مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی، دوره ۱۴، شماره ۱، بهار ۱۳۹۸
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شاهرود

DOI: 10.22100/jkh.v14i1.2129

مقاله پژوهشی

اثر کروسین بر اختلال یادگیری، حافظه فضایی و مرگ سلولی نکروز در ناحیه هیپوکامپ موش‌های صحرایی به‌دنبال سمیت عصبی ناشی از مت‌آمفتامین

منیره شفاهی[۱]، غلامحسن واعظی[۲]، هومن شجیعی[۳]، شهرام شرفی[۴]، مهدی خاکساری[*۵]

۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی جانوری- گروه زیست‌شناسی- واحد دامغان- دانشگاه آزاد اسلامی- دامغان- ایران.
۲- استاد- گروه زیست‌شناسی - گروه زیست‌شناسی- واحد دامغان- دانشگاه آزاد اسلامی- دامغان- ایران.
۳- استادیار- دکترای تخصصی زیست‌شناسی دریا- گرایش فیزیولوژی- گروه زیست‌شناسی- واحد دامغان- دانشگاه آزاد اسلامی- دامغان- ایران.
۴- استادیار- دکترای تخصصی زیست‌شناسی دریا- گرایش فیزیولوژی- گروه زیست‌شناسی- واحد دامغان- دانشگاه آزاد اسلامی- دامغان- ایران.
۵- دانشیار- دکترای تخصصی فیزیولوژی- دانشکده پزشکی- دانشگاه علوم پزشکی شاهرود- شاهرود. ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۹، **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۸/۱/۲۴

چکیده

مقدمه: *مت‌آمفتامین یک محرک قدرتمند سیستم عصبی مرکزی است سوءمصرف مت‌آمفتامین می‌تواند با آسیب غیرقابل برگشت سلول‌های مغزی همراه باشد و منجر به ناهنجاری‌های عصبی و روانی گردد. هدف از انجام این مطالعه ارزیابی تأثیرکروسین بر اختلال یادگیری، حافظه فضایی و مرگ سلولی نکروز در ناحیه هیپوکامپ موش های صحرایی به‌دنبال سمیت عصبی ناشی از مت‌آمفتامین بود.*

مواد و روش‌ها: *برای انجام این مطالعه تعداد ۶۰ رأس موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۵۰-۲۰۰ گرم و تحت شرایط استاندارد و بعد از گذراندن دوره سازگاری استفاده شد؛ مت‌آمفتامین با دوز۴۰ میلی‌گرم به ازای یک کیلوگرم وزن بدن به‌صورت ۴ دوز متوالی به فاصله دو ساعت داخل صفاق تزریق می‌گردد. درمان با کروسین به‌صورت تزریق داخل صفاق ۳۰ دقیقه، ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تزریق مت‌آمفتامین بود. سه روز پس از تزریق مت‌آمفتامین، آزمون حافظه فضایی توسط ماز آب موریس مورد بررسی قرار گرفت و سپس به جهت ارزیابی میزان مرگ سلولی نکروزیس از تکنیک رنگ‌آمیزی کریزل ویوله (نیسل) استفاده شد.*

نتایج: *یافته‌ها نشان داد که درمان با کروسین به‌طور قابل توجهی آسیب ناحیه CA1 هیپوکامپ و اختلالات حافظه و یادگیری فضایی ناشی از مت‌آمفتامین را بهبود می‌بخشد.*

نتیجه‌گیری: *باتوجه به این اثرات حفاظتی کروسین در شرایط پاتولوژیک، می‌توان آن را به‌عنوان یک عامل درمانی برای بیماری‌های مختلف معرفی کرد.*

واژه‌های کلیدی: کروسین، اختلالات حافظه و یادگیری، مرگ سلولی، ناحیه هیپوکامپ، نوروتکسیسیته، مت‌آمفتامین.

***نویسنده مسئول:** شاهرود- میدان هفت تیر- دانشگاه علوم پزشکی شاهرود- دانشکده پزشکی، **تلفن:** ۰۹۱۵۵۸۱۷۰۵۴، **نمابر:** ۳۲۳۹۵۰۰۹، **Email:** khaksari417@yahoo.com

ارجاع: شفاهی منیره، واعظی غلامحسن، شجیعی هومن، شرفی شهرام، خاکساری مهدی. اثرکروسین بر اختلال یادگیری، حافظه فضایی و مرگ سلولی نکروز در ناحیه هیپوکامپ موش‌های صحرایی به‌دنبال سمیت عصبی ناشی از مت‌آمفتامین. مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی ۱۳۹۸؛۱۴(۱):۱۲-۲۱.

مقدمه

استفاده از مت‌آمفتامین به شدت با عوارض مختلف پزشکی و عصبی در ارتباط است و دارای عوارض متعدد جانبی بر سلامت عصبی و دیگر ابعاد سلامت فرد مصرف‌کننده می‌شود. مت‌آمفتامین یک محرک قدرتمند سیستم عصبی مرکزی است که عملکرد نوروترنسمیترهای خاصی در مغز را تقلید می‌کند. مت‌آمفتامین باعث آزادسازی دوپامین، سروتونین و افزایش سطح گلوتامات در مغز می‌شود. سوءمصرف مت‌آمفتامین می‌تواند باعث اختلال در عملکردهای شناختی و آسیب به سیستم عصبی گردد (۱). مطالعات نشان دادند که مت‌آمفتامین سبب القای بیماری‌های تحلیل برنده‌ی عصبی (Neurodegenerative) در سلول‌های بدن نظیر سلول‌های عصبی می‌گردد. به نظر می‌رسد عارضه عصبی ناشی از مت‌آمفتامین، پاتوژنز مشابهی با دیگر اختلالات نوروژنیک مانند پارکینسون و بیماری آلزایمر دارد (۲). هر چند مکانیسم‌های تخریب سلول‌های عصبی در نتیجه مصرف مت‌آمفتامین در سیستم عصبی مرکزی به‌طور دقیق مشخص نشده است اما تحقیقات نشان داده که استرس اکسیداتیو، تغییر در عملکرد گیرنده‌های ان-متیل- د آسپارتات (NMDA: N-methyl-D-aspartate)، القاء آپوپتوز، فعال‌سازی میکروگلیا، هیپرترمی و در این امر دخیل می‌باشند (۳). استرس اکسیداتیو به علت سنتز مقدار زیادی رادیکال‌های آزاد و یا گونه‌های فعال اکسیژن (ROS: Reactive oxygen species) و گونه‌های فعال نیتروژن (RNS: Reactive nitrogen species) ایجاد می‌شود. به‌خوبی مشخص شده که افزایش استرس اکسیداتیوها به‌دنبال مصرف مت‌آمفتامین با کاهش در فعالیت آنتی‌اکسیدانت‌های اندروژن نظیر گلوتاتیون همراه می‌گردد و کاهش این آنتی‌اکسیدانت‌ها باعث افزایش ROS می‌شود. در واقع مت‌آمفتامین از طریق بهم‌ریختن سیستم آنتی‌اکسیدانتی سلول‌های عصبی منجربه ایجاد استرس اکسیداتیو و در نهایت مرگ سلولی می‌شود. شواهد نشان می‌دهد که مت‌آمفتامین از طریق استرس نقش مهمی در تخریب نورونی ROS اکسیداتیو و ایجاد و آسیب بافتی ایفاء می‌کند و متعاقب آن احتمال ابتلا به بیماری پارکینسون افزایش می‌یابد (۴). بررسی‌ها نشان داده که مت‌آمفتامین تولید رادیکال‌های سوپراکساید را افزایش داده است که این افزایش می‌تواند از فعال‌سازی گیرنده‌های NMDA ناشی شده باشد. در واقع می‌توان گفت که یکی دیگر از مکانیسم‌های سمّیت عصبی ناشی از مت‌آمفتامین توسط گیرنده‌های NMDA واسطه‌گری می‌شود که این گیرنده‌ها در سیستم عصبی مرکزی نقش مهمی در القای استرس اکسیداتیو و آپوپتوز سلولی بازی می‌کنند. مطالعه بر روی مدل‌های انسانی و حیوانی تیمار با مت‌آمفتامین بیانگر این است که مصرف مت‌آمفتامین سبب افزایش غلظت گلوتامات خارج سلولی می‌شود که افزایش گلوتامات از طریق فعال‌شدن گیرنده‌های NMDA موجب افزایش سطح کلسیم داخل سلولی می‌شود. افزایش کلسیم درون سلولی متعاقب مصرف مت‌آمفتامین از طریق مسیرهای مختلف باعث نوروتوکسیسیتی در سلول‌ها می‌شود (۵). پژوهش‌های متعدد ایجاد اختلالات شناختی از جمله کاهش و نقص در فرآیندهای حافظه، یادگیری کلامی، کنترل پاسخ، تمرکز، توجه و یادآوری را در بیماران مصرف‌کننده انواع مواد مخدر گزارش کرده‌اند. در پژوهش‌های مروری متعدد نشان دادند مصرف‌کنندگان مت‌آمفتامین در زمینه حافظه عملکردی، حافظه فضایی، برنامه‌ریزی و پردازش اطلاعات دچار اختلال عملکرد می‌شوند (۸-۶).

