

## بررسی اثر عصاره آبی زعفران (*Crocus sativus*) بر افسردگی ناشی از استرس راندن اجتماعی در موش بزرگ آزمایشگاهی نر نژاد ویستار

زهرا نظری<sup>۱</sup>، مریم خسروی<sup>۲</sup>، هدایت صحرائی<sup>۳\*</sup>، مریم بنانج<sup>۵</sup>، مجتبی خاکساریان<sup>۶</sup>

۱- دانشجوی دکتری، فیزیولوژی جانوری، واحدتهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- استادیار، گروه زیست شناسی، واحدتهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۳- استاد، گروه زیست شناسی، واحدتهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۴- استاد، گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران

۵- استادیار، گروه زیست شناسی، واحدتهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۶- دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی، لرستان، خرم آباد، ایران

یافته / دوره ۲۴ / شماره ۲ / تابستان ۱۴۰۱ / مسلسل ۹۲

### چکیده

دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۱۲/۱۰ پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۰۶/۰۱

مقدمه: افسردگی به عنوان یک بیماری روانی عوارض زیادی در جوامع بشری ایجاد کرده است. هدف این مطالعه بررسی تأثیر عصاره آبی زعفران بر افسردگی ناشی از استرس مزمن راندن اجتماعی (CSDS) در موش‌های صحرائی بود.

مواد و روش‌ها: برای القای استرس، موش‌های نر مزاجم ویستار (۲۲۰-۲۳۰ گرم) روزانه بیست دقیقه به مدت دوازده روز متوالی در قفس موش‌های صحرائی نر ساکن (مقیم) ویستار (۲۸۰-۳۰۰ گرم) قرار گرفتند. پنج دقیقه قبل از قرار گرفتن در معرض، موش‌های مزاجم عصاره زعفران (۱۰، ۵۱۰ mg/kg) یا سالین (۱ mg/kg) دریافت کردند. پس از قرار گرفتن در معرض استرس، وزن حیوانات، تمایل آنها به محلول ساکارز و فعالیت حرکتی آنها ثبت شد. بعلاوه پس از قرار گرفتن در معرض استرس؛ طی سه مرحله، نمونه‌های خونی از سینوس رترو- اوربیتال حیوانات برای ارزیابی سطوح کورتیکوسترون پلاسما جمع‌آوری شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار آماری SPSS و آزمون کولموگروف-اسمیرونوف (KS) و آنالیز-واریانس تکراری دو طرفه (ANOVA) استفاده شد.

یافته‌ها: بررسی نتایج حاصل از تحلیل آماری در حیوانات گروه استرس کاهش وزن شدید ( $P < 0.05$ )، کاهش میل به نوشیدن محلول ساکارز ( $P < 0.05$ )، کاهش تحرک ( $P < 0.05$ )، و افزایش کورتیکوسترون پلاسما را نشان دادند. تجویز عصاره آبی زعفران با دوزهای (۱۰، ۵۱۰ mg/kg) این علائم را بهبود بخشید ( $P < 0.01$ ).

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج پژوهش ما نشان داد عصاره آبی زعفران نقش مهمی در کاهش افسردگی در مدل حیوانی استرس مزمن راندن اجتماعی دارد، که این اثر از طریق کاهش ترشح کورتیکوسترون در پاسخ به استرس اعمال می‌شود.

واژه‌های کلیدی: استرس مزمن راندن اجتماعی، کورتیکوسترون، افسردگی، عصاره آبی زعفران.

\*آدرس مکاتبه: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحدتهران شمال.

پست الکترونیک: h.sahraei@bmsu.ac.ir

## مقدمه

افسردگی به عنوان یکی از مهم ترین بیماری های ناتوان کننده قرن گذشته در نظر گرفته می شود (۱). از ویژگی های این بیماری می توان به کاهش لذت، کاهش حرکت، بی حالی و در نهایت افکار خودکشی اشاره کرد (۱). به طور متوسط حدود ۱۰ درصد از جمعیت به نوعی به این بیماری مبتلا هستند (۲). عوامل متعددی در پیشرفت افسردگی دخیل هستند. مهمترین آنها عوامل ژنتیکی و عوامل محیطی هستند (۳،۴). یکی از مهمترین عوامل محیطی در پیشرفت افسردگی، استرس است. نشان داده شده است که شرایط استرس مزمن و حاد، اثرات شدیدی بر بروز و تداوم افسردگی دارند (۵). محققان تاکید دارند که هورمون های استرسی (گلوکوکورتیکوئیدها، کورتیکوسترون و کورتیزول) که در طی رویدادهای استرس زا از غدد فوق کلیوی ترشح می شوند، با تأثیر بر هیپوکامپ و آمیگدال، ساختار سلولهای عصبی را در این نواحی مغز تغییر می دهند که در واقع تأثیر مهاری هیپوکامپ در محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال را کاهش می دهد (۶). تغییر در ساختار سلولی عصبی در نورون های هیپوکامپ به دلیل استرس مزمن یا شدید به عنوان یکی از مهم ترین علل افسردگی در نظر گرفته می شود (۷). افسردگی یکی از مهم ترین بیماری های قرن اخیر به شمار می رود و با وجود هزاران مطالعه هنوز نتوانسته اند آن را به طور کامل و دقیق در مدل های حیوانی پیاده سازی کنند (۱). به همین دلیل، هر روز مدل های حیوانی جدیدی برای مطالعه افسردگی در سراسر جهان ایجاد می شود (۸). مدل های حیوانی برای مطالعه افسردگی به طور گسترده توسعه یافته و در بسیاری از مطالعات از این مدلها برای مطالعه اثرات داروهای ضد افسردگی استفاده شده است (۸). به موازات این پیشرفت، گزارش های زیادی از اثرات ضد افسردگی عصاره های گیاهی به ویژه زعفران وجود دارد (۹،۱۳).

