Protective Role Of Curcumin On some of enzymatic parameters Of Nervous Tissue In Male Rabbits subjected to Monosodium Glutamate

الدور الوقائي للكركمين على بعض المعايير الانزيمية للجهاز العصبي في ذكور الارانب المعرضة لغلوتامات الصوديوم الاحادية

هبة علوان عبد السلام السلامي أ.د.وفاق جبوري البازي أ.د. مي فاضل الحبيب
جامعة كربلاء/كلية التربية للعلوم الصرفة جامعة كربلاء/كلية الطب البيطري جامعة النهرين/كلية الطب
مستل من اطروحة دكتوراه للباحث الاول

المستخلص

هدفت هذه الدراسة معرفة الدور الوقائي لمادة الكركمين Curcumine ضد التلف الحاصل في الجهاز العصبي والمستحث بمادة غلوتامات الصوديوم الاحادية (MSG) في ذكور الارانب . ، فقد تم استخدام (60) من ذكور الأرانب البالغة والتي قسمت عشوائيا الى اربعة مجاميع متساوية (15 حيوان / مجموعة) ، جرعت المجموعة الاولى (G1) 1 مل/ كغم من زيت الذرة لمدة 3 أشهر وعدت كمجموعة سيطرة ،وجرعت المجموعة الثانية فمويا (G2)3ملغم /كغم من MSG لمدة ثلاثة اشهر يوميا ، اما المجموعة الثالثة (G3) فقد جرعت فمويا 60 ملغم /كغم من مادة الكركمين ، في حين جرعت حيوانات المجموعة الرابعة tl,dh (G4) 3ملغم /كغم من MSG مع التجريع الفموي 60 ملغم /كغم من مادة الكركمين ولمدة لمدة ثلاثة اشهر يوميا .جمعت عينات الدم بعد تجويع الحيوانات Fasting blood sample في فترة ما قبل المعاملة ، بعد منتصف التجربة و حتى نهاية التجربة لدراسة المعايير المتمثلة بتركيز انزيم Acetylcholine esterase الذائب(AchE (G1 ، Acetylcholine esterase المرتبط بالغشاء(AchE (G4 و تركيز انزيم Neuronal Mitochondrial ATPase . اظهرت نتائج هذه التجربة ان التجريع الفموي ب MSG أدى الى حدوث انخفاض معنوي (P<0.01) في معدل تركيز انزيم AchE(G4) ، تركيز انزيم Neuronal Mitochondrial ATPase ، وارتفاع معنوي (P<0.01) في معدل تركيز انزيم AchE (G1) مقارنة مع مجموعة السيطرة . فيما اظهرت المجموعة المعاملة بمادة الكركمين ادى الى حدوث ارتفاع معنوي (P<0.01) في تركيزانزيم Neuronal Mitochondrial ATPase ، وانخفاض معنوي (P<0.01) في تركيز انزيم (G4) AchE ، انزيم AchE (G1) ، مقارنة مع مجموعة السيطرة . كما تبين التجربة ان التجريع الفموي ب MSG مع التجريع الفموي بمادة الكركمين تسبب في حدوث ارتفاع معنوي (P<0.01) في معدل تركيز انزيم AchE (G4)، وانخفاض معنوي (P<0.01) في معدل تركيزانزيم AchE (G1) بينما لم تلاحظ فروق معنوية في تركيز انزيم Neuronal Mitochondrial ATPase

استنتج من الدراسة الحالية ان MSG سببت تغيرات مرضية واضحة للنسيج العصبي وتؤكد الدور الوقائي لمادة الكركمين ضد التلف الحاصل في النسيج العصبي وبعض المعايير الانزيمية في مصل ذكور الارانب

Abstract

This study aimed to know the preventive role of a substance Curcumin against damage happening in the nervous system and induced textured monosodium glutamate (MSG) in male rabbits., sixty of adult male rabbits were randomly divided into four equal groups (15 animals / group), the first group (G1) intubated with 1 ml / kg ml / kg of corn oil and served as a control group (G1). Rabbits in the second group were intubated orally and daily with 3mg /kg of MSG for three months, while the third group (G3) has intubated orally and daily with 60 mg / kg curcumin,the fourth group intubated orally and daily with 3mg /kg of MSG and 60 mg / kg of curcumin for three months .

Fasting blood samples were collected from fasted rabbits at pretreated period , Mid-experiment and at the end of experiment to study the following parameters : concentration of soluble-AchE enzyme (G1) , membrane-associated AchE (G4), Neuronal Mitochondrial ATPase enzyme. The results revealed that oral dosing with MSG caused a significant decrease (P <0.01) in membrane-associated AchE(G4), the concentration of Neuronal Mitochondrial ATPase enzyme and significant increase (P < 0.01) soluble-AchE enzyme (G1)compared with the control group. The group that treated with 60 mg / kg curcumin revealed a significant increase (P <0.01)

in Neuronal Mitochondrial ATPase and a significant decrease (P <0.01) in the concentration of membrane-associated AchE(G4), soluble-AchE enzyme(G1)compared with the control group. Experience also shows that oral dosing with MSG and curcumin caused significant increase (P <0.01) in membrane-associated AchE (G4), and a significant decrease (P <0.01) in soluble-AchE enzyme(G1), ,while no significant difference was observed in the concentration Neuronal Mitochondrial ATPase .

In conclusion, results of this study that monosodium glutamate(MSG) causes clearly pathological changes in nervous tissue and confirm the protective role of Curcumin against the pernicious influence of the nervous tissue Some of the enzyme parameters in the serum of male rabbit

المقدمـــة

تعد مادة غلوتامات الصوديوم الاحادية (monosodium glutamate (MSG واحدة من اكثر المضافات الغذائية استخداما في العالم كمحسنات للطعم [1] ، ويتم إخفاء اسم هذه المادة السامة في الأغذية تحت مسميات مختلفة منها الجلوتامات ، Ajinomoto وغيرها ،في حين تصنف ادارة الاغذية والادوية الامريكية ملح غلوتامات الصوديوم الاحادية على انه طعام امن معترف به (Generally recognized as safe (GRAS ، كما يصنفه الاتحاد الاوربي على انه من المضافات الغذائية المسموح به في بعض الاطعمة لكنه يخضع لقيود الكمية [2] .