تشکیل حافظه جدید در هیپوکامپ است که خود بخشی از سیستم مزولیمبیک مغز می‌باشد، سیستم لیمبیک ناحیه‌ای از مغز است که با حافظه، عواطف و انگیزش در ارتباط است، لذا هیپوکامپ نقش بسیار مهمی در حافظه دارد، هیپوکامپ احساسات و عواطف را به حافظه متصل می‌کند. از طرفی مدار مزولیمبیک دوپامینرژیک یا مدار پاداش مغز محل اثر مواد مخدر است در مطالعات مختلف در انسان و موش در پاسخ به مت‌آمفتامین میزان NO، NO2، ONOO به‌طور چشمگیری در مناطق مختلف مغز افزایش می‌یابد (۹ و ۱۰). گزارش شده است حیواناتی که در معرض مت قرار می‌گیرند در جسم مخطط استرس شبکه آندوپلاسمی را نشان می‌دهند (۱۱ و ۱۲). پژوهش‌های متعدد نشان داده است، زعفران و ترکیبات فعال آن مثل کروستین، کروستین دی گلوکواستر، سافرون و کروسین اثر آنتی‌اکسیدانی قوی در مقابل آسیب‌های اکسیداتیو در کبد (۱۳)، کلیه (۱۴)، هیپوکامپ (۱۵)، عضله قلب (۱۶)، عضله اسکلتی (۱۷) و مغزی (۱۸، ۱۹) دارد. کروسین، دارای اثر خاصی در پیشگیری از اختلال ناشی از اتانول در یادگیری و حافظه می‌باشد. القاء تقویت طولانی‌مدت (LTP) در CA1 و مناطق چین‌های سینوسی دندانه‌دار هیپوکامپ اساسا به فعال‌سازی گیرنده گلوتامات از نوع N- متیل – D- آسپارتات (NMDA) نیاز دارد. کروسین به احتمال زیاد از مهار القاء تقویت طولانی مدت هیپوکمپ (که با اثرات مهار اتانول برگیرنده‌های NMDA مقابله می‌کند) توسط اتانل، جلوگیری می‌کند. هرچند هنوز روشن نیست که آیا کروسین به‌طور مستقیم بر روی مجموعه کانال‌های گیرنده NMDA اثر می‌کند و یا به‌صورت غیرمستقیم عملکرد گیرنده NMDA را مدوله می‌کند (۲۰).

مطالعات اخیر نشان داد، عصاره زعفران و کروسین در ایسکمی مغزی گلوبال و ایسکمی موضعی مغزی در موش سوری و در محیط In Vitro اثر محافظتی در مقابل استرس اکسیداتیو و آسیب نورونی دارد. در مطالعه ای که در سال ۲۰۰۹ در هند انجام گردید نشان داده شد، تجویز خوراکی کروسین در دوز ۵mg/kg، ۱۰، ۲۰ در بیست روز متوالی اثر محافظتی و

آنتی‌اکسیدانی در مقابل کاردیوتوکسیسیتی ناشی از ایزوپرترونول داشت (۲۱). علاوه بر این گزارش شده است تزریق داخل صفاقی عصاره تام زعفران و کروسین قبل از ایجاد ایسکمی باعث پیشگیری از آسیب اکسیداتیو القاء شده به‌دنبال ایسکمی می‌شود (۲۲). در پژوهشی نشان دادند، تزریق داخل صفاقی عصاره اتانولی زعفران و کروسین و سافرانال قبل از ایسکمی اثر محافظتی در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از ایسکمی – ری پرفیوژن در عضله اسکلتی، در موش صحرایی دارد (۲۳). در گزارش دیگری نشان داده شد، تزریق داخل وریدی کروسین، یکی در شروع ایسکمی و دیگری سه ساعت بعد از شروع ایسکمی مغزی موضعی حجم ضایعات مغزی در موش سوری به طور معنی‌دار کاهش می‌دهد (۲۴). مطالعه دیگری گزارش نمود تجویز خوراکی کروسین به‌طور معنی داری میزان شاخص پرکسیداسیون لیپیدهای غشای سلولی مالون دی آلدهید MDA)) را کاهش داده و سطح آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) و گلوتاتیون پراکسیداز (GSH-PX) را در مدل تجربی ایسکمی گلوبال افزایش داده است (۲۵). همچنین در همین مطالعه نشان داده شد، کروسین میزان NO و NOS را در عروق ریز کورتکس مغز به‌طور معنی‌داری کاهش می‌دهد (۲۶). در تحقیق دیگری گزارش شد، سافرانال (یکی از ترکیبات زعفران) اثر محافظتی در مقابل آسیب ناشی استرس اکسیداتیو در مدل تجربی ایسکمی گلوبال مغزی در موش صحرایی دارد و این عمل از طریق افزایش ظرفیت آنتی‌اکسید آنتی اعمال می‌شود (۲۷).