مهمترین مدل برای مطالعه افسردگی در جوندگان، مدل استرس شنای اجباری می باشد، به دلیل اینکه تمام ویژگی های افسردگی را در انسان مدل نمی کند (۱۴). توجه به مدل های دیگر حیوانی که بتواند افسردگی را بهتر مدل سازی کند، جلب شده است (۸). مهمترین مدلی که در مطالعات مختلف برای مطالعه افسردگی در نظر گرفته شده است، مدل استرس راندن اجتماعی مزمن (Chronic social defeat stress = CSDS) است که امروزه به عنوان مدلی مهم برای تعیین اثر داروهای ضد افسردگی و بررسی بیومارکرهای مختلف در افسردگی مورد استفاده قرار می گیرد (۱۵). مدل افسردگی ناشی از طرد اجتماعی، به ویژه اگر مزمن باشد، بیشتر علائم رفتاری و بیوشیمیایی مربوط به افسردگی را در حیوانات نشان می دهد (۱۶). این علائم عبارت از بی حرکتی (کاهش تحرک)، بی میلی، کاهش میل به پاداش (بی اهمیتی تغییرات)، افزایش اضطراب، کاهش سطح "فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز" (BDNF) پلازما و مغز، و کاهش سطح پپتیدهای مخدر (اندورفین) در پلازما می باشد (۱۶). با این حال، تأثیر عصاره آبی زعفران در مدل افسردگی ناشی از راندن اجتماعی هنوز بررسی نشده است. در این مطالعه سعی بر آن بود تا با ایجاد مدلی از استرس راندن اجتماعی مزمن در موش های آزمایشگاهی، اثرات ضد افسردگی عصاره آبی زعفران را بررسی کنیم. علاوه بر این، بررسی غلظت پلاسمایی کورتیکوسترون به عنوان معیار مهمی در استرس و اثر عصاره آبی زعفران انجام خواهد شد.

## مواد و روشها

## جامعه آماری، روش نمونه گیری و حجم

در این مطالعه ی تجربی، حیوانات مورد استفاده به تعداد ۶۰ سر از جمعیت موشهای نر نژاد ویستار خریداری شده از انستیتو پاستور ایران می باشند که به تعداد ۸ گروه شش تایی از موشهای نر شامل: یک گروه کنترل

به موش های نر نا آشنا (که اصطلاحاً موش مزاحم خوانده می شوند) وقتی در قفس خانه اش نفوذ می کنند یا وارد می شوند حمله می کند. از این رو، پرخاشگری تنهاجی را می توان با استفاده از موش مقیم به عنوان حیوان آزمایشی مورد مطالعه قرار داد (۱۶).

موشهای گروه مزاحم در قفسهای ۶-۵ تایی با دوره شبانه روزی طبیعی و در دمای ۲۴-۲۲°C، با آب و غذای کافی نگهداری شدند. هم چنین برای گروه کنترل ۶ سر موش مزاحم مورد استفاده قرار گرفت. موشهای مقیم (۶ سر) در قفسهای جداگانه و با یک موش ماده عقیم نگهداری شدند.

### روش القاء استرس مزمن راندن اجتماعی

#### اول تولید موش مقیم

به این منظور، موشهای بزرگ آزمایشگاهی با وزن ۲۸۰ تا ۳۰۰ گرم در قفسهای جداگانه قرار گرفتند. سپس به هر قفس یک سر موش ماده عقیم شده اضافه شد. برای عقیم کردن موشهای ماده، دو هفته قبل از شروع بکار، موشهای ماده با پنتوباریتال سدیم ۴۰ mg/kg بیهوش شده، موهای قسمت تحتانی شکمی آنها تراشیده شده و با ایجاد یک شکاف ۲ سانتی متری در ناحیه شکمی، لوله های رحمی ابتدا با دو نخ بخیه قابل جذب بسته شده و سپس قسمت وسط دو نخ با قیچی بریده شدند. بعد از جراحی به موشها ۱۰ روز فرصت داده شد تا بهبود یافته و در قفس موشهای نر مقیم قرار گیرند. در این حالت، هر موش نر مقیم با یک موش ماده عقیم جفت می شد و چون موش ماده بعد از جفت گیری باردار نمی شد، سیکل استروس را بطور دائم داشت و به همین دلیل، موش نر را همیشه در حالت مالکیت قفس نگه می داشت. ۵ روز پس از جفت شدن موشهای نر و ماده، استرس مزمن راندن اجتماعی شروع شد.

#### دوم استرس مزمن راندن اجتماعی

آزمایشها در فاز تاریکی (ساعت ۱۸:۰۰ عصر به بعد) شروع شد. به این منظور، ابتدا موشهای ماده از قفسها خارج شده و سپس موش های نر جوان مزاحم (با وزن ۲۳۰-۲۲۰ گرم) به

منفی، یک گروه کنترل مثبت، سه گروه شامل حیواناتی بودند که بدون استرس و عصاره ی زعفران دریافت می کردند، سه گروه شامل حیواناتی بودند که استرس و عصاره ی زعفران دریافت می کردند. نمونه گیری بصورت تصادفی ساده از بین یک جمعیت یکصد سری انجام شد.

### روش عصاره گیری

در این پژوهش از کلاله گیاه زعفران خوراکی (زراعتی) از جنس *Crocus* و گونه ی *Sativus* از مزرعه زعفران واقع در خرم آباد استان لرستان (غرب ایران) مورد استفاده قرار گرفت. زعفران به آزمایشگاه معاونت آموزشی و پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی لرستان منتقل گردید. سپس عصاره آبی کلاله پودر شده، گرفته شد. برای این منظور، ۱۰۰ گرم از پودر کلاله خشک شده و پودر شده در یک مخزن شیشه‌ای ریخته شد و به آن ۱۰۰۰ میلی لیتر آب مقطر دوبار تقطیر اضافه شد و به مدت بیست و چهار ساعت در دستگاه *Shaker* گذاشته شد. سپس محلول از یک صافی عبور داده شد و برای مدت یک هفته در دستگاه بن ماری با دمای ۵۵ درجه سانتی گراد قرار گرفت تا آب عصاره نیز به آرامی تبخیر شده و پودر عصاره به جا بماند. از هر ۱۰۰ گرم پودر کلاله به این روش، ۱۸ گرم عصاره بدست آمد. سپس این عصاره در سالین حل شده و با دوز ۱، ۵ و ۱۰ mg/kg و بصورت داخل صفاقی به حیوانات تزریق شد.

### حیوانات

در این تحقیق از موشهای بزرگ آزمایشگاهی نر نژاد ویستار تهیه شده از انستیتو پاستور ایران، با میانگین وزنی ۲۳۰-۲۲۰ گرم به عنوان موشهای مزاحم (*Intruder*) و موشهای ۳۰۰-۲۸۰ گرم به عنوان موشهای مقیم (*Resident*) استفاده شد. تعریف عملیاتی موش مقیم و موش مزاحم: یک موش نر بالغ زمانی که فضای زندگی کافی به او داده شود، قلمرویی را ایجاد می کند. قلمرویی که با حضور موش ماده و یا تجربه جنسی به شدت افزایش می یابد. در نتیجه داشتن این قلمرو، موش مقیم یا ساکن

مورد استفاده قرار گرفت. گروه کنترل سالین را بصورت داخل صفاقی دریافت کردند.

