ORIGINAL ARTICLE

Investigating the Effects of Crocin and Hydroalcoholic Extract of Terminalia Chebula on Memory and the Expression of PSD 95, Synapsin-1, and Synaptophysin Genes in the Hippocampus Following Stress in Male Rats

Neda Javadi[1]
Gholam Hossein Meftahi[2]
Mohsen Korani[3]

[1] MSc in Biochemistry, Faculty of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[2] Associate Professor, Neuroscience Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[3] Associate Professor, Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received October 1, 2023; Accepted February 12, 2024)

Abstract

Background and purpose: Stress is a stimulus that leads to a physical or psychological reaction. Stress affects memory and cognition. Common drugs for treating stress and memory disorders have limited effects and many side effects, so the search for new effective compounds with natural origin and fewer side effects is of interest. Various studies have shown that Terminalia chebula (T. chebula) and crocin are effective in improving memory. Several proteins, including synapsin-1, synaptophysin, and PSD95, are involved in the transmission of nerve messages in synapses involved in memory .In this study, the effect of the hydroalcoholic extract of T. chebula and crocin in improving memory and stress and the expression of synaptophysin, PSD 95, and synapsin-1 genes in the hippocampal tissue of male rats of the immobility stress model has been evaluated.

Materials and methods: 25 adult male Wistar rats were randomly divided into five groups, including a control group, a stress group, treated with hydroalcoholic extract of T. chebula group, treated with crocin group, simultaneously treated with hydroalcoholic extract of T. chebula, and crocin group. All groups except the control group were subjected to immobility stress for 14 days. Crocin was injected intraperitoneally (30 mg/kg) and hydroalcoholic extract of T. chebula was given as intragastric gavage (50 mg/kg). After fourteen days, the shuttle box test was performed to check the memory, then the animals were anesthetized and their hippocampal tissue was isolated, and the expression changes of synapsin-1, synaptophysin, and PSD 95 genes in the tissue were analyzed by Real-time PCR method.

Results: Immobility stress caused disruption in two memory indicators, i.e. increased the duration of staying in the dark chamber ($P<0.01$) and decreased the latency time to enter the dark chamber compared to the control group ($P<0.0001$). Treatment with the alcoholic extract of T. chebula did not affect the duration of staying in the dark chamber ($P>0.05$), but crocin decreased it compared to the stress group ($P<0.05$). The hydroalcoholic extract of T. chebula and crocin increased the latency time to enter the dark chamber compared to the stress group ($P<0.01$ and $P<0.001$, respectively). As a result, both of them affected memory improvement parameters. The combination of the hydroalcoholic extract of T. chebula and crocin decreased the duration of staying in the dark chamber ($P<0.05$) and increased the latency time to enter the dark chamber compared to the stress group ($P<0.001$). Also, Immobility stress decreased the expression of synaptophysin, synapsin-1, and PSD95 genes in the hippocampus tissue compared to the control group ($P<0.001$ for all genes). The expression of synaptophysin, synapsin-1, and PSD95 genes in the hippocampus tissue of groups treated with hydroalcoholic extract of T. chebula ($P<0.01$, $P<0.01$ and $P<0.001$, respectively), crocin ($P<0.001$, $P<0.01$ and $P<0.001$, respectively), and their combination ($P<0.001$, $P<0.001$ and $P<0.01$, respectively), increased compared to the stress group.

Conclusion: treatment with crocin and hydroalcoholic extract of T. chebula separately or their combination was effective in improving memory and reducing stress by increasing the expression of synapsin 1, synaptophysin, and PSD95 genes.

Keywords: stress, memory, hydroalcoholic extract of Terminalia chebula, crocin, synapsin-1, PSD95, synaptophysin

J Mazandaran Univ Med Sci 2024; 33 (230): 1-15 (Persian).

Corresponding Author: Mohsen Korani- Faculty of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran. (E-mail: mohsenkorani@gmail.com)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-23]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و سوم شماره ۲۳۰ اسفند سال ۱۴۰۲ (۱۵-۱)

اثرات کروسین و عصاره هیدرو الکلی هلیله سیاه بر حافظه و بیان ژن‌های synaptophysin ، synapsin-1، PSD 95 در هیپوکمپ به‌دنبال استرس در موش صحرایی نر

ندا جوادی[۱]
غلام حسین مفتاحی[۲]
محسن کرانی[۳]

چکیده

سابقه و هدف: استرس یک محرک است که منجر به واکنش فیزیکی یا روانی می‌شود. استرس، حافظه و شناخت را تحت تأثیر قرار می‌دهد. داروهای رایجی که برای درمان استرس و اختلالات حافظه استفاده می‌شوند اثرات محدود و عوارض جانبی فراوانی دارند، بنابراین جستجوی ترکیبات موثر جدید با منشاء طبیعی و عوارض جانبی کم‌تر، مورد توجه می‌باشند. مطالعات مختلف نشان داده است که هلیله سیاه و کروسین در بهبود حافظه مؤثر هستند. چندین پروتئین از جمله سیناپسین ۱، سیناپتوفیزین و PSD95 در انتقال پیام عصبی در سیناپس‌های دخیل در حافظه نقش دارند. در این مطالعه اثر عصاره هیدروالکلی هلیله سیاه و کروسین در بهبود حافظه و استرس و بیان ژن‌های سیناپسین ۱، سیناپتوفیزین و PSD95 در بافت هیپوکمپ موش‌های صحرایی نر مدل استرس بی حرکتی مورد ارزیابی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه ۲۵ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار به‌طور تصادفی به پنج گروه شامل گروه کنترل، گروه استرس،گروه تیمار شده با عصاره هیدروالکلی هلیله سیاه، گروه تیمار شده با کروسین،گروه تیمار هم‌زمان با عصاره هیدروالکلی هلیله سیاه و کروسین تقسیم شدند. همه گروه‌ها غیر از گروه کنترل به مدت ۱۴ روز تحت استرس بی‌حرکتی قرار گرفتند. کروسین به‌صورت داخل صفاقی (۳۰ mg/kg) و عصاره هیدروالکلی هلیله سیاه به‌صورت گاواژ داخل معدی (۵۰ mg/kg) داده شد. پس از ۱۴ روز تست shuttle box جهت بررسی حافظه انجام شد. سپس حیوانات بی‌هوش شدند و هیپوکمپ آن‌ها جدا گردید و تغییرات بیان ژن‌های سیناپسین ۱، سیناپتوفیزین و PSD95 در بافت، توسط روش Real-time PCR مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: استرس بی‌حرکتی باعث اختلال در دو شاخصه حافظه شد، یعنی مدت زمان توقف دراتاقک تاریک را افزایش (P<۰/۰۱) و مدت زمان تاخیر جهت ورود به اتاقک تاریک را نسبت به گروه کنترل کاهش(P<۰/۰۰۰۱) داد. درمان با عصاره هیدرو الکلی هلیله سیاه تاثیری بر روی مدت زمان توقف در اتاقک تاریک نداشت (P>۰/۰۵). اما کروسین منجر به کاهش مدت زمان توقف در اتاقک تاریک نسبت به گروه استرس شد (P<۰/۰۵). عصاره هیدروالکلی هلیله سیاه و کروسین هر دو مدت زمان تأخیر جهت ورود به اتاق تاریک را افزایش دادند (به‌ترتیب P<۰/۰۱ و P<۰/۰۰۱). در نتیجه هر دوی آن‌ها پارامترهای بهبود حافظه را تحت تاثیر قرار دادند. ترکیب عصاره هیدروالکلی هلیله سیاه و کروسین مدت زمان توقف در اتاقک تاریک را کاهش (P<۰/۰۵) و مدت زمان تاخیر جهت ورود به اتاقک تاریک را نسبت به گروه استرس افزایش داد(P<۰/۰۰۱). استرس بی‌حرکتی باعث کاهش بیان ژن‌های سیناپتوفیزین، سیناپسین ۱ و PSD95 در بافت هیپوکمپ نسبت به گروه کنترل شد (همگی P<۰/۰۰۱). هم‌چنین بیان ژن‌های سیناپتوفیزین، سیناپسین ۱ و PSD95 در بافت هیپوکمپ گروه‌های تیمار شده با عصاره هیدروالکلی هلیله سیاه (به‌ترتیب P<۰/۰۱، P<۰/۰۱ و P<۰/۰۰۱)،کروسین (به‌ترتیب P<۰/۰۰۱، P<۰/۰۱ و P<۰/۰۰۱) و ترکیب آن‌ها (به‌ترتیب P<۰/۰۰۱، P<۰/۰۰۱ و P<۰/۰۱) نسبت به گروه استرس افزایش یافت.

