Journal of North Khorasan
University of Medical Sciences
No 56, Volume 14, Issue 4

Research Article

Evaluation the Effect of Crocin on Bisphenol A-Induced Memory Impairment in Rats: Role of ERK, CaMKII, and CREB Proteins in Hippocampus

Zeinab Bedrood[1], Elaheh Masjedi[2], Faezeh Vahdati Hassani[3], Mahboobeh Ghasemzadeh Rahbardar[4], Hossein Hosseinzadeh[5], Khalil Abnous[6], Soghra Mehri[7*]

[1]MSc in Toxicology, Department of Pharmacodynamics and Toxicology, School of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
[2]MSc in Toxicology, Department of Pharmacodynamics and Toxicology, School of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
[3]Ph.D. in Toxicology, Department of Pharmacodynamics and Toxicology, School of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
[4]Ph.D. in Physiology, Department of Pharmacodynamics and Toxicology, School of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
[5]Professor, Department of Pharmacodynamics and Toxicology, School of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
[6]Professor, Pharmaceutical Research Center, Pharmaceutical Technology Institute, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
[7]Associate Professor, Pharmaceutical Research Center, Pharmaceutical Technology Institute, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

*Corresponding author: Soghra Mehri, Pharmaceutical Research Center, Pharmaceutical Technology Institute, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran. E-mail: mehris@mums.ac.ir

DOI: 10.32592/nkums.14.4.63

How to Cite this Article:
Bedrood Z, Masjedi E, Vahdati Hassani F, Ghasemzadeh Rahbardar M, Hosseinzadeh H, Abnous Kh, Mehri S. Evaluation of the Effect of Crocin on Bisphenol A-Induced Memory Impairment in Rats: Role of ERK, CaMKII, and CREB Proteins in Hippocampus. J North Khorasan Univ Med Sci. 2022;14(4):63-74. DOI: 10.32592/nkums.14.4.63

Received: 24 August 2022
Accepted: 17 December 2022

Keywords:
BPA
CREB
Crocin
ERK
Memory

Abstract

Introduction: Bisphenol A (BPA) is a toxic chemical that is used as a monomer in the production of plastic products. The BPA has an endocrine-disrupting effect and induces damage to the nervous system. Crocin, an active ingredient of *Crocus sativus L.* has neuroprotective effects. Therefore, this study aimed to evaluate crocin's effects on BPA-induced memory impairment in rats and the levels of Extracellular Signal-Regulated Kinases (ERK), Ca2+/Calmodulin-Dependent Protein Kinase-II (CaMKII), and Cyclic AMP-Response Element-Binding Protein (CREB) proteins in the hippocampus.

Method: Bisphenol A (100 mg/kg, gavage) and crocin (10, 20, and 40 mg/kg, IP) were administered to adult male rats for 28 days. Memory and learning functions were evaluated by the Morris water maze, and the level of proteins was determined using the Western blot method.

Results: Administration of the BPA (100 mg/kg) significantly induced memory impairment and reduced the levels of ERK, p.ERK, CaMKII, and p.CREB proteins in the BPA group, compared to the control group. On the other hand, crocin (20 mg/kg) markedly improved learning and memory impairment and increased the levels of ERK, p.ERK, and CaMKII proteins in the hippocampus, compared to the BPA (100 mg/kg) group.

Conclusion: Administration of crocin (20 mg/kg) improves memory and learning defects induced by BPA (100 mg/kg). The enhancement of the p.ERK, ERK, and p. CaMKII protein levels in the hippocampus has an important role in crocin protective effects.

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-22]

Copyright © 2023 The Author(s); Published by Journal of North Khorasan University of Medical Sciences. This is an open access article, distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (http://creativecommons.org/licenses /by-nc/4.0/) which permits others to copy and redistribute material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

مجله دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی
دوره ۱۴، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۱

مقاله پژوهشی

بررسی اثر کروسین بر اختلال حافظه ناشی از بیسفنول A در رت: ارزیابی نقش پروتئین‌های ERK، CaMKII و CREB در هیپوکامپ

زینب بدرود[۱]، الهه مسجدی[۲]، فائزه وحدتی حسنی[۳]، محبوبه قاسم‌زاده رهباردار[۴]، حسین حسین‌زاده[۵]، خلیل آبنوس[۶]، صغری مهری[۷*]

[۱]کارشناس ارشد سم‌شناسی، گروه سم‌شناسی و داروشناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
[۲]کارشناس ارشد سم‌شناسی، گروه سم‌شناسی و داروشناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
[۳]دکترای سم‌شناسی، گروه سم‌شناسی و داروشناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
[۴]دکترای فیزیولوژی، گروه سم‌شناسی و داروشناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
[۵]استاد، گروه سم‌شناسی و داروشناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
[۶]استاد، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
[۷]دانشیار، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
[*]**نویسنده مسئول:** صغری مهری، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران. ایمیل: mehris@mums.ac.ir

DOI: 10.32592/nkums.14.4.63

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۰۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۲۶

واژگان کلیدی:
بیسفنول A
حافظه
کروسین
CREB
ERK

چکیده

مقدمه: بیسفنولA (BPA) مونومری است که در ساخت لایه رزینی محافظ در قوطی مواد غذایی و پلاستیک‌های پلی‌کربناته کاربرد دارد. BPA ماده تخریب‌کننده سیستم اندوکرین است و بر سیستم عصبی اثر می گذارد. کروسین از ترکیبات فعال و اصلی زعفران (*Crocus sativus L.*) است که اثرات متفاوتی بر سیستم عصبی ازجمله اثرات ضدتشنج، ضدافسردگی، افزایش‌دهنده حافظه و محافظت عصبی دارد. هدف مطالعه حاضر بررسی اثر کروسین بر اختلال حافظه ناشی از BPA و ارزیابی سطح پروتئین‌های CaMKII (پروتئین کیناز وابسته به کالمودولین/کلسیم)، ERK (Extracellular signal-regulated kinases) و CREB (پروتئین متصل‌شونده به عامل واکنش‌دهنده به آدنوزین مونوفسفات حلقه‌ای) و انواع فسفریله آن‌ها در هیپوکامپ رت است.

روش کار: دُز BPA، ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز (به صورت گاواژ) با دُزهای مختلف کروسین (۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تزریق داخل صفاقی) به مدت ۲۸ روز به رت‌های بالغ تجویز شد. برای ارزیابی حافظه از آزمون ماز آبی موریس و برای بررسی سطح پروتئین‌ها از روش وسترن بلات استفاده شد.

یافته‌ها: تجویز BPA باعث اختلال حافظه و یادگیری و کاهش سطح پروتئین های ERK، p.ERK، CaMKII و p.CREB در مقایسه با گروه کنترل شد. کروسین در دُز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث بهبود عملکرد حافظه و افزایش سطح پروتئین‌های ERK، p.ERK و CaMKII در هیپوکامپ در مقایسه با گروه BPA ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم شد.

نتیجه گیری: تجویز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کروسین، اختلال حافظه ناشی از BPA را بهبود می بخشد. افزایش سطح پروتئین های ERK، p.ERK و CaMKII در هیپوکامپ در اثرات محافظتی کروسین نقش مهمی دارد.

مقدمه

بیسفنول A (BPA) (۴/۴- (پروپان-۲/۲-دییل) دی فنل) یک ترکیب سمی است که به‌عنوان مختل‌کننده غدد درون‌ریز زنواستروژن مصنوعی طبقه‌بندی می‌شود و یک افزودنی در ساخت پلاستیک‌های پلی‌کربنات و رزین‌های اپوکسی است. همچنین، در تولید ظروف خانگی، بطری‌های آب، کاغذهای حرارتی، درزگیرهای دندانی و پروتزها به‌عنوان ترکیبی از پوشش‌های داخلی ظروف نوشیدنی و غذا استفاده می‌شود [۱]. در BPA نمونه‌های ادرار انسان از جمعیت‌های کشورهای مختلف شناسایی شده است. نفوذ BPA از بطری‌های پلاستیکی پلی‌کربناتی به داخل آب با سرعت ۰/۲ تا ۰/۸ نانوگرم بر ساعت مشاهده شده است. با این حال، افزایش دمای آب باعث افزایش ۵۵ برابری میزان نفوذ BPA از ظروف می‌شود [۲]. مطالعات قبلی نشان داده‌اند قرار گرفتن در معرض BPA ممکن است باعث ایجاد سمیت ارگان‌های مختلف ازجمله سمیت قلبی-عروقی، کبدی، کلیوی و بیضه شود [۳-۹]. با این حال، سمیت عصبی ناشی از BPA اهمیت ویژه‌ای دارد؛ زیرا BPA پس از مصرف، جذب

Copyright © 2023 The Author(s); Published by Journal of North Khorasan University of Medical Sciences. This is an open access article, distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (http://creativecommons.org/licenses /by-nc/4.0/) which permits others to copy and redistribute material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-22]