در این مقاله تأثیر نوروپروتکتیو کروسین بر بهبود حافظه فضایی از طریق مهار مرگ سلول‌های نکروز در برابر آسیب ناشی از مت‌آمفتامین بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

تعداد۶۰ راس موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار و inbreed با وزن تقریبی ۲۶۰–۳۰۰ گرم از پژوهشکده رویان تهران خریداری و تحت شرایط استاندارد با دوره معکوس روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته (۸ صبح تا ۸ شب) و دمای ۳ ± ۲۱ درجه سانتی‌گراد و دسترسی به آب آشامیدنی و غذای کافی نگهداری شدند. حیوانات برای سازگاری با محیط حداقل ۱۰ روز قبل از مطالعه به حیوانخانه منتقل شدند. رت ها سه بار در هفته وزن و با بررسی لازم اطمینان حاصل گردید که هیچکدام از حیوانات واجد بیماری یا دارای شواهدی دال بر بیماری نباشند. سپس رت‌ها به طور تصادفی در ۵ گروه ۱۲ تایی (گروه اول: شاهد control– گروه دوم: دریافت‌کننده مت‌آمفتامین با دوز ۴× ۱۰ mg/kg+ سالین به‌صورت داخل صفاق گروه سوم: دریافت‌کننده مت‌آمفتامین با دوز ۴× 10 mg/kg + کروسین با دوز mg/kg30، ۳۰ دقیقه ، ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تزریق مت‌آمفتامین (به‌صورت داخل صفاق)–گروه چهارم: دریافت‌کننده مت آمفتامین با دوز ۴× 10 mg/kg + کروسین با دوز ۶۰ mg/kg، ۳۰ دقیقه، ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تزریق مت‌آمفتامین (به‌صورت داخل صفاق)–گروه پنجم: دریافت‌کننده مت‌آمفتامین با دوز ۴× 10 mg/kg + کروسین با دوز ۹۰ mg/kg، ۳۰ دقیقه ، ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تزریق مت‌آمفتامین (به‌صورت داخل صفاق) تقسیم‌بندی شدند؛ مت‌آمفتامین با دوز ۱۰ میلی گرم به ازای یک کیلوگرم وزن بدن به‌صورت ۴ دوز متوالی به فاصله دو ساعت داخل صفاق تزریق می‌گردد. درمان با کروسین به‌صورت داخل صفاق ۳۰ دقیقه، ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تزریق مت‌آمفتامین تزریق شد.

سه روز بعد از تزریق مت‌آمفتاین برای سنجش یادگیری و حافظه فضایی از ماز آبی موریس استفاده شد. در این آزمون میزان یادگیری حیوانات به مدت ۵ روز متوالی (۴ روز آموزش و یک روز آزمون) ارزیابی شد. ماز آبی موریس از یک حوضچه استوانه‌ای شکل سیاه رنگ تشکیل شده که تا ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر با آب (22 ± 1oC) پر شد. حوضچه به ۴ ربع دایره (شمال، جنوب، شرق و غرب) تقسیم شده و یک سکوی مخفی کوچک از جنس فلز تیره رنگ یک سانتی‌متر زیر سطح آب در مرکز ربع دایره جنوب غربی قرار دارد. هر موش به‌طور تصادفی از یکی از ربع‌های حوضچه آزاد شده و سپس مدت زمان و مسافت طی شده تا پیدا کردن سکو ثبت شد. هر موش به مدت ۴ روز و هر روز یک نوبت (هر نوبت شامل ۴ تجربه) از ۴ ربع حوضچه به‌طور تصادفی رهاسازی و تحت آموزش و آزمایش قرار گرفت و در روز ۵ ارزیابی از آموزش صورت گرفت. یک تجربه زمانی به اتمام رسید که موش بر روی سکو رفته و یا ۹۰ ثانیه بگذرد. سپس ۳۰ ثانیه به حیوان فرصت داده شده و پس از آن تجربه بعدی شروع گردید. موش‌هایی که محل سکو را پیدا نکردند توسط آزمایش‌گر به روی سکو منتقل شده و اجازه یافتند ۳۰ ثانیه در آنجا بمانند. پس از اتمام تجربه چهارم موش‌ها از حوضچه خارج شدند. حرکات حیوان درون ماز آبی به‌وسیله یک نرم‌افزار کامپیوتری ردیابی و بررسی شد. در این آزمون، مدت زمان رسیدن به سکوی هدف به‌عنوان زمان تأخیرتا گریز یا مدت زمان لازم برای یافتن سکوی پنهان، مسافت طی شده برای رسیدن به سکو و سرعت طی شده در طول روزهای آموزش ثبت شد و همین‌طور در روز آزمون در روز ۵، سکو برداشته شد و به حیوانات اجازه داده‌شد تا به مدت ۶۰ ثانیه شنا کند و زمان صرف شده در منطقه هدف ثبت گردید.

۳–۷– فیکساسیون به روش پرفیوژن

برای آماده‌سازی بافت‌ها به‌منظور انجام رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی، ابتدا حیوان با استفاده از دوز بالای کتامین (۱۵۰mg/kg) به‌طور عمیق بی‌هوش گردید، بلافاصله با برش میانی

پوست و جدار قدامی شکم، برش دیافراگم و کناره خارجی دنده‌ها، قلب نمایان شد. ابتدا هپارین به داخل بطن چپ تزریق شد، سپس با کنار زدن ریه چپ، شریان آئورت نزولی نمایان و مسدود شد. بطن چپ را در طرف نوک قلب برش داده و از این طریق لوله مخصوص پرفیوژن وارد ابتدای شریان آئورت صعودی شد. ابتدا حدود ۱۰۰- ۱۵۰ سی‌سی محلول طبیعی سالین برای خارج کردن خون از درون رگ‌ها در مدت زمان حدود ۵ دقیقه و سپس ۴۰۰ - ۳۰۰ سی‌سی از محلول فیکساتیو پارافرمالدئید ۴ درصد حل شده در محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار با استفاده از نیروی جاذبه و در مدت زمان ۴۵-۳۰ دقیقه از رگ‌ها عبور داده شد. پس از پایان پرفیوژن، مغز را با دقت خارج کرده و در محلول Postfix که همان فیکساتیو است قرار داده شد. سپس از مغزها طبق پروتکل توسط دستگاه Tissue Processor بلوک پارافینی تهیه شد و بعد از آن توسط دستگاه میکروتوم برش‌هایی با ضخامت ۷ میکرومتر از این بلوک‌ها تهیه گردید (سه برش از هر حیوان تهیه شد). برش‌ها براساس اطلس پاکسینوس بین ۳,۳ و ۴,۲ میلی‌متر پشت برگما تهیه شد. سپس برش‌ها روی لام شیشه‌ای که با سیلان آغشته شده بود انتقال داده شد تا در مراحل بعد توسط روش نیسل رنگ‌آمیزی شوند.

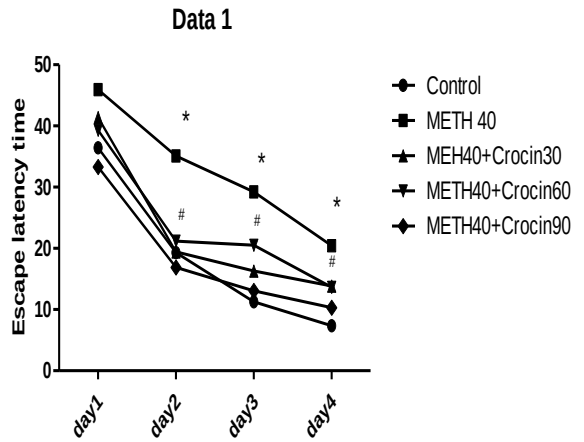
۹- روش ارزیابی میزان مرگ سلولی نکروزیس با رنگ‌آمیزی کریزل ویوله (نیسل)