استنتاج: درمان با کروسین و عصاره هیدرو الکلی هلیله سیاه به‌طور جداگانه و یا ترکیب آن‌ها در بهبود حافظه و کاهش استرس با افزایش بیان ژن‌های سیناپسین ۱، سیناپتوفیزین و PSD95 موثر بود.

واژه های کلیدی: استرس، حافظه، عصاره هیدروالکلی هلیله سیاه، کروسین، سیناپسین ۱، سیناپتوفیزین، PSD95

مولف مسئول: محسن کرانی– تهران: دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، دانشکده پزشکی E-mail: mohsenkorani@gmail.com
۱. دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران
۲. دانشیار، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله، تهران، ایران
۳. دانشیار، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران
تاریخ دریافت : ۱۴۰۲/۷/۹ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۴۰۲/۷/۲۹ تاریخ تصویب : ۱۴۰۲/۱۱/۲۳

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-23]

مقدمه

هر شرایطی که به‌طور جدی هومئوستاز فیزیولوژیکی-روانی یک ارگانیسم را مختل کند، استرس نامیده می‌شود(۱). برای ایجاد رفتارهای مناسب و پاسخ‌های فیزیولوژیکی نیاز به تعامل هماهنگ بین سیستم‌های عصبی و هورمونی است(۲).

یکی از ساختارهای مغزی که در حافظه و تنظیم نوروآندوکرین هورمون‌های استرس نقش مهمی دارد، هیپوکمپ است(۳). هیپوکمپ بازخورد منفی روی محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- آدرنال اعمال می‌کند. کورتیکواستروئیدها که توسط محور هیپوتالاموس- هیپوفیز-آدرنال در پاسخ به استرس سنتز و ترشح می‌شوند، واسطه اثرات استرس بر هیپوکمپ هستند(۴). استرس مزمن، دندریت نورون‌های ناحیهٔ CA3 هیپوکمپ و شکنج دندانه‌ای را کاهش می‌دهد و سبب از بین رفتن خارهای دندریتی ناحیه CA1 هیپوکمپ می‌شود(۵). قرار گرفتن در معرض عوامل استرس‌زا باعث کاهش نوروژنز هیپوکمپ حتی در بزرگسالی می‌شود(۶).

چندین پروتئین در انتقال پیام عصبی در سیناپس‌های دخیل در حافظه نقش دارند. سیناپتوفیزین یک پروتئین غشای پیش سیناپسی است که برای انتقال عصبی در نورون‌های هیپوکمپ ضروری است(۷). از دست دادن آن در وزیکول پیش سیناپسی در هیپوکمپ با زوال شناختی در بیماری آلزایمر ارتباط دارد(۸). علاوه بر این، شواهدی برای کاهش سطوح سیناپتوفیزین در قشر جلوی مغز بیماران اسکیزوفرنی وجود دارد(۹). PSD95 نیز یک پروتئین داربست پس سیناپسی است که با تثبیت افزایش سیناپسی مرتبط است، هم‌چنین یک جزء ضروری در انتقال گلوتاماترژیک، شکل‌پذیری سیناپسی و مورفوژنز خارهای دندریتیک در طول توسعه عصبی است(۱۰). PSD95 ارتباط نزدیکی با حافظه دارد و کاهش بیان آن با اختلال در حافظه کاری فضایی مرتبط است(۱۱). سیناپسین از پروتئین‌های سیناپسی مهم دیگر در سیناپس نورون‌ها می‌باشد. در هیپوکمپ، ایزوفرم‌های سیناپسین یکی از پروتئین‌های موثری هستند که از طریق آن حافظه مرتبط با استرس را تقویت می‌کند. Synapsin-Ia/Ib بیش‌ترین فسفوپروتئین‌های مرتبط با وزیکول پیش سیناپسی هیپوکمپ هستند(۱۲).

گیاهان دارویی از زمان های قدیم در درمان بیماری‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گرفتند. دراین راستا زعفران علاوه بر این‌که به‌عنوان یک ادویه مورد استفاده قرار می‌گرفته، در درمان بیماری‌های مختلف نیز به‌کار می‌رفته است. از اجزای مهم تشکیل‌دهنده زعفران می‌توان به کروسین، کروستین و پیکروکروسین و سافرانال اشاره کرد(۱۳). این اجزا علاوه بر خواص آنتی اکسیدانی(۱۴،۱۳) واجد خواصی چون کاهنده لیپیدهای سرمی(۱۵) محافظ قلب و عروق و اعصاب(۱۷،۱۶)، افزایش‌دهنده حساسیت به انسولین و ضدالتهابی هستند(۱۸). کروسین خواص ضد سرطانی داشته و فعالیت آنتی اکسیدانتی کروسین در درمان آسیب‌های نورونی گزارش شده است(۱۹). شواهد اخیر اثرات محافظت کننده عصبی کروسین را در مدل‌های تجربی مختلف اختلالات عصبی نشان داده‌اند(۲۱،۲۰). گیاه هلیله سیاه (Terminalia chebula) یکی از گیاهان دارویی در طب سنتی هند و جنوب آسیا به شمار می‌رود. در طب سنتی ایرانی و هندی، از هلیله سیاه برای درمان بیماری‌های زیادی از قبیل دیابت، عفونت‌های چشمی، اسهال وخونریزی استفاده می‌شود. گیاه هلیله سیاه دارای خواص ضد درد، ضد التهاب، اثرات آنتی‌اکسیدانی و همچنین دارای اثرات محافظتی بر سلول‌ها می‌باشد(۲۲). هلیله سیاه بر اختلال شناختی ناشی از اتانول و فراموشی ناشی از دیازپام اثر محافظتی دارد و باعث فعالیت یادگیری و تقویت حافظه می‌شود(۲۳).

بیش‌تر اثرات کروسین و هلیله سیاه مربوط به خواص آنتی‌اکسیدانی آن‌ها است، اگرچه در برخی مطالعات اثر کروسین بر اختلالات حافظه و یادگیری به‌دنبال استرس بررسی شده، ولی هنوز مطالعه‌ای بر روی

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-23]

اثربخشی همزمان مصرف کروسین و عصاره هیدروالکلی هلیله سیاه انجام نشده است. لذا، با توجه به نیاز حوزه بالینی به یک گزینه درمانی جدید با عوارض جانبی کم در درمان اختلالات حافظه به‌دنبال استرس، هدف اول در مطالعه حاضر، بررسی اثرات تجویز به تنهایی و همزمان عصاره هلیله سیاه و کروسین بر پاسخ‌های حافظه در مدل استرس بی حرکتی در موش صحرایی نر بود. از طرفی باتوجه به این‌که استرس بیان ژن‌های سیناپسی ازجمله synapsin-1، synaptophysin و PSD95 را در هیپوکمپ دچار تغییر می‌کند، لذا هدف دوم، بررسی اثرات تجویز به تنهایی و همزمان عصاره هلیله سیاه و کروسین بر بیان این ژن‌ها در هیپوکمپ به‌دنبال استرس بی‌حرکتی بود. به‌عبارتی دیگر، بعضی از مطالعات حیوانی و کلینیکی نشان داده است که درمان با کروسین یا هلیله سیاه به تنهایی اگرچه اثرات محافظت عصبی دارد ولی این اثرات محافظت نورونی قابل توجه نمی‌باشد. در این راستا، درمان ترکیبی با روش‌های مؤثر مختلف ممکن است به پیشگیری از نقص‌های شناختی و ژن‌های دخیل در اختلالات استرسی کمک کند. براساس این مطالعات، ما فرض کردیم که درمان با کروسین همراه با هلیله سیاه ممکن است برای جلوگیری از نقص‌های شناختی و اختلال ژن‌های مربوط به آن در نورون‌های هیپوکامپ ناشی از استرس مزمن، مفیدتر باشد.

مواد و روش‌ها

حیوانات

موش های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه بقیه‌الله تهیه شدند. قبل از شروع آزمایش برای سازگاری به‌مدت یک هفته در شرایط دسترسی آزاد به آب و غذا، سیکل نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی، دمای ۳±۲۵ درجه سلسیوس و هم‌چنین شرایط تهویه و رطوبت کنترل‌شده نگهداری شدند. دستورالعمل مراقبت و نگهداری از حیوانات آزمایشگاهی در تمامی مراحل انجام بر طبق دستورالعمل NIH انجام گرفت. این مطالعه با کد اخلاق IR.BMSU.AEC.1401.011 در کمیته اخلاق دانشگاه بقیه‌الله به تصویب رسیده است.