می‌شود و از سد خونی مغزی عبور می‌کند. علاوه‌براین، BPA ممکن است در مغز به دلیل خاصیت چربی‌دوستی آن تجمع یابد [۱۱، ۱۰]. نقایص عصبی رفتاری مانند اضطراب، کاهش فعالیت اکتشافی و اختلال در حافظه فضایی در موش‌های نر پس از قرار گرفتن در معرض BPA در دوران بارداری گزارش شده است [۱۲]. قرار گرفتن در معرض BPA قبل از تولد با عقب‌ماندگی ذهنی کودکان در سن ۷ سالگی در یک مطالعه کوهورت در سوئد مرتبط بود [۱۳]. همچنین، گزارش داده شده است قرار گرفتن مادر در معرض BPA به‌طور وابسته به جنسیت، یادگیری و حافظه را مختل می‌کند و تعداد نورون‌ها و تراکم نخاع را در فرزندان موش کاهش می‌دهد [۱۴]. با این حال، گزارش‌هایی درباره ارزیابی اینکه توانایی یادگیری و حافظه چگونه با BPA مختل می‌شود، هنوز وجود ندارد و مکانیسم‌های مولکولی مرتبط نامشخص است. نقش BPA در بازسازی سیناپسی در نواحی مغز درگیر در یادگیری و حافظه نیز بحث‌برانگیز است. القای استرس اکسیداتیو، کاهش فعالیت استیل کولین استراز، افزایش آپوپتوز، کاهش بیان گیرنده‌های گلوتامات و سرکوب پروتئین متصل‌شونده به عامل واکنش‌دهنده به آدنوزین مونوفسفات حلقه‌ای (CREB: Cyclic AMP-responsive element-binding protein) و فسفوریلاسیون فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF: Brain-derived neurotrophic factor) به‌عنوان مکانیسم‌های دخیل در اثرات BPA در سیستم عصبی گزارش شده است [۱۸-۱۵]. تحقیق دیگری نشان داد قرار گرفتن رت‌های باردار در معرض BPA، یادگیری و حافظه تشخیص اشیا را در موش‌های نر مختل کرد و این اختلال با مهار مسیر ERK/CREB/BDNF (Extracellular signal-regulated kinases) مرتبط بود [۱۶]. در مطالعه دیگری مشاهده شد قرار گرفتن حیوانات بعد از تولد در معرض BPA باعث اختلال در حافظه و یادگیری شد و تعداد سلول‌های حاوی پروتئین کیناز وابسته به کالمودولین/کلسیم (CaMKII: Ca2+/calmodulin-dependent protein kinase-II) را درناحیه CA3 کاهش داد [۱۹].

امروزه، اثرات مفید گیاهان دارویی مختلف و ترکیبات مؤثره آن‌ها ازجمله *Crocus sativus* [۲۰]، *Rosmarinus officinalis* L. [۲۲، ۲۱]، *Ginkgo biloba* [۲۳] و *Curcuma longa* [۲۴] در درمان بیماری آلزایمر و اختلالات حافظه و یادگیری نشان داده شده است. لذا، استفاده از ترکیبات گیاهی برای کنترل اختلال حافظه ناشی از ترکیبات سمی محیطی مثل BPA مفید به نظر می‌رسد.

Crocus sativus (زعفران) از خانواده گیاهان Iridaceae است و ترکیب اصلی مونومر آن، کروسین، برای چندین دهه در درمان بیماری‌های مختلف سیستم عصبی ازجمله افسردگی [۲۶، ۲۵]، نقص حافظه [۲۷]، پارکینسون [۲۹، ۲۸]، اضطراب [۳۰] و سایر بیماری‌های عصبی [۳۲، ۳۱] استفاده می‌شده است. مطالعات داروشناسی نشان داده‌اند اثرات درمانی کروسین به دلیل خواص ضداکسیدان [۳۳، ۳۰]، ضدالتهاب [۳۵، ۳۴]، ضدآپوپتوتیک [۳۶] و محافظت‌کننده عصبی [۳۸، ۳۷] آن است. ازاین‌رو، در مطالعه حاضر اثر کروسین بر اختلال حافظه ناشی از BPA و تأثیر آن بر سطح پروتئین‌های p.ERK ،ERK ،CaMKII ،p.CaMKII ،CREB و p.CREB در هیپوکامپ بررسی شد. به‌منظور بررسی حافظه فضایی از آزمون ماز آبی موریس (Morris water maze) و برای سنجش سطح پروتئین‌ها از روش وسترن بلات استفاده شد.

روش کار

حیوانات آزمایشگاهی

رت‌های نر نژاد ویستار با وزن تقریبی ۳۰±۲۲۰ گرم از بخش حیوانات دانشکده داروسازی مشهد تهیه و در شرایط دمایی ۲۲ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد و شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. حیوانات از نظر مصرف آب و غذا هیچ‌گونه محدودیتی نداشتند. تمام آزمایشات حیوانی با توجه به قوانین کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام شد (۹۴۱۷۷۰).

مواد شیمیایی

در این مطالعه اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA) و اتیلن گلیکول تترا استیک اسید (EGTA) از شرکت سیگما آمریکا تهیه شد. مهارکننده پروتئاز، فنیل متان سولفونیل فلوراید (PMSF)، سدیم ارتو وانادات، بتاگلیسروفسفات، سدیم دزوکسی کولات، ۲-مرکاپتواتانول و توین ۲۰ درصد از سیگما-آلدریچ آلمان خریداری شد. تریس، سدیم دودسیل سولفات (SDS)، گلایسین، آکریل آمید، تتراتیل اتیلن دی آمین (TEMED)، متانول، اتانول، شیرخشک بدون چربی و آلبومین سرم گاوی (BSA) از شرکت مرک (کشور آلمان) تهیه شد. کاغذ پلی وینیلیدین فلوراید (PVDF) از شرکت Bio-Rad آمریکا خریداری شد. کلاله *C. sativus* L. از نوین زعفران خریداری و بر اساس ISO/TS 3632-2 ارزیابی شد. جداسازی و خالص‌سازی کروسین مطابق مطالعات قبلی انجام شد [۳۹].

گروه‌بندی حیوانات

رت‌های بالغ نر به ۶ گروه (در هر گروه ۶ رت) تقسیم شدند. گروه ۱: گروه کنترل، دریافت‌کننده حامل؛ گروه ۲: گروه دریافت‌کننده BPA دُز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از طریق گاواژ [۴۲-۴۰]؛ گروه ۳: گروه دریافت‌کننده کروسین دُز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از طریق داخل صفاقی [۴۳] + دریافت BPA دَز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از طریق گاواژ؛ گروه ۴: گروه دریافت‌کننده کروسین دُز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از طریق داخل صفاقی [۴۳] + دریافت BPA دُز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از طریق گاواژ؛ گروه ۵: گروه دریافت‌کننده کروسین دُز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از طریق داخل صفاقی [۴۳] + دریافت BPA دُز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از طریق گاواژ؛ گروه ۶: گروه دریافت‌کننده کروسین دُز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از طریق صفاقی [۴۳]. طول مدت مطالعه ۴ هفته بود. وزن موش‌ها قبل از مطالعه ثبت و هرگونه تغییر

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-22]

وزن در محاسبه دُز منظور شد. کروسین در نرمال سالین و BPA در مخلوط اتانول و روغن کنجد حل شد.

آزمون ماز آبی موریس

در مطالعه حاضر از آزمون ماز آبی موریس به‌منظور ارزیابی اثر مواد بر حافظه و یادگیری فضایی استفاده شد. دستگاه Morris water maze حوضچه‌ای استوانه‌ای شکل و سیاه‌رنگ با قطر ۱۳۶ و ارتفاع ۶۰ سانتی‌متر است که تا ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر آن با آب ۲۴ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد تنظیم می‌شود. یک سکوی کوچک از جنس فلز تیره‌رنگ با قطر ۱۰ سانتی‌متر، در یک سانتی‌متر زیر سطح آب در مرکز ربع جنوب غربی دایره قرار دارد [۴۴].

در مرحله یادگیری و آموزش، به حیوان اجازه داده می‌شود به مدت ۱۵ ثانیه روی سکو بماند و با جست‌وجوی اطراف و دیدن علائم موجود در آزمایشگاه موقعیت خود را شناسایی کند. این موضوع به حیوان کمک می‌کند تا در جلسات بعدی آزمایش با استفاده از علائم بینایی در اتاق محل آزمایش، جایگاه سکو را پیدا کند. موقعیت سکو در یکی از چهار قسمت ماز و علائم فضایی موجود در محل آزمایش در طول آزمایشات ثابت است. در صورتی که در مدت ۶۰ ثانیه حیوان نتواند سکو را پیدا کند، حیوان به‌آرامی به سوی سکو هدایت می‌شود تا سکو را بیابد و ۱۵ ثانیه روی آن قرار بگیرد. سپس، مجدداً حیوان از سکو برداشته شده و بعد از خشک شدن با حوله، به قفس خود برگردانده می‌شود. پس از ۱ تا ۲ دقیقه آزمایش تکرار می‌شود. با این تفاوت که محل رها شدن حیوان نسبت به مرحله قبل متفاوت است. این آزمون در گروه‌های آزمایش، برای هر حیوان روزانه ۴ بار با فاصله زمانی ۱ تا ۲ دقیقه انجام شد. در مجموع، این مرحله از آزمایش به مدت ۵ روز انجام شد [۴۵، ۴۴]. یک روز پس از تکمیل مرحله اول، مرحله بعد (مرحله بازیابی یا پروب) انجام شد. در این مرحله سکو برداشته شد و هر رت در حوضچه به مدت ۶۰ ثانیه از هر چهار جهت شنا کرد و زمان سپری‌شده در ربع هدف ثبت شد.

