

Protective Role Of Curcumin On some of oxidative stress parameters and cerebrum Tissue In Male Rabbits Subjected To Monosodium Glutamate

الدور الوقائي للكرمين على بعض معايير الاجهاد التأكسدي ونسيج المخ 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 الدراسة معرفة الدور الوقائي لمادة الكركمين Curcumin ضد التلف الحاصل في الجهاز العصبي والمستحث بمادة غلوتامات الصوديوم الاحادية (MSG) في ذكور الارانب . ، فقد تم استخدام (60) من ذكور الارانب البالغة والتي قسمت عشوائيا الى اربعة مجاميع متساوية (15 حيوان / مجموعة) ، جرعت المجموعة الاولى (G1) 1مل/كغم من زيت الذرة وعدت كمجموعة سيطرة ، وجرعت المجموعة الثانية (G2) 3ملغم/كغم من MSG لمدة ثلاثة اشهر لمرة واحدة يوميا ، اما المجموعة الثالثة (G3) فقد جرعت 60 ملغم/كغم من مادة الكركمين لمدة ثلاثة اشهر لمرة واحدة يوميا ، في حين جرعت حيوانات المجموعة الرابعة (G4) 3ملغم/كغم من MSG مع التجريع الفموي 60 ملغم/كغم من مادة الكركمين لمدة ثلاثة اشهر لمرة واحدة يوميا . جمعت عينات الدم بعد تجريع الحيوانات Fasting blood sample في فترة ما قبل المعاملة ، بعد منتصف التجربة و حتى نهاية التجربة لدراسة المعايير التالية: تركيز المالوندايالديهيد Malondialdehyde (MDA) ، تركيز الكلوتاثيون المختزل Reduced Glutathion (GSH)، تركيز البيروكسي نايتريت peroxy Nitrite (ONOO-) . اظهرت نتائج هذه التجربة ان التجريع الفموي ب MSG أدى الى حدوث انخفاض معنوي ($P<0.01$) في معدل مقارنة مع مجموعة السيطرة GSH ، وارتفاع معنوي ($P<0.01$) في معدل تركيز MDA و ONOO- مقارنة مع مجموعة السيطرة . فيما اظهرت المجموعة المعاملة بمادة الكركمين ادى الى حدوث ارتفاع معنوي ($P<0.01$) في تركيز GSH مقارنة مع مجموعة السيطرة ، وانخفاض معنوي ($P<0.01$) في تركيز MDA و ONOO- مقارنة مع مجموعة السيطرة . كما تبين التجربة ان التجريع الفموي ب MSG مع التجريع الفموي بمادة الكركمين لم يؤدي الى وجود فروق معنوية ($P<0.01$) في تركيز MDA ، GSH و ONOO- مقارنة مع مجموعة السيطرة . اظهرت نتائج الفحص النسيجي للارانب ان التجريع الفموي ب MSG ولمدة ثلاثة اشهر ادى الى حدوث تغيرات تنكسية واضحة في النسيج العصبي بعد المعاملة بصبغة H&E ، في حين يظهر من معاملة النسيج العصبي بصبغة السلفر Silver stain ظهور واضح للويحات البيتا امليويد Beta Amyloid (A β) منتشرة في نسيج المخ مقارنة مع مجموعة السيطرة ، كما يلاحظ التركيب الطبيعي لنسيج المخ بصبغتي H&E و Silver stain بعد المعاملة بالجرعة المؤثرة للكرمين ، اما بالنسبة للمجموعة التي جرعت فمويا ب MSG مع التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة للكرمين فقد لوحظ المظهر الطبيعي للنسيج العصبي مع ظهور قليل لبعض الفجوات بصبغة H&E وانعدام ترسب البيتا امليويد A β في النسيج العصبي بعد التصبغ بصبغة السلفر مقارنة مع مجموعة السيطرة . يستنتج من الدراسة الحالية ان MSG تسبب تغيرات مرضية واضحة للنسيج العصبي وتؤكد الدور الوقائي لمادة الكركمين ضد التلف الحاصل في النسيج العصبي وبعض المعايير الوظيفية 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). 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 for three months , 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 Malondialdehyde (MDA) , Reduced Glutathion (GSH) and peroxy

nitrite (ONOO⁻). The results revealed that oral dosing with MSG caused a significant decrease ($P < 0.01$) in rate of GSH compared with control group and significant increase ($P < 0.01$) in rate of MDA, ONOO⁻ compared with the control group. The group that treated with 60mg/kg curcumin revealed a significant increase ($P < 0.01$) in GSH concentration compared with the control group and a significant decrease ($P < 0.01$) in the concentration MDA and ONOO⁻ compared with the control group. Experience also shows that oral dosing with MSG and curcumin caused no significant difference ($P < 0.01$) was observed in the concentration GSH, MDA and ONOO⁻ compared with the control group.

Histological results from rabbits treated with MSG for three months have showed degenerative changes in nervous tissue after staining with H&E, the treatment of nervous tissue with Silver stain showed deposit of beta Amleod A β plaques in cerebrum compared with the control group while the results showed the natural structure of the cerebrum by H&E and Silver stain after treatment with curcumin, but for the group that treated with MSG and curcumin has been observed the natural appearance of the nervous tissue with little appearance of some of the gaps in cerebrum by H & E with lack of deposition of A β in the nervous tissue by Silver stain compared with the control group.

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 and Some of the physiological parameters in the serum of male rabbit

المقدمة

تعد مادة غلوتامات الصوديوم الاحادية (MSG) monosodium glutamate 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 (GRAS) Generally Recognized As Safe، 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 الجرعة العالية منها الاختلالات في وظائف الدماغ، الرعاش، فقدان الاتزان والحركات غير المتناسقة، وتسبب اضطرابات في افراز العديد من الغدد الصماء العصبية Neuroendocrine disorders [3]، كما ان اعطاء جرعات عالية من MSG تؤدي الى حدوث تلف للخلايا الدماغية في منطقة القشرة الدماغية نتيجة لتأثيراتها على زيادة الاثارة العصبية [4]، اذ تتألف القشرة الدماغية من ستة طبقات مرتبة من الخارج الى الداخل وهي الطبقة الجزيئية، الطبقة الحبيبية الخارجية، الطبقة الهرمية الخارجية، الطبقة الحبيبية الداخلية، الطبقة الهرمية الداخلية وطبقة الخلايا متعددة الاشكال [5].