رنگ‌آمیزی نیسل معمولاً برای شناسایی ساختار پایه‌ای نورون‌های سالم از نورون‌های نکروز شده در بافت مغز و طناب نخاعی استفاده می‌شود. در این رنگ‌آمیزی سلول‌های سالم به‌صورت سلول‌های یوکروماتین دیده می‌شوند. برای رنگ‌آمیزی نیسل، برش‌های ۷ میکرومتری (سه برش در هر حیوان) بر روی لام‌های سیلانه شده انتقال داده شدند. سپس با استفاده از محلول کرزیل ویوله استات ۰/۱ درصد (سیگما، USA) رنگ‌آمیزی شدند. لام‌های رنگ شده به روش نیسل توسط میکروسکوپ OLYMPUS, AX70 با بزرگنمایی ۴۰ X بررسی و بعد از تهیه عکس توسط نرم‌افزار Image Tool 2 شمارش سلولی انجام شد. برای شمارش سلولی، ناحیه CA1 هیپوکامپ نیمکره راست در برش‌های کرونال انتخاب شد و تعداد نورون‌ها در این منطقه مشخص شده؛ شمارش گردید. دو مقطع ۳/۳ و۴/۲ نسبت‌به برگما باتوجه به اطلس Paxinos انتخاب و شمارش برای هر مقطع در ۳ برش با حداقل فاصله ۷ میکرومتر انجام شد. برای شمارش نورون‌ها در هر گروه سطحی برابر با ۴۰۰ میکرومترمربع در نظر گرفته شد.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS و آزمون‌های تجزیه و تحلیل واریانس یک و دو طرفه و توکی تجزیه و تحلیل شدند. نتایج به‌صورت معنی S.E.M ± بیان می‌شوند و سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج آزمایش ماز آبی موریس نشان داد که در طول روزهای آزمایش اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها در زمان تأخیر فرار و فاصله کل عبور برای رسیدن به سکو وجود داشت اما تفاوت معنی‌داری در سرعت حرکت پلت فرم بین گروه‌ها مشاهده نشد. حیوانات در گروه دریافت‌کننده مت‌آمفتامین زمان و فاصله بیشتری را برای رسیدن به سکوی پنهان در تمام روزهای آزمایشی نسبت‌به گروه شاهد (P≤۰/۰۵) صرف کردند. همچنین در موش‌های صحرایی دریافت‌کننده مت‌آمفتامین تحت درمان با کروسین ۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، زمان و فاصله برای رسیدن به سکوی پنهان در تمام روزهای آزمایش نسبت‌به گروه دریافت‌کننده مت آمفتامین کاهش یافت (P≤۰/۰۵) (شکل ۱)



نمودار ۱- زمان تأخیر فرار، فاصله کل جابجایی و سرعت برای رسیدن به پلت فرم در طول روزهای آزمایشی در ماز آب موریس برای گروه‌های مختلف

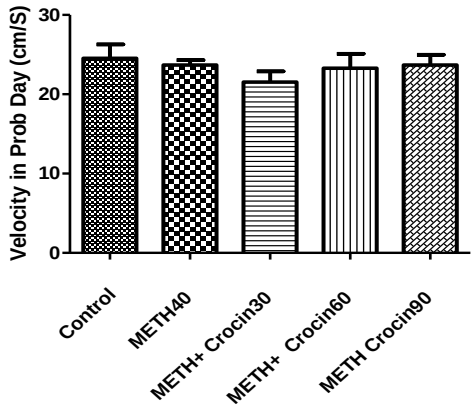
* به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل (P<۰/۰۵).

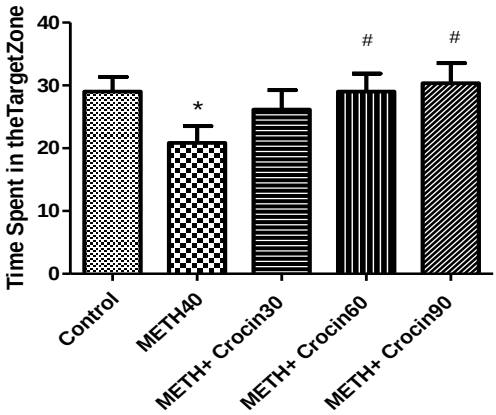
نسبتاً متفاوتی نسبت‌به گروه دریافت‌کننده مت‌آمفتامین (P<۰/۰۵).

نتیجه آزمایش پروب (نمودار ۲) نشان داد که موش‌های صحرایی در گروه دریافت‌کننده مت‌آمفتامین به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل در مقایسه با گروه شاهد نگهداری می‌کردند (P≤۰/۰۵). افزایش قابل توجهی در زمان صرف‌شده در ربع هدف در گروه‌های درمان شده با کروسین مشاهده شد (P≤۰/۰۵).

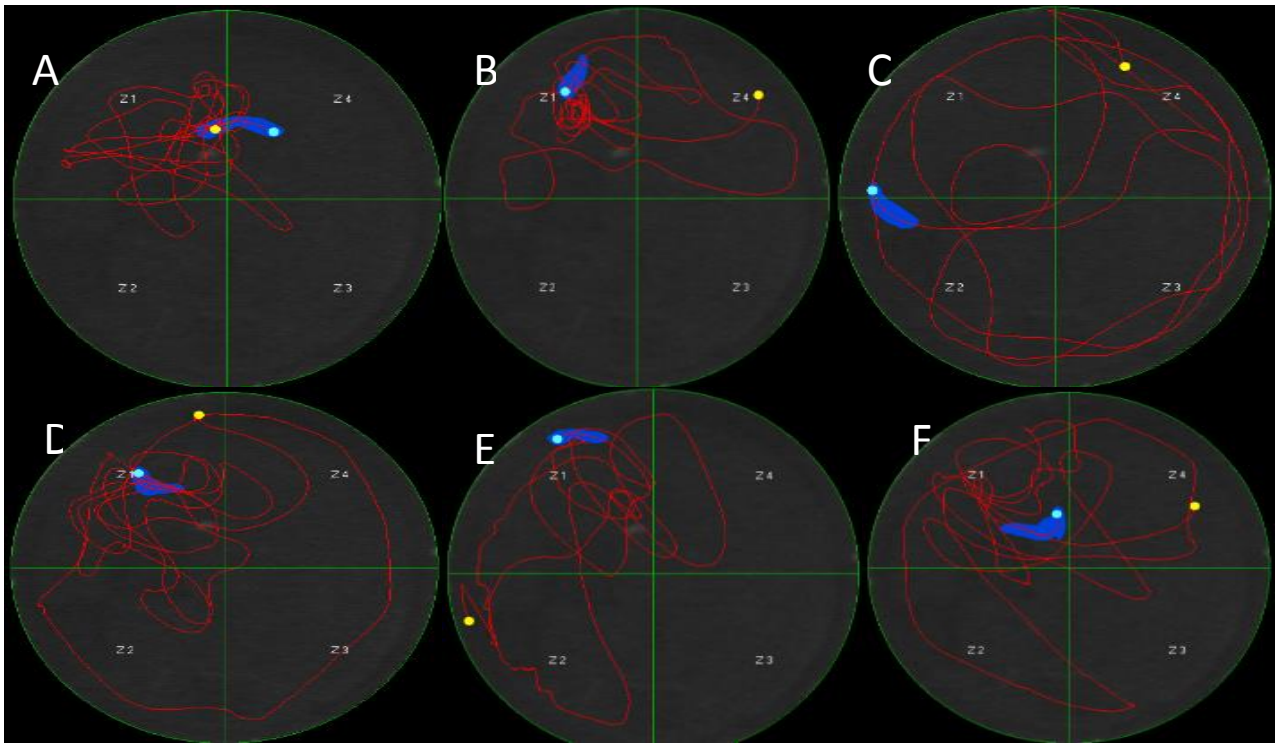
کروسین نکروز نورونی ناشی از مت‌آمفتامین را در هیپوکامپ تضعیف می‌کند.