### گروه بندی تحقیق

تعداد گروهها: شامل ۸ گروه شش تایی از موشهای نر به صورت زیر بود:

۱- گروه کنترل منفی ۲- گروه کنترل مثبت ۳- سه گروه شامل حیواناتی که بدون استرس بوده و عصاره ی زعفران دریافت می کردند.

۴- سه گروه شامل حیواناتی هستند که استرس و عصاره ی زعفران دریافت می کردند بعلاوه یک گروه شش تایی از موشهای نر با وزن ۲۸۰ تا ۳۰۰ گرم و یک گروه شش تایی موشهای ماده عقیم. حیوانات گروه کنترل منفی و گروههای بدون استرس در قفس خود باقی می ماندند و فقط تزریق عصاره ی زعفران و یا سالین را تجربه می کردند. حیوانات گروههای کنترل مثبت و گروههای با استرس پس از تزریق عصاره ی زعفران و یا سالین در معرض استرس موش رزیدنت قرار می گرفتند.

### بررسی القاء استرس راندن اجتماعی مزمن در بروز

#### نشانگان شبه افسردگی در حیوانات مزاحم

در این مرحله، همانطور که در بالا ذکر شد، ابتدا به موشهای گروه مزاحم (گروه کنترل مثبت) سالین (۱ ml/kg) بصورت داخل صفاقی تزریق و پس از ۳۰ دقیقه در قفس موشهای مقیم قرار می گرفتند. این حیوانات از نظر نشانگان بروز افسردگی (کاهش وزن، میران آب و غذای مصرفی، میزان تمایل به محلول ۵٪ سوکروز و نیز بروز رفتارهای حرکت، بو کشیدن، ایستادن و خودآرایی) بررسی شدند. همچنین، میزان تغییرات غلظت پلاسمائی هورمون کورتیکوسترون نیز در این حیوانات بررسی شد.

### بررسی اثر عصاره آبی زعفران بر بروز نشانگان شبه

#### افسردگی در حیوانات مزاحم

در ادامه مطالعه در سه گروه از حیوانات در روزهای القاء استرس راندن مزمن اجتماعی، هر روز ۳۰ دقیقه قبل

قفسهای موشهای مقیم وارد می شدند و رفتارهای موشهای نر مقیم در مقابل نرهای جوان ورودی (مزاحم) به مدت ۲۰ دقیقه ثبت می شد. این رفتار شامل بو کشیدن و شناسائی، روی دو پا ایستادن، و حمله و گاز گرفتن موش مزاحم می باشد. پس از حمله و گاز گرفتن، به منظور جلوگیری از تلفات در موشهای مزاحم، این حیوانات از قفس موش مقیم (حتی اگر کمتر از ۱۰ دقیقه از زمان ورود به قفس موش مقیم گذشته بود) خارج ساخته و به قفس نگهداری برگشت داده می شد (ملاحظات اخلاقی). حرکات، ایستادن، خودآرایی و بو کشیدن حیوانات با استفاده از دوربین فیلم برداری به مدت ۲۰ دقیقه ثبت می شد و هر روز ساعت ۹ صبح میزان آب و غذای مصرفی حیوانات نیز ثبت می شد. حیوانات هر روز وزن شده و تغییرات وزن آنها نیز ثبت می گردید. قفس نگهداری حیوانات مزاحم دارای دو منبع مایعات بود که یکی حاوی آب آشامیدنی شهر و دیگری حاوی محلول ۵٪ سوکروز بود. میزان مصرف سوکروز حیوانات نیز ثبت می شد. روزهای دوم تا دوازدهم، موشهای مزاحم به ترتیب به قفس موش های مقیم بعدی منتقل می شدند. این کار باعث می شد تا سه مرحله از گوشه چشم موشهای مزاحم خونگیری انجام شد و از این نمونه خونی برای سنجش میزان کورتیکوسترون پلازما استفاده شد. مرحله اول: در روز اول قبل از قرار گرفتن موشهای مزاحم در قفس موشهای مقیم. مرحله ی دوم: یک هفته بعد از استرس و مرحله سوم: روز دوازدهم یعنی در پایان دوره آزمایش ها، یک بار دیگر نیز خونگیری از گوشه چشم حیوانات انجام می شد.

### داروها

در این تحقیق، سدیم پنتوباریتال (سیگما-آمریکا) مورد استفاده قرار گرفت. دارو در سالین حل شده و با حجم ۱ ml/kg بصورت داخل صفاقی و با دوز mg/kg ۴۵ مورد استفاده قرار گرفت. عصاره کلاله گل زعفران نیز پس از توزین در سالین حل شده و بصورت داخل صفاقی

## یافته‌ها

### الفاء افسردگی در حیوانات با استفاده از روش استرس راندن مزمن اجتماعی:

بررسی نتایج حاصل از تحلیل آماری آنالیز-واریانس دوطرفه در این بخش نشان داد که ۱۲ روز تکرار استرس راندن اجتماعی باعث عدم وزنگیری موشهای مزاحم (آنالیز واریانس دو طرفه، مقایسه بین گروهها: اثر سالیین:  $P < 0/1$ ،  $F(5,30) = 1/10$ ، اثر استرس:  $P < 0/01$ ،  $F(5,30) = 4/51$ )، اثر سالیین × استرس:  $P < 0/01$ ،  $F(5,30) = 3/31$ ، کاهش مصرف غذا، کاهش مصرف آب، کاهش تمایل به محلول سوکروز و افزایش سطح پلاسمائی کورتیکوسترون (شکل ۱) در این حیوانات گردید. هم چنین، میزان رفتارهای حرکتی، بوکشیدن، ایستادن، کاهش یافت ولی رفتار خودآرایی در این حیوانات افزایش پیدا کرد.