الكرمين 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 [6]، استخدم الكركمين على مدى قرون عديدة كتوابل وعلى شكل صبغة غذائية ويستخدم في الهند كطب شعبي لعلاج مختلف الامراض اضافة الى استخدامه في الصناعات النسيجية والدوائية [7]، ويستخدم للاستهلاك الغذائي بمعدل 100 ملغم/يوم [8]، ووجدت دراسات عديدة ان استخدام الكركمين لا يظهر اي اعراض جانبية وانه يستخدم بجرعة 200-180 ملغم/كغم كمادة مضادة للالتهابات، مضادة للسرطان، كما يستخدم لعلاج الاضطرابات الصفراوية، فقدان الشهية، السعال، داء السكري، الجروح، اضطرابات الكبد، الروماتزم والتهاب الجيوب الأنفية [9] 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 لا سيما الانزيمات الخاصة بالوظائف المعرفية جاءت فكرة استخدام مادة الكركمين curcumin كمادة وقائية ضد الاختلالات العصبية التي يمكن 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 اكتساح انواع الاوكسجين التفاعلية ROS مما يمنحها تأثيرات مضادة للأكسدة التي تحمي الجسم من العديد من المشاكل الصحية المتسببة بفعل الجذور الحرة

اهداف الدراسة

- 1- دراسة تأثير مادة MSG على بعض معايير الاجهاد التأكسدي (GSH، MDA و ONOO⁻) و دراسة تأثيرها على نسيج المخ
- 2- دراسة الدور الوقائي لمادة الكركمين على بعض معايير الاجهاد التأكسدي (GSH، MDA و ONOO⁻) ودورها في تقليل اضرار مادة MSG على نسيج المخ

المواد وطرائق العمل

قسمت عشوائياً 60 من ذكور الارنب 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) فمويًا 3ملغم / كغم من MSG لمدة ثلاثة اشهر يوميا ، وجرعت المجموعة الثالثة (G3) فمويًا 60ملغم /كغم من مادة الكركمين ولمدة لمدة ثلاثة اشهر يوميا ، فيما تم تجريع المجموعة الرابعة (G4) فمويًا 3ملغم / كغم من MSG + تجريع فموي 60ملغم /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 بلاستيكية نظيفة خاصة غير حاوية على مادة مانعة للتخثر ثم فصل المصل بواسطة جهاز الطرد المركزي centerfuge بسرعة 3000 دورة/ دقيقة لمدة 15 دقيقة لقياس بعض المعايير التالية : تركيز المالوندايديهايد (MDA) ، تركيز الكلوتاثيون المختزل (GSH) و تركيز البيروكسي نايتريت (ONOO-) تم قياس تركيز تركيز المالوندايديهايد (MDA) Malondialdehyde حسب طريقة تفاعل حامض الثايوباربيتوريك Thiobarbituric acid (TBA) وفقا لطريقة [10] ، وتقدير تركيز الكلوتاثيون المختزل (GSH) Reduced Glutathion باستخدام طريقة كاشف المان Ellmans المتبعة من قبل [11]. وتقدير تركيز البيروكسي نايتريت ONOO- حسب طريقة [12] . وتم اجراء التحضيرات النسيجية اعتماداً على الطريقة الموصوفة في [13] للتصبيغ بصبغة الهيماتوكسلين والايوسين (H&E) فيما استخدمت طريقة [14] في عملية التصبيغ بصبغة السلفر .

التحليل الأحصائي

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

النتائج والمناقشة

اظهرت النتائج في الجدول (1)،(2)،(3) وجود انخفاض معنوي ($P<0.01$) في معدل تركيز GSH وارتفاع معنوي ($P<0.01$) في معدل تركيز MDA بعد التجريع الفموي بمادة MSG وهذا يتفق مع [16][17][18][19]. ان الانخفاض المعنوي ($P<0.01$) في معدل تركيز GSH وارتفاع معنوي ($P<0.01$) في معدل تركيز MDA بعد التجريع الفموي ب MSG قد عزى ذلك الى الكميات المتزايدة من الغلوتامات الناتجة من MSG والتي لها دور كبير في السمية الخلوية من خلال مسارين: يتضمن المسار الاول التحفيز المفرط لمستقبلات الغلوتامات hyper-activation of glutamate receptors ، بينما يتضمن المسار الثاني سمية الغلوتامات بدون وساطة المستقبل non-receptor mediated oxidative glutamate toxicity فقد اشارت الدراسات الى وجود علاقة وثيقة بين زيادة تنشيط مستقبلات الغلوتامات والاجهاد التاكسدي ، اذ ارتبط تنشيط هذه المستقبلات الى تثبيط نقل السيستين Cysteine (CySS) (المادة البادئة الاساسية لل GSH) ، نفاذ GSH و بيروكسيدية الدهون lipid peroxidation (LPO) ، فقد وجد ان الكميات المتزايدة من الغلوتامات الخارج خلوية تمنع دخول ال CySS الى داخل الخلية العصبية عن طريق جهاز glutamate-cysteine antiporter system والذي ينتج بنفاذ ال CySS و GSH الداخل خلوي وتقليل قدرته على حماية الخلية من الضرر التاكسدي oxidative injury وبالنهاية موت الخلية نتيجة لتحطم جهاز glutamate-cysteine antiporter system [20][21] فيما يشمل المسار الثاني تأثير زيادة الغلوتامات على توليد انواع الاوكسجين التفاعلية (ROS) منها $O_2^{\cdot-}$ و $OH^{\cdot}$ و H_2O_2 ، اذ ان الكميات المتزايدة من الغلوتامات تساهم بشكل كبير في نفاذ GSH من الانسجة العصبية نتيجة لتفاعله المباشر مع الجذور الحرة المتولدة بفعل MSG ، وبذلك يقل تركيز GSH والذي له دور كبير في التقاط الجذور الحرة من خلال دوره في زيادة فعالية Nicotine Amide Dinucleated Phosphate (NADPH) او المساهمة في ازالة المركبات التي لها دور كبير في زيادة بيروكسيدية peroxidation الاغشية الخلوية اضافة الى ذلك فان زيادة بيروكسيدية تعمل على ازالة مجموعة sulfhydryl الفعالة لجزيئة GSH وانزيمات مهمة اخرى [21][22]. ان الارتفاع المعنوي ($P<0.01$) في معدل تركيز MDA والذي يعد مقياس لبيروكسيدية الدهون (LPO) قد يحصل نتيجة لزيادة مستويات الجذور الحرة المتولدة بفعل ال MSG والتي تتفاعل مع الاحماض الدهنية غير المشبعة polyunsaturated fatty acids للاغشية الخلوية وتسبب LPO وتحطم الاغشية الخلوية مسببة زيادة في تركيز ال MDA ، اذ يحصل الاجهاد التاكسدي نتيجة لتراكم ROS اما نتيجة للإنتاج المتزايد منها او عدم القدرة على التخلص منها نتيجة التحطم الخلوي [17][21][23]

اشارت النتائج ان زيادة الغلوتامات ادت الى حدوث ارتفاع معنوي ($P<0.01$) في معدل تركيز ONOO- للمجموعة المعاملة ب MSG وهذه النتائج تتفق مع [24][25][26] ، ان اوكسيد النترليك (NO) يساهم بشكل كبير في الاستجابة المرضية Pathological response للجهاز العصبي ، فقد بينت العديد من الدراسات ان السمية العصبية neurotoxicity الناتجة من زيادة مستوى الغلوتامات تكون مترافقة مع توليد NO ، خلل ايض الطاقة للمايتوكوندريا و انخفاض مستوى مضادات الاكسدة في الجهاز العصبي [27] ، ان زيادة الغلوتامات تسبب زيادة انتاج كلا من $O_2^{\cdot-}$ و NO والتي تؤدي الى تكوين ONOO- والذي يمكن ان ينتج العديد من المؤكسدات القوية والسامة خلويا بضمنها دايبوكسيدات الهيدروكسيل والنتروجين hydroxyl and nitrogen dioxide والتي يمكنها المرور بسهولة عبر Blood Brain Barrier (BBB) لتمارس تأثيراتها الضارة على نسيج