نتایج رنگ‌آمیزی Nissl نشان داد که افزایش سلول‌های نکروتی در ناحیه CA1 هیپوکامپ راست در گروه دریافت‌کننده مت‌آمفتامین به جای گروه شاهد (P≤۰/۰۰۱). در موش‌های دریافت‌کننده مت‌آمفتامین تحت درمان با کروسین، به جای گروه دریافت‌کننده مت‌آمفتامین، سلول‌های نکروتیک به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (P≤۰/۰۱) (شکل ۲- نمودار ۳).





زمان صرف شده در منطقه هدف (چپ) و سرعت در روز پروب (راست)* به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل (P<۰/۰۵).
نسبتاً متفاوتی نسبت‌به گروه دریافت‌کننده مت‌آمفتامین (P<۰/۰۵).

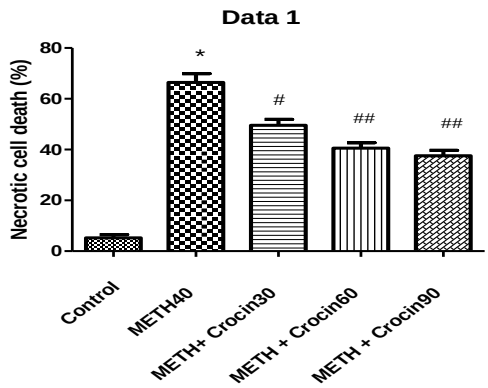


شکل ۱- نمایش مسیرهای شنا و جستجوی روزانه (روز پنجم) در ماز آب موریس برای گروه‌های مختلف

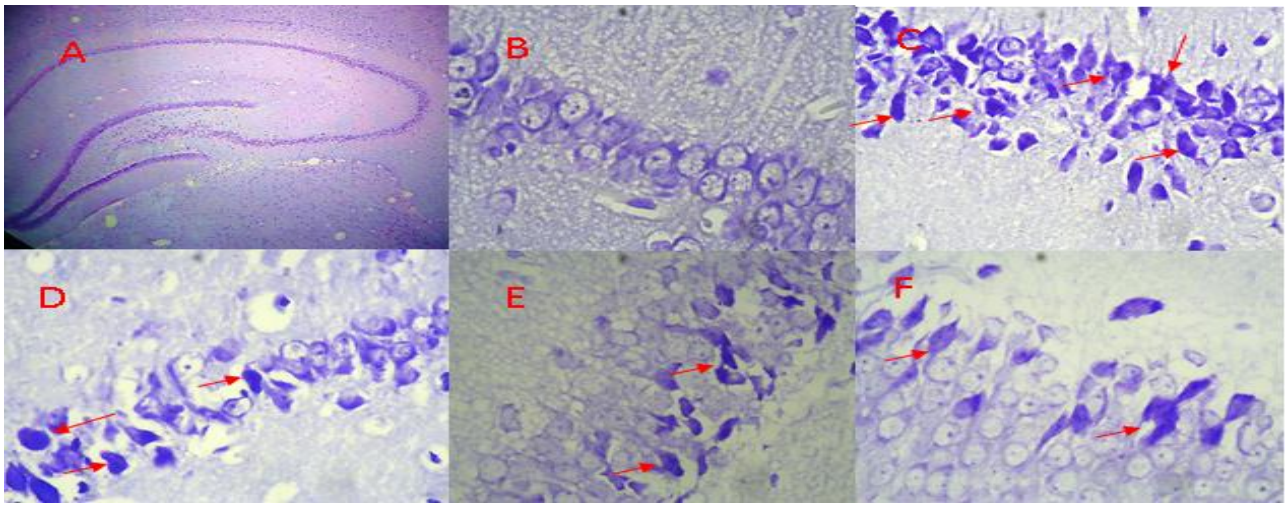
A: تصویر هیپوکامپ، B: گروه کنترل، C: گروه دریافت‌کننده مت‌آمفتامین، D: گروه دریافت‌کننده مت‌آمفتامین + کروسین با دوز ۳۰ mg/kg، E: گروه دریافت‌کننده مت‌آمفتامین + کروسین با دوز ۶۰ mg/kg، F: گروه دریافت‌کننده مت‌آمفتامین + کروسین با دوز ۹۰ mg/kg

نمودار اثرات کروسین بر مرگ سلول‌های نکروتیک ناشی از دریافت مت آمفتامین در ناحیه هیپوکامپ CA1 موش صحرایی با استفاده از رنگ‌آمیزی Nissl.

کروسین به‌طور قابل توجهی کاهش مرگ سلولی نکروتیک ناشی از دریافت مت آمفتامین در ناحیه CA1



* در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی داری (P≤۰/۰۰۱).
# تفاوت معنی‌داری در مقایسه با گروه دریافت‌کننده مت‌آمفتامین (P≤۰/۰۵).
به‌طور معنی‌داری نسبت‌به گروه دریافت‌کننده مت‌آمفتامین متفاوت است (P≤۰/۰۱).



شکل ۲- اثرات کروسین بر مرگ سلول‌های نکروتیک ناشی از دریافت مت‌آمفتامین در ناحیه هیپوکامپ CA1 موش صحرایی با استفاده از رنگ‌آمیزی Nissl. کروسین به‌طور قابل توجهی کاهش مرگ سلولی نکروتیک ناشی از دریافت مت‌آمفتامین در ناحیه CA1

A: کنترل، B: کروسین با دوز ۹۰ mg/kg، C: گروه دریافت‌کننده مت‌آمفتامین، D: گروه دریافت‌کننده مت‌آمفتامین + کروسین با دوز ۳۰ mg/kg، E: گروه دریافت‌کننده مت‌آمفتامین + کروسین با دوز ۶۰ mg/kg، F: گروه دریافت‌کننده مت‌آمفتامین + کروسین با دوز ۹۰ mg/kg.

بحث

این مطالعه با عنوان بررسی اثر تجویز کروسین بر اختلالات حافظه و یادگیری، مرگ سلولی و سطح انزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در ناحیه هیپوکامپ در مدل نوروتکسیسیته ناشی از مت‌آمفتامین انجام شد هدف اصلی در این مطالعه ارزیابی تأثیر نوروپروتکتیو کروسین بر درمان اختلالات شناختی و مرگ سلولی ناشی از مت‌آمفتامین در موش‌های صحرایی بود.

در این مطالعه با استفاده از ماز آبی موریس اثرات درمانی کروسین بر اختلال یادگیری فضایی و حافظه ناشی از مت‌آمفتامین مورد بررسی قرار گرفت. همانند مطالعات گذشته تجویز داخل صفاقی مت‌آمفتامین موجب اختلال در یادگیری و حافظه فضایی گردید. مت‌آمفتامین موجب افزایش میانگین زمان و مسافت طی شده برای رسیدن به سکوی پنهان در ماز آبی موریس شد که نشان دهند اختلال در یادگیری فضایی در رت‌ها می‌باشد. در آزمایشات ما تجویز کروسین موجب بهبود در عملکرد یادگیری شد. همچنین ارزیابی زمان حضور حیوان در ناحیه هدف در مرحله probe trial نشان داد که گروه‌های کروسین زمان بیشتری را در ربع دایره هدف سپری نمودند که نشان‌دهنده بهبود حافظه فضایی در این گروه‌ها می‌باشد. نتایج مطالعه ما منطبق با مطالعه‌ای که اخیراً انجام شده و نشان داده‌اند که کروسین ضعف یادگیری ناشی از اتانل را در موش کوچک آزمایشگاهی بهبود داده و از مهار تشدید طولانی مدت در هیپوکامپ توسط اتانول جلوگیری نموده است.