تمتلك مادة MSG العديد من التأثيرات على الجهاز العصبي المركزي ، فقد افادت العديد من الدراسات ان استخدام هذه المادة يؤدي الى العديد من التأثيرات الضارة على الدماغ ، اذ تسبب الجرع العالية منها اختلال في وظائف الدماغ ، الرعاش ، فقدان الاتزان، الحركات غير المتناسقة و تسبب اضطرابات في افراز العديد من الغدد الصماء العصبية Neuroendocrine[3] disorders ، كما ان اعطاء جرعات عالية من MSG تؤدي الى حدوث تلف للخلايا الدماغية في منطقة القشرة الدماغية نتيجة لتأثيراتها على زيادة الاثارة العصبية [4] .

الكركمين curcumin هي المادة الفعالة لنبات الكركم Curcuma longa وهو نبات عشبي معمر يعود الى عائلة الزنجبيل ginger family يزرع على نطاق واسع في جنوب وجنوب شرق اسيا والصين [5]، استخدم الكركمين على مدى قرون عديدة كتابل وعلى شكل صبغه غذائية ويستخدم في الهند كطب شعبي لعلاج مختلف الامراض اضافة الى استخدامه في النسيج والصناعات الدوائية [6] ، ويستخدم للاستهلاك الغذائي بمعدل 100ملغم/يوم [7] ، وجدت دراسات عديدة ان استخدام الكركمين لايُظهر اي اعراض جانبية و انه يستخدم بجرعة 200-180ملغم/كغم كمادة مضادة للالتهابات [8] ، نظرا للدور الوقائي للعديد من مضادات الأكسدة في علاج الكثير من حالات الإجهاد التأكسدي ، ونظرا لقلة الدراسات التجريبية عن الأضرار الصحية التي تسببها مادة MSG ، ونتيجة لزيادة استخدام المنتجات الغذائية المعلبة والمحفوظة ، ولقلة الدراسات التي تناولت تأثير MSG على الجهاز العصبي في الجسم لاسيما الانزيمات التي تؤثر على الوظائف المعرفية جاءت فكرة استخدام مادة الكركمين curcumin كمادة وقائية ضد الاعتلالات العصبية التي ممكن ان تسببها مادة MSG نتيجة لامتلاكها العديد من الخواص العلاجية فضلا عن دوره كمادة مضادة للأكسدة نتيجة لامتلاكه مجاميع الهيدروكسيل الفينولية و مجاميع الاريل التي تمكنها من القضاء على انواع الاوكسجين التفاعلية ROS مما يمنحها تأثيرات مضادة للأكسدة التي تحمي الجسم من العديد من المشاكل الصحية المتسببة بفعل الجذور الحرة

المواد وطرائق العمل

استخدمت 60 من ذكور الارنب و قسمت عشوائيا الى اربعة مجاميع بواقع 15 أرانب لكل مجموعة:

تم تجريع المجموعة الاولى (G1) 1مل/ كغم زيت الذرة لمدة ثلاثة اشهر يوميا واعتبرت كمجموعة سيطرة.

تم تجريع المجموعة الثانية (G2) فمويا 3ملغم / كغم من غلوتامات الصوديوم الاحادية لمدة ثلاثة اشهر يوميا .

تم تجريع المجموعة الثالثة (G3) فمويا 60 ملغم /كغم من مادة الكركمين ولمدة لمدة ثلاثة اشهر يوميا.

تم تجريع المجموعة الرابعة (G4) فمويا 3ملغم / كغم من غلوتامات الصوديوم الاحادية + تجريع فموي 60 ملغم /كغم من مادة الكركمين ولمدة لمدة ثلاثة اشهر يوميا.

تم سحب عينات الدم بعد تجويع الحيوانات طول الليل وذلك بعد شهر ونصف وبعد نهاية ثلاثة اشهر اذ تم سحب 5 مل من الدم من القلب ، وضع الدم بعد ذلك في انابيب خاصة غير حاوية على مادة مانعة للتخثر ثم فصل المصل بواسطة جهاز الطرد المركزي centerfuge بسرعة 3000 دورة/ دقيقة لمدة 15دقيقة لقياس بعض المعايير التالية : فعالية انزيم الاستيل كولين استريز الذائب (Soluble AchE(G1 ، فعالية انزيم الاستيل كولين استريز المرتبط بالغشاء Membrane-bound AChE (G4) و تركيز انزيم Neuronal Mitochondrial ATPase.

قياس انزيم acetylcholine esterase
تحضير النسيج

بعد التضحية بالحيوانات واستخراج الادمغة من الجمجمة ، تم سحق كل دماغ في جفنة خزفية تحتوي 30 مل من المحلول الدارئ (12.5 Mm PBS) في حمام ثلجي لمدة 15 دقيقة ، بعدها تم طرد العينة مركزيا بدرجة 2000 X غم بدرجة حرارة $4\ C^0$- لمدة 20 دقيقة ، جمعت المادة الطافية (S1) ، اعيد سحق الخلايا المتبقية مع 30 مل من 13.5 Mm PBS لمدة 30 دقيقة ثم اجريت عملية الطرد المركزي بدرجة 2000 X غم بدرجة حرارة $4\ C^0$- لمدة 20 دقيقة جمعت المادة الطافية (S2) ،استخدم (S1) كمصدر لقياس انزيم AChE الذائب (G1) و (S2) كمصدر لقياس انزيم AChE المرتبط بالغشاء (G4) [9] .

