65.
13. Cunnane SC, Plourde M, Pifferi F, Bégin M, Féart C, Barberger-Gateau P. Fish, docosahexaenoic acid and Alzheimer's disease. Prog Lipid Res. 2009;48(5):239-56.
14. Abdullaev F, Espinosa-Aguirre J. Biomedical properties of saffron and its potential use in cancer therapy and chemoprevention trials. Cancer Detection and Prevention. 2004; 28(6): 426-432.
15. Melnyk JP, Wang S, Marcone MF. Chemical and biological properties of the world's most expensive spice: Saffron. Food Research International. 2010;43(8):1981-1989.
16. Shati A, Elsaid F, Hafez E. Biochemical and molecular aspects of aluminium chloride-induced neurotoxicity in mice and the protective role of Crocus sativus L. extraction and honey syrup. Neuroscience. 2011;175(23): 66-74.
17. Pitsikas N, Sakellaridis N, Crocus sativus L. extracts antagonize memory impairments in different behavioural tasks in the rat. Behavioural Brain Research. 2006; 173(1): 112-115.
18. Mousavi SH, Tavakkol-Afshari J, Brook A, Jafari-Anarkooli I. Role of caspases and Bax protein in saffron-induced apoptosis in MCF-7 cells. Food and Chemical Toxicology. 2009;47(8):1909-1913.
19. 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):59-65.
20. Paxinos G, Watson C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. New York: Academic press; 2007.
21. Hooshmandi Z, Rohani AH, Eidi A, Fatahi Z, Golmanesh L, Sahraei H. Reduction of metabolic and behavioral signs of acute stress in male Wistar rats by saffron water extract and its constituent safranal. Pharmaceutical Biology. 2011;49(9):947-954.
22. Giralt A, Saavedra A, Carretón O, Xifró X, Alberch J, Pérez-Navarro E. Increased PKA signaling disrupts recognition memory and spatial memory: role in Huntington's disease. Human Molecular Genetics. 2011; 20(21):4232-4247.
23. Papandreou MA, Tsachaki M, Efthimiopoulos S, Cordopatis P, Lamari FN, Margarity M. Memory enhancing effects of saffron in aged mice are correlated with antioxidant protection. Behavioural Brain Research. 2011;219(2):197-204.
24. Hosseinzadeh H, Sadegnia HR, Motamedshariaty V, Ghaeni FA, Mohajeri S. Effects of saffron (Crocus sativus L.) and its active constituent, crocin, on recognition and spatial memory after chronic cerebral hypoperfusion in rats. Phytotherapy Research. 2012; 26(3): 381-386.
25. Ghadami M R, Pourmotabbed A. The effect of Crocin on scopolamine induced spatial learning and memory deficits in rats. Physiology and Pharmacology. 2009;12(4):287-295.
26. Dashti-ra MH, Anvari M, Hosseini SM, Zeinalib F. Saffron (Crocus sativus L) extract prevents and improves D-galactose and NaNO2 induced memory impairment in mice. EXCLI Journal. 2012; 11:328-337.
27. Van Kampen J, Robertson H, Hagg T, Drobitch R. Neuroprotective actions of the ginseng extracts G115 in two rodent models of Parkinson's disease. Experimental Neurology. 2003;184(1):521-9.
28. Kim MS, Lee JI, Lee WY, Kim SE. Neuroprotective effect of Ginkgo biloba L. extract in a rat model of Parkinson's disease. Phytother Res. 2004;18(8):663-6.
29. Ghadrdoost B, Vafaei AA, Rashidy-PourA, 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):222-229.
30. Khalili M, Roghani M, Ekhlasi M. The effect of aqueous Crocus sativus L. extract on intracerebroventricular streptozotocin-induced cognitive deficits in rat: a behavioral analysis. Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 2009;8(3):185-191.
31. Swerdlow RH, Parks JK, Miller SW, Tuttle JB, Trimmer PA, Sheehan JP, et al. Origin and functional consequences of the complex I defect in Parkinson’s disease. Ann. Neurol. 1996; 40 (4):663–671.

Original Article

The Effect of Ethanolic Extract of Saffron (*Crocus Sativus* L.) on Improving the Spatial Memory Parameters in the Experimental Models of Parkinson Disease in Male Rats

Hatami H*, Dehghan GH

Department of Animal Biology, Faculty of Natural Sciences, Tabriz University, Tabriz, Iran.

Received: 13 Sep 2015 Accepted: 25 Jan 2016

Abstract

Background & Objective: The axial role of the oxidative stress in the pathophysiology of Parkinson disease has been identified. On the other hand, the learning and memory impairment in Parkinson disease has a distinguished outlook. Since Saffron has antioxidative stress effects, the aim of the present study is to investigate the improving effects of Saffron extract on the spatial memory parameters in the experimental models of Parkinson disease in male rats.

Methods & Materials: In this experimental study, 35 male rats weighing approximately 250±50 gram were randomly divided in five equal groups: control, sham (saline + ascorbat), Parkinson's model (injection of 6-OHDA, 2/5 µg/ µl) and 2 groups of Parkinson's model + saffron extract pretreatment (5 and 10 µg/rat for 5 days). The Parkinson's induction model was made by intracerebral injection of 6 – hydroxy dopamine. The Morris Water maze was used for studying the spatial learning and memory. The data analysis was performed by using One-Way ANOVA.

Results: Intracerebral injection of 6- hydroxy dopamine increased the time latency required for finding the hidden platform and damaged the spatial memory ($P<0.05$). The pretreatment of Saffron extract (5 and 10 µg/rat, 5 days) improved the reduced spatial memory in Parkinson's rats ($P < 0.05$).

Conclusion: The Saffron extract is able to restore the spatial memory parameters such as the time latency and the distance travelled for finding the hidden platform in Parkinson's rats as compared to the level of the control group.

Keywords: **Parkinson, Saffron extract, Spatial Memory, Morris water maze**

*Corresponding author: **Homeira Hatami**, Department of Animal Biology, Faculty of Natural Sciences, Tabriz University, Tabriz, Iran.
Email: homeira hatami@yahoo.com.