اثرات کروسین بر مرگ سلول‌های نکروتیک ناشی از دریافت مت‌آمفتامین در ناحیه هیپوکامپ CA1 موش صحرایی با استفاده از رنگ‌آمیزی Nissl نشان داد که کروسین به‌طور قابل توجهی کاهش

مرگ سلولی نکروتیک ناشی از دریافت مت‌آمفتامین در ناحیه CA1 می‌گردد.

مت‌آمفتامین یک دارو محرک با خواص عصبی مختلفی است. بسیاری از مکانیزم‌های پیچیده‌ای که به‌دنبال مصرف مت‌آمفتامین رخ می‌دهد، به وضوح درک نمی‌شوند. با این حال، استرس اکسیداتیو، التهاب، کاهش کلسیم، تغییر در عملکرد گیرنده‌های ان-متیل- د آسپارتات NMDA، فعالسازی میکروگلیا، هیپرترمی و القای آپوپتوز به عنوان مکانیسم‌های مربوط نوروتوکسیسیتی ناشی از مت‌آمفتامین تعریف شده است (۳۹). اثرات سمیت عصبی پس از مصرف مت‌آمفتامین از طریق سه مکانیسم ایجاد می‌شود: انتشار دوپامین و اکسیداسیون آنزیمی، اکسیداسیون دوپامین و اختلال در میتوکندری. (۳۳-۳۴). شواهد نشان می‌دهد که مت‌آمفتامین از طریق تولید استرس اکسیداتیو نقش مهمی در تخریب نورونی و آسیب بافتی ایفاء می‌کند. مورنانی و همکاران ۲۰۱۲، گزارش کردند که مصرف مزمن مت‌آمفتامین موجب اختلال در عملکرد یادگیری احترازی غیر فعال و کاهش قابل توجهی در غلظت دوپامین، سروتونین و متابولیت‌های آن‌ها در مناطق مختلف مغزی می‌شود که به‌ویژه تغییر غلظت دوپامین در جسم مخطط قدامی مسئول اختلال در تست یادگیری احترازی غیر فعال است (۳۷).

نورس و همکاران در سال ۲۰۱۷ گزارش کردند مصرف مزمن مت آمفتامین منجر به کاهش انعطاف‌پذیری سیناپسی ناحیه هیپوکمپ می شود و نقص در حافظه کوتاه مدت را به‌دنبال دارد. در مجموع، مت آمفتامین از طریق مکانیسم‌های مختلف سبب آسیب به سلول‌های عصبی در مناطق مختلف مغز از جمله هیپوکمپ و اختلال در حافظه می‌شود. مت‌آمفتامین به‌دلیل شباهت ساختاری با دوپامین و از طریق اتصال به ترانسپورتر دوپامینی از طریق انتشار وارد پایانه‌های دوپامینرژیک می‌شود و با اتصال به ناقل‌های وزیکولی به داخل وزیکول ها انتشاریافته و تجمع پیدا می‌کند و سبب به هم خوردن pH وزیکول ها و درنتیجه آزادسازی دوپامین به داخل سیتوزول می‌گردد. همچنین آنزیم مونوآمین اکسیداز (آنزیم مسئول تجزیه نوروترنسمیترهای ترشح شده) را مهار می‌کند و دوپامین بیشتری در دسترس قرار می‌گیرد. دوپامین در داخل سیتوزول تجزیه می‌گردد و ترکیبات فعال اکسیژن و هیدروژن پراکسیداز تولید می‌کند که این ترکیبات باعث آسیب لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود. همچنین مت‌آمفتامین می‌تواند از طریق تحریک آزادسازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن و سیتوکین‌ها از سلول‌های گلیا، سبب افزایش سطح گلوتامات در خارج از سلول در نواحی مثل استریاتوم گردد. افزایش آزادسازی گلوتامات سبب تحریک رسپتورهای NMDA بر پایانه‌های دوپامینرژیک شده و باعث آزاد شدن یون کلسیم در فضای داخل سلول می‌شود، افزایش یون کلسیم نیز منجر به افزایش تولید نیتریک اکساید شده که خود می‌تواند با سوپر اکساید ترکیب شده و پراکسی نیتریت تولید کند. این ترکیب از طریق مسیرهای وابسته‌به رتیکولوم آندوپلاسمیک و میتوکندری سبب مرگ نورونی می‌شود. همچنین تحقیقات اخیر نشان داده است که استفاده از مت‌آمفتامین باعث افزایش بیان ژن مربوطبه کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ و افزایش تعداد این کانال‌ها و طبیعتاً افزایش ورود یون کلسیم به داخل سلول می‌گردد و به‌هم خوردن هومئوستازی کلسیم داخل سلولی تحت تأثیر مت‌آمفتامین می‌تواند عواقب ویرانگری برای سلول به همراه داشته باشد و منجر به مرگ سلولی گردد. یکی از مهمترین وقایع بعد از مصرف مت‌آمفتامین فعال شدن میکروگلیاها و بروز آسیب های نورودژنراتیو ناشی از عملکرد آن‌ها است. با وجود اینکه فعال شدن میکروگلیا برای ایجاد پاسخ ایمنی مناسب لازم است اما فعال شدن بیش از اندازه آن می‌تواند باعث آسیب‌های توکسیک شود. این آسیب های توکسیک از طریق چندین مسیر اعمال می‌شوند که شامل تولید سیتوکین‌های پیش التهابی مثل اینترلوکین‌ها مثل IL-1β, IL-6 و تومور نکروز فاکتور آلفا (TNF-α) است. این سیتوکین‌ها موجب تحریک میکروگلیا و آزاد شدن گلوتامات و مهار بازجذب آن می‌شوند. این فرآیند منجر به تولید رادیکال‌های آزاد مشتق از نیتروژن و سایر رادیکال‌های نیتریک اکساید (NO) می‌گردد. در مجموع، فعالیت بیش از اندازه میکروگلیا می‌تواند باعث تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن و نیتروژن و پروستاگلاندین شود و از طریق ایجاد واکنش‌های التهابی فرآیند نورودژنراسیون را پیش ببرد. در مطالعه نوربخش‌نیا و همکاران نشان داده شد که تزریق مزمن مت‌آمفتامین به مدت ۵ روز و دوز mg/kg۲ و باعث کاهش معنادار حافظه در آزمون یادگیری احترازی غیر فعال است (۲).

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کروسین به‌عنوان مکانیسم احتمالی برای پتانسیل عصبی آن پیشنهاد شده است. مطالعات قبلی نشان می‌دهند که کروسین از طریق افزایش فعالیت‌های GSH ردوکتاز و γ-گلوتامیل سیستیل سینتانا (γ-GCS)، افزایش سطح GSH، قادر به مهار آپوپتوز است. تولید سموم متشکل از مت‌آمفتامین ممکن است از طریق تولید نیتریک اکسید (NO) باشد. به نظر می‌رسد فعال شدن نیتریک اکسید سنتاز (NOS) پس از ورود گلوتامات به ورودی کلسیم از طریق گیرنده های NMDA عصبی است. اکسید نیتریک قادر به واکنش با سوپراکسید برای تشکیل پروکسی نیتریت اکسیدان است. مطالعات قبلی نشان داد که کروسین می‌تواند به‌طور قابل توجهی مانع از افزایش سطح NO و محافظت از مغز در برابر ایسکمی مغزی باشد (۳۷).