تم قياس تراكيز الانزيمات (acetylcholine esterase وNeuronal Mitochondrial ATPase) باستخدام عدة التحاليل (Kits) الخاصة بكل انزيم بالاعتماد على الطريقة المناعية المعروفة Enzyme-Linked Immunosorbent Assay(ELISA) باستخدام جهاز ELISA Reader من نوع Axiom Minireader الالماني المنشأ واجريت الخطوات لقياس كل انزيم بالاعتماد على الخطوات المرفقة لكل طقم .

التحليل الأحصائي

تم تحليل النتائج عن طريق الاستعانة بالبرنامج الجاهزSPSS واختبرت معنوية معامل الارتباط عن طريق تحليل التباين لتجربة عاملية 15X3X4 وفق التصميم العشوائي الكامل (Complet randomized design (CRD كما تم إستخدام إختبار أقل فرق معنوي (Least Significant difference(L.S.D للإظهار معنوية النتائج. [10]

النتائج والمناقشة

اظهرت نتائج الجدول(1) وجود ارتفاع معنوي (P<0.01) في معدل تركيز انزيم AchE(G1) وانخفاض معنوي(P<0.01) في معدل تركيز انزيم AchE(G4) (جدول 2) بعد التجريع الفموي بمادة MSG مقارنة مع مجموعة السيطرة وهذه النتائج تتفق مع [11] [12] [13] [14] .

جدول (1) تأثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة للكركمين على معدل تركيز انزيم(G1) AChE الذائب Unit/ml في مصل ذكور الارانب المعرضة لغلوتامات الصوديوم الاحادية

المجاميع / المدة	(G1) السيطرة	(G2) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية	(G3) 60 ملغم/كغم مادة الكركمين	(G4) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية + 60 ملغم/كغم مادة الكركمين	LSD
قبل المعاملة	13.08 0.29± A a	12.79 0.34± A a	12.84 0.31± A a	12.99 0.29± A a	0.85
بعد شهر ونصف	12.94 0.30± A a	14.61 0.25± B b	11.91 0.30± B c	13.75 0.34± A a	0.83
بعد ثلاثة اشهر	13.11 0.32± A a	15.12 0.22± C b	11.06 0.23± C c	14.05 0.32± B d	0.77
LSD	0.84	0.76	0.78	0.87	

المعدل ± الخطأ القياسي ، n =15/ مجموعة . الحروف الصغيرة تدل على وجود فروق معنوية افقيا تحت مستوى احتمالP<0.01 ، الحروف الكبيرة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال P<0.01

جدول (2) تأثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة للكركمين على معدل تركيز انزيم(G4) AChE المرتبط بالغشاء Unit/ml في مصل ذكور الارانب المعرضة لغلوتامات الصوديوم الاحادية

المجاميع / المدة	(G1) السيطرة	(G2) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية	(G3) 60 ملغم/كغم مادة الكركمين	(G4) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية + 60 ملغم/كغم مادة الكركمين	LSD
قبل المعاملة	12.16 0.25± A a	12.05 0.31 ± A a	12.00 0.26± A a	12.25 0.37± A a	0.84
بعد شهر ونصف	11.83 0.24± A a	10.91 0.38 ± B b	11.82 0.29± A a	11.97 0.27± A a	0.83
بعد ثلاثة اشهر	12.12 0.26± A a	9 .77 0.27± C b	11.04 0.21± B c	10.69 0.26± B ac	0.70
LSD	0.70	0.89	0.72	0.85	

المعدل ± الخطأ القياسي ، n =15/ مجموعة . الحروف الصغيرة تدل على وجود فروق معنوية افقيا تحت مستوى احتمال P<0.01 الحروف الكبيرة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال P<0.01

اكدت العديد من الدراسات ان الاشكال الجزيئية لانزيم AchE تتأثر بشكل غير متساوي في الحالات المرضية ان مثل هذه التغيرات في الاشكال الجزيئية لإنزيم AchE تعكس التغيرات التي تحدث في الدماغ [14] [15] ، تشكل الاشكال الاحادية AchE(G1) النوع الاكثر وفرة في الدماغ ويلعب ادوار مختلفة من عملية glycosylation ، اذ تعمل العديد من انواع الخلايا على اضافة انصاف كاربوهيدراتية مختلفة الى AchE من انسجة مختلفة و من نفس النسيج بعملية glycosylation و ان انخفاض هذه العملية يعكس الاعتلالات التي تحدث في الدماغ وبالتالي تسبب تغيرات في الاشكال الجزيئية لإنزيم AchE [16] [17] ، فقد يكون الارتفاع المعنوي (P<0.01) في معدل تركيز انزيم AchE(G1) والتي اشارت اليها الدراسة الحالية بسبب التجريع الفموي ب MSG والذي ادى الى تحطم الخلايا الدماغية عن طريق توليد عدد من الجذور الحرة بفعل الاجهاد التاكسدي مسبب حدوث الاصابة الخلوية Cell injury وتسرب الانزيم [18] [13] ، كما ان انخفاض معدل تركيز انزيم AchE(G4) قد يعود الى فقدان الخلايا العصبية الكولينية cholinergic neurons [19] ، بالإضافة الى ان زيادة التعرض لمادة MSG تسبب زيادة تحرر الغلوتامات الحر free glutamate اذ تسبب زيادة الغلوتامات الى زيادة تهيج الخلايا العصبية overexcitation مسببة حدوث خلل في التوازن الايوني عند النهايات العصبية ، كما ان زيادة الغلوتامات في الشق المشبكي تؤدي زيادة في تنشيط مستقبلات الغلوتامات (EAATs) الامر الذي يؤدي الى تحطم الخلايا العصبية وبالتالي موتها وانخفاض AchE(G4) [21] [20] [19] . كما وجد ان زيادة الغلوتامات تسبب زيادة في تركيز ايون الامونيا الذي يساهم ايضا في حدوث الاصابة الخلوية للخلايا الدماغية مؤديا الى حدوث ارتفاع معنوي (P<0.01) في معدل تركيز انزيم AchE [22] [23]، في حين وجد [24] [25] ان الزيادة في تركيز انزيم AchE يرتبط مع ظهور لويحات البيتا اميلويد Aβ و NFT في النسيج العصبي والتي تعتبر من العلامات التشخيصية لمرض الزهايمر ، فقد وجد ان لويحات Aβ ربما تكون مسؤولة عن زيادة تركيز انزيم AchE حول اللويحات كما وجد ان الزيادة في انزيم AchE حول NFT ترتبط مع زيادة فسفرة بروتين التايو P-tau لها دور كبير في زيادة التعبير الجيني للانزيم [24] . وفي الحالات المتقدمة من الاعتلال العصبي كما هو الحال في مرض الزهايمر يكون هنالك انخفاض معدل تركيز انزيم AchE(G4) والذي يعزى الى تحطم الخلايا العصبية الكولينية بينما تبقى الاشكال الاحادية AchE(G1) بدون تغيير او تزداد في الحالات المرضية المتقدمة [14][26] .