آماده سازی کروسین و عصاره

کروسین به‌صورت آماده از شرکت Sigma-Aldrich تهیه و در نرمال سالین حل گردید.

میوه هلیله سیاه از پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی تهیه شد. برای تهیه عصاره هیدروالکلی، میوه هلیله سیاه در دمای اتاق در هوا خشک شده، سپس آسیاب شده و برای تهیه عصاره از اتانول: آب (۷۰:۳۰، V/V) استفاده شد و در نهایت عصاره به‌دست آمده برای استفاده بیش‌تر در دمای ۵ درجه سلسیوس نگهداری شد(۲۴). برای گاواژ عصاره در نرمالین سالین حل گردید.

طراحی مطالعه

این مطالعه بر روی ۲۵ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار انجام گرفت. موش‌ها به‌طور تصادفی در پنج گروه ۵ تایی تقسیم شدند:

۱. گروه کنترل: هیچ‌گونه مداخله ای دریافت نکرد.
۲. گروه استرس:تنها تحت استرس قرار گرفتند.
۳. گروه کروسین+استرس: هر روز ۳۰ دقیقه قبل از استرس کروسین (۳۰mg/kg) دریافت می‌کردند(۲۵).
۴. گروه استرس+ عصاره هلیله سیاه: هر روز ۳۰ دقیقه قبل از استرس، عصاره هلیله سیاه (۵۰mg/kg) را دریافت می‌کردند(۲۶).
۵. گروه استرس+ عصاره هلیله سیاه+کروسین: هر روز ۳۰ دقیقه قبل از استرس، عصاره هلیله سیاه و کروسین را دریافت می‌کردند.

القا استرس بی حرکتی مزمن

برای القای استرس بی‌حرکتی از دستگاه Restrainer استفاده شد، که این دستگاه شامل استوانه پلاستیکی بود که یک انتهای آن به‌صورت

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-23]

نیمه‌کامل بسته‌شده بود، به‌نحوی‌که حیوانات می‌توانستند پوزه خود را در قسمت نیمه‌باز لوله قرار داده و نفس بکشند، اما امکان چرخش یا عقب‌گرد حیوان وجود نداشت، انتهای این لوله به‌وسیله یک درپوش بسته می‌شد، درنتیجه حیوان امکان جابجایی در داخل لوله را نداشت. هر حیوان دو ساعت در روزبه مدت ۱۴ روز استرس داده می‌شد.

تست یادگیری احترازی غیر فعال

این تست یک روز پس از پایان استرس انجام شد. برای انجام آن از دستگاه Shuttle box استفاده شد. این دستگاه دارای دو محفظه تاریک و روشن مجزا است که توسط یک درب گیوتینی قابل کنترل از هم جدا شده اند. این تست شامل سه مرحله سازش پذیری، یادگیری و یادآوری بود(۲۷).

مرحله سازش پذیری

در روز هشتم استرس مرحله سازش‌پذیری انجام شد. در این مرحله حیوان به‌طوری‌که رو به درب گیوتینی باشد درون محفظه روشن قرار داده می‌شد و پس از ۱۰ثانیه به آرامی درب میانی باز می‌شد و مدت زمان تاخیر (Step through latency: STL) برای ورود حیوان به بخش تاریک ثبت می‌شد.در صورتی‌که این زمان بیش از ۳۰۰ ثانیه بود به‌دلیل عدم تمایل به بخش تاریک، حیوان از مطالعه خارج می‌شد.

مرحله یادگیری

دو ساعت پس از مرحله سازش‌پذیری حیوان(در روز هشتم استرس) هم‌چون مرحله قبل درون محفظه روشن قرار می‌گرفت، با این تفاوت که به محض ورود حیوان به محفظه تاریک درب بسته شده و به کف دست و پای حیوان شوک الکتریکی با شدت ۰/۵ میلی‌آمپر و فرکانس ۵۰ هرتز به مدت ۲ ثانیه اعمال می‌شد و پس از ۲۰ ثانیه حیوان از دستگاه خارج می‌شد و ۲ دقیقه بعد مجدداً این مرحله تکرار می‌شد. در صورت امتناع حیوان از ورود به بخش تاریک در دفعات دوم و سوم یادگیری، حیوان با دست به محفظه تاریک هدایت شده و شوک اعمال می‌گردید.

مرحله یادآوری

مرحله یادآوری در روزهای ۱ ، ۴ و ۷ روز پس از آموزش (که به ترتیب معادل روزهای ۹ و ۱۲ استرس و یک روز پس از پایان استرس بود) انجام گرفت. بدین صورت که همچون مراحل قبل حیوان در محفظه روشن قرار داده می‌شد و مدت زمان تاخیر جهت ورود به محفظه تاریک ثبت می‌شد. حد اکثر زمان سنجش جهت ورود به بخش تاریک ۳۰۰ ثانیه در نظر گرفته شد. یادآوری در روزهای ۱ ، ۴ و ۷ به ترتیب نمایانگر حافظه کوتاه مدت، میان مدت و دراز مدت می‌باشد.

Real time PCR

یک روز پس از اتمام استرس و پس از انجام تست یادآوری با استفاده از کتامین هیدرو کلرید ۱۰ درصد و زایلازین ۲ درصد حیوانات بیهوش و مغز حیوان جدا شد. سپس هیپوکمپ آن‌ها جدا و در نیتروژن مایع قرار داده شد. نمونه‌های بافتی تا زمان آنالیز ژن‌ها در دمای منفی ۸۰ درجه سلسیوس نگهداری شدند. در زمان آنالیز بیان ژن‌ها ابتدا با استفاده از محلول ترایزول (Invitrogen، آمریکا) و بر اساس دستورالعمل سازندگان کیت RNA توتال استخراج گردید و سپس با استفاده از کیت QuantiTect Rev trnscriptase (Qiagen، آمریکا) سنتز cDNA انجام گردید و در نهایت با استفاده از کیت Quanti Fast SYBER Green PCR (Qiagen، آمریکا) و پرایمرهای اختصاصی بیان ژن‌های synaptophysin، synapsin-1، PSD95 و ژن GAPDH به‌عنوان ژن house-keeping سنجیده شد.

در پایان بیان نسبی ژن‌ها نسبت به ژن GAPDH در حالات مختلف سالم، استرس و گروه‌های تیمار شده با

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-23]

فرمول $2^{-\Delta C}$ سنجش شد(۲۸). پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه از مقالات مختلف تهیه شده‌اند که پس از بلاست در NCBI و اطمینان از کارایی آن‌ها برای این مطالعه انتخاب شدند. توالی پرایمرها در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

جدول شماره ۱: توالی‌ها و اندازه آمپلیکون پرایمرهای مورد استفاده

نام ژن	ترادف	اندازه آمپلیکون (جفت باز)	رفرنس
Synapsin-1	F: GTGTCAGGGAACTGGAAGACC R: AGGAGCCCACCACCTCAATA	۱۸۱	(۲۹)
PSD95	F: AGTGACAACCAAGAAATACCGC R: CCCTCTGTTCCATTCACCTGC	۱۵۹	(۳۰)
Synaptophysin	F: AGGGCCTATGATGGACTTTCTG R: TCCGTGGCCATCTTCACAT	۱۰۵	(۷)
GAPDH	F:CAACTCCCTCAAGATTGTCAGCAA R: GGCATGGACTGTGGTCATGA	۱۱۸	(۲۹)

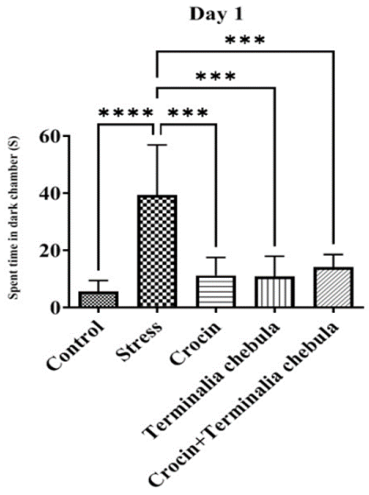
روش تجزیه وتحلیل داده‌ها:

محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 18.0 انجام گرفت. نتایج کمی به‌صورت میانگین ± انحراف معیار(Mean±SD) بیان شدند. از روش ANOVA و Post Hock Tukey multiple comparison جهت مقایسه نتایج آزمایشگاهی بین گروه‌های مختلف استفاده شد. سطح معنی دار بودن P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

در روزهای ۴،۱و۷ بعد از یادگیری پارامترهای تست shuttle box بررسی شد که شامل دو پارامتر مدت‌زمان توقف در اتاقک تاریک و مدت زمان تاخیر برای ورود به اتاقک تاریک بود.