الدماغ [28] ، كما وجد ان NO يمكن ان يؤثر على توازن استهلاك الكلوكرز خلال مسار glycolytic pathway و pentose phosphate pathway في الخلية العصبية الذي يؤدي فيما بعد الى التحطم العصبي وتنشيط مسار موت الخلية المبرمج [29] ، فضلا عن ذلك فقد اكدت الدراسات ان تنشيط NO/NOS signalling system يحفز انتاج لويحات Aβ خلال مسار beta-APP-cleaving pathway (BACE1) site والتي بدورها تحفز انتاج ROS لتمارس تأثيرات مختلفة على الخلية العصبية [30] وزيادة مستويات MDA التي ارتبطت مع زيادة تركيز NO [31]، كما يمتلك ONOO⁻ القدرة على تقليل انتاج GSH نتيجة لاستهدافه مجاميع sulf-hydroxyl لل CySS [32] ، اضافة الى ذلك فان جذر ONOO⁻ بإمكانه ان يحدث تغيرات تركيبية في البروتينات الناقلة للغلوتامات ، اذ ان زيادة الغلوتامات تسبب تحفيز مفرط لمستقبلات NMDA للخلية العصبية التي بدورها تزيد من دخول Ca²⁺ التي تنظم eNOS لتسبب تكوين NO ولاحقا توليد جذر ONOO⁻ [33][34].

اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان التجريع الفموي بالكرمين ادى الى حدوث ارتفاع معنوي (P<0.01) في معدل تركيز GSH وانخفاض معنوي (P<0.01) في معدل تركيز MDA وهذه النتائج تتفق مع [35][36][37]. والتي اكدت ان الكركمين تعمل كمادة مضادة للاكسدة و تمتلك قدرة كبيرة على التقاط الجذور الحرة والتقليل من تأثير ROS وبشكل خاص O₂⁻ ، OH⁻ و H₂O₂ على الانسجة [38]، كما تعمل مادة الكركمين على حماية المايثوكوندريا من فعل الجذور الحرة التي ممكن ان تؤدي الى الموت الخلوي من خلال ايجاد حالة توازن بين انتاج واستهلاك ROS [39] ، اذ تتكون ال ROS من مؤكسدات الجذور الحرة Free radical oxidants ومؤكسدات الجزيئات الحيوية molecular oxidants ، تشارك مؤكسدات الجذور الحرة في احتجاز الهيدروجين وفي سلسلة نقل الالكترونات وعند استخدام الكركمين تتأكسد كل ثلاث مواقع فعالة للكرمين مع نقل الكترون او احتجاز ايون H⁺ وقد اكدت دراسات مفصلة ان كل ايون H⁺ يتم احتجازه بواسطة مجاميع phenol-OH group للكرمين ينتج بتكوين phenoxyl radicals والذي يكون اقل تأثير من peroxy radicals وبذلك يحمي الخلية من ROS [40][41] ، فضلا عن ذلك يمتلك الكركمين القدرة على زيادة التعبير الجيني لل GSH-synthesizing genes (GCLC، 4F2، Xct، Nrf2، GCLM و GSS) والتي تؤدي الى ارتفاع في معدل تركيز GSH [42] بالإضافة الى دور الكركمين في زيادة فعالية الانزيمات المضادة للاكسدة superoxide dismutase(SOD) و catalase(CAT) التي تعمل على تحويل O₂⁻ الى H₂O₂ ومن ثم تحويله الى O₂ و H₂O [43][44] ، كما يعمل الكركمين على زيادة التعبير الجيني لانزيم glutamatercysteine ligase الذي يعتبر انزيم رئيسي لبناء GSH [45]، و يمتلك الكركمين القدرة على تثبيط تحويل xanthine dehydrogenase/ xanthine oxidase (XD/XO) (اذ ان انزيم xanthine dehydrogenase يشترك في ايض البيورين Purine يتحول الى xanthine oxidase عن طريق تحطم مجموعة sulfhydryl) مؤديا الى تقليل انتاج ROS الناتجة من XD/XO وبشكل خاص O₂⁻ [38][46] ، وهذا بدوره يؤدي الى انخفاض في معدل تركيز MDA من خلال تقليله لتأثيرات ROS ، كما اثبتت الدراسات ان الكركمين يمنع LPO التي تحصل نتيجة لزيادة مستويات الجذور الحرة المتولدة والتي تسبب تحطم الاغشية الخلوية مسببة انخفاض في تركيز ال MDA ، بفعل الخاصية المضادة للاكسدة للكرمين [47][48][49].

كما بينت نتائج الدراسة الحالية انخفاض معنوي (P<0.01) في معدل تركيز ONOO⁻ بعد التجريع الفموي بالكرمين وهذه النتائج تتفق مع [48][50] فقد وجد ان الكركمين يمتلك القدرة على تثبيط انزيم nitric oxide synthase (iNOS) الذي له القدرة على انتاج كميات كبيرة من NO الذي يتفاعل فيما بعد مع O₂⁻ لانتاج ONOO⁻ وبالتالي انخفاض في معدل تركيز ONOO⁻ [50][51] كما اكدت الدراسات ان الكركمين يمتلك القدرة على تنشيط NO/NOS signalling system والتي بدورها تقلل انتاج ROS و NOS وتحمي الخلية من تأثيراتها التخطمية [52] ، فضلا عن ذلك فقد وجد ان الكركمين يمتلك القدرة على حماية الخلايا العصبية من الموت المبرمج بفعل ONOO⁻ عن طريق دوره في تثبيط cytochrome C ، Caspase-3 و Caspase-9 التي تتحرر من مايثوكوندريا العصبية بفعل ONOO⁻ [53][54].

جدول (1) تأثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة للكرمين لمدة ثلاثة اشهر على معدل تركيز المانولديهايد (MDA) في مصل ذكور الارانب المعرضة لغلوتامات الصوديوم الاحادية

المجاميع المدة	(G1) السيطرة	(G2) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية	(G3) 60 ملغم/كغم مادة الكرمين	(G4) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية + 60 ملغم/كغم مادة الكرمين	LSD
قبل المعاملة	0.523 0.062± a	0.521 0.042± a	0.512 0.030± a	0.514 0.043 ± a	0.013
بعد شهر ونصف	0.498 0.036± a	0.622 0.078± b	0.414 0.034± c	0.525 0.027± d	0.013
بعد ثلاثة اشهر	0.506 0.035± a	0.710 0.058± b	0.342 0.063± c	0.523 0.062± d	0.015
LSD	0.013	0.017	0.012	0.013	

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

جدول (2) تأثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة للكرمين لمدة ثلاثة اشهر على معدل تركيز الكلوتاثيون المختزل GSH في مصل ذكور الارانب المعرضة لغلوتامات الصوديوم الاحادية Mmol/dl

المدة / المجموع	(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	20.63 0.23 ± a	20.85 0.17 ± a	20.71 0.21 ± a	20.82 0.27 ± a	0.62
بعد شهر ونصف	20.44 0.13 ± a	14.69 0.21 ± b	31.14 0.24 ± B	20.59 0.85 ± a	0.49
بعد ثلاثة اشهر	20.27 0.15 ± a	10.30 0.16 ± b	35.95 0.24 ± c	20.36 0.83 ± a	0.47
LSD	0.49	0.50	0.64	0.47	