جداسازی بافت مغزی

پس از آزمون رفتاری، بافت مغز از جمجمه خارج و قسمت هیپوکامپ جدا شد و بلافاصله در نیتروژن مایع قرار گرفت. بافت‌های منجمدشده تا زمان استفاده داخل فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

آزمون وسترن بلات

سطح پروتئین‌ها در هیپوکامپ با روش وسترن بلات بررسی شد. بافت هیپوکامپ در یک بافر حاوی ۵۰ میلی‌مولار تریس با pH=۷/۴، اتیلن دی آمین تترا استیک اسید ۲ میلی‌مولار، سدیم فلوراید ۱۰ میلی‌مولار، سدیم وانادات ۱ میلی‌مولار، بتا گلیسروفسفات ۱۰ میلی‌مولار، ۰/۲ درصد وزنی/حجمی سدیم دزوکسی کولات و ۱ میکرولیتر مهارکننده پروتئاز هموژن شد. غلظت پروتئین نمونه‌های مختلف با استفاده از کیت سنجش برادفورد تعیین شد. سپس، نمونه‌ها با بافر آبی SDS 2X ترکیب شدند، به مدت ۵ تا ۷ دقیقه جوشانده، به مقادیر کمتری تقسیم و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای تعیین سطح پروتئین‌های مختلف، نمونه‌ها روی ژل پلی آکریل آمید الکتروفورز شدند و به کاغذ PVDF منتقل شدند. کاغذها به مدت ۲ ساعت روی راکر در دمای اتاق با ۵ درصد شیر خشک بدون چربی یا آلبومین سرم گاوی (برای پروتین‌های فسفریله) در TBST بلاک شدند.

سپس، کاغذها سه بار با TBST شسته و به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق با آنتی‌بادی‌های اولیه (شرکت Cell Signalling آمریکا) شامل ERK (Cell Signaling # 9106)، p.ERK (Cell Signaling #9102)، CREB (Cell Signaling #9197)، p.CREB (Cell Signaling #9198)، CaMKII (Cell Signaling # 3362) و p.CaMKII (Cell Signaling # 3361) با رقت ۱:۱۰۰۰ مجاور شدند. سپس، کاغذها مجدداً شسته شدند و با آنتی‌بادی ثانویه خرگوشی (Anti rabbit IgG labeled with horseradish peroxidase, cell signaling#7074) یا موشی (Anti mouse IgG labeled with horseradish peroxidase, cell signaling #7076) با رقت ۱:۳۰۰۰ و به مدت ۱/۵ ساعت در دمای اتاق انکوبه شدند. مجدداً کاغذها سه بار، هر بار به مدت ۵ دقیقه باTBST شست‌وشو شدند. درنهایت، از معرف ECL و دستگاه UV alliance Gel Doc (ساخت کشور انگلیس) برای مشاهده باندها و ثبت عکس استفاده شد. عکس‌های مربوطه ذخیره و با برنامه UV BAND تفسیر شدند. از پروتئین بتا اکتین به‌عنوان کنترل و برای نرمالایز کردن داده‌ها استفاده شد.

تحلیل داده‌ها و محاسبات آماری

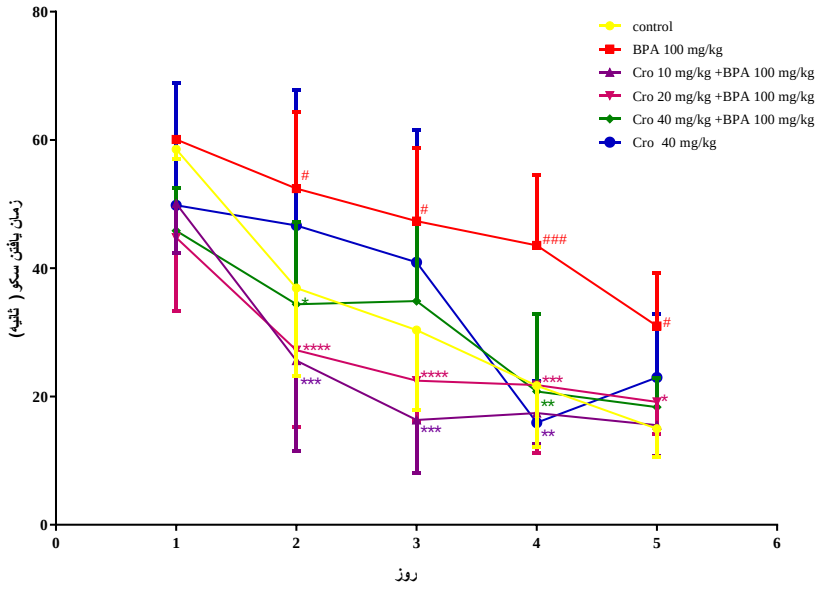
از نرم‌افزار Prism 8 برای محاسبات آماری استفاده شد. برای مقایسه مدت‌زمان حضور حیوانات در سکوی هدف و مقایسه سرعت حیوانات در روزهای مختلف از Two-way ANOVA و Tukey-kramer post test استفاده شد. برای سایر داده‌ها از آزمون One-way ANOVA و Tukey-kramer post test استفاده شد. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شدند و P<۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار درنظر گرفته شد.

یافته‌ها

اثر کروسین بر زمان سپری‌شده برای پیدا کردن سکو از روز اول تا پنجم در رت‌های دریافت‌کننده BPA

داده‌ها نشان داد تجویز BPA ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه کنترل در روز دوم و سوم (P<۰/۰۵)، در روز چهارم (P<۰/۰۰۱) و در روز پنجم (P<۰/۰۵) به‌طور معنی‌داری زمان یافتن سکو را افزایش داد، اما تزریق کروسین در روز دوم با دُزهای ۱۰ (P<۰/۰۰۱)، ۲۰ (P<۰/۰۰۰۱) و ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (P<۰/۰۵)، در روز سوم در دُزهای ۱۰ (P<۰/۰۰۱) و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (P<۰/۰۰۰۱)، در روز چهارم در دُزهای ۱۰ (P<۰/۰۱)، ۲۰ (P<۰/۰۰۱) و ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (P<۰/۰۱) و در روز پنجم در دُز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (P<۰/۰۵) به‌طور معنی‌داری زمان یافتن سکو را در مقایسه با گروه دریافت‌کننده BPA کاهش داد (شکل ۱).

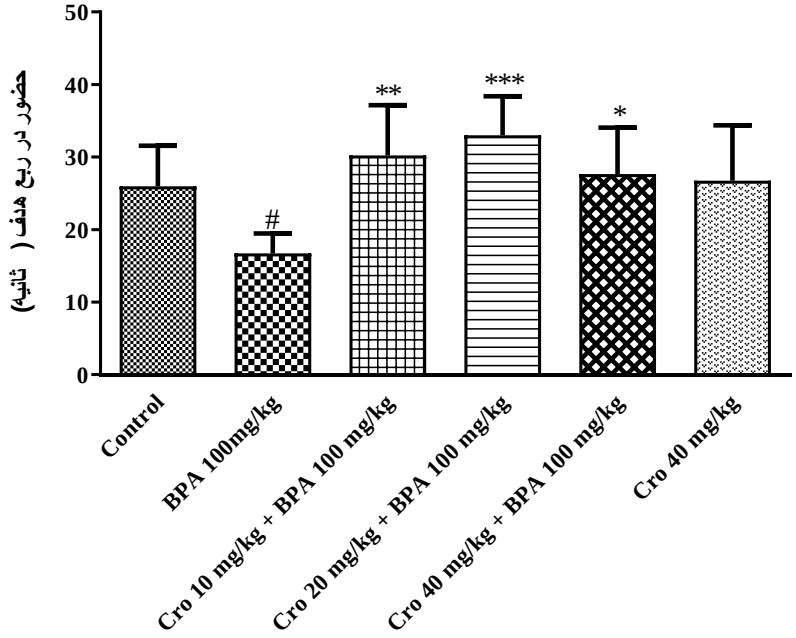
[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-22]



شکل ۱: اثر دُزهای مختلف کروسین بر مدت‌زمان سپری‌شده برای پیدا کردن سکو در ماز آبی موریس از روز اول تا پنجم در رت‌های دریافت‌کننده BPA
مقادیر داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نمایش داده شده‌اند. تعداد حیوانات در هر گروه ۶ موش است. برای مقایسه آماری از آزمون Two-way ANOVA و Tukey-Kramer multiple comparison test به‌عنوان آزمون تعقیبی استفاده شد. #P<۰/۰۵، ###P< ۰/۰۰۱ و در مقایسه با گروه کنترل؛ *P<۰/۰۵، **P<۰/۰۱، ***P<۰/۰۰۱ و ****P<۰/۰۰۰۱ در مقایسه با BPA.
BPA: بیسفنول A؛ Cro: کروسین

اثرکروسین بر مدت‌زمان حضور رت‌های دریافت‌کننده BPA در ربع صحیح ماز آبی موریس پس از برداشتن سکو در روز ششم

تجویز BPA به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معنی‌داری موجب کاهش زمان سپری‌شده حیوان در ربع صحیح شد (P<۰/۰۵)، اما تزریق کروسین در دُزهای ۱۰ (P<۰/۰۱)، ۲۰ (P<۰/۰۰۱) و ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (P<۰/۰۵) به همراه BPA به‌طور معنی‌داری زمان سپری‌شده در ربع صحیح را در مقایسه با گروه دریافت‌کننده BPA افزایش داد (شکل ۲).