جدول (3) تأثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة للكركمين على معدل تركيز انزيم Nuronal mitochondrial ATPase ng/ml في مصل ذكور الارانب المعرضة لغلوتامات الصوديوم الاحادية

المجاميع / المدة	(G1) السيطرة	(G2) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية	(G3) 60 ملغم/كغم مادة الكركمين	(G4) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية + 60 ملغم/كغم مادة الكركمين	LSD
قبل المعاملة	22.43 0. 28± A a	22.57 0. 41± A a	22.49 0. 38± A a	22.39 0. 98± A a	0.16
بعد شهر ونصف	22.59 0.87± A a	11.56 0. 87± B b	24.81 0.15± B c	21.50 0.10± B d	0.31
بعد ثلاثة اشهر	23.61 0.11± A a	7.41 0. 55± C b	26.69 0. 84± C c	20.69 0.12± C d	0.27
LSD	0.23	0.18	0.28	0.29	

المعدل ± الخطأ القياسي ، n =15/ مجموعة . الحروف الصغيرة تدل على وجود فروق معنوية افقيا تحت مستوى احتمالP<0.01 الحروف الكبيرة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال P<0.01

بينت نتائج جدول (3) وجود انخفاض معنوي (P<0.01) في معدل تركيز انزيم Nuronal mitochondrial ATPase بعد التجريع الفموي بمادة MSG مقارنة مع مجموعة السيطرة وهذه النتائج تتفق مع [27] [28] [29] التي بينت ان زيادة الغلوتامات تسبب تغيرات تحطمية والتي تنتهي بموت الخلية العصبية ، فقد وجد ان الخلية العصبية تتحسس للزيادة في مستوى الغلوتامات بعد 5 دقائق من التعرض المفرط له مما يسبب خلل في قطبية الخلية العصبية مسبب دخول العديد من ايونات الكالسيوم Ca^{+} خلال مستقبلات الغلوتامات (NMDA, AMPA) و التي تسمح بتدفق الكالسيوم الخارج خلوي الى داخل الخلية العصبية مما يؤدي الى زيادة تركيز الكالسيوم الداخل خلوي وهذا بدوره يحفز فتح قنوات الكالسيوم التي تساهم ايضا بزيادة نسبة الكالسيوم الداخل خلوي [30][28]، بالإضافة الى ان زيادة الغلوتامات يسبب زوال استقطاب المايتوكوندريا mitochondrial depolarization (MD) مما يسبب خلل في توازن العديد من الايونات الخلوية بضمنها الكالسيوم Ca^{+} ، الصوديوم Na^{+} ، الهيدروجين H^{+} وتقليل محتوى ال ATP للخلية العصبية[31] ، ان زيادة تركيز Ca^{+} الداخل خلوي يحث على توليد كميات كبيرة من الجذور الحرة مما يسبب حدوث خلل في السلسلة التنفسية للمايتوكوندريا الذي ينتهي بانخفاض نسبة طاقة ال ATP الناتجة منها والذي بدوره يؤثر على تجهيز الطاقة للخلايا العصبية و بالتالي يؤدي الى خلل في DNA للمايتوكوندريا ، كل هذه التغيرات تسبب تغيرات كبيرة في السلسلة التنفسية وتؤدي الى استنفاذ الطاقة وتقليل مستوى الايض الخلوي للخلية العصبية ، ان زيادة انواع الاوكسجين التفاعلية (ROS) تعمل على تنشيط مسارات موت الخلية المبرمج من خلال تحرير بروتينات Cytochrome c و apoptosis inducing factor الذي ينتهي بموت الخلية العصبية [32] [33] . كما ان تجمع لويحات ال Aβ في المايتوكوندريا يعمل على تثبيط المعقدات الانزيمية للسلسلة التنفسية (I,II,III,IV) Mitochondrial Respiratory enzyme complex مؤديا الى انخفاض انتاج ال ATP وزيادة انتاج ROS [34] [35] ، اضافة الى تقليل فعالية العديد من انزيمات دورة حامض الستريك بضمنها α-Ketoglutarate dehydrogenase ، Pyruvate dehydrogenase و Isocitrate dehydrogenase [36] [37] ، اذ تتفاعل لويحات ال Aβ مع مواقع الربط الخاصة بها والتي تعرف بال Aβ binding alcohol dehydrogenase (ABAD) على اغشية المايتوكوندريا مسببة خلل في الية عمل المايتوكوندريا مؤدية الى تحطم المشبك العصبي [38] [39]، اضافة الى ذلك تجمع لويحات Aβ يسبب خلل في الية عمل قنوات الكالسيوم للمايتوكوندريا ويعمل على فتح ثقوب المايتوكوندريا (mPTP) مما يزيد من تحرير انزيم Cytochrome C (Cyt C) [40] ويثبط نشاط بروتينات رئيسية داخل المايتوكوندريا مما يزيد من نسبة حوث الطفرات في DNA المايتوكوندريا (mt DNA) [41] ، علاوة على ذلك تعمل لويحات Aβ على زيادة فسفرة بروتين ال Tau وزيادة DRP-1 nitrosylation التي تسبب انفلاق مفاجئ للمايتوكوندريا مما يؤدي الى موت الخلية العصبية [42] ، كما وجد ان تراكم لويحات ال Aβ يقلل من تعبير (PGC-1α) مما يؤدي الى انخفاض البناء الحيوي للمايتوكوندريا ، قلة محتوى ال DNA في المايتوكوندريا (mt DNA) وزيادة تحطم الخلايا العصبية ، اذ ان تنشيط ال PGC-1α ينشط المسار الثاني لتحلل ال APP (non – amyloidogenic) و انخفاض مستويات ال Aβ التي تؤدي الى زيادة فرصة بقاء الخلية العصبية [34] .

اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان التجريع الفموي بالكركمين ادى الى انخفاض معنوي ($P<0.01$) في فعالية انزيم AChE(G1) و AChE(G4) وهذه النتائج تتفق مع [43] [44] [45] .والتي اكدت ان الكركمين يمتلك فعالية كبيرة على الجهاز الكوليني Cholinergic system الذي له اهمية كبيرة في المحافظة على الوظائف المعرفية ، من خلال دوره في تنشيط مستقبلات muscarinic acetylcholine receptor التي تحسن من انتقال المعلومات بين الخلايا العصبية من خلال دوره في زيادة فعالية الناقل العصبي الاستيل كولين ACh وتقليل فعالية انزيم AChE) [46][47] كما اكدت العديد من الدراسات ان الكركمين يمتلك القدرة على عبور الحاجز الدماغي الدموي BBB ويعمل على اكتساح الجذور الحرة نتيجة لوجود المجاميع الفينولية phenol و مجاميع methoxy على حلقة الفنيل و 1,3-diketone في تركيبها وبذلك يقلل الضرر التاكسدي على الخلايا العصبية [43] [48] ، علاوة على ذلك تمتلك مادة الكركمين القدرة على تقليل انتاج لويحات Aβ من خلال تحوير مسار بروتين APP وبذلك تحمي الخلايا العصبية من سمية هذه اللويحات التي تسبب خلل في وظائف المشبك العصبي [49] ،تقلل من نمو الخلايا العصبية [50] ، تسبب الضمر الدماغي [51] وتدهور القدرات المعرفية خصوصا عندما تتجمع بكميات كبيرة .[52]

كما بينت نتائج الدراسة الحالية ان التجريع الفموي بالكركمين ادى ارتفاع معنوي ($P<0.01$) في مستوى تركيز انزيم Nuronal mitochondrial ATPase وهذه النتائج تتفق مع [53] [54] ، فقد بينت الدراسات ان الكركمين يلعب دور فعال في دعم وظائف المايتوكوندريا عن طريق دورها في الحماية ضد التغيرات في الفسفرة التاكسدية و زيادة mitochondrial membrane potential (MMP) والتي تؤدي الى زيادة مستوى انتاج ال ATP اضافة الى دوره في تنشيط معقدات سلسلة نقل الالكترونات منها NADH و cytochrome c reductase ، cytochrome c oxidase وتحافظ على توازن الكالسيوم الداخل خلوي [55] ، علاوة على ذلك فقد وجد ان الكركمين له القدرة على تغليف جزيئات الصغيرة من الدهون الصلبة التي تعمل على اضعاف وظائف المايتوكوندريا بضمنها 3- NP التي تساهم بشكل كبير في الاعتلالات العصبية منها مرض Huntington's disease خلال تنشيط مسارNRF2 [54] [56] [57] ، بالاضافة الى دور الكركمين كمادة مضادة للاكسدة وله تاثيرات وقائية لمختلف انواع الخلايا بضمنها الخلايا العصبية والخلايا النجمية [58] [59] فهو يعمل على حماية المايتوكوندريا من خلال التقاطه العديد من الجذور الحرة بضمنها جذر الهيدروكسيل (OH^-) ، السوبر اوكسيد (O_2^-) ،اوكسيد النتريك (NO) ،بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) و البيروكسي نايتريت ($ONOO^-$) [60] [61] ، كما يمتلك الكركمين القدرة على تنظيم الاستجابة الخلوية عن طريق تحوير التعبير الجيني للبروتينات الخلوية المضادة للاكسدة منها superoxide dismutase (SOD) ، Catalase (CAT)، heme oxygenase-1 (HO-1) او البروتينات التي تزيد محتوى الكلوتاثيون الخلوي منها glutathione reductase (GR) ، glutathione peroxidase (GPx)، و Glutathione S-transferase (GST) [62] [63].

المصــــادر

1. Husarova, V. & Ostatnikova (2013) . monosodium glutamate toxic effects and there implications for human intake . *JMED Res* , 2:1-12.
2. Elyazji, N.; Abdel –Aziz , I .; Shahwa, O. & Lubbad, A . (2015) . Effects of Monosodium Glutamate on Some Biochemical and Hematological Parameters in Adult Rabbits and Potential Protective Effect of Soybean Oil . *J. Biol. Chem. Research.* , 32 (1): 131 -141.
3. Ashaolu, J.O. ; Ukwenya, V.O. & Okonoboh, A.B. (2011) . Effect of monosodium glutamate on hematological parameters in Wistar rats . *Int. J. Med. Med. Sci.* , 3(6):219-222.
4. Lim, C. B. ; Soares, G. S. ; Vitor, S. M. ; Castellano, B. ; da Costa A.B. & Guedes, R. C. (2013). Neonatal treatment with monosodium glutamate lastingly facilitates spreading depression in the rat cortex . Life Sci. , 93:388-392 .
5. Lestari, M. L. & Indrayanto, G . (2014) . Curcumin . *Profiles Drug Subst. Excip. Relat. Methodol.* , 39: 113–204.
6. Siviero, A. ; Gallo, E. ; Maggini, V. ; Gori, L. ; Mugelli, A . ; Firenzuoli, F. & Vannacci, A. (2015). Curcumin, a golden spice with a low bioavailability . *J Herbal Med.* , 14 :1-15.
7. Ammon, H. P. & Wahl, M. A.(1991).Pharmacology of Curcuma longa. *Planta Med*., 57(1):1-7.
8. Kohli, K. ; Ali, J. ; Ansari, M. J. & Raheman, Z. (2005). Curcumin: A natural antiinflammatory agent . *Indian J Pharmacol.* , 37(3): 141-147.
9. Rakonczay, z.(2003). potencies and selectivities of inhibitors of acetylcholinesterase and its molecular forms in normal and alzheimer’s disease brain. *Acta Biologica Hungarica* ,54 (2) :183–189.