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

جدول (3) تأثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة للكرمين لمدة ثلاثة اشهر على معدل تركيز البيروكسي نايترت - ONOO في مصل ذكور الارانب المعرضة لغلوتامات الصوديوم الاحادية

المدة / المجموع	(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	0.035 0.0024 ± a	0.033 0.0033 ± a	0.036 0.0035 ± a	0.034 0.0030 ± a	0.008
بعد شهر ونصف	0.033 0.0035 ± a	0.092 0.0036 ± b	0.025 0.0027 ± c	0.040 0.0029 ± a	0.008
بعد ثلاثة اشهر	0.037 0.0023 ± A	0.203 0.0049 ± b	0.019 0.0021 ± c	0.043 0.0026 ± a	0.009
LSD	0.008	0.011	0.008	0.008	

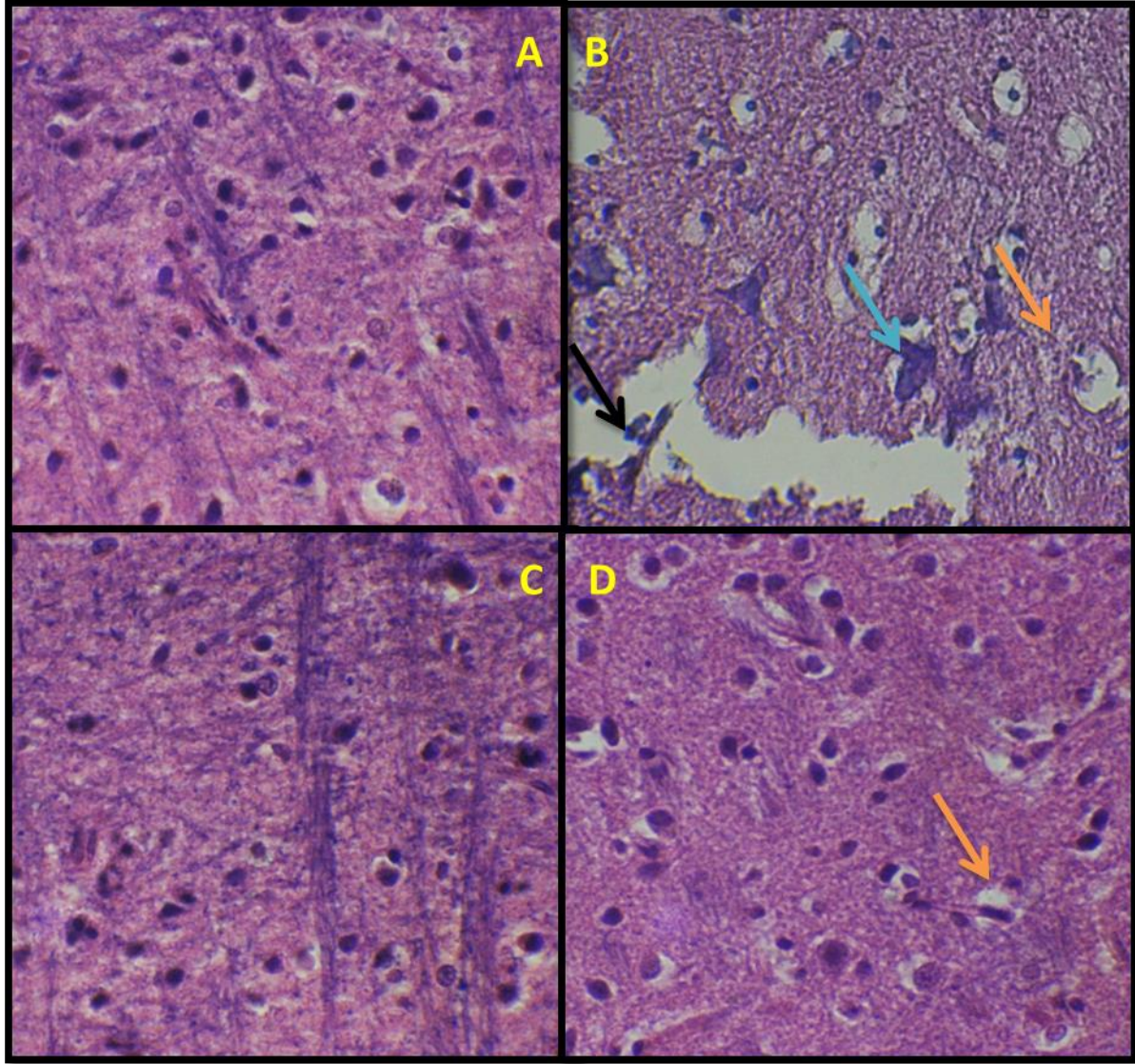
المعدل ± الخطأ القياسي ، n = 15 / مجموعة . الحروف الصغيرة تدل على وجود فروق معنوية افقياً تحت مستوى احتمال $P < 0.01$ ، الحروف الكبيرة تدل على وجود فروق معنوية عمودياً تحت مستوى احتمال $P < 0.01$

اظهرت نتائج الفحص النسيجي ان التجريع الفموي ب MSG ولمدة ثلاثة اشهر ادى الى حدوث تغيرات تنكسية واضحة في النسيج العصبي وظهور تشابك الالياف العصبية (NFTs)، إضافة الى ظهور الفجوات في نسيج المخ بعد المعاملة بصبغة H&E، في حين يظهر من معاملة النسيج العصبي بصبغة السلفر Silver stain ظهور واضح للويحات الببتا امليويد A β منتشرة في نسيج المخ مقارنة مع مجموعة السيطرة