در این مطالعه، ما دریافتیم که درمان با کروسین به‌طور قابل توجهی آسیب ناحیه CA1 هیپوکامپ و اختلالات حافظه و یادگیری فضایی ناشی از مت‌آمفتامین را بهبود می‌بخشد. به‌نظر می‌رسد که این اثرات نوروپروتکتیو مت‌آمفتامین از مکانیسم‌های بسیاری مانند مهار مرگ سلولی نکروزیس و آپوپتوزیس به‌واسطه سرکوب رادیکال‌های آزاد و کاهش بیان پروتئین‌های پروآپوپتوزی Caspase-3 و همچنین کاهش

پاسخ‌های التهابی به‌واسطه مهار فعال‌سازی آستروسیت‌ها و میکروگلیاها ناشی می‌شود. درنتیجه، باتوجه به این اثرات حفاظتی کروسین در شرایط پاتولوژیک، می‌توان آن را به‌عنوان یک عامل درمانی برای بیماری‌های مختلف معرفی کرد، هرچند که تحقیقات بیشتر در آینده موردنیاز است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات سرکار خانم پیراسته نوروزی، کارشناس مسئول آزمایشگاه جامع تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی شاهرود و دیگر عزیزانی که ما را در این مطالعه یاری نمودند صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نماییم.

References

1. Schep LJ, Slaughter RJ, Beasley DM. The clinical toxicology of metamfetamine. Clin Toxicol 2010;48:675-94. doi: 10.3109/15563650.2010.516752
2. Noorbakhshnia M, Nazarizadeh Dehkordi N, Beheshti S. Protective effect of verapamil on learning and memory deficits induced by methamphetamine in rat. Ir J Physiol Pharmacol 2018;2:51-8. doi: 10.1016/j.physbeh.2018.06.016
3. Abe K, Saito H . Effects of saffron extract and its constituent crocin on learning behaviour and long-term potentiation. Phytother Res 2000;14:149-52. doi:10.1002/(SICI)1099-1573(200005)14:33.3.CO;2-X
4. Yong-qiu Z, Jian-xun L, Jan-nong W. Effects of crocin on reperfusion-induced oxidative/nitrative injury to cerebral microvessels after global cerebral ischemia. Brain Res 2007;1138:86-94. doi: 10.1016/j.brainres.2006.12.064
5. Hensel A, Niehues M, Lechtenberg M, Quandt B, Schepmann D, Wunsch B. Analytical and functional aspects on saffron from Crocus sativus L.: development of quality control methods,species assortment and affinity to sigma-1 and NMDA receptors. Planta Med 2006;72:1005. doi: 10.1055/s-2006-949874
6. Hart CL, Marvin CB, Silver R, Smith EE. Is cognitive functioning impaired in methamphetamine users? a critical review. Neuropsychopharmacology 2012;37:586-608. doi: 10.1038/npp.2011.276
7. Rendell PG, Mazur M, Henry JD. Prospective memory impairment in former users of methamphetamine. Psychopharmaco 2009;203:609-16. doi: 10.1007/s00213-008-1408-0
8. Scott JC, Woods SP, Matt GE, Meyer RA, Heaton RK, Atkinson JH, et al. Neurocognitive effects of methamphetamine: a critical review and meta-analysis. Neuropsycho review 2007;17:275-97. doi: 10.1007/s11065-007-9031-0
9. Bowyer JF, Clausing P, Gough B, Slikkert W Jr, Holson RR. Nitric oxide regulation of methamphetamine-induced dopamine release in caudate/putamen," Brain Res1995;699:62-70. doi: 10.1016/0006-8993(95)00877-s
10. Cadet J L, Brannock C. Free radicals and the pathobiology of brain dopamine systems," Neurochemistry International 1997;32:117-31.
11. Jayanthi S, Deng X, Noailles PAH, Ladenheim B, Cadet JL. Methamphetamine induces neuronal apoptosis via cross-talks between endoplasmic reticulum and mitochondriadependent death cascades,"TheFASEB Journal 2004;18:238-51. doi: 10.1096/fj.03-0295com.
12. Jayanthi S, McCoy MT, Beauvais G, Ladenheim B, Gilmore K, Wood W, et al. Methamphetamine induces dopamine D1 receptor-dependent endoplasmic reticulum stress-related molecular events in the rat striatum. PLoS One 2009;4:e602. doi: 10.1371/journal.pone.0006092
13. Hosseinzadeh H, Abootorabi A, Sadeghnia HR. Protective Effect of Crocus Sativus Stigma Extract and Crocin (trans-crocin 4) on Methyl Methanesulfonate-Induced DNA Damage in Mice Organs. DNA Cell Biol 2008;27:657-64. doi: 10.1089/dna.2008.0767
14. Hosseinzadeh H, Sadeghnia HR, Ziaee T, Danaee A. Protective effect of aqueous saffron extract (Crocus sativus L.) and crocin, its active constituent, on renal ischemia reperfusioninduced oxidative damage in rats. J Pharm Pharm Sci 2005;8:387-93. doi: 10.1089/dna.2008.0767
15. Hosseinzadeh H, Sadeghnia HR . Safranal, a constituent of Crocus sativus (saffron) attenuated cerebral ischemia induced oxidative damage in rat hippocampus. J Pharm Pharm Sci 2005; 8:394-97.
16. Goyal SN, Arora S, Sharma AK, Joshi S, Ray R, Bhatia J, Kumari S, Arya DS. Preventive effect of crocin of Crocus sativus on hemodynamic, biochemical, histopathological andultrastuctural alterations in isoproterenol-induced cardiotoxicity in rats. Phytomedicine 2010;17:227-32. doi: 10.1016/j.phymed.2009.08.009
17. Noorbala AA, Akhondzadeh S, Tahmacebipour N, Jamshidi AH. Hydro-alcoholic extract of Crocus sativus L. versus fluoxetine in the treatment of mild to moderate depression: a doubleblind, randomized pilot trial. J Ethnopharmacol 2005;97:281-4. doi: 10.1016/j.jep.2004.11.004
18. Takashi O, Hiroshi S, Ken-ichi M, Katsunori I, Michihiro F, Hiroyuki T, Yukihiro S, Akihisa T, Reiko E, Shinji S. Protective effects of carotenoids from saffron on neuronal injury in vitroand in vivo. Biochimica et Biophysica Acta 2007;1770:578-584. 10.1016/j.bbagen.2006.11.012. doi: 10.1016/j.bbagen.2006.11.012
19. Saleem S, Ahmad M, Ahmad AS, Yousuf S, Ansari MA, Khan MB, Ishrat T, IslamF. Effect of saffron (Crocussativus) on neurobehavioral and neurochemical changes in cerebral ischemia in rats. J. Med. Food 2006;9:246–253. doi: 10.1089/jmf.2006.9.246
20. Soetens E, Casaer SD, Hooge R, Hueting JE. Effect of amphetamine on long-term retention of verbal material. Psychopharmaco 1995;119:155-162.
21. Nater U M, Okere U, Stallkamp R, Moor C, Ehlert U, Kliegel M. Psychosocial stress benhances time- based prospective memory in healthy young men. Neurobiol Learn Mem 2006;86:344-348. doi: 10.1016/j.nlm.2006.04.006
22. Goyal SN, Arora S, Sharma AK, Joshi S, Ray R, Bhatia J, Kumari S, Arya DS. Preventive effect of crocin of Crocus sativus on hemodynamic, biochemical, histopathological and ultrastuctural alterations in isoproterenol-induced cardiotoxicity in rats. Phytomedicine 2010;17:227-32. doi: 10.1016/j.phymed.2009.08.009
23. Jin hee L, Dong-hyun K. Antihyperlipidemic Effect of Crocin Isolated from the Fructus of Gardenia jasminoides and Its Metabolite Crocetin. Biol. Pharm. Bull 2005;28:2106-10. doi: 10.1248/bpb.28.2106
24. Hosseinzadeh H, Modaghegh MH and Saffari Z. Crocus Sativus L. (Saffron) Extract and itsActive Constituents(Crocin and Safranal) on Ischemia-Reperfusion in Rat Skeletal Muscle.Evid Based Complement Alternat Med 2009;6:343-50. doi: 10.1093/ecam/nem125
25. Oussama A, Rubio-Moraga A. Saffron: Its Phytochemistry, Developmental Processes, and Biotechnological Prospects. J Agric Food Chem.2015;6340:8751-8764. doi: 10.1021/acs.jafc.5b03194
S, Ken-ichi M, Katsunori I, Michihiro F, Hiroyuki T, Yukihiro S, Akihisa T, Reiko E, Shinji S. Protective effects of carotenoids from saffron on neuronal injury in vitro and in vivo. Bioch et Biophy Acta 2007;1770:578-84. doi: 10.1016/j.bbagen.2006.11.012
26. Yong-qiu Z, Jian-xun L, Jan-nong W. Effects of crocin on reperfusion-induced oxidative/nitrative injury to cerebral microvessels after global cerebral ischemia. Brain Res 2007;1138: 86–94. doi: 10.1016/j.brainres.2006.12.064