10. Spss .(1999). Statistical packages social sciences , Verion 10 .USA.
11. Sadek, K. ; Abouzed, T. & Nasr, S . (2015) . Lycopene modulates cholinergic dysfunction, Bcl-2/Bax balance, and antioxidant enzymes gene transcripts in monosodium glutamate (E621) induced neurotoxicity in a rat model . *Can. J. Physiol. Pharmacol.* , 94(4): 394-401 .
12. Madhavadas, S. ; Kutty, B. M. & Subramanian, S . (2014). Amyloid ß lowering and cognition enhancing effects of ghrelin receptor analog [D-Lys (3)] GHRP-6 in rat model of obesity . *Indian J. Biochem. Biophy.* , 51(1): 257-262 .
13. Sagae, S. C. ; Grassiolli, S. ; Raineki, C. ; Balbo, S. L. ; da Silva, A. C. (2011) . Sex differences in brain cholinergic activity in MSG-obese rats submitted to exercise . *Can. J. Physiol. Pharmacol.* , 89(11): 845-853.
14. García-Ayllón, M. S.; Small, D. H.; Avila, J. & Sáez-Valero, J. (2011) . Revisiting the role of acetylcholinesterase in Alzheimer's disease: cross-talk with P-tau and β-amyloid. *J. Mol. Neurosci.* , 4(22):1-9.
15. Sáez-Valero, J. ; Barquero, M. S. ; Marcos, A. ; McLean, C. A. & Small, D. H. (2000 a). Altered glycosylation of acetylcholinesterase in lumbar cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease . *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr.* , 69: 664–667
16. Darreh-Shori,T. ; Meurling,L. ; Petters- son,T.; Hugosson,K.; Hellström- Lindahl, E. ; Andreasen, N. ; Minthon, L. ; & Nordberg , A. (2006). Changes in the activity and protein levels of CSF acetylcholinesterases in relation to cognitive function of patients with mild Alzheimer's disease following chronic donepezil treatment. *J. NeuralTransm.* ,113: 1791–1801.
17. Sáez-Valero, J. ; Mok, S. S. & Small, D. H. (2000b).An unusually glycosylated form of acetylcholinesterase is a CSF biomarker forAlzheimer's disease. *Acta Neurol. Scand. Suppl.* ,176: 49–52.
18. Onyema, O. O. ; Farombi, E. O. ; Emerole, G. O. ; Ukoha, A. I. & Onyeze, G. O. (2006). Effect of vitamin E on monosodium glutamate induced hepatoxicity and oxidative stress in rats. *Indian J. Biochem. Biophys.* , 43(1): 20–24.
19. Fishman, E.B. ; Siek, G. C. ; Mac Callum, R. D. ; Bird ,E.D. ; Volicer,L. & Marquis, J.K.(1986).Distribution of the molecular forms of acetyl- cholinesterase in human brain ,alterations in dementia of the Alzheimer type. *Ann.Neurol.* ,19:246–252.
20. Rajagopal, S. S. ; Lakshminarayanan, G. ; Rajesh, R. ; Dharmalingam, S. R. ; Ramamurthy, S. ; Chidambaram, K. & Shanmugham, S. (2013) . Neuroprotective potential of Ocimum sanctum (Linn)leaf extract in monosodium glutamate induced excitotoxicity . *Afr. J. Pharm. Pharmacol.* ,7(27) :1894-1906 .
21. Hynd, M. R. ; Scott, H. L. & Dodd, P. R. (2004). Glutamate -mediated excitotoxicity and neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Neurochem. Int* ., 45(1) :583 - 595.
22. Cooper, J. L. & Jeitner, T. M. (2016) . Central Role of Glutamate Metabolism in the Maintenance of Nitrogen Homeostasis in Normal and Hyperammonemic Brain . *Biomolecules* , 6(16) : 1-33 .
23. Tawfik, M. S. & Al –Badr, N. (2012) Adverse Effects of Monosodium Glutama te on Liver and Kidney Functions in Adult Rats and Potential Protective Effect of Vitamins C and E. Food Nutr. Sci., 3 , 651 -659.
24. Silveyra, M. X. ; García-Ayllón, M. S. ; de Barreda, E. G. ; Small, D. H. ; Martínez, S. ; Avila, J. ; Sáez-Valero, J. (2011). Altered expression of brain acetylcholinesterase in FTDP-17 human tau transgenic mice. *Neurobiol. Aging.* 33(3): 23-34.