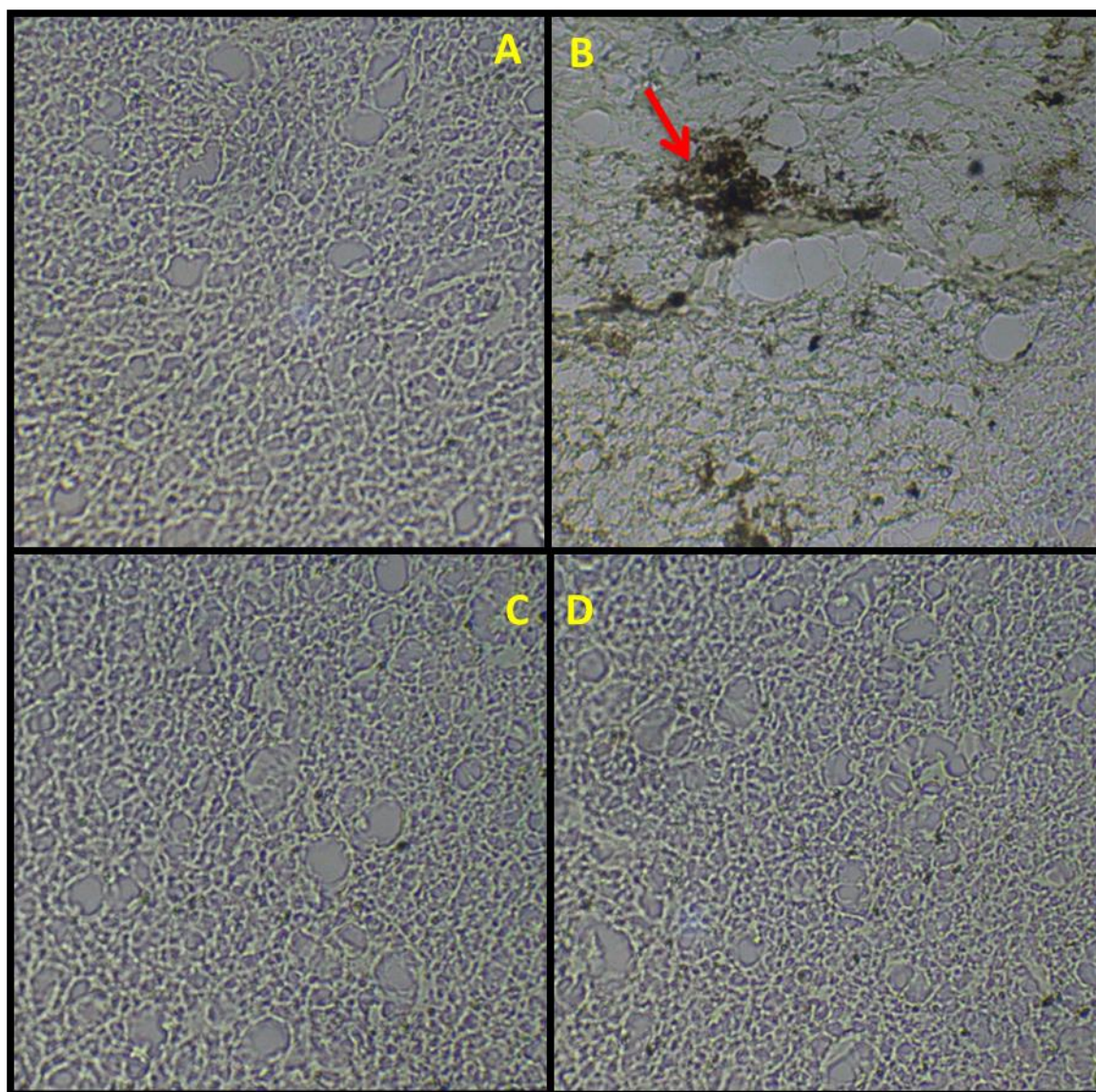
ان سبب ظهور لويحات A β قد يكون نتيجة زيادة تحفيز مستقبلات NMDA، mGluRs و AMPA بفعل الكميات المتزايدة من الغلوتامات الناتجة من مادة MSG، التي بدورها تحفز زيادة تدفق ايونات Ca⁺ الى داخل الخلايا العصبية مسببة خلل في توازن Ca⁺ الداخلي خلوي كما انها تسبب زوال استقطاب المايوتوكونديريا مؤديا الى زيادة توليد ROS (H₂O₂, OH⁻) والتي بدورها تقلل من فعالية Cytochrome oxidase وتقلل انتاج طاقة ATP كذلك تسبب زيادة تنشيط مسارات تحلل وانسطار APP Pathway (Amyloidogenic and nonamyloidogenic) عن طريق تنشيط انزيمات α -secretase و γ -secretases و β -secretase التي تؤثر على بروتين APP وتسبب توليد كميات متزايدة من A β [57][56][55]، كما وجد ان زيادة الغلوتامات في الشق المشبكي تسبب خلل في التوازن الايوني وتؤثر على الجهاز الكوليني مسببة انخفاض تركيز Ach وزيادة تركيز AchE مؤديا الى زيادة تكوين لويحات A β وزيادة فسفرة بروتين التايو (P-tau) protein tau مسببة زيادة ظهور NFT في النسيج العصبي [58][56]، فيما اكدت دراسة اخرى ان A β تسبب زيادة فسفرة protein tau (P-tau) عن طريق تنشيط PKC، ERK1/2، Fyn kinase، GSK-3 β و cyclin-dependent kinases (CDK)، وان تثبيط فسفرة P-tau ممكن ان تمنع تكوين A β وبالتالي تقليل تأثيرها على الجهاز العصبي [59]، فضلا عن ذلك فقد وجد ان A β تسبب تغيرات تحطمية في الخلايا العصبية من خلال دورها في زيادة انتاج ROS في الخلية العصبية، خلل توازن Ca⁺ الخلوي كما انها تؤثر على العديد من الانزيمات بضمنها flavoprotein-linked enzyme و NADPH oxidase مسببة زيادة توليد الجذور الحرة وتخریب السلسلة التنفسية للمايوتوكونديريا وانخفاض ال GSH وبالتالي الموت الخلوي [61][60]..

كما ان تلف الخلايا العصبية قد يكون نتيجة لتأثير ROS في زيادة عملية اكسدة الدهون Lipid peroxidation لاغشية الخلايا العصبية وقدرتها على التفاعل مع الدهون غير المشبعة poly unsaturated fatty acids التي تؤدي الى تضرر الانسجة والاعضاء [62][60]. ودور ROS في تنشيط مسارات موت الخلية المبرمج من خلال تحرير بروتينات Cytochrome c و apoptosis inducing factor الذي ينتهي بموت الخلية العصبية [63]. بالإضافة الى تحطم المايوتوكونديريا عن طريق تثبيط المعقدات الانزيمية للسلسلة التنفسية Mitochondrial Respiratory enzyme complex مؤديا الى انخفاض انتاج ال ATP وزيادة انتاج ROS [64]، كذلك دور A β في التفاعل لويحات ال ABAD على اغشية المايوتوكونديريا مسببة خلل في الية عمل المايوتوكونديريا مؤدية الى تحطم المشبك العصبي [66][65].