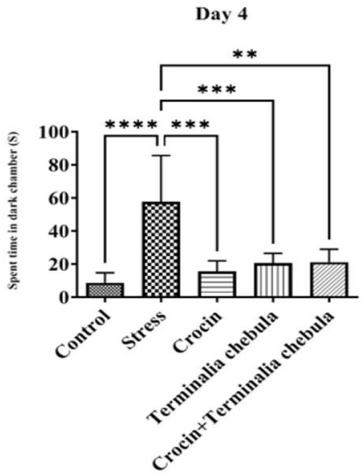
زمان توقف در محفظه تاریک

نتایج آنالیز آماری تفاوت معنی‌داری را در زمان سپری شده در محفظه تاریک در بین گروه‌های مورد مطالعه نشان داد (نمودار شماره۱). یک روز بعد از یادگیری، زمان سپری شده در محفظه تاریک به طور معنی‌داری (P<۰/۰۰۰۱) در گروه استرس در مقایسه با کنترل افزایش یافته است. تیمار با کروسین، عصاره هلیله سیاه و تیمار همزمان آن‌ها زمان توقف را کاهش دادند (برای همه گروه‌ها P<۰/۰۰۱).



نمودار شماره ۱: زمان توقف در محفظه تاریک در گروه‌های مورد مطالعه در روز اول بعد از زمان یادگیری
*** معنی‌داری P< ۰/۰۰۱ و **** معنی‌داری P< ۰/۰۰۰۱

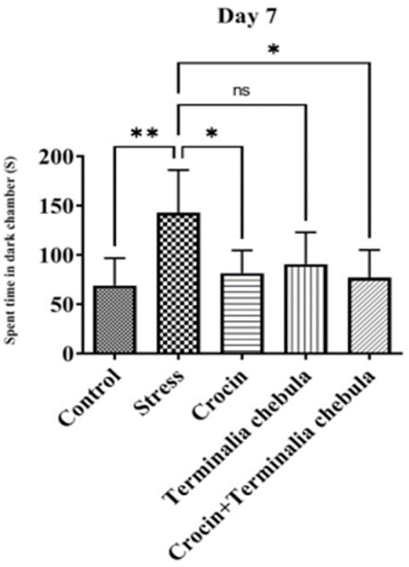
در روز۴ بعد از یادگیری نیز الگوی مشابه روز اول مشاهده شد (نمودار شماره ۲). زمان توقف در محفظه تاریک در گروه استرس نسبت به کنترل به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۰۰۱) افزایش یافت. تیمار با کروسین، عصاره هلیله سیاه و تیمار همزمان آن‌ها زمان توقف را کاهش دادند (به‌ترتیب P<۰/۰۰۱، P<۰/۰۰۱ و P<۰/۰۱) در روز ۴ بعد از یادگیری نیز همانند روز اول بعد از یادگیری نیز بین گروه‌های مختلف، تفاوتی در این زمان مشاهده نشد(P<۰/۰۵).



نمودار شماره ۲: زمان توقف در محفظه تاریک در گروه‌های مورد مطالعه در روز چهارم بعد از زمان یادگیری. (** معنی‌داری P<۰/۰۱، *** معنی‌داری P<۰/۰۰۱ و **** معنی‌داری P<۰/۰۰۰۱)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-23]

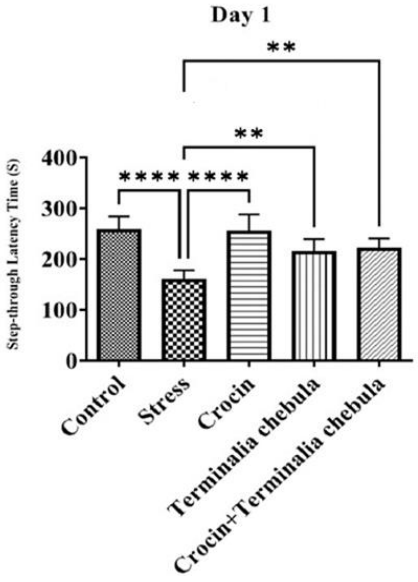
در روز ۷ بعد از یادگیری، زمان سپری شده در محفظه تاریک به‌طور معنی‌داری(P<۰/۰۱) در رت‌های تحت استرس در مقایسه با کنترل افزایش یافت (نمودار شماره ۳). کروسین باعث کاهش معنادار زمان توقف نسبت به گروه استرس(P<۰/۰۵) شد در حالی‌که عصاره هلیله سیاه از نظر آماری تغییری را در زمان توقف نسبت به گروه استرس ایجاد نکرد(P>۰/۰۵) اما تجویز همزمان کروسین و عصاره هلیله سیاه به‌طور معنی‌داری(P<۰/۰۵) زمان سپری شده در محفظه تاریک را نسبت به گروه استرس کاهش داد. تفاوت معنی‌داری(P>۰/۰۵) بین گروه کروسین، عصاره هلیله سیاه و ترکیب آن‌ها در زمان سپری شده در محفظه تاریک در روزهای مختلف مشاهده نشد.



نمودار شماره ۳: زمان توقف در محفظه تاریک در گروه‌های مورد مطالعه در روز هفتم بعد از زمان یادگیری
* معنی‌داری P<۰/۰۵، ** معنی‌داری P<۰/۰۱ و ns معنی‌داری نبود.

مدت زمان تاخیر

در روز اول پس از یادگیری مدت زمان تاخیر ورود به اتاقک تاریک (مدت زمانی که طول می‌کشد تا موش‌ها از اتاقک روشن به محفظه تاریک بروند) در گروه استرس نسبت به کنترل به‌طور معناداری (P<۰/۰۰۰۱) کاهش یافت. تیمار با کروسین، عصاره هلیله سیاه و تجویز همزمان آن‌ها این مدت زمان را نسبت به گروه استرس به‌طور معناداری افزایش داد (به ترتیب P<۰/۰۰۰۱، P<۰/۰۱ و P<۰/۰۱)(نمودار شماره۴).

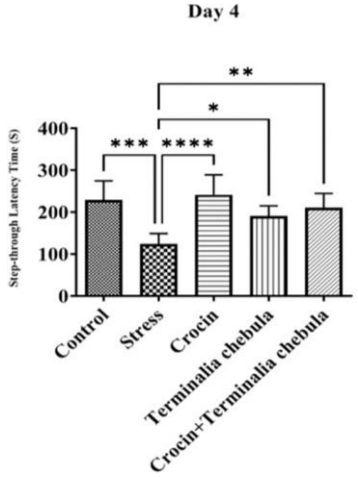


نمودار شماره ۴: مدت زمان تاخیر در گروه‌های مختلف مورد مطالعه در روز اول پس از یادگیری
** معنی‌داری P<۰/۰۱ و **** معنی‌داری P<۰/۰۰۰۱

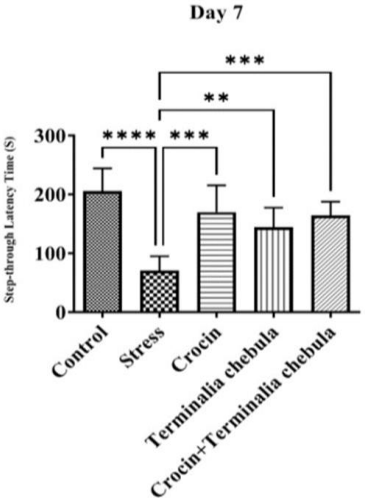
در روز ۴ بعد از یادگیری هم الگوی مشابه روز اول پس از یادگیری دیده شد. مدت زمان تاخیر در گروه استرس نسبت به کنترل به‌طور معناداری(P<۰/۰۰۱) کاهش یافت. تیمار با کروسین، عصاره هلیله سیاه و تجویز همزمان آن‌ها این زمان را نسبت به گروه استرس به‌طور معناداری افزایش داد (به ترتیب P<۰/۰۰۰۱، P<۰/۰۵ و P<۰/۰۱) (نمودار شماره ۵).