شکل ۲: اثر دُزهای مختلف کروسین بر مدت‌زمان حضور رت‌های دریافت‌کننده BPA در ربع صحیح ماز آبی موریس پس از برداشتن سکو در روز ششم
مقادیر داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نمایش داده شده‌اند. تعداد حیوانات در هر گروه ۶ موش است. برای مقایسه آماری از آزمون One-way ANOVA و Tukey-Kramer multiple comparison test به‌عنوان آزمون تعقیبی استفاده شد. #P<۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل؛ *P<۰/۰۵، **P<۰/۰۱ و ***P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه BPA
BPA: بیسفنول A؛ Cro: کروسین

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-22]

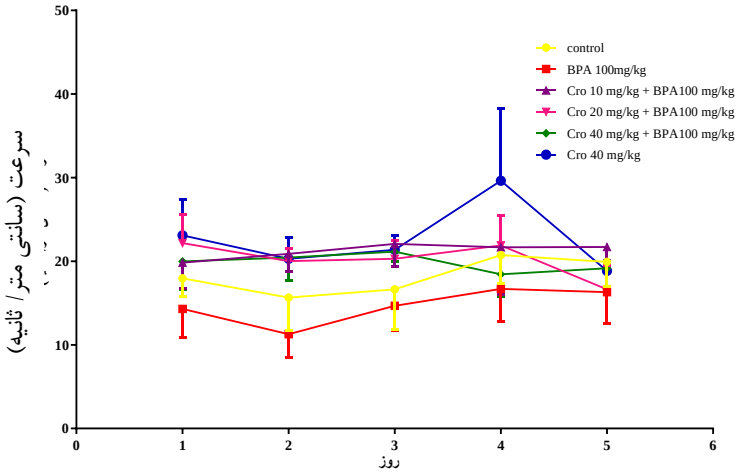
اثر کروسین بر سرعت رت‌های دریافت‌کننده BPA از روز اول تا پنجم در ماز آبی موریس

تجویز BPA در دُز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز اول تا پنجم آموزش باعث تغییری در سرعت رت‌ها در مقایسه با گروه کنترل نشد. علاوه‌براین، تجویز کروسین در دُزهای مختلف (۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به همراه BPA نیز تأثیری بر سرعت حیوانات در طول ۵ روز آموزش در مقایسه با گروه دریافت‌کننده BPA نداشت (شکل ۳A).

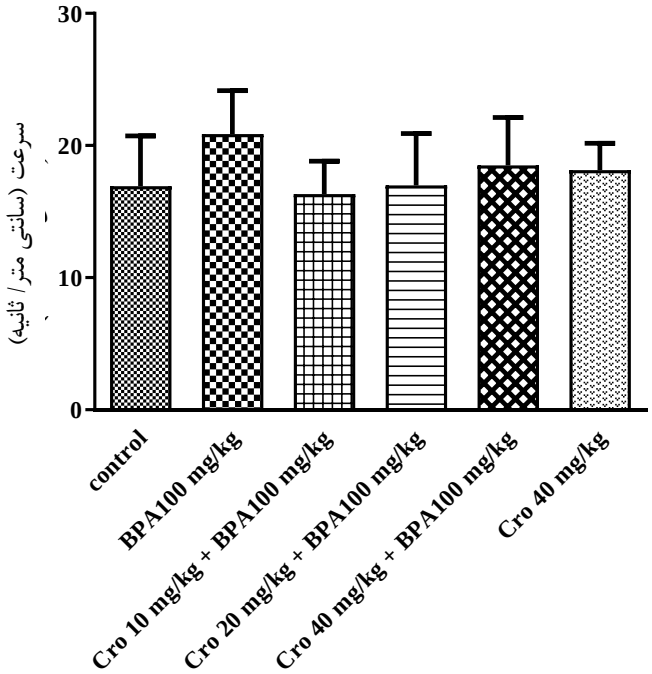
اثر کروسین بر سرعت رت‌های دریافت‌کننده BPA در ماز آبی موریس در روز ششم

تجویز BPA در دُز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تغییر معنی‌داری در سرعت رت‌ها در روز ششم در مقایسه با گروه کنترل ایجاد نکرد. تجویز کروسین در دُزهای مختلف (۱۰، ۲۰، ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به همراه BPA نیز تغییری در سرعت رت‌ها در روز ششم در مقایسه با گروه دریافت‌کننده BPA ایجاد نکرد (شکل ۳B).

A



B



شکل ۳: اثر دُزهای مختلف کروسین بر سرعت رت‌های دریافت‌کننده BPA در ماز آبی موریس

A: اثر دُزهای مختلف کروسین بر سرعت رت‌های دریافت‌کننده BPA در ماز آبی موریس در روز اول تا پنجم

B: اثر دُزهای مختلف کروسین بر سرعت رت‌های دریافت‌کننده BPA در ماز آبی موریس در روز ششم

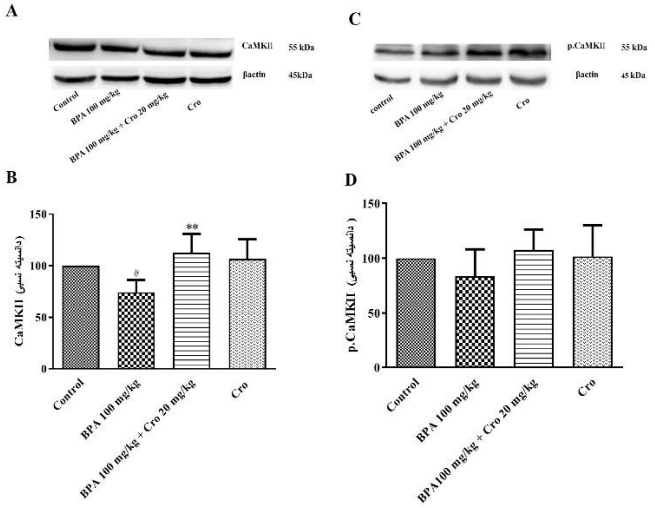
مقادیر داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نمایش داده شده‌اند. تعداد حیوانات در هر گروه ۶ موش است. برای مقایسه آماری از آزمون Two-way ANOVA برای روزهای اول تا پنجم و آزمون One-way ANOVA برای روز ششم استفاده شد.

BPA : بیسفنول A؛ Cro: کروسین

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-22]

بررسی اثر BPA و کروسین بر سطح پروتئین CaMKII و نوع فسفریله آن در هیپوکامپ

تجویز BPA در دُز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سطح پروتئین CaMKII را در هیپوکامپ در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معنی‌داری کاهش داد (P<۰/۰۵)، اما تزریق کروسین ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (P<۰/۰۱) به همراه BPA باعث افزایش معنی‌دار سطح پروتئین CaMKII در مقایسه با گروه BPA شد (شکل ۴A-B). به دنبال تجویز BPA و کروسین تغییری در سطح پروتئین p.CaMKII در گروه‌های مختلف مشاهده نشد (شکل ۴C-D).



شکل ۴: اثر BPA و کروسین بر سطح پروتئین CaMKII و p.CaMKII در هیپوکامپ رت

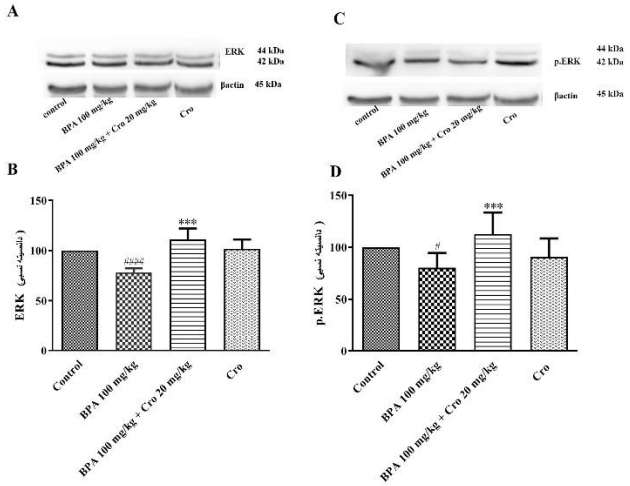
مقادیر داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نمایش داده شده‌اند. تعداد حیوانات در هر گروه ۴ موش است. نمودارهای A و C به ترتیب باندهای وسترن بلات پروتئین‌های CaMKII و p.CaMKII را نشان می‌دهد. نمودارهای B و D به ترتیب نتایج مربوط به تحلیل دانسیته پروتئین‌های CaMKII و p.CaMKII را نشان می‌دهد. برای مقایسه آماری از آزمون One-way ANOVA و Tukey-Kramer multiple comparison test به‌عنوان آزمون تعقیبی استفاده شد.