25. Ulrich, J. ; Meier-Ruge, W. ; Probst, A. ; Meier, E. & Ipsen, S. (1990). Senile plaques: staining for acetylcholinesterase and A4 protein: a comparative study in the hippocampus and entorhinal cortex. *Acta Neuropathol.* , 80(6):624-628.
26. García-Ayllón,M. S.; Riba-Llena, I.; Serra-Basante, C.; Alom, J.; Boopathy, R. & Sáez-Valero, J. (2010) . Altered levels of acetyl-cholinesterase in Alzheimer plasma. *PLoS ONE*; 5: 8701.
27. Jackson, J. G ; O'Donnell, J. C. ; Takano, H. ; Coulter, D. A. & Robinson, M. B. (2014). Neuronal Activity and Glutamate Uptake Decrease Mitochondrial Mobility in Astrocytes and Position Mitochondria Near Glutamate Transporters . *J. Neurosci* , 34(5):1613–1624 .
28. Nicholls, D. G. & Budd, S. L. (1998). Mitochondria and neuronal glutamate excitotoxicity. *Biochim Biophys Acta.* , 1366:97–112.
29. Castilho, R.F.; Hansson, O.; Ward, M.W. ; Budd, S.L. & Nicholls, D.G. (1988). Mitochondrial Control of Acute Glutamate Excitotoxicity in Cultured Cerebellar Granule Cells . *J. Neurosci.* ,18 (24):10277–10286.
30. Mark, L. P. ; Prosta, R. W. ; Ulmera, J. L. ; Smitha, M. M. ; Danielsa, D. L. ; Strottmanna, J. M. ; Browna, W. D. & Hacein-Bey, L .(2001). Pictorial Review of Glutamate Excitotoxicity: Fundamental Concepts for Neuroimaging , *AJNR Am J Neuroradiol.* , 22(1) :1813–182 .
31. Khodorov, B . ; Pinelis, V. ; Vergun, O. ; Storozhevykh, T. ; Vinskaya, N. (1996). Mitochondrial deenergization underlies neuronal calcium overload following a prolonged glutamate challenge. *FEBS J.* , 397(2–3) :230-234.
32. Guo, M.; Yu, J. & Ma, C . (2011). Mechanisms related to neuron injury and death in cerebral hypoxic ischaemia . *Folia Neuropathol.* , 49 (2): 79-87.
33. Niizuma, K. ; Yoshioka, H. ; Chen, H. ; Kim, G. S. ; Jung, J. E. ; Katsu, M. ; Okami, N. & Chan, P.H. (2010). Mitochondrial and apoptotic neuronal death signaling pathways in cerebral ischemia. *Biochim Biophys Acta.* , 1802: 92-99.
34. Singh, A. & Kumar, A. (2016). Comparative Analysis of Intra hippocampal Amyloid Beta (1-42) and It is Intracerebroventricular Streptozotocin Models of Alzheimer's Disease: Possible Behavioral, Biochemical, Mitochondrial, Cellu lar and Histopathological Evidences . *J Alzheimers Dis Parkinsonism* , 6(1):1-7.
35. Swerdlow, R. H. ; Burns, J. M. & Khan, S. M. (2010) .The Alzheimer's disease mitochondrial cascade hypothesis. *J. Alzheimer's Dis.* , 20: 265–279.
36. Huang, H. M. ; Zhang, H. ; Xu, H. & Gibson, G. E. (2003) .Inhibition of the α- ketoglutarate dehydrogenase complex alters mitochondrial function and cellular calcium regulation. *Biochim .Biophys .Acta* , 1637: 119–126.
37. Bubber, P.; Haroutunian, V. ; Fisch, G.; Blass, J. P. & Gibson, G. E. (2005) . Mitochondrial abnormalities in Alzheimer brain : mechanistic implications . *Ann. Neurol.* , 57: 695–703.
38. Lustbader, J. W. ; Cirilli, M. ; Lin, C. ; Xu, H. W. ; Takuma, K. ; Wang, N. ; Caspersen, C. ; Chen, X. ; Pollak, S. ; Chaney, M. ; Trinchese, F. ; Liu, S. ; Gunn-Moore, F. ; Lue, L. F. ; Walker, D. G. ; Kuppusamy, P.; Zewier, Z. L. ; Arancio, O. ; Stern, D. ; Yan, S. S. & Wu, H. (2004). ABAD directly links Aβ to mitochondrial toxicity in Alzheimer's Disease. *Science* , 304: 448–452.
39. Reddy, P. H. & Reddy, T. P. (2011) .Mitochondria as a therapeutic target for aging and neurodegenerative diseases. *Curr. Alzheimer Res.* ; 8: 393–409.
40. Calkins, M. J.; Manczak, M.; Mao, P. ; Shirendeb, U. & Reddy, P.H. (2011) . Impaired mitochondrial biogenesis , defective axonal transport of mitochondria , abnormal mitochondrial

dynamics and synaptic degeneration in a mouse model of Alzheimer's disease. *Hum . Mol .Genet.* , 20: 4515–4529.