در روز۷ بعد از یادگیری نیز مدت زمان تاخیر گروه استرس نسبت به کنترل به‌طور معناداری (P<۰/۰۰۰۱) کاهش یافت. همانند روزهای ۱ و ۴ تیمار با کروسین، عصاره هلیله سیاه و تجویز همزمان کروسین و عصاره هلیله سیاه زمان تاخیر را نسبت به گروه استرس به‌طور معناداری افزایش دادند (به‌ترتیب P<۰/۰۰۱، P<۰/۰۱ و P<۰/۰۰۱) (نمودار شماره ۶).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-23]



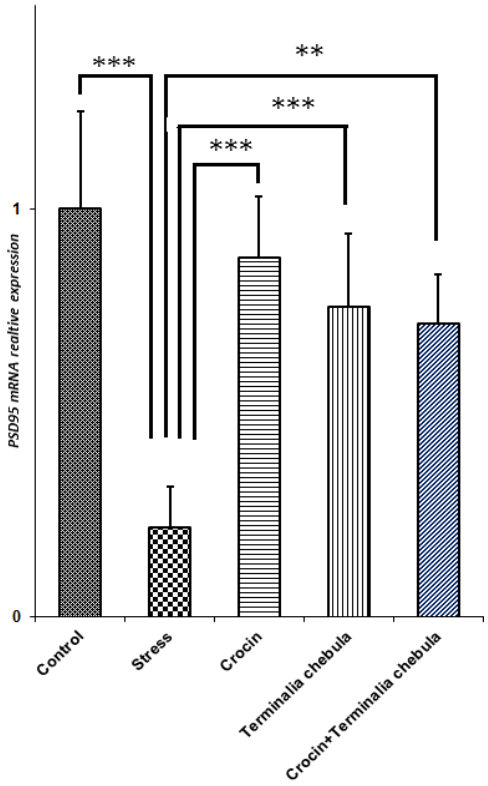
نمودار شماره ۵: مدت زمان تاخیر در گروه های مختلف مورد مطالعه در روز چهارم پس از یادگیری
* معنی‌داری P<۰/۰۵، ** معنی‌داری P<۰/۰۱ ، *** معنی‌داری P< ۰/۰۰۱ و **** معنی‌داری P<۰/۰۰۰۱



نمودار شماره ۶: مدت زمان تاخیر در گروه های مختلف مورد مطالعه در روز هفتم پس از یادگیری (** معنی‌داری P<۰/۰۱، *** معنی‌داری P<۰/۰۰۱ و **** معنی‌داری P<۰/۰۰۰۱)

نتایج بررسی بیان نسبی mRNA ژن PSD95 در جمعیت مورد مطالعه

همان‌طورکه درنمودار شماره ۷ نشان داده شده بیان PSD95 در گروه استرس نسبت به کنترل به‌طور معناداری(P<۰/۰۰۱) کاهش یافته است. تیمار با کروسین، عصاره هلیله سیاه و تجویز همزمان آن‌ها باعث افزایش معنادار بیان آن نسبت به گروه استرس شد (به ترتیب P<۰/۰۰۱، P<۰/۰۰۱ و P<۰/۰۱).



نمودار شماره ۷: بیان نسبی ژن PSD95 در گروه‌های مورد مطالعه
** معنی‌داری P<۰/۰۱ و *** معنی‌داری P<۰/۰۰۱

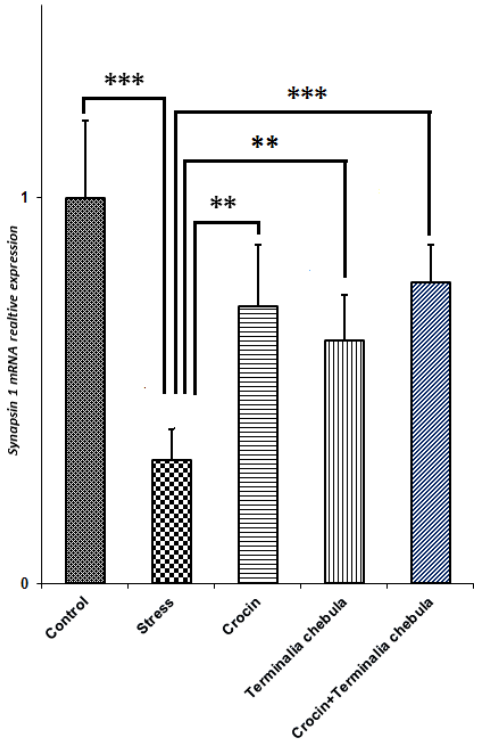
نتایج بررسی بیان نسبی mRNA ژن سیناپسین۱ درجمعیت مورد مطالعه

چنان‌چه در نمودار شماره ۸ مشاهده می شود بیان ژن سیناپسین۱ درگروه استرس نسبت به کنترل به شکل معناداری(P<۰/۰۰۱) کاهش یافت. تیمارهای مختلف با این کاهش مقابله کردند. تیمار باکروسین، عصاره هلیله سیاه و ترکیب همزمان آن‌ها سبب افزایش بیان نسبت به گروه استرس شد(به‌ترتیب P<۰/۰۱، P<۰/۰۱ و P<۰/۰۰۱).

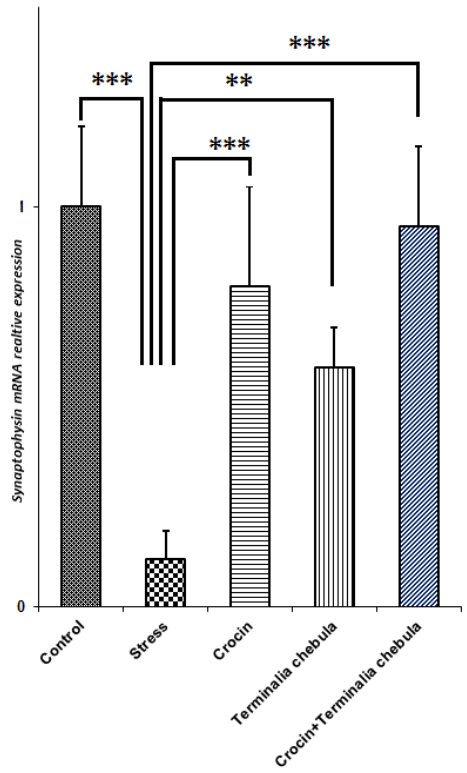
نتایج بررسی بیان نسبی mRNA ژن سیناپتوفیزین در جمعیت مورد مطالعه

همانطورکه در نمودار شماره ۹ مشاهده می‌شود بیان ژن سیناپتوفیزین درگروه استرس نسبت به کنترل کاهش معناداری(P<۰/۰۰۱) داشت. تجویز کروسین، هلیله و ترکیب آن‌ها سبب افزایش معنادار در بیان این ژن نسبت به گروه استرس شد(به‌ترتیب P<۰/۰۱، P<۰/۰۱ و P<۰/۰۰۱).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-23]



نمودار شماره ۸: بیان نسبی ژن سیناپسین ۱ در گروه‌های مورد مطالعه
** معنی‌داری P<۰/۰۱ و *** معنی‌داری P<۰/۰۰۱



نمودار شماره ۹: بیان نسبی ژن سیناپتوفیزین درگروه‌های مورد مطالعه
** معنی‌داری P<۰/۰۱ و *** معنی‌داری P<۰/۰۰۱

باتوجه به نمودارهای شماره ۱تا ۶ که مربوط به دو شاخصه حافظه یعنی زمان توقف در محفظه تاریک و مدت زمان تاخیر برای ورود به محفظه تاریک می‌باشد، استرس سبب افزایش زمان توقف و کاهش مدت زمان تاخیر می‌شود و تیمارهای مختلف سبب بهبود در این شاخصه‌ها شده‌اند. هیچ اختلافی بین تیمارهای مختلف در تاثیرگذاری بر حافظه وجود نداشت. هم‌چنین همان‌طورکه از مقایسه نتایج نمودارهای شماره ۷ تا ۹ مشخص است، استرس باعث کاهش بیان ژن‌های مختلف می‌شود. بیش‌ترین کاهش بیان در گروه استرس نسبت به کنترل به‌ترتیب مربوط به ژن‌های سیناپتوفیزین (کاهش ۸/۳۳ برابری) وPSD95 (کاهش ۴/۵۵ برابری) و سپس سیناپسین ۱ (کاهش ۳/۱۳ برابری) می‌باشد. تیمارهای مختلف سبب افزایش بیان این ژن‌ها نسبت به گروه استرس شدند. بیش‌ترین افزایش بیان هم پس از تیمار به ترتیب مربوط به ژن‌های سیناپتوفیزین، PSD95 و سپس سیناپسین ۱می‌باشد. کروسین باعث افزایش ۶/۷ برابری، ۴ برابری و ۲/۲۵ برابری؛ عصاره هلیله سیاه باعث افزایش ۵ و ۳/۴۵ و ۲ برابری و ترکیب کروسین و عصاره هلیله سیاه باعث افزایش ۷/۹ و ۳/۲۷ و ۲/۴۴ برابری در بیان ژن به ترتیب سیناپتوفیزین، PSD95 و ژن سیناپسین ۱ شده است. تفاوتی بین گروه‌های مختلف در سطح بیان دیده نشد.