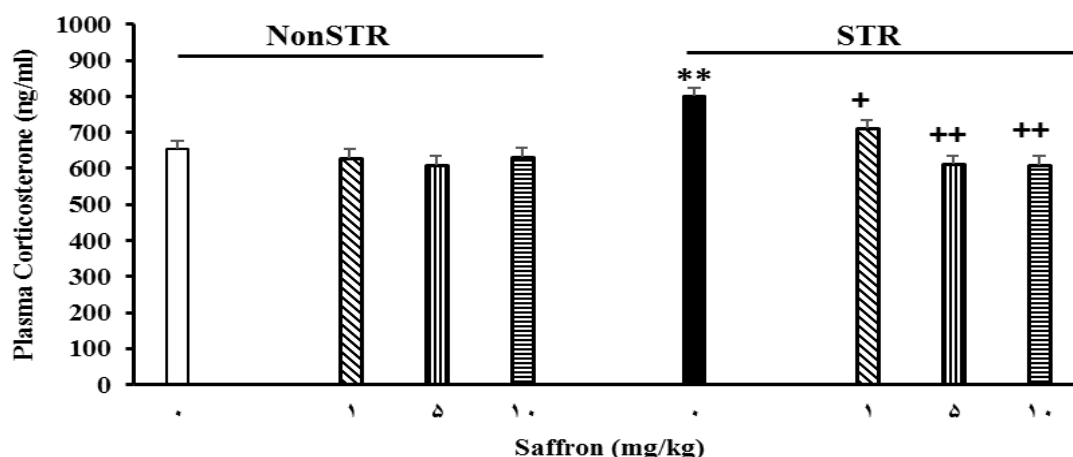
### نتایج تغییرات میزان کورتیکوسترون پلازما در موشهای مزاحم در طول دوره آزمایش راندن اجتماعی

موشهای استرس دیده در زمان القای استرس راندن اجتماعی افزایش زیاد غلظت کورتیکوسترون پلازما را نشان دادند.

از آزمایش، عصاره آبی زعفران ( $10$  و  $5$ ،  $1$  mg/kg) بصورت داخل صفاقی تزریق شد. این حیوانات نیز از نظر نشانگان بروز افسردگی (کاهش وزن، میزان آب و غذای مصرفی، میزان تمایل به محلول  $5\%$  سوکروز و نیز بروز رفتارهای حرکتی، بوکشیدن، ایستادن و خودآرایی) بررسی شدند. همچنین، میزان تغییرات غلظت پلاسمائی هورمون کورتیکوسترون نیز در این حیوانات بررسی شد.

### تجزیه و تحلیل داده ها

برای آنالیز داده های کمی این مطالعه از نرم افزار آماری SPSS ویرایش ۱۶ استفاده شد. در مقایسه متغیرهای کمی بین گروههای مستقل، به منظور بررسی نرمال بودن داده ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف (KS) استفاده شد. در مقایسه متغیرهای کمی بین گروههای مستقل متغیرها از آزمون آنالیز-واریانس تکراری دو طرفه ANOVA استفاده شد. با این فرض که برابری واریانسها رعایت شده بود. در ادامه برای مقایسه تک تک گروهها و بررسی سطح معنی داری بین دو متغیر مستقل در post hoc از آزمون بونفرونی استفاده شد. تمام مقایسه ها به صورت  $Mean \pm SEM$  نمایش داده شده و  $P < 0/05$  به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد. رسم تمامی نمودارها و منحنی ها توسط برنامه Excel ویرایش ۲۰۱۶ انجام گرفته است.



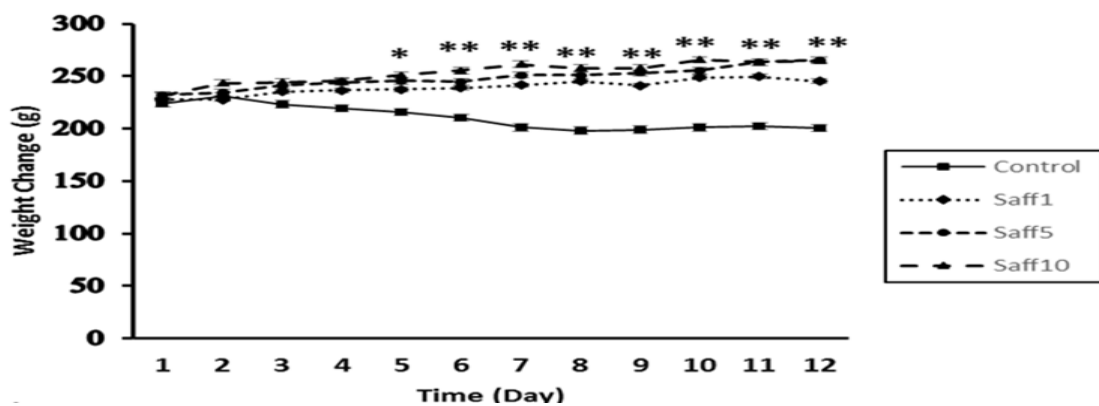
شکل ۱. نتایج تغییرات میزان کورتیکوسترون پلازما در موشهای مزاحم در طول دوره آزمایش راندن اجتماعی. استرس دیده=STR، استرس ندیده nonSTR =، داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار استاندارد برای ۶ سر موش است.

$**P < 0/01$ ،  $+P < 0/05$ ،  $++P < 0/01$  تفاوت نسبت به گروه های کنترل است.

محلول سوکروز و کاهش سطح پلاسمائی کورتیکوسترون (شکل ۱) در این حیوانات گردید. همچنین، میزان رفتارهای حرکتی، بوکشیدن (شکل ۴)، و ایستادن کاهش ولی رفتار خودآرائی در این حیوانات افزایش پیدا کرد.

### اثر عصاره آبی زعفران بر تغییرات وزن موشهای مزاحم در طول دوره آزمایش راندن اجتماعی

موشهای استرس دیده در زمان القای استرس راندن اجتماعی وزن گیری مناسبی را از خود نشان ندادند. تجویز عصاره آبی زعفران (۱۰، ۵ و ۱ mg/kg) باعث مهار اثر استرس گردید (شکل ۲).



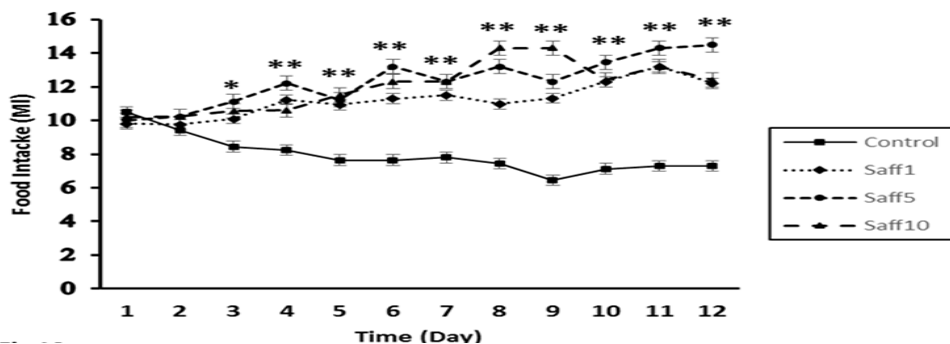
شکل ۲. اثر عصاره آبی زعفران بر تغییرات وزن موشهای مزاحم در طول دوره آزمایش راندن اجتماعی. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار استاندارد برای ۶ سر موش است.  $P < 0.05$  و  $P < 0.01$  تفاوت نسبت به گروه کنترل است.