41. Lakatos, A . ; Derbeneva, O. ; Younes, D. ; Keator, D. ; Bakken, T. ; Lvova, M. ; Brandon, M. ; Guffanti, G. ; Reglodi, D. ; Saykin, A. ; Weiner, M. ; Macciardi, F. ; Schork, N. ; Wallace, D. C. & Potkin, S. G. (2010) .Association between mitochondrial DNA variations and Alzheimer's disease in the ANDI cohort. Neurobiol .*Aging* , 31: 1355–1363.
42. Manczak,M.;Calkins,M.J.& Reddy, P.H.(2011).Impaired mitochondrial dynamics and abnormal interaction of amyloid β with mitochondrial protein Drp1in neurons from patients with Alzheimer's disease :implications for neuronal damage. *Hum. Mol. Genet.,*20: 2495–2509.
43. Goozee, K. G.; Shah, T. M .; Sohrabi, H. R.; Rainey-Smith, S. R.; Brown, B. ; Verdile, G. & Martins, R. N. (2016). Examining the potential clinical value of curcumin in the prevention and diagnosis of Alzheimer's disease. Br. J. Nutr. , 115 : 449–465.
44. Peeyush, K. T. ; Antony, S. ; Sonan, S. ; Kuruvilla, K. P. ; George, N. & Paulose, C. S. (2011). Role of curcumin in the prevention of cholinergic mediated cortical dysfunctions in streptozotocin-induced diabetic rats. *Mol. Cell Endocrinol.* , 331(1): 1–10.
45. Yadav, R. S. ; Chandravanshi, L. P. ; Shukla, R. K. ; Sankhwar, M. L. ; Ansari, R. W. ; Shukla, P. K. ; Pant, A. B. & Khanna, V. K. .(2011) . Neuroprotective efficacy of curcumin in arsenic induced cholinergic dysfunctions in rats . *NeuroToxicol.* , 32(6):760-768 .
46. Zhong, P. ; Gu, Z. ; Wang, X. ; Jiang, H. ; Feng, J. & Yan, Z. (2003) .Impaired modulation of GABAergic transmission by muscarinic receptors in a mouse transgenic model of Alzheimer's disease. *J. Biol. Chem* . , 278:26888–96.
47. Constantinidis, C.; Williams, G. V. & Goldman-Rakic, P. S. (2002). A role for inhibition in shaping the temporal flow of information in prefrontal cortex. *Nat Neurosci.* , 5:175–180.
48. Kapoor, S. & Priyadarsini, K. I. (2001). Protection of radiation-induced protein damage by curcumin. Biophys. Chemist. , 92 (2): 119–126.
49. Haass, C. & Selkoe, D. J. (2007). Soluble protein oligomers in neurodegeneration: lessons from the Alzheimer's amyloid beta-peptide. Nat Rev Mol Cell Biol , 8(1): 101–112.
50. Manczak, M. ; Mao, P. ; Calkins, M. J. ; Cornea, A.; Reddy, A.P. ; Murphy, M.P. ; Szeto, H. H. ; Park, B. & Reddy, P. H. (2010). Mitochondria targeted antioxidants protect against amyloid-beta toxicity in Alzheimer's disease neurons. J Alzheimers Dis , 20(2): 609–631.
51. Cash, D.M.; Liang, Y.; Ryan, N.S.; Kinnunen, K. M.; Yeatman, T.; Malone, I.B.; Benzinger, T. L.; Jack, C.R. ; Thompson, P.M.; Ghetti, B.F.; Saykin, A. J.; Masters, C.L. ; Ringman, J.M. ; Salloway, S.P.; Schofield, P.R. ; Sperling, R.A. ; Cairns, N.J. ; Marcus, D.S. ; Xiong, C. ; Bateman, R.J. ; Morris, J.C. ; Rossor, M.N. ; Ourselin, S. & Fox, N.C. (2013). The pattern of atrophy in familial alzheimer disease: volumetric MRI results from the DIAN study. *Neurology* , 81: 1425–1433.
52. Villemagne, V. L. ; Burnham, S. ; Bourgeat, P. ; Brown, B.; Ellis, K. A. ; Salvado, O. ; Szoeke, C. ; Macaulay, S. L. ; Martins, R. ; Maruff , P.; Ames, D. ; Rowe, C.C. & Masters, C. L. (2013).Amyloid beta deposition, neurodegeneration, and cognitive decline in sporadic Alzheimer's disease: a prospective cohort study. *Lancet Neurol.* , 12(1): 357–367.
53. Banji, O. J. ; Banji, D. & Ch, K. (2014). Curcumin and hesperidin improve cognition by suppressing mitochondrial dysfunction and apoptosis induced by D-galactose in rat brain. *Food Chem. Toxicol.,* 74: 51–59.

54. Hagl, S.; Heinrich, M .; Kocher, A.; Schiborr, C.; Frank, J. & Eckert, G. P. (2014). Curcumin Micelles Improve Mitochondrial Function in a Mouse Model of Alzheimer's Disease . *J. Prev. Alz. Dis.* , 1(2) :80-83 .
55. Garcia-Nino, W. R. & Pedraza-Chaverri, J. (2014). Protective effect of curcumin against heavy metalsinduced liver damage. *Food Chem Toxicol* ,69 :182–201.
56. Sandhir, R. ; Yadav, A. ; Mehrotra, A. ; Sunkaria, A. ; Singh, A. & Sharma, S.(2014) . Curcumin nanoparticles attenuate neurochemical and neurobehavioral deficits in experimental model of Huntington's disease. *Neuromolecular Med.* , 16:106–18.
57. Kaur, H. ; Bal, A. & Sandhir, R . (2014) . Curcumin supplementation improves mitochondrial and behavioral deficits in experimental model of chronic epilepsy . *Pharmacol. Biochem. Behav.* , 125 (1) :55–64 .
58. Hirzel, E.; Lindinger, P.W.; Maseneni, S. ; Giese, M. ; Rhein, V. V. ; Eckert, A. ; Hoch, M. ; Krähenbühl, S. & Eberle, A. N. (2013) . Differential modulation of ROS signals and other mitochondrial parameters by the antioxidants Mito Q, resveratrol and curcumin in human adipocytes. *J. Recept. Signal Transduct.* , 33(5) :304–312.
59. Woo, J. M. ; Shin, D. Y. ; Lee, S. J. ; Joe, Y. ; Zheng, M. ; Yim, J.H. ; Callaway, Z. & Chung, H. T. (2012).Curcumin protects retinal pigment epithelial cells against oxidative stress via induction of heme oxygenase-1 expression and reduction of reactive oxygen . *Mol. Vis.* , 18: 901–908 .
60. Derochette, S.; Franck, T.; Mouithys-Mickalad, A. ; Ceusters, J. ; Deby-Dupont, G. ; Lejeune, J. P. ; Neven, P. & Serteyn, D. (2013). Curcumin and resveratrol act by different ways on NADPH oxidase activity and reactive oxygen species produced by equine neutrophils . *Chem. Biol. Interact.* , 206(2): 186–193.
61. Barzegar, A. & Moosavi-Movahedi, A. A .(2011) . Intracellular ROS protection efficiency and free radical-scavenging activity of curcumin . *PLoS ONE* , 6(10): 1-7.
62. Gibellini, L.; Bianchini, E.; Biasi, S.D. ; Nasi, M. ; Cossarizza, A. & Pinti, M. (2015) . Natural Compounds Modulating Mitochondrial Functions. J. *Evid. Based Complementary Altern. Med.* , 2(15) : 1-13.
63. Reyes-Fermin, L. M. ; Gonz´alez-Reyes, S. ; Tarco- ´ Alvarez, N. G. ; Hern´andez-Nava, M. ; Orozco-Ibarra, M. & Pedraza-Chaverri , J. (2012) .Neuroprotective effect of α-mangostin and curcuminagainst iodoacetate-induced cell death . *Nutr. Neurosci.* , 15(5): 34–41.