بحث

مطالعه حاضر بر پایه‌ای مبتنی بر بررسی اثربخشی عصاره هیدروالکلی هلیله سیاه وکروسین بر استرس و اختلال حافظه ناشی از آن و نیز اثر آن بر میزان بیان سه ژن synaptophysin,PSD95 و synapsin-1 صورت گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که استرس بر شاخصه های حافظه شامل زمان توقف در محفظه تاریک و مدت زمان تاخیر تاثیر می گذارد به گونه ای که مدت زمان توقف در محفظه تاریک را افزایش و مدت زمان تاخیر برای ورود به محفظه تاریک را کاهش می‌دهد

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-23]

که نشان‌دهنده اختلال در حافظه است. علاوه بر این بیان ژن‌های دخیل در حافظه شامل synaptophysin، PSD95 و synapsin-1 در گروه استرس نسبت به کنترل کاهش می‌یابد. تیمار با کروسین، عصاره هلیله سیاه و تجویز همزمان آن‌ها باعث کاهش مدت زمان توقف و افزایش مدت زمان تاخیر و افزایش بیان ژن‌های فوق گردید که نشان دهنده اثربخشی تیمارهای مختلف بر حافظه در سطح مولکولی و رفتاری می‌باشد.

استرس یک واکنش به محرک‌های داخلی و خارجی است که باعث ایجاد بسیاری از اختلالات مغزی مانند کمبود حافظه می‌شود(۳۱). استرس شدید ویا طولانی مدت ممکن است منجر به تغییراتی درعملکرد وساختار مغز به‌ویژه در هیپوکمپ می‌شود(۳۲). هیپوکمپ نقش مهمی در حافظه و تنظیم هورمون‌های استرس عصبی دارد(۳۳). استرس بر مورفولوژی و فیزیولوژی سیستم عصبی تأثیر می‌گذارد و به هیپوکمپ آسیب می‌رساند و در نهایت منجر به اختلال در یادگیری و حافظه می‌شود(۳۴). استرس بی‌حرکتی مزمن باعث مرگ و آتروفی نورون‌های هیپوکمپ در موش صحرایی می‌شود(۳۵). بخش مهمی از تحقیقات علوم اعصاب نشان داده است که تجربیات استرس‌زا می‌تواند به جنبه‌های خاصی از عملکرد مغز آسیب برساند. استرس غیرقابل کنترل می‌تواند عوارض جانبی نامطلوبی مانند اختلال یادگیری و ظرفیت حافظه داشته باشد که باعث تشدید کاهش شناخت مرتبط با پیری، رفتارهای مضطرب، کاهش فعالیت تولیدمثلی و افزایش مستعد شدن نورون‌های هیپوکمپ به آتروفی یا نکروز شود(۳۷،۳۶). امروزه، گزینه‌های درمانی برای درمان استرس تنها تسکین نسبی ایجاد می‌کند و درمان استرس هنوز وجود ندارد. بنابراین، استفاده از داروهای قابل تحمل‌تر و کم‌تر سمی‌تر با اثرات مطلوب‌تر برای مهار یادگیری و اختلال و کاهش رفتارهای شبه اضطرابی و آسیب‌های ساختاری عصبی در استرس ضروری به نظر می‌رسد(۳۸).

کروسین یکی از موادی است که می‌تواند اختلال حافظه ناشی از استرس را بهبود دهد. چنان‌چه در مطالعه حاضر کروسین هم مدت زمان توقف و هم مدت زمان تاخیر در اتاقک تاریک را بهبود بخشید، مطالعات نسبتا مشابهی در این مورد صورت گرفته است. کروسین سبب کاهش قابل توجه رفتارهای شبه اضطرابی می‌شود.

در سال ۲۰۱۵ طلایی و همکاران اثر ضد اضطرابی کروسین رادر بیماران مبتلا به اختلال افسردگی بررسی کردند که نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد کروسین باعث بهبود قابل توجهی در علایم اضطراب می‌شود(۳۸).

در سال ۲۰۱۹ ادبی‌زاده وهمکاران اثرات کروسین بر اختلال حافظه فضایی ناشی از هیوسین در هیپوکمپ موش صحرایی مورد بررسی قرار دادند. کروسین، هیوسین، نرمال سالین و ریواستیگمین به‌مدت ۵ روز به موش‌های صحرایی نر ویستار به‌صورت داخل صفاقی تجویز شد. تجویز کروسین و ریواستیگمین به‌طور قابل‌توجهی یادگیری را بهبود بخشید. اختلال در یادگیری و حافظه ناشی از هیوسین توسط کروسین بهبود یافت(۳۹).

درسال ۲۰۱۸ فرخنده و همکاران به بررسی تاثیرات محافظتی‌کروسین درمدیریت بیماری‌های عصبی پرداختند و اثرات ضد صرع و ضد آلزایمر کروسین را گزارش دادند. کارایی کروسین در درمان ایسکمی مغزی و آسیب مغزی تروماتیک نیز با استفاده از مدل‌های حیوانی تأیید شد. درمان با کروسین باعث افزایش سطح دوپامین در مغز مدل تجربی بیماری پارکینسون شد، این بررسی هم‌چنین نشان داد که کروسین می‌تواند به‌عنوان یک کاندید موثر در مدیریت بیماری‌های سیستم عصبی به‌دلیل اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی آن در نظر گرفته شود(۴۰).

یکی دیگر از گیاهانی که در این مطالعه جهت بهبود اختلال حافظه ناشی از استرس استفاده شد، هلیله سیاه بود که باعث بهبود شاخصه‌های حافظه و افزایش بیان ژن‌هایی دخیل در حافظه شد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عصاره هیدروالکلی هلیله سیاه اختلال حافظه ناشی از استرس بی حرکتی را بهبود می‌بخشد.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-23]

مطالعات نشان داده است که هلیله سیاه اثرات ضد درد، ضدالتهابی، آنتی اکسیدانی و اثرات محافظتی برروی سلول‌ها دارد(۴۱).

در سال۲۰۱۱مطالعه‌ای که توسط Debnath و همکاران انجام شد فعالیت ضد استرسی عصاره اتانولی هلیله سیاه (۲۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) مورد بررسی قرار داد. نتایج این مطالعه نشان داد که هلیله سیاه مانع افزایش سطوح بیوشیمیایی گلوکز، تری گلیسرید، کورتیکوسترون پلاسما و هم‌چنین تغییر وزن آدرنال، کبد و کلیه ناشی از استرس می‌شود(۴۲). این مطالعه اثر ضد استرسی عصاره اتانولی هلیله سیاه را نشان می‌دهد، زیرا توانسته بود فاکتورهای مختلف مرتبط با استرس را بهبود ببخشد. علی‌رغم تفاوت در طراحی مطالعه و نوع و دوز عصاره اما به گونه‌ای همسو با نتایج مطالعه ما می‌باشد.