اظهرت نتائج التقطيع النسيجي لانسجة الحيوانات المعاملة ب3 ملغم من MSG والمجرعة يوميا ب 60 ملغم / كغم من الكركمين انعدام ترسب لويحات A β في نسيج المخ والمظهر الطبيعي للخلايا العصبية مقارنة مع مجموعة السيطرة ويرجع السبب في ذلك الى دور مادة الكركمين في منع تكوين لويحات A β ، فقد اكدت العديد من الدراسات ان الكركمين يثبط انتاج لويحات A β عن طريق تغيير مسار بروتين APP خلال المسارات الافرازية [67]، كما وجد ان الكركمين يمتلك القدرة على موازنة الشكل غير الناضج من APP وتقليل الكمية الواصلة منه الى سطح الخلية والتخلص منه بعملية endocytosis [68]، بالإضافة الى ذلك فقد اكدت دراسات عديدة فعالية الكركمين في تقليل السمية الناتجة من A β [69]، اذ يمتلك القدرة على تقليل الاجهاد التاكسدي والجذور الحرة الناتجة منه، تقليل تدفق ايونات Ca⁺ وبالتالي الحماية من تحطم DNA الخلية والموت الخلوي [70]، ويثبط المسارات الالتهابية inflammatory pathways الناتجة من A β التي تعزز التحطم العصبي، عن طريق تثبيط interlokin (IL-1 β)، interlokin (IL-6) و (TNF- α) tumor necrosis factor (TNF- α) بالإضافة الى قدرته على تقليل فسفرة بروتين ERK1/2 و P38 وبالتالي تقليل انتاج cytokine عن طريق microglia [71]، فضلا عن ذلك وجد ان الكركمين يمتلك القدرة على تصفية و ازالة لويحات A β المتكونة في النسيج العصبي وبالتالي التخلص من تأثيرها الضار اذ يظهر الكركمين فعالية شديدة ضد لويحات الببتا امليويد A β حيث تتفاعل مجموعة الهيدروكسيل القطبية للكركمين المرتبطة بالحلقة الاورماتية مع الجيوب القطبية لبروتين A β مما يجعله يعيق تكوين لويحات الببتا امليويد [72]، كذلك تحسين التخلص منها عن طريق BBB، اثاره الاستجابية المناعية ضد A β وتحلل الياف الامليويد amyloid fibrils وتنشيط خلايا microglia وبالتالي التخلص من A β [73]، كما يظهر الكركمين تأثير تحفيزي ل proteasomal activity (قدرة الخلايا على ازالة البروتينات المتأثرة بالاجهاد التاكسدي) وبالتالي تحطم لويحات A β وتقليل تأثيرها على النسيج العصبي [74][69]، بالإضافة الى دور الكركمين في المحافظة على المظهر الطبيعي للانسجة وذلك نتيجة الخاصية المضادة للاكسدة التي يمتلكها الكركمين التي تمكنها من التقاط نسبة عالية من الجذور الحرة وقدرته على عبور Blood Brain Barrier (BBB) واكتساح الجذور الحرة نتيجة لوجود المجاميع الفينولية phenol و مجاميع methoxy مما ادى الى تقليل تأثيرها على الانسجة [75][69] بالإضافة الى دور الكركمين في زيادة فعالية الانزيمات المضادة للاكسدة (SOD) و (CAT) [44][43]، وزيادة التعبير الجيني لانزيم glutamatecysteine ligas الذي يعتبر انزيم رئيسي لبناء GSH مؤديا الى تقليل انتاج ROS [45]، ودوره في منع LPO التي تحصل نتيجة لزيادة مستويات الجذور الحرة المتولدة والتي تسبب تحطم الاغشية بفعل الخاصية المضادة للاكسدة للكركمين [49][48][47].



صورة (1) تبين مقطع نسيجي لمخ ارنب في مجموعة ذكور الارانب بصيغة الهيماتوكسيلين والايوسين (H&E 400X) ، (A) تمثل مجموعة السيطرة اذ يلاحظ التركيب الطبيعي لنسيج المخ ، (B) تمثل مجموعة ذكور الارانب التي جرعت فمويا ب 3 ملغم / كغم من MSG ولمدة ثلاثة اشهر ، اذ يلاحظ حدوث تغيرات تنكسية واضحة في نسيج المخ → وظهور تشابك الالياف العصبية (NFTs) → اضافة الى ظهور الفجوات منتشرة في جميع الطبقات القشرية المخية → ، في حين يوضح المقطع (C) تمثل مجموعة ذكور الارانب التي جرعت فمويا ب 60 ملغم / كغم من مادة الكركمين ولمدة ثلاثة اشهر حيث يلاحظ التركيب الطبيعي لنسيج المخ ، المقطع (D) تمثل مجموعة ذكور الارانب التي جرعت فمويا ب 3 ملغم / كغم من MSG ولمدة اضافة الى التجريع الفموي ب 60 ملغم / كغم من الكركمين ثلاثة اشهر و يلاحظ فيها ظهور قليل لبعض الفجوات منتشرة في جميع الطبقات المخية →



صورة (2) تبين مقطع نسيجي لمخ ارنب في مجموعة ذكور الارانب بصبغة السلفر (Silver stain 400X) ، (A) تمثل مجموعة السيطرة اذ انعدام ظهور لويحات البيتا املويد $A\beta$ ، (B) تمثل مجموعة ذكور الارانب التي جرعت فمويا ب 3 ملغم / كغم من MSG ولمدة ثلاثة اشهر ، اذ يلاحظ ظهور لويحات البيتا املويد $A\beta$ منتشرة في جميع طبقات القشرة المخية ، في حين يوضح المقطع (C) تمثل مجموعة ذكور الارانب التي جرعت فمويا ب 60 ملغم / كغم من الكركمين ولمدة ثلاثة اشهر حيث يلاحظ انعدام ظهور لويحات البيتا املويد $A\beta$ في الطبقات المخية ، المقطع (D) تمثل مجموعة ذكور الارانب التي جرعت فمويا ب 3 ملغم / كغم من MSG ولمدة اضافة الى التجريع الفموي ب 60 ملغم / كغم من الكركمين ثلاثة اشهر و يلاحظ ايضا انعدام ظهور لويحات البيتا املويد $A\beta$ في جميع طبقات القشرة المخية

المصادر

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. Kierszenbaum, A. L.(2016). Histology and cell biology An introduction to pathology. fourth Edition.

6. Lestari, M. L. & Indrayanto, G . (2014) . Curcumin . *Profiles Drug Subst. Excip. Relat. Methodol.*, 39: 113–204.
7. 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.
8. Ammon, H. P. & Wahl, M. A.(1991).Pharmacology of Curcuma longa. *Planta Med.* ,57(1):1-7.
9. Kohli, K.; Ali, J.;Ansari, M. J. & Raheman, Z. (2005). Curcumin: A natural antiinflammatory agent . *Indian J Pharmacol.* , 37(3): 141-147.
10. Muslih, B. ; Mizil, Y. O. & Al-Nimer, M. S. (2001). Detection The level of peroxynitrite, and related with antioxidant status in the serum of patients with acute myocardial infraction. *Nat. J. Chem.* , (4):625-637.
11. AL–Zamely,O.M.Y.(2001).Ischemic Heart Disease Via Oxidative Hypothesis . (Thesis), PH.D. ,Iraq ,University of AL-Mustansiriya.
12. Van Uffelen,B.E.;Van der Zee, J.; deKoster, B.M.; VanStereninck, J. & Elferink, J.G. (1998). Intracellular but not extracellular conversion of nitroxyl anion into nitric oxide leads to stimulation of human neutrophil migration. *Biochem. J.* , 330: 719-722
13. Presnell, J.K. & Schreibman, M.P. (1997).Humason's animal tissue techniques, 5thedn., John Hopkins Univ. Press, Balfimore, 546.
14. Mirra,S. S. ; Hart, M. N. & Terry, R. D. (1993). Making the Diagnosis of Alzheimer's Disease . *Arch Pathol Lab Med.* ,117:132-144.
15. Spss .(1999). Statistical packages social sciences , Verion 10 .USA.
16. 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 .
17. Umukoro, S. ; Oluwole, G. O. ; Olamijowon, H. E. ; Omogbiya, A. I. & Eduviere, A. T. (2015). Effect of Monosodium Glutamate on Behavioral Phenotypes, Biomarkers of Oxidative Stress in Brain Tissues and Liver Enzymes in Mice . *World J. Neurosci.* , 5: 339-349.
18. Hassan, Z. A. ; Arafa, M. H.; Soliman, W. I.; Atteia, H. H. & Al-Saeed, H. F. (2014) . The Effects of Monosodium Glutamate on Thymic and Splenic Immune Functions and Role of Recovery (Biochemical and Histological study) . *J Cytol Histol.*, 5(6): 1-9.
19. Ashry, M.A.; Abd.Ellah,H.F.& Gheth,E.M.(2012).The Possible Ameliorative Effect of Propolis in Rat's Liver Treated with Monosodium Glutamate (MSG) . *Natu. Sci.*, 10(12):209 – 219.
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. El-Nahrawy, W. A.; Wahba, S. M. & Eldurssi, I. S. (2012). The Potential Effects of Propolis against Monosodium Glutamate (MSG) Toxic Effects on Some Biochemical Aspects of Kidney . *Life Sci. J.* , 9(4): 4044 - 4054.
22. Swamy, A. H. ; Patel, N. L. ; Gadad, P. C. ; Koti, B. C. ; Patel, U. M. ; Thippeswamy, A. H. & Manjula, D.V. (2013). Neuroprotective Activity of Pongamia pinnata in Monosodium Glutamate-induced Neurotoxicity in Rats . *Indian J. Pharmaceut. Sci.* , 75(6):657-663.
23. Eweka, A. O.; Igbigbi, P. S. & Ucheya, R. E. (2011). Histochemical Studies of the Effects of Monosodium Glutamate on the Liver of Adult Wistar Rats. *Ann. Med. Health Sci. Res.* , 1(1): 21-29.
24. Kritis, A. A. ; Stamoula, E. G. ; Paniskaki, K. A. & Vavilis, T. D. (2015). Researching glutamate–induced cytotoxicity indifferent cell lines :a comparative /collective analysis/study . *Front. Cell Neurosci.* , 9(91):1-18 .
25. Wang, W. W. ; Hu, S. Q. ; Li, C. ; Zhou, C. ; Qi, S. H. & Zhang, G. Y. (2010). Transduced PDZ1 domain of PSD-95 decreases Src phosphorylation and increases nNOS (Ser847) phosphorylation contributing to neuroprotection after cerebral ischemia. *Brain Res.* , 1328: 162-170.