آبی زعفران (۱، ۵، و ۱۰ میلیگرم/کیلوگرم) باعث مهار اثر استرس گردید (شکل ۳).

### اثر عصاره آبی زعفران بر بروز نشانگان افسردگی در موشهای تحت استرس مزمن راندن اجتماعی

بررسی نتایج حاصل از تحلیل آماری آنالیز واریانس دو طرفه در این بخش نشان داد که تجویز عصاره آبی زعفران با دوزهای (۱، ۵ و ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم) باعث وزنگیری موشهای مزاحم (آنالیز واریانس دو طرفه، مقایسه بین گروهها: اثر زعفران:  $P < 0.01$ ،  $F(7,35)=3.27$ ،  $P < 0.01$ ، اثر زعفران  $\times$  استرس:  $F(7,35)=2.10$ ،  $P < 0.01$ ) (شکل ۲)، افزایش مصرف غذا (شکل ۳)، افزایش مصرف آب، افزایش تمایل به

اثر عصاره آبی زعفران بر تغییرات میزان غذای مصرفی در موشهای مزاحم در طول دوره آزمایش راندن اجتماعی موشهای استرس دیده در زمان القای استرس راندن اجتماعی مقدار غذای کمتری را مصرف کردند. تجویز عصاره



شکل ۳. اثر عصاره آبی زعفران بر تغییرات میزان غذای مصرفی در موشهای مزاحم در طول دوره آزمایش راندن اجتماعی. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار استاندارد برای ۶ سر موش است.  $P < 0.01$  تفاوت نسبت به گروه کنترل است.

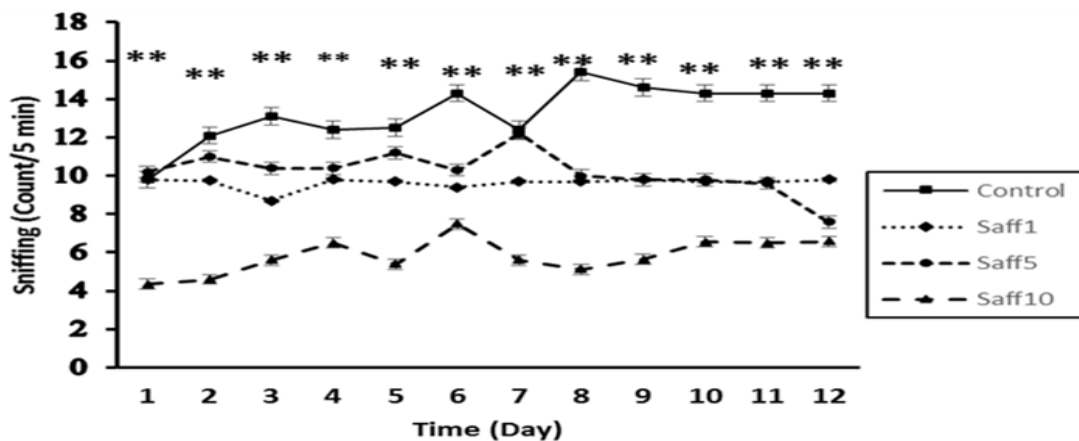
انحراف معیار استاندارد برای ۶ سر موش است. ۰/۰۱ < P\*\* تفاوت نسبت به گروه کنترل است.

اثر عصاره آبی زعفران بر تغییرات رفتار بو کشیدن در موشهای مزاحم در طول دوره آزمایش راندن

اجتماعی موشهای استرس دیده در زمان القای استرس راندن اجتماعی رفتار بو کشیدن کمتری را نسبت به گروه کنترل داشتند. تجویز عصاره آبی زعفران (۱۰، ۵، ۱ mg/kg) و (۱) باعث مهار اثر استرس گردید (شکل ۴).

اثر عصاره آبی زعفران بر تغییرات میزان محلول سوکروز ۵٪ مصرفی، آب مصرفی، رفتار حرکتی، رفتار ایستادن و رفتار خود آرایی در موشهای مزاحم در طول دوره آزمایش راندن اجتماعی

موشهای استرس دیده در زمان القای استرس راندن اجتماعی نسبت به گروه کنترل؛ مقدار محلول سوکروز ۵٪ و آب کمتری را مصرف کردند، حرکت کمتر، رفتار ایستادن کمتر و رفتار خودآرایی بیشتری را نشان دادند. تجویز عصاره آبی زعفران (۱۰، ۵، ۱ mg/kg) و (۱) باعث مهار اثر استرس گردید. داده‌ها به صورت میانگین ±



شکل ۴. اثر عصاره آبی زعفران بر تغییرات رفتار بو کشیدن در موشهای مزاحم در طول دوره آزمایش راندن اجتماعی داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار استاندارد برای ۶ سر موش است. ۰/۰۱ < P\*\* تفاوت نسبت به گروه کنترل است.

نتایج این مطالعه، تایید مجددی بر اثر ضد افسردگی زعفران بود. نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل آماری آنالیز-واریانس دوطرفه نشان داد که ۱۲ روز تکرار استرس راندن اجتماعی باعث عدم وزن گیری موشهای مزاحم، کاهش مصرف غذا، کاهش مصرف آب، کاهش تمایل به محلول سوکروز و افزایش سطح پلاسمائی کورتیکوسترون در این حیوانات می شود. همراستا با این تغییرات، کاهش رفتارهای وابسته به دوپامین شامل رفتار حرکتی، بوکشیدن، و ایستادن در حیوانات گروه مزاحم دیده شد و در نهایت، رفتار خودآرایی در حیوانات گروه مزاحم افزایش زیادی یافت. این نتایج بیان کننده کارآمدی استرس بکار گرفته شده در این تحقیق برای القاء افسردگی می باشد.