#P<۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل. **P<۰/۰۱ در مقایسه با گروه BPA

BPA: بیسفنول A؛ Cro: کروسین

بررسی اثر BPA و کروسین بر سطح پروتئین ERK و p.ERK در هیپوکامپ

نتایج به‌دست‌آمده نشان داد سطح پروتئین‌های ERK و p.ERK در گروه دریافت‌کننده BPA به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت (P<۰/۰۰۱ برای پروتئین ERK و P<۰/۰۵ برای پروتئین p.ERK). تزریق کروسین ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به همراه BPA به‌طور معنی‌داری سطح پروتئین‌ها را در هیپوکامپ در مقایسه با گروه دریافت‌کننده BPA افزایش داد (P<۰/۰۰۱) (شکل ۵).



شکل ۵: اثر BPA و کروسین بر سطح پروتئین ERK و p. ERK در هیپوکامپ رت

مقادیر داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نمایش داده شده‌اند. تعداد حیوانات در هر گروه ۴ موش است. نمودارهای A و C به ترتیب باندهای وسترن بلات پروتئین‌های ERK و p. ERK را نشان می‌دهد. نمودارهای B و D به ترتیب نتایج مربوط به تحلیل دانسیته پروتئین‌های ERK و p. ERK را نشان می‌دهد. برای مقایسه آماری از آزمون One-way ANOVA و Tukey-Kramer multiple comparison test به‌عنوان آزمون تعقیبی استفاده شد.

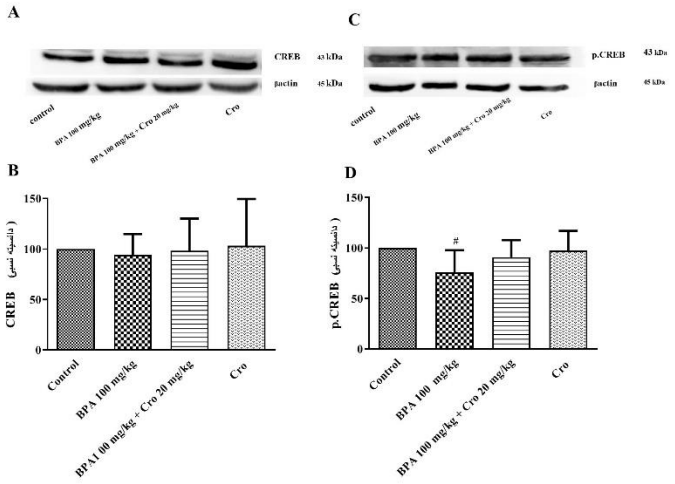
#P<۰/۰۵ و ###P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه کنترل. ***P<۰/۰۱ در مقایسه با گروه BPA

BPA: بیسفنول A؛ Cro: کروسین

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-22]

بررسی اثر BPA و کروسین بر سطح پروتئین CREB و p.CREB در هیپوکامپ

سطح پروتئین p.CREB در گروه دریافت‌کننده BPA در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۵). تزریق کروسین ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به همراه BPA تغییری در سطح پروتئین p.CREB در مقایسه با گروه دریافت‌کننده BPA ایجاد نکرد (شکل C-۶D). به‌دنبال تجویز BPA و کروسین تغییری در سطح پروتئین CREB در گروه‌های مختلف مشاهده نشد (شکل A-۶B).



شکل ۶: اثر BPA و کروسین بر سطح پروتئین CREB و p. CREB در هیپوکامپ رت

مقادیر داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نمایش داده شده‌اند. تعداد حیوانات در هر گروه ۴ موش است. نمودارهای A و C به ترتیب باندهای وسترن بلات پروتئین‌های CREB و p. CREB را نشان می‌دهد. نمودارهای B و D به‌ترتیب نتایج مربوط به تحلیل دانسیته پروتئین‌های CREB و p. CREB را نشان می‌دهد. برای مقایسه آماری از آزمون One-way ANOVA و Tukey-Kramer multiple comparison test به‌عنوان آزمون تعقیبی استفاده شد.

#P<۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل.

BPA: بیسفنول A؛ Cro: کروسین

بحث

هدف مطالعه کنونی بررسی اثر BPA بر اختلال حافظه در رت و تأثیر آن بر سطح پروتئین‌های ERK، p.ERK، CaMKII، p.CaMKII، CREB و p.CREB در هیپوکامپ و بررسی اثرات حفاظتی کروسین بر آن بود. داده‌های به‌دست‌آمده نشان داد تجویز BPA (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به‌مدت ۲۸ روز باعث کاهش معنی‌دار مدت‌زمان حضور رت در ربع صحیح ماز و کاهش سطح پروتئین‌های ERK، p.ERK، CaMKII و p.CREB درهیپوکامپ در مقایسه با گروه کنترل شد. تجویز کروسین (۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) توانست باعث بهبود اختلال حافظه و افزایش سطح پروتئین‌های ERK، p.ERK و CaMKII در مقایسه با گروه BPA شود.

BPA به‌عنوان یک سم شیمیایی محیطی سبب اختلال در عملکرد غدد آندوکرین می‌شود. به‌دلیل کاربرد گسترده این ماده در محصولات پلاستیکی ازجمله شیشه شیر اطفال و بطری‌های آب آشامیدنی، به‌طور متوسط روزانه ۵۲ تا ۷۴ نانوگرم بر کیلوگرم از این ماده سمی از طریق رژیم غذایی وارد بدن انسان می‌شود [۴۱] و از طریق تغییر در ساختارهای ایجادکننده حافظه بر سیستم عصبی مرکزی تأثیر منفی می‌گذارد [۴۶]. در مطالعه‌ای تماس موش‌ها در دوران بارداری با ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم BPA باعث کاهش مدت‌زمان سپری‌شده در ربع صحیح ماز آبی موریس شد [۱۲]. در مطالعه دیگری نیز مشاهده شد مواجهه طولانی‌مدت موش‌های بالغ با ۴ تا ۰/۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز BPA باعث افزایش مدت‌زمان یافتن سکو در تست ماز آبی موریس، کاهش تراکم سیناپس و اثرات منفی بر ساختار سیناپس در هیپوکامپ حیوانات می‌شود [۴۷].

در مطالعه حاضر، تجویز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم BPA به‌مدت ۲۸ روز به رت‌های بالغ، زمان یافتن سکو را در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معنی‌داری افزایش داد. این افزایش معنی‌دار از روز اول مطالعه مشاهده شد، اما سطح معنی‌داری آن در روزهای سوم و چهارم به حداکثر رسید. همچنین، تجویز BPA باعث تغییر معنی‌دار در مدت‌زمان حضور رت‌ها در ربع صحیح ماز بعد از برداشتن سکو در روز ششم، در مقایسه با گروه کنترل شد. در سرعت حرکت گروه BPA در مقایسه با گروه کنترل هیچ‌گونه اختلافی مشاهده نشد که نشان‌دهنده عدم ایجاد اختلال در اندام‌های حرکتی رت‌های دریافت‌کننده BPA است. نتایج آزمون رفتاری در مطالعه کنونی در راستای تحقیقات قبلی بوده است.

نتایج حاصل از آزمون ماز آبی موریس مشخص کرد اثر محافظتی کروسین بر تخریب حافظه ناشی از BPA در روز اول آزمایش معنی‌دار نبوده است، اما در روز دوم و چهارم اثرات معنی‌دار حفاظت از تخریب حافظه در هر سه گروه دریافت‌کننده کروسین مشاهده شد. در روز سوم، اثر حفاظتی فقط در دُزهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کروسین مشاهده شد. اما در روز پنجم مطالعه، اثر کروسین در

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-22]

نمونه‌های دریافت‌کننده دُزهای ۱۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری نداشت و فقط دُز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کروسین در بهبود حافظه اثربخشی معنی‌داری داشت. در کل، به نظر می‌رسد کروسین در دُز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به سایر دُزها میزان حفاظت بیشتری در مقابل اثرات تخریبی BPA ایجاد می‌کند.

اثر محافظت عصبی کروسین در مقابل تخریب حافظه به‌صورت وابسته به دُز نیست و بهترین اثربخشی در دُز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کروسین ایجاد می‌شود. احتمالاً اثر کروسین در حافظه در دُزهای بیشتر از ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به حالت پایدار می‌رسد و اثر افزایشی بر حافظه نخواهد داشت. در همین راستا، نتایج پژوهش دیگری نشان داد تجویز کروسین در دُز ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی و به‌مدت ۳ هفته، باعث بهبود اختلال حافظه در مدل آلزایمر ناشی از استرپتوزوسین شد [۴۸]. همچنین، گزارش شده است تزریق داخل صفاقی کروسین در دُز ۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر اختلال حافظه در رت‌های دیابتی ناشی از دریافت استرپتوزوسین اثری نداشته است، درحالی‌که کروسین در دُزهای ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به طور معنی‌داری از کاهش نورون‌های هیپوکامپ جلوگیری کرد و توانست باعث بهبود اختلال حافظه و یادگیری در حیوانات شود [۴۹].