26. Zhou, L. ; Li, F. ; Xu, H. B. ; Luo, C. X. ; Wu, H. Y. ; Zhu, M. M. ; Lu, W. ; Ji, X. ; Zhou, Q. G. & Zhu, D.Y. (2010) . Treatment of cerebral ischemia by disrupting ischemia-induced interaction of nNOS with PSD-95. *Nat Med.* , 16: 1439-1443.
27. Brown, G.C. (2010) . Nitric oxide and neuronal death. *Nitric Oxide* ,23: 153-165.
28. Van der, V. A. ; Smith, D. ; O'Neill, C. A. ; Kaur, H. ; Darley-Usmar, V. ; Cross, C. E. & Halliwell, B. (1994) . Interactions of peroxynitrite with human plasma and its constituents: oxidative damage and antioxidant depletion. *Biochem J.* , 303: 295-301.
29. Bolanos, J.P.; Herrero-Mendez, A.; Fernandez-Fernandez, S. & Almeida, A. (2007). Linking glycolysis with oxidative stress in neural cells: a regulatory role for nitric oxide. *Biochem Soc Trans.* , 35 (5): 1224-1227.
30. Li, S. ; Wang, W. ; Wang, C. & Tang, Y. Y. (2010). Possible involvement of NO/NOS signaling in hippocampal amyloid-beta production induced by transient focal cerebral ischemia in aged rats. *Neurosci Lett.* , 470: 106-110.
31. Kumar, A. ; Mittal, R. ; Khanna, H. D. & Basu, S. (2008). Free radical injury and blood-brain barrier permeability in hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatrics* , 122(1): 722-727.
32. Radi, R. ; Beckmann, J. S. ; Bush, K. M. & Freeman, M. A. (1991). Peroxynitrite oxidation of sulfhydryls. The cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *J Biol Chem.* , 266: 4244–4250.
33. Trotti, D. ; Rossi, D. ; Gjesdal, O. ; Levy, L. M. ; Racagni, G. ; Danbolt, N. C. & Volterra, A. (1996). Peroxynitrite Inhibits Glutamate Transporter Subtypes . *J. Biol. Chem.* , 271(11) : 5976–5979.
34. Scott, G. S. ; Bowman, S. R. ; Smith, T. ; Flower, R. J. & Bolton, C. (2007). Glutamate-stimulated peroxynitrite production in a brain-derived endothelial cell line is dependent on N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor activation . *Biochem. Pharmacol.*, 73 (1): 228 – 236.
35. Saha, L. ; Chakrabarti, A. ; Kumari, S. ; Bhatia, A. & Bangerjee, D. (2016) . Antiapoptotic and neuroprotective role of curcumin in pentylenetetrazole (PTZ) induced kindling model in rat . *Indian J. Exp. Biol.*, 54(1) :133-141 .
36. Kadasa, N. M. ; Abdallah, H. ; Afifi, M.; Gowayed, S. (2015). Hepatoprotective effects of curcumin against diethyl nitrosamine induced hepatotoxicity in albino rats. *Asian Pac J Cancer Prev.*, 16(1):103-8.
37. Attia, A.M.; Ibrahim, F.A. ; Abd EL-Latif, N.A. & Aziz, S. W. (2014) . Antioxidant effects of curcumin against cadmium chloride-induced oxidative stress in the blood of rats . *J. Pharmacognosy Phytother.*, 6(3) : 33-40.
38. Nabuini, M. ; Nazari, Z. ; Angaji, S. A. ; Nejad, Z. S. (2011) . Neuroprotective Effects Of Curcumin . *Aust. J. basic appl. sci.*, 5(9): 2224-2240.
39. Sims, N. R. ; Anderson, M. F. ; Hobbs, L. M. ; Kong, J. Y. ; Phillips, S. ; Powell, J. A. & Zaidan, E. (2000). Impairment of brain mitochondrial function by hydrogen peroxide. *Mol. Brain Res.*, 77(2): 176– 184.
40. Priyadarsini, K. I. (2014). The Chemistry of Curcumin: From Extraction to Therapeutic Agent . *Molecules.*, 19(1): 20091-20112.
41. Borsari, M. ; Ferrari, E. ; Grandi, R. & Saladini, M. (2002) . Curcuminoids as potential new iron-chelating agents: Spectroscopic, polarographic and potentiometric study on their Fe(III) complexing ability. *Inorg. Chim. Acta.*, 328(1):61–68.
42. Lavoie, S. ; Chen, Y. ; Dalton, T. P. ; Gysin, R. ; Guenod, M. ; Steullet, P. & Do, K. Q. (2009). Curcumin, quercetin, and Tbhq modulate glutathione levels in astrocytes and neurons :importance of the glutamate cysteine ligase modifier subunit . *J. Neurochem.* , 108(1) : 1410–1422
43. Venkatanarayana, G. ; Sudhakara, G. ; Sivajyothi, P. & Indira, P. (2012) . Protective effects of curcumin and vitamin E on carbon tetrachloride-induced nephrotoxicity in rats . *EXCLI J.*, 11:641-650 .
44. Reiter, R.J. ; Tan, D. ; Osuna, C. & Gitto, E. (2000) . Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. *J Biomed Sci.* , 7:444-58.