## بحث و نتیجه گیری

زعفران (*Crocus sativus*) گیاهی کوچک از خانواده زنبق می باشد. گیاه زعفران دارای اثرات فارماکولوژیک متعددی می باشد. پژوهش‌ها نشان داده اند که زعفران و مواد موثره آن دارای اثرات ضد توموری، آنتی-اکسیدان، آنتی ژنوتوکسیک، حفاظت سلولی، ضد درد و التهاب، ضد تشنج، ضد افسردگی و کاهنده علائم محرومیت از اوپیوئید می باشند (۳۸). زعفران به طور سنتی به عنوان یک رنگ یا طعم دهنده استفاده می شود، اما تحقیقات اخیر توان بالقوه این ماده را در ارتقاء سلامت نشان داده است، ترکیبات مهم زعفران نظیر کروسین، پیکروکروسین و سافرانال دارای اثرات ویژه می باشند (۳۹).

در حالیکه تجویز عصاره آبی زعفران در ۳۰ دقیقه قبل از القاء استرس، تمامی اثرات استرس را مهار کرد.

تحقیقات بسیار زیادی در مورد ایجاد مدل‌های حیوانی القاء افسردگی در دنیا انجام شده است (۱۷). جمع بندی این نتایج نشان می‌دهند که اگرچه مدل‌های حیوانی برای بررسی اثرات داروهای ضد افسردگی می‌توانند موثر باشند، اما این مدل‌سازی تمامی آنچه که در بیماری افسردگی رخ می‌دهد را مدل‌سازی نمی‌کنند و به همین دلیل، مدل‌های حیوانی هنوز هم در حال توسعه هستند (۱۸). مدل استرس راندن اجتماعی مزمن یکی از بهترین مدل‌های حیوانی برای القاء افسردگی به شمار می‌رود که نزدیکی بسیاری به بیماری افسردگی در انسان دارد (۱۶). بر اساس مطالعات انسانی، افسردگی باعث بروز رفتارهایی می‌شود که مهمترین آنها شامل: عدم لذت بردن، عدم تمایل به انجام کارها، و عدم غذا خوردن می‌شود (۱). مدل استرس راندن اجتماعی نیز همین نشانگان را در حیوان مزاحم القاء کرده و به همین دلیل، به عنوان مدل خوبی برای مطالعه اثرات داروهای ضد افسردگی مطرح است (۱۹). بر همین اساس، در تحقیق حاضر نیز از این مدل برای القاء افسردگی استفاده شد. لازم به توضیح است که مدل استفاده شده در این تحقیق تفاوت‌هایی با مدل اصلی داشت. به این معنی که در این مدل، از استرس مزمن روزانه به مدت ده تا پانزده دقیقه و سپس بازگشت حیوان به محل نگهداری استفاده شد در حالیکه در مدل اصلی حیوان به مدت چندین روز در محوطه کنار محوطه حیوان مقیم نگهداری می‌شود (۲۰). باید متذکر شد که روش القاء استرس راندن اجتماعی انجام شده در پژوهش ما، به استرس راندن اجتماعی در انسان نیز نزدیکتر است، چرا که انسانها تمامی مدت شبانه روز را با عامل استرس‌سور سپری نمی‌کنند (۲۱). همچنین، تحقیق ما نشان داد که حیوانات مزاحم کاهش وزن را در خلال روزهای القاء استرس نشان داده‌اند. نتیجه‌ی بدست آمده در تحقیق ما

با نتایج تحقیقات قبلی در همین زمینه که حیوانات مزاحم کاهش وزن را در خلال روزهای القاء استرس نشان می‌دهند، همخوانی داشت (۲۱). کاهش وزن حیوانات در خلال القاء استرس را به افزایش ترشح فاکتور آزاد کننده کورتیکوتروپین از سلولهای بخش قاعده ای - جانبی آمیگدال و نورونهای بخش Parvocellular در هسته ی پاراونتریکولار هیپوتالاموس در پاسخ به استرس نسبت می‌دهند (۲۲، ۲۳). به این ترتیب که ترشح فاکتور آزاد کننده ی کورتیکوتروپین باعث افزایش بی اشتغالی در حیوان شده و همین امر باعث کاهش میل به غذا و آب و در نتیجه کاهش وزن حیوان می‌شود (۲۳). تحقیق حاضر نیز به روشنی همین امر را نشان می‌دهد. کاهش مصرف غذا و آب از نشانگان مهم استرس است که در تحقیق حاضر دیده شد. لازم به توضیح است که از نظر پاسخ دهی به استرس، بین جنس نر و ماده تفاوت وجود دارد و جنس ماده در پاسخ به استرس افزایش مصرف غذا و آب و در نتیجه افزایش وزن را از خود نشان می‌دهد (۲۴). دلایل متعددی را برای این تفاوت بیان کرده‌اند که از آن جمله به بیان متفاوت فاکتور نورترتروفیک مشتق از مغز در هیپوکمپ موشهای نر و ماده در پاسخ به استرس می‌باشد (۲۵)، که به تغییر در نوروزن در مناطق مختلف هیپوکمپ می‌انجامد (۲۵). در هر حال، پاسخ‌های دیده شده در تحقیق ما با نتایج دیگر محققان در این زمینه همخوانی دارد. از سوی دیگر، در تحقیق ما حیوانات مزاحم تمایل کمتری را به مصرف محلول سوکروز ۵٪ نشان دادند. این مورد نیز در تحقیقات قبلی دیده شده است و نشان می‌دهد که سیستم پاداش در این حیوانات بشدت تضعیف شده است و نمی‌تواند کارائی لازم را برای مواردی که در موشها پاداش محسوب می‌شوند از خود نشان بدهد (۲۶). این امر قبلا در موشهایی که تحت استرس مزمن راندن اجتماعی بوده‌اند، توسط برتون، مک کلانگ و همکارانشان در سال ۲۰۰۶ گزارش شده است (۲۶). در



نشان دهنده اثرات مثبت عصاره زعفران بر افسردگی ملایم تا متوسط در مقایسه با ایمی پرامین (۱۳) و فلوکستین (۳۴) و افسردگی شدید در مقایسه با سیتالوپرام است (۱۰، ۳۵). در مدل‌های حیوانی نیز تحقیقات متعددی نشان دهنده اثرات ضد افسردگی عصاره آبی زعفران در موش‌های کوچک آزمایشگاهی (۳۶) استرس دیده، و هم چنین، در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نر استرس دیده می‌باشد (۹، ۳۷). بر اساس همین یافته‌ها می‌توان اظهار کرد که عصاره آبی زعفران باعث مهار اثرات استرس مزمن راندن اجتماعی در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نر می‌گردد که پیشنهاد می‌شود این اثر در تحقیقات بعدی مورد توجه قرار گیرد.