در قدم بعدی، هدف مطالعه بررسی مسیرهای پیام‌رسان سلولی دخیل در اختلال حافظه ناشی از BPA و اثرات محافظت عصبی کروسین بود. آبشار سیگنالینگ ERK به‌عنوان یک نقطه همگرایی در سیگنال‌دهی عصبی شناخته شده‌است و نقش مهمی در انعطاف‌پذیری و بقای نورون‌ها ایفا می‌کند. برخی از مطالعات نشان داده‌اند آپوپتوز نورون‌ها ارتباط نزدیکی با مسیر سیگنالینگ ERK دارد [۵۱، ۵۰]. در سیتوپلاسم و دندریت‌ها، ERK فاکتورهای رونویسی را تنظیم می‌کند. درنتیجه، به‌طور غیرمستقیم سنتز پروتئین را القا می‌کند. فعال شدن این مسیر منجر به تغییراتی در مورفولوژی دندریت‌های هیپوکامپ می‌شود. بنابراین، ERK ممکن است در شکل‌گیری انعطاف‌پذیری عصبی دخیل باشد که دریافت و انتقال اطلاعات را ارتقا می‌دهد [۵۲]. یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد مواجهه با ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم BPA به‌صورت خوراکی در رت‌های بالغ به‌مدت ۲۸ روز موجب کاهش معنی‌دار سطح پروتئین ERK و فرم فسفریله آن در هیپوکامپ در مقایسه با گروه کنترل شد. در بررسی اثر حفاظتی کورکومین بر آمیلوئید بتا در اختلال حافظه فضایی نیز مشاهده شد تجویز آمیلوئید بتا باعث ایجاد اختلال حافظه و کاهش سطح پروتئین ERK و فرم فسفریله آن در هیپوکامپ رت می‌شود و بهبود حافظه فضایی رت با افزایش نسبت p.ERK/ERK در هیپوکامپ همراه است [۵۳]. در مطالعه دیگری به‌منظور بررسی اثر BPA بر حافظه فضایی، تجویز خوراکی BPA به رت‌های باردار در روز ۹ تا ۲۰ بارداری موجب کاهش معنی‌دار سطح پروتئین ERK در دُز ۰/۰۵ و ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و کاهش سطح پروتئین p.ERK در دُزهای ۵، ۰/۵ و ۰/۰۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه کنترل در هیپوکامپ شد [۱۶]. نتایج مطالعه کنونی نشان داد تجویز کروسین با دُز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم هم‌زمان با تجویز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم BPA موجب افزایش معنی‌دار سطح پروتئین ERK و p.ERK شده است. مطابق با نتایج پژوهش حاضر، در مطالعه دیگری اثر حفاظتی کروسین بر مدل پیری القاشده با دی-گالاکتوز دیده شد که تجویز داخل صفاقی کروسین (۳۰، ۱۵، ۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به‌مدت ۸ هفته باعث افزایش سطح p.ERK / ERK در هیپوکامپ رت می‌شود [۲۰].

ERK می‌تواند CREB را با فعال کردن کیناز ریبوزومی S6 فعال کند و درنتیجه رونویسی وابسته به CREB را آغاز کند [۵۲]. به نظر می‌رسد فعال شدن بیان ژن وابسته به CREB گام مهمی در آبشار مولکولی است که واسطه شکل‌گیری خاطرات طولانی‌مدت است [۵۴]. نتایج مطالعه حاضر نشان داد BPA در سطح پروتئین CREB تغییر معنی‌داری ایجاد نکرد، اما سبب کاهش معنی‌دار سطح پروتئین p.CREB در هیپوکامپ شد. در پژوهش دیگری نیز مشاهده شد تیمار رت‌های باردار از روز ۹ تا ۲۰ بارداری با BPA در دُزهای ۰/۵، ۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت خوراکی موجب کاهش معنی‌دار در سطح پروتئین p.CREB در هیپوکامپ فرزندان نر شده است [۱۶]. در مطالعه کنونی، تجویز هم‌زمان کروسین با BPA در رت‌های مورد آزمایش اگرچه باعث افزایش سطح پروتئین p.CREB در هیپوکامپ شد، این تغییر از نظر آماری قابل توجه نبود. در مطالعه دیگری اثر حفاظتی دُزهای ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کروسین بر افسردگی بررسی شد و مشخص شد که تجویز کروسین اثری بر سطح پروتئین‌های CREB و p.CREB در مغز حیوانات نداشت [۵۵].

CaMKII یک پروتئین کیناز کلیدی در شکل‌پذیری عصبی و حافظه است که با هجوم Ca^{+2} از طریق گیرنده‌های ان-متیل-دی-آسپارتات انجام می‌شود [۵۷، ۵۶]. نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد مواجهه با BPA موجب کاهش معنی‌دار سطح پروتئین CaMKII شده است، اما تغییر معنی‌داری در سطح پروتئین p.CaMKII مشاهده نشد. در مطالعه دیگری اثرات تماس نوزاد موش با تک دُز BPA بر سطح پروتئین‌های مهم در سیستم عصبی و دومین مرحله رشد مغز بررسی شد. در دهمین روز تولد موش، ۰/۳۲، ۳/۲ و ۴/۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم BPA به صورت خوراکی تجویز شد و موش‌های نر پس از ۲۴ ساعت و ۵ ماه و موش‌های ماده پس از ۵ ماه کشته شدند. تغییری در سطح پروتئین CaMKII پس از تماس با BPA به‌مدت ۲۴ ساعت در هیپوکامپ و کورتکس نوزادان نر و همچنین در موش‌های بالغ نر که پس از ۵ ماه کشته شدند، مشاهده نشد. اما در موش‌های ماده که پس از ۵ ماه کشته شدند، میزان CaMKII در هر دو بافت هیپوکامپ کاهش یافت [۵۸]. نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد تجویز کروسین با دُز ۲۰

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-22]

میلی‌گرم بر کیلوگرم هم‌زمان با تجویز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم BPA موجب افزایش معنی‌دار سطح پروتئین CaMKII شده‌است. در مطالعه ادیبی‌زاده و همکاران مشخص شد کروسین اثرات بهبوددهنده حافظه در اختلال ناشی از هیوسین در رت دارد. در مطالعه ذکرشده به‌دنبال تجویز هیوسین و کروسین، تغییری در سطح پروتئین‌های CaMKII و p.CaMKII در هیپوکامپ رت مشاهده نشد [۴۵].

از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به مدت‌زمان تحقیق اشاره کرد. تجویز ترکیبات برای مدت بیشتر از یک ماه احتمالاً تأثیرات قابل توجه‌تری ایجاد می‌کند که با توجه به شرایط موجود، امکان دوره تجویز بیش از یک ماه وجود نداشت.

به نظر می‌رسد در اثرات حفاظتی کروسین بر اختلال حافظه ناشی از BPA مکانیسم‌ها و مسیرهای پیام‌رسان سلولی مختلفی نقش دارند. در مطالعه قبلی، اثرات ضداکسیدان و افزایش سطح پروتئین AMPA (α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid) [۴۰] و در مطالعه کنونی افزایش سطح پروتئین‌های ERK، p.ERK و CaMKII اهمیت داشتند.

نتیجه گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد تجویز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم BPA به‌صورت گاواژ به رت‌های بالغ به‌مدت ۲۸ روز سبب ایجاد اختلال حافظه می‌شود و این اختلال حافظه با حضور ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کروسین بهبود می‌یابد. به‌نظر می‌رسد در افزایش حافظه ناشی از کروسین، افزایش سطح پروتئین‌های ERK، p.ERK و CaMKII در هیپوکامپ نقش بسزایی داشته باشند.

سپاسگزاری

این مقاله از پایان‌نامه با کد طرح ۹۴۱۷۷۰ گرفته شده است. هزینه طرح توسط معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد تأمین شده است که از این معاونت تشکر می‌شود (کد اخلاق IR.MUMS.SP.1395.5).

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافعی توسط نویسندگان بیان نشده است.