در سال۲۰۱۸ Lakshmi و همکاران اثر عصاره اتانولی (۱۰۰mg/kg) و عصاره آبی (۱۰۰ mg/kg) میوه هلیله سیاه بر فعالیت یادگیری و تقویت حافظه در موش های صحرایی دچار اختلال شناختی ناشی از اتانول و فراموشی ناشی از دیازپام را مورد بررسی قراردادند که مشخص شد هر دو عصاره اثر حفاظتی دارند(۲۳) که همسو با نتایج مطالعه حاضر می‌باشد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استرس سبب کاهش بیان ژن‌های مرتبط با حافظه یعنی سیناپتوفیزین، سیناپیبن و PSD 95 می‌شود و تیمار با کروسین، عصاره هلیله سیاه و تیمار همزمان آن‌ها بیان این ژن‌ها را در هیپوکمپ افزایش می‌دهند. سیناپتوفیزین یک گلیکوپروتئین ساختاری و جزء اصلی غشاهای وزیکولی سیناپسی است. سیناپتوفیزین در اگزوسیتوز انتقال‌دهنده عصبی نقش دارد و یک نشانگر عصبی غدد درون ریز است. سیناپسین ۱ پروتئینی محیطی در وزیکول‌های سیناپسی است که در تعدیل انتشار انتقال‌دهنده‌های عصبی نقش دارد. تقریباً در تمام انواع سلول‌های عصبی بیان می‌شود اما در هیچ سلول غیر عصبی یافت نشده است(۴۳). PSD95 نیز یک پروتئین داربست پس سیناپسی است که با تثبیت افزایش سیناپسی مرتبط است، هم‌چنین یک جزء ضروری در انتقال گلوتاماترژیک، شکل‌پذیری سیناپسی و مورفوژنز خارهای دندریتیک در طول توسعه عصبی است(۱۰). اخیراً مطالعات ژنومی، اختلال عملکرد PSD95 را با اختلالات عصبی روانی مانند اسکیزوفرنی، اختلال طیف اوتیسم و اختلال فکری مرتبط می‌کند(۴۴). مطالعاتی اثر ضد اضطرابی ژن‌های سیناپتوفیزین و PSD95 را بررسی کرده‌اند به‌طور مثال در مطالعه Kai و همکارانش در موش‌های مبتلا به اختلال استرس پس از سانحه (PTSD) تحت درمان با طب سوزنی، بیان سیناپتوفیزین وPSD95 افزایش یافت و هم‌چنین رفتارهای اضطرابی و حافظه در طی درمان بهبود یافت(۴۵). هم‌چنین کاهش سطوح PSD95 و سیناپتوفیزین و افزایش پلاک‌های آمیلوئیدی در هیپوکمپ موش‌های صحرایی که از سنین پایین از مادر خود جدا شده بودند گزارش شده است که نشان‌دهنده اهمیت این پروتئین‌ها در سیستم‌شناختی و حافظه می‌باشد(۴۶).

در سال ۲۰۱۶ Wang و همکاران اثرات استرس مزمن بر شناخت موش‌های نر SAMP8 را بررسی کردند. برای بررسی مکانیسم‌های عصبی اثرات استرس بر روی شناخت در موش، تغییرات در بیان PSD95 و سیناپتوفیزین، ارزیابی شد و نتایج نشان داد که استرس مزمن باعث کاهش بیان mRNA و پروتئین سیناپتوفیزین و PSD95 در هیپوکمپ موش‌ها می‌شود. نتایج نشان داد که مکانیسم‌های عصبی استرس مزمن بر شناخت ممکن است با کاهش بیان سیناپتوفیزین و PSD95که برای پلاستیسیته سیناپسی ساختاری حیاتی هستند، همراه باشد(۴۷).

نتایج مطالعه ما نشان داد که استرس تغییرات قابل توجهی در رفتارهای اضطرابی حیوانات ایجاد می‌کند، از جمله کاهش مدت زمان تاخیر جهت ورود به محفظه تاریک و افزایش زمان حضور در اتاق تاریک که نشان دهنده اختلال حافظه می‌باشد. پیش درمانی با کروسین و

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-23]

هلیله سیاه به تنهایی و ترکیب آن‌ها درمقایسه با گروه استرس منجر به افزایش مدت زمان تاخیر جهت ورود به محفظه تاریک وکاهش زمان حضور در اتاق تاریک شد که نشان‌دهنده بهبود حافظه در این گروه‌ها می‌باشد. سطح بیان برخی از پروتئین‌های سیناپسی احتمالاً به دنبال مصرف هلیله سیاه و زعفران تغییر می‌کند، نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که قرار گرفتن در معرض استرس منجر به کاهش بیان سیناپتوفیزین، سیناپسین و PSD95 در هیپوکمپ می‌شود. درمان ترکیبی هلیله سیاه و کروسین در بهبود حافظه و استرس و افزایش بیان ژن‌های نامبرده مفید بود. به طور خلاصه، یافته‌های ما نشان می‌دهد که سیناپتوفیزین، سیناپسین و PSD95 ژن‌های پاسخ‌دهنده به استرس هستند و این احتمال را افزایش می‌دهند که تغییرات در بیان این یا سایر پروتئین‌های وزیکول سیناپسی ممکن است درتولید برخی از اثرات فیزیولوژیکی و پاتوفیزیولوژیکی استرس در هیپوکمپ مهم باشد. این تغییرات ممکن است به خصوص به اختلالات بالینی مانند افسردگی و اختلال استرس پس از سانحه که به استرس حساس هستند و شامل تغییرات در شکل‌پذیری عصبی و سیناپسی هستند مربوط باشد(۴۸،۴۹).

مطالعه ما نشان داد که درمان با کروسین و عصاره هیدروالکلی هلیله سیاه به‌طور جداگانه و یا ترکیب آن‌ها در بهبود حافظه و کاهش استرس با افزایش بیان ژن‌های سیناپسین، سیناپتوفیزین و PSD95 موثر بود.این نتایج نشان می‌دهد که کروسین یا عصاره هلیله سیاه می تواند یک درمان جایگزین برای اختلالات حافظه و استرس باشد. بااین حال این نتایج اولیه هستند نیاز به مطالعات بیش‌تر درمورد مکانیسم دقیق اثر و آزمایشات بالینی دارد.

References

1. Kim JJ, Diamond DM. The stressed hippocampus, synaptic plasticity and lost memories. Nat Rev Neurosci 2002; 3(6): 453-562.
2. Gunn BG, Baram TZ. Stress and seizures: space, time and hippocampal circuits. Trends Neurosci 2017; 40(11): 667-679.
3. Leng L, Li J, Luo XM, Kوim JY, Li YM, Guo XM et al. Polychlorinated biphenyls and breast cancer: A congener-specific meta-analysis. Environ Int 2016; 88: 133-141.
4. Dedovic K, Duchesne A, Andrews J, Engert V, Pruessner JC. The brain and the stress axis: the neural correlates of cortisol regulation in response to stress. Neuroimage 2009; 47(3): 864-871.
5. McEwen BS, Nasca C, Gray JD. Stress effects on neuronal structure: hippocampus, amygdala, and prefrontal cortex. Neuropsychopharmacology 2016; 41(1): 3-23.
6. Wang Z, Neylan TC, Mueller SG, Lenoci M, Truran D, Marmar CR, et al. Magnetic resonance imaging of hippocampal subfields in posttraumatic stress disorder. Arch Gen Psychiatry 2010; 67(3): 296-303.
7. Beheshti S, Tohidloo S, Esmaeili A. Frankincense improves memory retrieval and down-regulates the hippocampal synaptophysin mRNA during the development of the rat brain. Physiology and Pharmacology 2020; 24(1): 46-53.
8. Reddy PH, Mani G, Park BS, Jacques J, Murdoch G, Whetsell Jr W, Kaye J, Manczak M. Differential loss of synaptic proteins in Alzheimer's disease: implications for synaptic dysfunction. J Alzheimers Dis 2005; 7(2): 103-117.
9. Howes OD, Cummings C, Chapman GE, Shatalina E. Neuroimaging in schizophrenia: an overview of findings and their implications for synaptic changes. Neuropsychopharmacology 2023; 48(1): 151-167.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-23]