در یک نتیجه‌گیری کلی باید عنوان کرد که نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره آبی زعفران توانست اثر استرس مزمن راندن اجتماعی را در القاء افسردگی، مهار کند. با توجه به اینکه این مدل حیوانی تشابه بسیار زیادی با افسردگی در انسان دارد، می‌توان اظهار کرد که عصاره آبی زعفران ممکن است توانائی مهار افسردگی ماژور را در انسان نیز داشته باشد.

### تشکر و قدردانی

از کلیه اساتید گرانقدر، خانم دکتر مریم علی پور، خانم دکتر زیبا نظری و خانم دکتر معصومه نظری و همه ی کسانی که در اجرای این پژوهش با ما همکاری داشتند تشکر و قدردانی می‌نمائیم. این مقاله بخشی از رساله دکتری تخصصی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال می‌باشد که با کد IR.LUMS.REC.1398.179 از کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی لرستان به ثبت رسیده است.

تایید این یافته، نتایج بررسی‌های ما در قسمت رفتارهای وابسته به دوپامین نیز نشان دادند که این رفتارها در موش‌های مزاحم کاهش یافته است. تحقیقات قبلی انجام گرفته توسط رنجبران، آقایی و همکاران در سال ۲۰۱۷ نیز بیانگر اثر استرس مزمن شوک الکتریکی کف پا در کاهش رفتارهای وابسته به دوپامین در موش‌های نر نژاد ویستار (۲۷) است. البته تحقیقات فراوانی در مورد تداخل سیستم پاداش و سیستم استرسی انجام شده است و تحقیق ما نیز در همین زمینه قابل ارزیابی است. نکته مهم در تحقیق ما این است که رفتار خودآرائی در حیوانات مزاحم نسبت به گروه کنترل افزایش زیادی را نشان داد. در تحقیقات قبلی نیز این رفتار افزایش یافته است و بعنوان یکی از نشانگان بروز استرس تلقی می‌شود (۲۸). در یک جمع بندی، نتایج تحقیق ما در این بخش نشان دهنده کارآمد بودن روش بکار رفته در این تحقیق به منظور القاء افسردگی با استفاده از روش استرس مزمن راندن اجتماعی در موش‌های بزرگ نر نژاد ویستار می‌باشد که با مطالعات قبلی همخوانی دارد.

یافته ی بعدی بدست آمده در تحقیق حاضر این بود که تجویز عصاره آبی زعفران توانست تمامی نشانگان یاد شده در قسمت بالا را در موش‌های مزاحم تحت تیمار کاهش دهد. جالب است که اثر عصاره در برخی موارد وابسته به دوز و در برخی موارد غیر وابسته به دوز بود. تحقیقات متعدد قبلی بیانگر اثر عصاره آبی زعفران در کاهش افسردگی در مدل‌های حیوانی و نیز در انسان هستند. برای مثال: آقا حسینی و همکاران نشان دادند که عصاره زعفران قادر به کاهش افسردگی پیش از قاعدگی در دختران می‌باشد (۱۲). هم چنین، تحقیقات متعدد

## References

1. Belmaker R, Agam G. Major depressive disorder. *New England Journal of Medicine*. 2008;358(1):55-68.
2. Kessler RC, Berglund P, Demler O, Jin R, Koretz D, Merikangas KR, et al. The epidemiology of major depressive disorder: results from the National Comorbidity Survey Replication (NCS-R). *JAMA*. 2003;289(23):105-3095.
3. Ripke S, Wray NR, Lewis CM, Hamilton SP, Weissman MM, Breen G, et al. A mega-analysis of genome-wide association studies for major depressive disorder. *Molecular Psychiatry*. 2013;18(4):497.
4. De Kloet ER, Joëls M, Holsboer F. Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nature Reviews Neuroscience*. 2005;6(6):463.
5. McEwen BS. Brain on stress: how the social environment gets under the skin. *PNAS*. 2012;109(Supplement 2):17180-5.
6. McEwen BS. In pursuit of resilience: stress, epigenetics, and brain plasticity. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2016;1373(1):56-64.
7. McEwen BS, Bowles NP, Gray JD, Hill MN, Hunter RG, Karatsoreos IN, et al. Mechanisms of stress in the brain. *Nature Neuroscience*. 2015;18(10):1353.
8. Vollmayr B, Henn FA. Stress models of depression. *Clinical Neuroscience Research*. 2003;3(4-5):245-51.
9. Hosseinzadeh H, Karimi G, Niapoor M, editors. Antidepressant effect of *Crocus sativus* L. stigma extracts and their constituents, crocin and safranal, in mice. I International Symposium on Saffron Biology and Biotechnology. 2003;650.
10. Hausenblas HA, Saha D, Dubyak PJ, Anton SD. Saffron (*Crocus sativus* L.) and major depressive disorder: a meta-analysis of randomized clinical trials. *Journal of Integrative Medicine*. 2013;11(6):8-388.
11. Noorbala A, Akhondzadeh S, Tahmacebi-Pour N, Jamshidi A. Hydro-alcoholic extract of *Crocus sativus* L. versus fluoxetine in the treatment of mild to moderate depression: a double-blind, randomized pilot trial. *Journal of Ethnopharmacology*. 2005;97(2): 4-281.
12. Agha-Hosseini M, Kashani L, Aleyaseen A, Ghoreishi A, Rahmanpour H, Zarrinara A, et al. *Crocus sativus* L. (saffron) in the treatment of premenstrual syndrome: a double-blind, randomised and placebo-controlled trial. *BJOG: An International Journal of Obstetrics Gynaecology*. 2005;115(4):9-515.
13. Akhondzadeh S, Fallah-Pour H, Afkham K, Jamshidi A-H, Khalighi-Cigaroudi F. Comparison of *Crocus sativus* L. and imipramine in the treatment of mild to moderate depression: a pilot double-blind randomized trial [ISRCTN45683816]. *BMC Complementary Alternative Medicine*. 2004;4(1):12.
14. Ménard C, Hodes GE, Russo SJ. Pathogenesis of depression: insights from human and rodent studies. *Neuroscience*. 2016;321:138-62.
15. Martinez M, Calvo-Torrent A, Pico-Alfonso MA. Social defeat and subordination as models of social stress in