References

1. Hoekstra EJ, Simoneau C. Release of bisphenol A from polycarbonate—a review. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2013; **53**(4):386-402. **DOI:** 10.1080/10408398.2010.536919 **PMID:** 23320909
2. Le HH, Carlson EM, Chua JP, Belcher SM. Bisphenol A is released from polycarbonate drinking bottles and mimics the neurotoxic actions of estrogen in developing cerebellar neurons. *Toxicol Lette.* 2008;**176**(2):149-156. **DOI:** 10.1016/j.toxlet.2007.11.001 **PMID:** 18155859
3. Kazemi S, Kani SNM, Rezazadeh L, Pouramir M, Ghasemi-Kasman M, Moghadamnia AA. Low dose administration of Bisphenol A induces liver toxicity in adult rats. *Biochem Biophys Res Commun.* 2017;**494**(1-2):107-112. **DOI:** 10.1016/j.bbrc.2017.10.074 **PMID:** 29050942
4. Khodayar MJ, Kalantari H, Mahdavinia M, Khorsandi L, Alboghobeish S, Samimi A, et al. Protective effect of naringin against BPA-induced cardiotoxicity through prevention of oxidative stress in male Wistar rats. *Drug Chem Toxicol.* 2020; **43**(1):85-95. **DOI:** 10.1080/01480545.2018.1504958 **PMID:** 30264589
5. Alekhya Sita GJ, Gowthami M, Srikanth G, Krishna MM, Rama Sireesha K, Sajjarao M, et al. Protective role of luteolin against bisphenol A-induced renal toxicity through suppressing oxidative stress, inflammation, and upregulating Nrf2/ARE/HO-1 pathway. *IUBMB Life.* 2019;**71**(7):1041-1047. **DOI:** 10.1002/iub.2066 **PMID:** 31091348
6. Alboghobeish S, Mahdavinia M, Zeidooni L, Samimi A, Oroojan AA, Alizadeh S, et al. Efficiency of naringin against reproductive toxicity and testicular damages induced by bisphenol A in rats. *Iran J Basic Med Sci.* 2019;**22**(3):315-323. **DOI:** 10.22038/ijbms.2019.29757.7184 **PMID:** 31156794
7. Vahdati Hassani F, Abnous K, Mehri S, Jafarian A, Birner-Gruenberger R, Yazdian Robati R, et al. Proteomics and phosphoproteomics analysis of liver in male rats exposed to bisphenol A: Mechanism of hepatotoxicity and biomarker discovery. *Food Chem Toxicol.* 2018;**112**:26-38. **DOI:** 10.1016/j.fct.2017.12.021 **PMID:** 29269058
8. Mohsenzadeh MS, Razavi BM, Imenshahidi M, Mohajeri SA, Rameshrad M, Hosseinzadeh H. Evaluation of green tea extract and epigallocatechin gallate effects on bisphenol A-induced vascular toxicity in isolated rat aorta and cytotoxicity in human umbilical vein endothelial cells. *Phytother Res.* 2021;**35**(2):996-1009. **DOI:** 10.1002/ptr.6861 **PMID:** 32893422
9. Rameshrad M, Razavi BM, Imenshahidi M, Hosseinzadeh H. Vitis vinifera (grape) seed extract and resveratrol alleviate bisphenol-A-induced metabolic syndrome: Biochemical and molecular evidences. *Phytother Res.* 2019;**33**(3):832-844. **DOI:** 10.1002/ptr.6276 **PMID:** 30653759
10. Vandenberg LN, Hauser R, Marcus M, Olea N, Welshons WV. Human exposure to bisphenol A (BPA). *Reprod Toxicolo.* 2007; **24**(2):139-177. **DOI:** 10.1016/j.reprotox.2007.07.010 **PMID:** 17825522
11. Tavakkoli A, Abnous K, Vahdati Hassani F, Hosseinzadeh H, Birner-Gruenberger R, Mehri S. Alteration of protein profile in cerebral cortex of rats exposed to bisphenol a: a proteomics study. *Neurotoxicology.* 2020;**78**:1-10. **DOI:** 10.1016/j.neuro.2020.01.013 **PMID:** 32017977
12. Xu XH, Zhang J, Wang YM, Ye YP, Luo QQ. Perinatal exposure to bisphenol-A impairs learning-memory by concomitant down-regulation of N-methyl-D-aspartate receptors of hippocampus in male offspring mice. *Horm Behav.* 2010;**58**(2):326-333. **DOI:** 10.1016/j.yhbeh.2010.02.012 **PMID:** 20206181
13. Tanner EM, Hallerbäck MU, Wikström S, Lindh C, Kiviranta H, Gennings C, et al. Early prenatal exposure to suspected endocrine disruptor mixtures is associated with lower IQ at age seven. *Environ Int.* 2020;**134**:105185. **DOI:** 10.1016/j.envint.2019.105185 **PMID:** 31668669
14. Zhang H, Wang Z, Meng L, Kuang H, Liu J, Lv X, et al. Maternal exposure to environmental bisphenol A impairs the neurons in hippocampus across generations. *Toxicology.* 2020;**432**:152339. **DOI:** 10.1016/j.tox.2020.152393 **PMID:** 32027964
15. Lee S, Suk K, Kim IK, Jang IS, Park JW, Johnson VJ, et al. Signaling pathways of bisphenol A–induced apoptosis in hippocampal neuronal cells: Role of calcium-induced reactive oxygen species, mitogen-activated protein kinases, and nuclear factor–κB. *J Neurosci Res.* 2008;**86**(13):2932-2942. **DOI:**

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-22]