45. Zheng, S. ; Yumei, F. & Chen, A. (2007) . De novo synthesis of glutathione is a prerequisite for curcumin to inhibit hepatic stellate cell (HSC) activation. *Free Radic. Biol. Med.*, 43:444–453.
46. Ghoneim, A. I.; Abdel-Naim, A. B.; Khalifa, A. E. & El-Denshary, E. S. (2002) . Protective effects of curcumin against ischaemia/ reperfusion insult in rat forebrain. *Pharmacol. Res.*, 46: 273–279.
47. Parsaeyan, N. (2015) . Effect of Curcumin Supplementation on Fructosamine Level, Blood Lipids, Lipid Peroxidation and Hepatic Enzymes in Type 2 Diabetics . *Iranian J. Diabetes Obes.*, 7(1): 55-61.
48. He, Y.; Yue, Y.; Zheng, X .; Zhang, K .; Chen, S. & Du, Z . (2015). Curcumin, Inflammation, and Chronic Diseases: How Are They Linked? . *Molecules.*, 20(1): 9183-9213.
49. Amani , A. R. ; Somchit, M. N. ; Konting, M. M. & Kok, L.Y. (2010). Vitamin E and Curcumin Intervention on Lipid-Peroxidation and Antioxidant Defense System . *J. Am. Sci.*, 6(3):52-62 .
50. Kim, D. S. ; Kim, J. Y. & Han, Y. (2012) Curcuminoids in neurodegenerative diseases. *Recent Pat. CNS Drug Discov.*, 7(1) :184–204.
51. Nimse, S. B. & Palb, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms . *Chem Sci.* , 5(1) : 27986–28006.
52. Belyaev, I .; Dean, A.; Eger, H. ; Hubmann, G. ; Jandrisovits, R. Johansson, O.; Kern, M.; Kundi, M.; Lercher, P. ; Mosgöller. W.; Moshhammer, H. ; Müller, K .; Oberfeld, G .; Ohnsorge, P.; Pelzmann, P.; Scheingraber, C. & Thill, R. (2015). Europaem EMF Guideline 2015 for the prevention, diagnosis and treatment of EMF-related health problems and illnesses . *Rev. Environ Health.*, 30(4): 337–371.
53. Liu & Colleagues (2011). Curcumin attenuates peroxynitrite – induced neurotoxicity in spinal ganglion neurons . *Neurotoxicol.*, 32(1):150-157.
54. Sumbul, S. ; Khan, M. S. & Bano, B. (2010). Effect of curcumin on nitric oxide induced structural and functional modifications of high molecular weight cystatin from the goat brain . *Biomed Khim.* , 56(2):209-219.
55. Kumar, A. & Singh, A . (2015) . A review on mitochondrial restorative mechanism of antioxidants in Alzheimer's disease and other neurological conditions . *Front. Pharmacol.* , 6(206):1-13.
56. Revett, T.J. ; Baker, G. B. ; Jhamandas, J. ; & Kar, S. (2013). Glutamate system, amyloid β peptides and tau protein: functional interrelationships and relevance to Alzheimer disease pathology . *Psychiatry Neurosci.*, 38(1):6-23 .
57. Itkin, A. ; Dupres, V. ; Dufre^{ne}, Y. F. ; Bechinger, B. ; Ruyschaert, J. & Raussens, V. (2011). Calcium Ions Promote Formation of Amyloid b-Peptide (1–40) Oligomers Causally Implicated in Neuronal Toxicity of Alzheimer's Disease . *PLoS ONE.* , 6(3):1-10.
58. 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.
59. Alvarez, G.; Munoz-Montano, J. R. ; Satrustegui, J. ; Avila, J. ; Bogónez, E. & Díaz-Nido, J. (2002). Regulation of tau phosphorylation and protection against β -amyloid-induced neuro degeneration by lithium. Possible implications for Alzheimer's disease. *Bipolar Disord.*, 4:153-65.
60. Sadigh-Eteghad, S. ; Sabermarouf, B. ; Majdi, A. ; Talebi, M. ; Farhoudi, M. ; Mahmoudi, J. (2015). Amyloid-beta: a crucial factor in Alzheimer's disease. *Med. Princ. Pract.*, 24:1–10.
61. Abramova, A.Y.; Canevari, L. & Duchena, M.R. (2004). Calcium signals induced by amyloid h peptide and their consequences in neurons and astrocytes in culture . *Biochimica et Biophysica Acta* , 1742 (1): 81–87.
62. Barbagallo, M.; Marotta, F. & Dominguez, L. J.(2015). Oxidative Stress in Patients with Alzheimer's Disease: Effect of Extracts of Fermented Papaya Powder . *Mediators Inflamm.* , 624(80) :1-7 .

63. 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.
64. Swerdlow, R. H. ; Burns, J. M. & Khan, S. M. (2010) .The Alzheimer's disease mitochondrial cascade hypothesis. *J. Alzheimer's Dis.*, 20: 265–279.
65. 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). Aβ directly links Aβ to mitochondrial toxicity in Alzheimer's Disease. *Science* .,304: 448–452.
66. Reddy, P. H. & Reddy T. P. (2011) .Mitochondria as a therapeutic target for aging and neurodegenerative diseases. *Curr. Alzheimer Res.* , 8: 393–409.
67. Zhang, C. ; Browne, A. ; Child, D. & Tanzi, R. E. (2010). Curcumin decreases amyloid-beta peptide levels by attenuating the maturation of amyloid-beta precursor protein. *J Biol Chem.* , 285:28472–28480.
68. Liu, H. ; Li, Z. ; Qiu, D. ; Gu, Q. ; Lei, Q. & Mao, L. (2010) .The inhibitory effects of different curcuminoids on β-amyloid protein, β-amyloid precursor protein and β-site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1 in swAPP HEK293 cells. *Neurosci Lett.* , 485: 83–88.
69. 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.
70. Shimmyo, Y. ; Kihara, T. ; Akaike, A. ; Niidome, T. & Sugimoto, H. (2008). Epigallocatechin-3-gallate and curcumin suppress amyloid beta-induced beta-site APP cleaving enzyme-1 upregulation. *Neuroreport.*, 19:1329–1333.
71. Shi, X. ; Zheng, Z. ; Li, J. ; Xiao, Z. ; Qi, W. ; Zhang, A. ; Wu, Q. & Fang, Y. (2015) . Curcumin inhibits Aβ-induced microglial inflammatory responses in vitro: involvement of ERK1/2 and p38 signaling pathways. *Neurosci Lett.* ,594:105–110.
72. Reinke, A.A. & Gestwicki, J.E. (2007) Structure-Activity Relationships of Amyloid Beta-Aggregation Inhibitors Based on Curcumin: Influence of Linker Length and Flexibility. *Chem. Biol. Drug. Des.*, 70, 206-215.
73. Bates, K.A. ; Verdile, G. ; Li, Q. X. ; Ames, D. ; Hudson, P. ; Masters, C. L. and Martins R. N. (2009) .Clearance mechanisms of Alzheimer's amyloid-beta peptide: implications for therapeutic design and diagnostic tests. *Mol Psychiatry.* ,14: 469–486.
74. Cole, G. M.; Teter, B. & Frautschy, S.A. (2007) Neuroprotective effects of curcumin. *Adv Exp Med Biol.* ,595 : 197–212.
75. Kapoor, S. & Priyadarsini, K. I. (2001). Protection of radiation-induced protein damage by curcumin. *Biophys. Chemist.* , 92 (2): 119–126.