10. Gilman S, Iossifov I, Levy D, Ronemus M, Wigler M, Vitkup D. Rare De Novo Variants Associated with Autism Implicate a Large Functional Network of Genes Involved in Formation and Function of Synapses. Neuron 2011; 70(5):898-907.
11. Han S, Nam J, Li Y, Kim S, Cho SH, Cho YS, et al. Regulation of dendritic spines, spatial memory, and embryonic development by the TANC family of PSD-95-interacting proteins. J Neurosci 2010; 30(45): 15102-15112.
12. Evergren E, Benfenati F, Shupliakov O. The synapsin cycle: a view from the synaptic endocytic zone. J Neurosci Res 2007; 85(12): 2648-2656.
13. Bathaie SZ, Mousavi SZ. New applications and mechanisms of action of saffron and its important ingredients. Crit Rev Food Sci Nutr 2010; 50(8): 761-786.
14. Mousavi SZ, Bathaie S Z .Historical uses of saffron: Identifying potential new avenues for modern research. Avicenna Journal of Phytomedicine 2011; 1(2): 57-66.
15. Iliass Lahmass, Ouahhoud S, Sabouni A, Elyoubi M, Benabbas R, Elmoussaoui R, et al. Antihyperlipidemic effect of crudeextract of saffron (Crocus sativus) stigma in healthy male rats. J Med Allied Sci 2017; 7(1): 20-25.
16. Mehdizadeh R, Parizadeh MR, Khooei AR, Mehri S, Hosseinzadeh H. Cardioprotective effect of saffron extract and safranal in isoproterenol-induced myocardial infarction in wistar rats. Iran J Basic Med Sci 2013; 16(1): 56-63 (Persian).
17. Riaz H. Hepatoprotective effect of crocus sativuse on amiodarone induced liver toxicity. BJPR 2016; 12(4): 1-11.
18. Bathaie SZ, Ashrafi M, Azizian M,Tamanoi F. Recent progress in saffron and its constituents: crocin, crocetin,picrocrocin and safranal. Recent Progress in Medicinal Plants 2016; 43: 1-29.
19. Bastani S, Vahedian V, Rashidi M, Mir A, Mirzaei S, Alipourfard I, Pouremamali F, Nejabati H, Maroufi NF, Akbarzadeh M. An evaluation on potential anti-oxidant and anti-inflammatory effects of Crocin. Biomed Pharmacother 2022; 153: 113297.
20. Chen L, Qi Y, Yang X. Neuroprotective effects of crocin against oxidative stress induced by ischemia/reperfusion injury in rat retina. Ophthalmic Res 2015; 54(3): 157-168.
21. Morelli S, Salerno A, Piscioneri F, Tasselli E, Drioli L. De Bartolo, Neuronal membrane bioreactor as a tool for testing crocin neuroprotective effect in Alzheimer's disease, Chem Eng J 2016; 305: 69-78.
22. Rao GS, Razavi M, Karimian H, Kumar NP, Khajuria DK, Srinivas P, Sahebrao DS. Antinociceptive effect of terminalia belliricain diabetic peripheral neuropathy: a comparison with fluoxetin, imipramine and quercetin. Lat Am J Pharm 2012; 31(4): 520-525.
23. Lakshmi K, Karishma S, Chandra Sekhar G, Babu AN, Kumar NB. Terminalia chebula Retz improve memory and learning in Alzheimer's Model: (Experimental Study in Rat). Research J Pharma Tech 2018; 11(11): 4888-4891.
24. Ahmadi-Naji R, Heidarian E, Ghatreh-Samani K. Evaluation of the effects of the hydroalcoholic extract of *Terminalia chebula* fruits on diazinon-induced liver toxicity and oxidative stress in rats. Avicenna J Phytomed 2017; 7(5): 454-466.
25. Hadipour M, Meftahi GH, Afarinesh MR, Jahromi GP, Hatef B. Crocin attenuates the granular cells damages on the dentate gyrus and pyramidal neurons in the CA3 regions of the hippocampus and frontal cortex in the rat

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-23]

model of Alzheimer's disease. J Chem Neuroanat 2021; 113: 101837.

26. Haghani M, Jafari M, Meftahi GH, Behzadnia MJ, Bahari Z, Salimi-Sabour E, et al. Analgesic effects of Terminalia chebula extract are mediated by the suppression of the protein expression of nerve growth factor and nuclear factor-κB in the brain and oxidative markers following neuropathic pain in rats. Mol Biol Rep 2022; 49(11): 10457-10467.
27. Valipour H, Jahromi GP, Mohammadi A, Meftahi GH. Effects of the suppression of 5-HT1A receptors in the left, right, or bilateral basolateral amygdala on memory consolidation in chronic stress in male rats. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology 2023: 1-16.
28. Walker NJ. Tech.Sight. A technique whose time has come. Science 2002; 296(5567): 557-559.
29. Joshi H, Sharma R, Prashar S, Ho J, Thomson S, Mishra R. Differential expression of synapsin I and II upon treatment by lithium and valproic acid in various brain regions. Int J Neuropsychopharmacol 2018; 21(6): 616-622.
30. Tyler RE, Weinberg BZS, Lovelock DF, Ornelas LC, Besheer J. Exposure to the predator odor TMT induces early and late differential gene expression related to stress and excitatory synaptic function throughout the brain in male rats. Genes Brain Behav 2020; 19(8): e12684.
31. Abou-Hany HO, Atef H, Said E, Elkashef HA, Salem HA. Crocin mediated amelioration of oxidative burden and inflammatory cascade suppresses diabetic nephropathy progression in diabetic rats. Biol Interact 2018; 284: 90-100.
32. Ghorbanzadeh V, Mohammadi M, Mohaddes G, Dariushnejad H, Chodari L, Mohammadi S. Protective effect of crocin and voluntary exercise against oxidative stress in the heart of high-fat diet-induced type 2 diabetic rats. Physiol Int 2016; 103(4): 459-468.
33. Goldfarb EV, Rosenberg MD, Seo D, Constable RT, Sinha R. Hippocampal seed connectome-based modeling predicts the feeling of stress. Nat Commun 2020; 11(1): 2650.
34. Allen AP, Kennedy PJ, Cryan JF, Dinan TG, Clarke G. Biological and psychological markers of stress in humans: focus on the Trier Social Stress Test. Neurosci Biobehav Rev 2014; 38: 94-124.
35. Takuma K, Matsuo A, Himeno Y, Hoshina Y, Ohno Y, Funatsu Y, et al. 17β-estradiol attenuates hippocampal neuronal loss and cognitive dysfunction induced by chronic restraint stress in variectomized rats. Neurosci 2007; 146(1): 60-68.
36. Surget A, Belzung C. Adult hippocampal neurogenesis shapes adaptation and improves stress response: a mechanistic and integrative perspective. Molecular Psychiatry 2022; 27(1): 403-421.
37. Ehteram BZ, Sahraei H, Meftahi GH, Khosravi M. Effect of intermittent feeding on gonadal function in male and female NMRI mice during chronic stress. Braz Arch Biol Technol 2017; 60: e17160607.
38. Talaei A, Moghadam MH, Tabassi SAS, Mohajeri SA. Crocin, the main active saffron constituent, as an adjunctive treatment in major depressive disorder: a randomized, double blind, placebo controlled, pilot clinical trial. J Affect Disord 2015; 174: 51-56.
39. Adabizadeh M, Mehri S, Rajabpour M, Abnous K, Rashedinia M, Hosseinzadeh H.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-23]

The effects of crocin on spatial memory impairment induced by hyoscine: Role of NMDA, AMPA, ERK, and CaMKII proteins in rat hippocampus. Iran J Basic Med Sci 2019; 22(6): 601-609.

40. Farkhondeh T, Samarghandian S, Yazdi HS, Samini F. The protective effects of crocin in the management of neurodegenerative diseases: a review. Am J Neurodegener Dis 2018; 7(1): 1-10.
41. Rao GS, Razavi M, Karimian H, Kumar NP, Khajuria DK, Srinivas P, et al. Antinociceptive effect of terminalia belliricain diabetic peripheral neuropathy: a comparison with fluoxetin, imipramine and quercetin. Lat Am J Pharm 2012; 31(4): 520-525.
42. Debnath J, Prakash T, Karki R, Kotresha D, Sharma P. An experimental evaluation of anti-stress effects of Terminalia chebula. J Physiol Biomed Sci 2011; 29: 24(2): 13-19.
43. Greengard P, Valtorta F, Czernik AJ, Benfenati F. Synaptic vesicle phosphoproteins and regulation of synaptic function. Science 1993; 269(5096): 780-785.
44. Coley AA, Gao WJ. PSD95: A synaptic protein implicated in schizophrenia or autism? Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2018; 82: 187-194.
45. Kai SO, Wang YT, Xiong FJ, Huang AL, Zhang H. Effects of electroacupuncture on behaviors and expressions of SYN and PSD95 in hippocampus of rats with post-traumatic stress disorder. World Journal of Acupuncture-Moxibustion 2023; 33(2): 135-141.
46. Martisova E, Aisa B, Guereñu G, Ramírez MJ. Effects of early maternal separation on biobehavioral and neuropathological markers of Alzheimer's disease in adult male rats. Curr Alzheimer Res 2013; 10(4): 420-432.
47. Wang J, Yuan J, Pang J, Ma J, Han B, Geng Y, et al. Effects of chronic stress on cognition in male SAMP8 mice. Cell Physiol Biochem 2016; 39(3): 1078-1086.
48. Gage FH. Structural plasticity: Cause, result, or correlate of depression. Biol Psychiatry 2000; 48(8): 713-714.
49. Sapolsky RM. Atrophy of the hippocampus in posttraumatic stress disorder: How and when? Hippocampus 2001; 11(2): 90-91.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-05-23]