10.1002/jnr.21739
16. Wang C, Li Z, Han H, Luo G, Zhou B, Wang S, et al. Impairment of object recognition memory by maternal bisphenol A exposure is associated with inhibition of Akt and ERK/CREB/BDNF pathway in the male offspring hippo-campus. *Toxicology*. 2016; **341**:56-64. **DOI:** 10.1016/j.tox.2016.01.010 **PMID:** 26827910
17. Chen Z, Li T, Zhang L, Wang H, Hu F. Bisphenol A exposure remodels cognition of male rats attributable to excitatory alterations in the hippocampus and visual cortex. *Toxicology*. 2018;**410**:132-141. **DOI:** 10.1016/j.tox.2018.10.002 **PMID:** 30312744
18. Gupta S, Khan J, Salhotra S, Abdi SAH, Sharma S, Ahmad S, et al. The protective effect of α-lipoic acid against bisphenol A-induced neurobehavioral toxicity. *Neuro-chem Int*. 2018;**118**:166-175. **DOI:** 10.1016/j.neuint.2018.06.005 **PMID:** 29908256
19. Bi N, Ding J, Zou R, Gu X, Liu ZH, Wang HL. Developmental exposure of bisphenol A induces spatial memory deficits by weakening the excitatory neural circuits of CA3-CA1 and EC-CA1 in mice. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2021;**426**:115641. **DOI:** 10.1016/j.taap.2021.115641 **PMID:** 34242568
20. Heidari S, Mehri S, Hosseinzadeh H. Memory enhance-ment and protective effects of crocin against D-galactose aging model in the hippocampus of Wistar rats. *Iran J Basic Med Sci*. 2017; **20**(11):1250. **DOI:** 10.22038/IJBMS.2017.9541 **PMID:** 29299203
21. Rahbardar MG, Hosseinzadeh H. Therapeutic effects of rosemary (Rosmarinus officinalis L.) and its active constituents on nervous system disorders. *Iran J Basic Med Sci*. 2020;**23**(9): 1100-1112. **DOI:** 10.22038/ijbms.2020.45269.10541 **PMID:** 32963731
22. Ghasemzadeh Rahbardar M, Hosseinzadeh H. Effects of rosmarinic acid on nervous system disorders: an updated review. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2020;**393**(10):1779-1795. **DOI:** 10.1007/s00210-020-01935-w **PMID:** 32725282
23. Gregory J, Vengalasetti YV, Bredesen DE, Rao RV. Neuroprotective herbs for the management of Alzhei-mer's disease. *Biomolecules*. 2021;**11**(4):543. **DOI:** 10.3390/biom11040543 **PMID:** 33917843
24. Jiang Y, Gao H, Turdu G. Traditional Chinese medicinal herbs as potential AChE inhibitors for anti-Alzheimer's disease: a review. *Bioorg Chem*. 2017;**75**:50-61. **DOI:** 10.1016/j.bioorg.2017.09.004 **PMID:** 28915465
25. Hosseinzadeh H, Karimi G, Niapoor M. Antidepressant effects of Crocus sativus stigma extracts and its constituents, crocin and safranal, in mice. *J Med Plants*. 2004;**3**(11):48-58.
26. Razavi BM, Hosseini A, Hosseinzadeh H. Antidepressant activity of Crocus sativus L. and its main constituents: A review. The Neuroscience of Depression. Academic Press; 2021.
27. Shahidani S, Rajaei Z, Alaei H. Pretreatment with crocin along with treadmill exercise ameliorates motor and memory deficits in hemiparkinsonian rats by anti-inflammatory and antioxidant mechanisms. *Metab Brain Dis*. 2019;**34**(2):459-468. **DOI:** 10.1007/s11011-018-0379-z **PMID:** 30652256
28. Mohammadzadeh L, Hosseinzadeh H, Abnous K, Razavi BM. Neuroprotective potential of crocin against malathion-induced motor deficit and neurochemical alterations in rats. *Environl Sci Pollut Res*. 2018;**25**(5):4904-4914. **DOI:** 10.1007/s11356-017-0842-0 **PMID:** 29204935
29. Mohammadzadeh L, Rahbardar MG, Razavi BM, Hosseinzadeh H. Crocin Protects Malathion-induced Parkinson-like Disease by Inhibiting Apoptosis and α-synuclein Accumulation in Rats' Striatum. *J Mol Neurosci*. 2022;**72**(5):983-993. **DOI:** 10.1007/s12031-022-01990-3 **PMID:** 35274200
30. Hosseinzadeh H, Noraei NB. Anxiolytic and hypnotic effect of Crocus sativus aqueous extract and its consti-tuents, crocin and safranal, in mice. *Phytother Res*. 2009;**23**(6):768-774. **DOI:** 10.1002/ptr.2597 **PMID:** 19142981
31. Khalatbari-Mohseni A, Banafshe HR, Mirhosseini N, Asemi Z, Ghaderi A, Omidi A. The effects of crocin on psychological parameters in patients under methadone maintenance treatment: a randomized clinical trial. *Subst Abuse Treat Prev Policy*. 2019;**14**(1):1-8. **DOI:** 10.1186/s13011-019-0198-1 **PMID:** 30795785
32. Shaterzadeh-Yazdi H, Samarghandian S, Farkhondeh T. Effects of crocins in the management of neurodegene-rative pathologies: a review. *Neurophysiology*. 2018;**50**(4):302-308. **DOI:** 10.1007/s11062-081-9752-0
33. Margaritis I, Angelopoulou K, Lavrentiadou S, Mavrovouniotis IC, Tsantarliotou M, Taitzoglou I, et al. Effect of crocin on antioxidant gene expression, fibrinolytic parameters, redox status and blood biochemistry in nicotinamide-streptozotocin-induced diabetic rats. *J Biol Rese-Thessaloniki*. 2020;**27**(1):1-15. **DOI:** 10.1186/s40709-020-00114-5 **PMID:** 32161725
34. Vahdati Hassani F, Naseri V, Razavi BM, Mehri S, Abnous K, Hosseinzadeh H. Antidepressant effects of crocin and its effects on transcript and protein levels of CREB, BDNF, and VGF in rat hippocampus. *DARU J Pharm Sci*. 2014;**22**(1):1-9. **DOI:** 10.1186/2008-2231-22-16 **PMID:** 24401376
35. Zeinali M, Zirak MR, Rezaee SA, Karimi G, Hosseinzadeh H. Immunoregulatory and anti-inflammatory properties of Crocus sativus (Saffron) and its main active constituents: A review. *Iran J Basic Med Sci*. 2019;**22**(4):334. **DOI:** 10.22038/ijbms.2019.34365.8158 **PMID:** 31223464
36. Mohammadzadeh L, Abnous K, Razavi BM, Hosseinzadeh H. Crocin-protected malathion-induced spatial memory deficits by inhibiting TAU protein hyperphosphorylation and antiapoptotic effects. *Nutr Neurosci*. 2020;**23**(3):221-236. **DOI:** 10.1080/1028415X.2018.1492772 **PMID:** 30789100
37. Mehri S, Abnous K, Mousavi SH, Shariaty VM, Hossein-zadeh H. Neuroprotective effect of crocin on acrylamide-induced cytotoxicity in PC12 cells. *Cell Mol Neurobiol*. 2012;**32**(2):227-235. **DOI:** 10.1007/s10571-011-9752-8 **PMID:** 21901509
38. Mehri S, Abnous K, Khooei A, Mousavi SH, Shariaty VM, Hosseinzadeh H. Crocin reduced acrylamide-induced neurotoxicity in Wistar rat through inhibition of oxidative stress. *Iran J Basic Med Sci*. 2015;**18**(9):902-908. **PMID:** 26523222
39. Hadizadeh F, Mohajeri S, Seifi M. Extraction and purification of crocin from saffron stigmas employing a simple and efficient crystallization method. *Pak J Biol Sci*. 2010;**13**(14):691-698. **DOI:** 10.3923/pjbs.2010.691.698 **PMID:** 21848061
40. Vahdati Hassani F, Masjedi E, Hosseinzadeh H, Bedrood Z, Abnous K, Mehri S. Protective effect of crocin on bisphenol A -induced spatial learning and memory impairment in adult male rats: Role of oxidative stress and AMPA receptor. *Iran J Basic Med Sci*. 2020;**23**(9):1146-1154. **DOI:** 10.22038/ijbms.2020.41097.9714 **PMID:** 32963736
41. Kim ME, Park HR, Gong EJ, Choi SY, Kim HS, Lee J. Exposure to bisphenol A appears to impair hippocampal neurogenesis and spatial learning and memory. *Food Chem Toxicol*. 2011;**49**(12): 3383-3389. **DOI:** 10.1016/j.fct.2011.09.017 **PMID:** 21959526
42. Richter CA, Birnbaum LS, Farabollini F, Newbold RR, Rubin BS, Talsness CE, et al. In vivo effects of bisphenol A in laboratory rodent studies. *Reprod Toxicol*. 2007;**24**(2):199-224. **DOI:** 10.1016/j.reprotox.2007.06.004 **PMID:** 17683900
43. Razavi BM, Hosseinzadeh H, Movassaghi AR, Imenshahidi M, Abnous K. Protective effect of crocin on diazinon induced cardiotoxicity in rats in subchronic exposure. *Chem Bbiol Interact*. 2013;**203**(3):547-555. **DOI:** 10.1016/j.cbi.2013.03.010 **PMID:** 23523949
44. Ahmadi M, Rajaei Z, Hadjzadeh M, Nemati H, Hosseini M. Crocin improves spatial learning and memory deficits in the Morris water maze via attenuating cortical oxidative damage in diabetic rats. *Neuroscience Lett*. 2017;**642**:1-6. **DOI:** 10.1016/j.neulet.2017.01.049 **PMID:** 28137647
45. Adabizadeh M, Mehri S, Rajabpour M, Abnous K, Rashedinia M, Hosseinzadeh H. 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*.

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-22]

2019;**22**(6):601-609. **DOI:** 10.22038/ijbms.2019.30138.7266 **PMID:** 31231486

46. Xu X, Gu T, Shen Q. Different effects of bisphenol-A on memory behavior and synaptic modification in intact and estrogen-deprived female mice. *J Neurochem*. 2015;**132**(5):572-582. **DOI:** 10.1111/jnc.12998 **PMID:** 25421748
47. Xu X, Liu X, Zhang Q, Zhang G, Lu Y, Ruan Q, et al. Sex-specific effects of bisphenol-A on memory and synaptic structural modification in hippocampus of adult mice. *Horm Behav*. 2013;**63**(5):766-775. **DOI:** 10.1016/j.yhbeh.2013.03.004 **PMID:** 23523742
48. Khalili M, Hamzeh F. Effects of active constituents of Crocus sativus L., crocin on streptozocin-induced model of sporadic Alzheimer's disease in male rats. *Iran Biomed J*. 2010;**14**(1-2):59. **PMID:** 20683499
49. Tamaddonfard E, Farshid AA, Asri-Rezaee S, Javadi S, Khosravi V, Rahman B, et al. Crocin improved learning and memory impairments in streptozotocin-induced diabetic rats. *Iran J Basic Med Sci*. 2013;**16**(1):91-100. **PMID:** 23638297
50. Huang L, Liu Y, Jin W, Ji X, Dong Z. Ketamine potentiates hippocampal neurodegeneration and persistent learning and memory impairment through the PKCγ–ERK signaling pathway in the developing brain. *Brain Res*. 2012;**1476**:164-171. **DOI:** 10.1016/j.brainres.2012.07.059 **PMID:** 22985497
51. Straiko MM, Young C, Cattano D, Creeley CE, Wang H, Smith DJ, et al. Lithium protects against anesthesia-induced developmental neuroapoptosis. *Anesthesiology*. 2009;**110**(4): 862-868. **DOI:** 10.1097/ALN.0b013e31819b5eab **PMID:** 19293695
52. Shi M, Ding J, Li L, Bai H, Li X, Lan L, et al. Effects of Ketamine on Learning and Memory in the Hippocampus of Rats through ERK, CREB, and Arc. *Brain Sci*. 2020;**11**(1):27. **DOI:** 10.3390/brainsci11010027 **PMID:** 33383707
53. Zhang L, Fang Y, Xu Y, Lian Y, Xie N, Wu T, et al. Curcumin improves amyloid β-peptide (1-42) induced spatial memory deficits through BDNF-ERK signaling pathway. *PloS one*. 2015;**10**(6):e0131525. **DOI:** 10.1371/journal.pone.0131525 **PMID:** 26114940
54. Benito E, Barco A. CREB's control of intrinsic and synaptic plasticity: implications for CREB-dependent memory models. *Trends Nneurosci*. 2010;**33**(5):230-240. **DOI:** 10.1016/j.tins.2010.02.001 **PMID:** 20223527
55. Razavi BM, Sadeghi M, Abnous K, Hasani FV, Hosseinzadeh H. Study of the role of CREB, BDNF, and VGF neuropeptide in long term antidepressant activity of crocin in the rat cerebellum. *Iran J Pharm Sci*. 2017;**16**(4):1452-1462. **PMID:** 29552054
56. Sanhueza M, Lisman J. The CaMKII/NMDAR complex as a molecular memory. *Mol Brain*. 2013;**6**(1):1-8. **DOI:** 10.1186/1756-6606-6-10 **PMID:** 23410178
57. Zalcman G, Federman N, Romano A. CaMKII isoforms in learning and memory: localization and function. *Front Mol Neurosci*. 2018;**11**:445. **DOI:** 10.3389/fnmol.2018.00445 **PMID:** 30564099
58. Viberg H, Lee I. A single exposure to bisphenol A alters the levels of important neuroproteins in adult male and female mice. *Neurotoxicology*. 2012;**33**(5):1390-1395. **DOI:** 10.1016/j.neuro.2012.09.002 **PMID:** 22981971

[Downloaded from journal.nkums.ac.ir on 2026-11-22]