27. Hosseinzadeh H, Sadeghnia HR. Safranal, a constituent of crocus sativus (saffron) attenuated cerebral ischemia induced oxidative damage in rat hippocampus. J Pharm Pharm Sci 2005;8:394-9. doi: 10.1093/ecam/nem125

28. Hensel A, Niehues M, Lechtenberg M, Quandt B, Schepmann D ,Wunsch B. Anlytical and functional aspects on saffron from crocus sativus L.: development of quality control methods, species assortment and affinity to sigma-1 andNMDA receptors. Planta Med 2006;72:1005. doi: 10.1055/s-2006-949874

29. Abe K, Sugiura M, Shoyama Y, Saito H. Crocin antagonizes ethanolinhibition of NMDAreceptor-mediated responses in rat hippocampal neurons. Brain Res 1998;787:132-8. doi: 10.1016/s0006-8993(97)01505-9

30. Abe K, Sugiura M, Yamaguchi S, Shoyama Y, Saito H. Saffron extract prevents acetaldehyde-induced inhibition of long-term potentiation in the rat dentate gyrus in vivo. Brain Res 1999;851:287-9. doi: 10.1016/s0006-8993(99)02174-5

31. Won S, Hong RA, Shohet RV, Seto TB, Parikh NI. Methamphetamine-associated cardiomyopathy. Clin Cardiol 2013;36:737-42. doi: 10.1002/clc.22195

32. Kishi T, Tsunoka T, Ikeda M, Kitajima T, Kawashima K, Okochi T, et al. Serotonin 1A receptor gene is associated with Japanese methamphetamine-induced psychosis patients. Neuropharmacology 2010;58:452-6. doi: 10.1016/j.neuropharm.2009.09.006

33. Kaushal N, R Matsumoto R. Role of sigma receptors in methamphetamine-induced neurotoxicity. Curr Neuropharmacol 2011;9:54-7. doi: 10.2174/157015911795016930

34. Hart CL, Marvin CB, Silver R, Smith EE. Is cognitive functioning impaired in methamphetamine users? a critical review. Neuropsychopharmaco2012;37:586-608. doi: 10.1038/npp.2011.276

35. Adriani W, Felici A, Sargolini F, Roullet P, Usiello A, Oliverio A, et al. N-methyl-D-aspartate and dopamine receptor involvement in the modulation of locomotor-activity and memory processes. Exp Brain Res 1998;123:52-9. doi: 10.1007/s002210050544

36. Thanos PK, Kim R, Delis F, Rocco MJ, Cho J, Volkow ND. Effects of chronic methamphetamine on psychomotor and cognitive functions and dopamine signaling in the brain. Behav Brain Res 2017;90:282-90. doi: 10.1016/j.bbr.2016.12.010

37. Mumane KS, Perrine SA, Finton BJ, Galloway MP, Howell LL, Fantegrossi WE. Effects of exposure to amphetamine derivatives on passive avoidance performance and the central levels of monoamines and their metabolites in mice: correlations between behavior and neurochemistry. Psychopharmaco 2012;220:495-508. doi: 10.1007/s00213-011-2504-0

Journal of Knowledge & Health
in Basic Medical Sciences 2019; Vol 14, No 1

DOI: 10.22100/jkh.v14i1.2129

Original Article

Effects of Crocin on Lerning, Spatial Memory Impairment and Necrosis Cells Death in Rats Hippocampus Area in Methamphetamine Induced Neurotoxicity

Monire Shafahi (Ph.D.)[1], Golamhassan Vaezi (Ph.D.)[2], Hooman Shajiee (Ph.D.)[2], Shahram Sharafi (Ph.D.)[2], Mehdi Khaksari (Ph.D.)[3*]

1- Dept. of Biology, PhD Candidat, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran.
2- Dept. of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran.
3- Physiology, School of Medicine, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.

Received: 30 December 2018**, Accepted:** 13 April 2019

Abstract:

Introduction: *Methamphetamine (METH), as a highly neurotoxic compound, is associated with irreversible brain cell damage and results in neurological and psychiatric abnormalities. This study aimed to determine if crocin can protect hippocampus against METH-induced neurotoxicity.*

Methods: *thirty-six male Wistar rats that weighed 260-300 grs were randomly allocated to five groups of control (n=6), crocin 90 mg/kg (n=6), METH (n=6), METH + crocin 30 mg/kg (n=6), METH + crocin 60 mg/kg (n=6), and METH + crocin 90 mg/kg (n=6). METH neurotoxicity was induced by 40 mg/kg of METH in four injections (e.g., 4×10 mg/kg q. 2 h, IP). Crocin was intraperitoneally (IP) injected at 30 min, 24 h, and 48 h after the final injection of METH*

Seven days after METH injection, spatial memory test was evaluated by Morris water maze and then the rats' brains were removed for Nissl staining staining to assess necrosis neuronal death within the hippocampal CA1 area.

Results: *Crocin treatment could significantly improve spatial memory deficits and reduced necrosis cell death in CA1 area of hippocampus*

Conclusion: *Crocin exerts neuroprotective effects on METH neurotoxicity via the inhibition of necrosis.*

Keywords: Crocin, Methamphetamine neurotoxicity, Spatial memory, Cell death.

Conflict of Interest: No

***Corresponding author:** M. Khaksari, **Email**: Khaksari417@yahoo.com*

Citation: Shafahi M, Vaezi G, Shajiee H, Sharafi Sh, Khaksari M. Effects of crocin on lerning, spatial memory impairment and necrosis cells death in rats hippocampus area in methamphetamine induced neurotoxicity. Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences 2019;14(1):12-21.