- laboratory rodents: a review. *Aggressive Behavior*. 1998;24(4):241-56.
16. Blanchard RJ, McKittrick CR, Blanchard DC. Animal models of social stress: effects on behavior and brain neurochemical systems. *Physiology Behavior*, 2001;73(3):71-261.
  17. Deussing JM. Animal models of depression. *Drug Discovery Today: Disease Models*. 2006;3(4):375-83.
  18. Krishnan V, Nestler EJ. Animal models of depression: molecular perspectives. *Molecular Functional Models in Neuropsychiatry*. 2011:47-121.
  19. Venzala E, García-García A, Elizalde N, Delagrange P, Tordera R. Chronic social defeat stress model: behavioral features, antidepressant action, and interaction with biological risk factors. *Psychopharmacology*. 2012;224(2):25-313.
  20. Golden SA, Covington III HE, Berton O, Russo S. A standardized protocol for repeated social defeat stress in mice. *Nature Protocol*. 2011;6(8):1183.
  21. Becker C, Zeau B, Rivat C, Blugeot A, Hamon M, Benoliel J. Repeated social defeat-induced depression-like behavioral and biological alterations in rats: involvement of cholecystinin. *Molecular Psychiatry*. 2008;13(12):1079.
  22. Turnbull AV, Rivier C. Corticotropin-releasing factor (CRF) and endocrine responses to stress: CRF receptors, binding protein, and related peptides. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 1997;215(1):1-10.
  23. Deussing JM, Chen A. The corticotropin-releasing factor family: physiology of the stress response. *Physiological Review*. 2018;98(4):86-2225.
  24. Niknazar S, Nahavandi A, Peyvandi AA, Peyvandi H, Akhtari AS, Karimi M. Comparison of the adulthood chronic stress effect on hippocampal BDNF signaling in male and female rats. *Molecular Neurobiology*. 2016;53(6):4026-33.
  25. Westenbroek C, Den Boer JA, Veenhuis M, Ter Horst GJ. Chronic stress and social housing differentially affect neurogenesis in male and female rats. *Brain Research Bulletin*. 2004;64(4):303-8.
  26. Berton O, McClung CA, DiLeone RJ, Krishnan V, Renthal W, Russo SJ, et al. Essential role of BDNF in the mesolimbic dopamine pathway in social defeat stress. *Science*. 2006;311(5762):8-864.
  27. Ranjbaran M, Aghaei H, Hajihoseinlou V, Sahraei H, Ranjbaran K. Transient inactivation of shell part of nucleus accumbens inhibits and exacerbates stress-induced metabolic alterations in Wistar rats. *Basic Clinical Neuroscience*. 2017;8(2):121.
  28. Kalueff AV, Tuohimaa P. Grooming analysis algorithm for neurobehavioural stress research. *Brain Research Protocols*. 2004;13(3):151-8.
  29. Akhondzadeh S, Tahmacebi-Pour N, Noorbala AA, Amini H, Fallah-Pour H, Jamshidi AH, et al. *Crocus sativus* L. in the treatment of mild to moderate depression: a double-blind, randomized and placebo-controlled trial. *Phytotherapy Research*. 2005;19(2):148-51.

30. Ghajar A, Neishabouri SM, Velayati N, Jahangard L, Matinnia N, Haghighi M, et al. *Crocus sativus* L. versus citalopram in the treatment of major depressive disorder with anxious distress: a double-blind, controlled clinical trial. *Pharmacopsychiatry*. 2017;50(40):60-152.
31. Halataei BaS, Khosravi M, Arbabian S, Sahraei H, Golmanesh L, Zardooz H, et al. Saffron (*Crocus sativus*) aqueous extract and its constituent crocin reduces stress-induced anorexia in mice. *Phytotherapy Research*. 2011;25(12):1833-8.
32. 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):947-54.
33. Kianbakht S. A systematic Review on Pharmacology of Saffron and its Active Constituents. *J Med Plants* 2008; 28(4): 1-23, 28.
34. Melnic J, Wang S, Marcone M. Chemical and biological properties of the world's most expensive spice: Saffron. *Food Res Int* 2010; 43(8): 981-1989.

## Effects of saffron aqueous extract on depression in male Wistar rats with chronic social defeat stress

**Nazari Z<sup>1</sup>, Khosravi M<sup>2</sup>, Sahraei H<sup>\*3,4</sup>, Bananej M<sup>5</sup>, Khaksarian M<sup>6</sup>**

1. Ph.D. Student in Animal Physiology, Faculty of Biological Sciences, Tehran Shomal Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2. Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Tehran Shomal Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

3. Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Tehran Shomal Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

4. Professor, Neuroscience Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran, h.sahraei@bmsu.ac.ir

4. Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Tehran Shomal Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

6. Associate Professor, Department of physiology, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran

Received: 2022/04/30

Accepted: 2022/08/23

### Abstract

**Background:** Depression, as a mental disorder, causes many complications in humans. Saffron has been suggested as one of the effective plants in treating various types of depression. The present study aims to assess the effect of the aqueous extract of saffron on depression caused by chronic social defeat stress (CSDS) in rats.

**Materials and Methods:** To induce CSDS, male Wistar intruder rats (Weight= 220-230 g) were put in the cage of male Wistar resident rats (Weight= 280-300 g) for twelve consecutive days (20 min/day). Five minutes before exposure, the intruder rats received either saffron extract (1, 5, and 10 mg/kg) or saline (1 ml/kg). After the exposure, the animals' weight, desire for the sucrose solution, and locomotor activity were recorded. In addition, at three stages, blood samples were collected from the retro-orbital sinus of animals to evaluate the plasma corticosterone levels. Data were analyzed in SPSS software using Kolmogorov-Smirnov test and repeated measures analysis of variance.

**Results:** Animals in the stress group showed severe weight loss, decreased desire to drink sucrose solution, decreased mobility, and increased plasma corticosterone level ( $P < 0.05$ ). Administration of saffron aqueous extract with different doses improved these symptoms ( $P < 0.01$ ).

**Conclusion:** The aqueous extract of saffron can reduce depression in the animal model of CSDS through reducing corticosterone secretion in response to stress.

**Keywords:** Chronic social defeat stress, Corticosterone, Depression, Saffron aqueous extract.

\***Citation:** Nazari Z, Khosravi M, Sahraei H, Bananej M, Khaksarian M. Effects of saffron aqueous extract on depression in male Wistar rats with chronic social defeat stress. *Yafte*. 2022; 24(2):41-53.