

تأثير الكركمين على بعض الايونات وتلف الدماغ المستحث بواسطة غلوتامات الصوديوم الاحادية في ذكور الارانب

هبة علوان عبد السلام * , وفاق جبوري البازي **, مي فاضل الحبيب ***

* كلية التربية للعلوم الصرفة , جامعة كربلاء , كربلاء , العراق.

** كلية الطب البيطري , جامعة كربلاء , كربلاء , العراق.

*** كلية الطب , جامعة النهرين , بغداد , العراق.

Corresponding Author: hg_wefak@yahoo.com

الخلاصة

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 الأرانب 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 90 يوم 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) 3 ملغم /كغم من MSG مع التجريع الفموي 60 ملغم /كغم من مادة الكركمين لمدة 90 يوم لمرة واحدة يوميا . جمعت عينات الدم بعد تجويع الحيوانات Fasting blood sample في فترة ما قبل المعاملة ، بعد منتصف التجربة و حتى نهاية التجربة لدراسة المعايير التالية: قياس تركيز ايون الكالسيوم Ca^{+2} وتركيز ايون الحديد الحر Fe^{+2} . اظهرت نتائج هذه التجربة ان التجريع الفموي ب MSG أدى الى حدوث ارتفاع معنوي ($P<0.01$) في معدل تركيز ايون الكالسيوم (Ca^{+2}) وتركيز الحديد الحر (Fe^{+2}) مقارنة مع مجموعة السيطرة . فيما اظهرت المجموعة المعاملة بمادة الكركمين ادى الى حدوث انخفاض معنوي ($P<0.01$) في معدل تركيز ايونات Ca^{+2} و Fe^{+2} مقارنة مع مجموعة السيطرة . كما تبين التجربة ان التجريع الفموي ب MSG مع التجريع الفموي بمادة الكركمين ادى الى حدوث انخفاض معنوي ($P<0.01$) في تركيز ايون Ca^{+2} وعدم وجود فروق معنوية في معدل تركيز ايون Fe^{+2} مقارنة بمجموعة 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 ايميلويد (β Amyloid) - منتشرة في نسيج المخ مقارنة مع مجموعة السيطرة ، كما يلاحظ التركيب الطبيعي لنسيج المخ بصبغة H&E و Silver stain بعد المعاملة بالجرعة المؤثرة للكركمين ، اما بالنسبة للمجموعة التي جرعت فمويا ب MSG مع التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة للكركمين فقد لوحظ المظهر الطبيعي للمخ مع ظهور قليل لبعض الفجوات بصبغة H&E وانعدام ترسب البيتا املويد β في النسيج العصبي بعد التصبيغ بصبغة السلفر مقارنة مع مجموعة السيطرة.

يستنتج من الدراسة الحالية ان لمادة الكركمين دور وقائي مهم ضد التلف الحاصل في نسيج الدماغ وارتفاع تركيز ايونات الكالسيوم والحديد الحر والناتج من استخدام ال MSG .

المقدمة

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 الجرعات العالية منها الاختلالات في وظائف الدماغ ، الرعاش ، فقدان الاتزان والحركات غير المتناسقة ، و تسبب 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 و طبقة الخلايا متعددة الاشكال [5] .

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 [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 و الدوائية [7] ، ويستخدم للاستهلاك الغذائي بمعدل 100ملغم/يوم [8] ، ووجدت دراسات عديدة ان استخدام الكركمين لا يظهر اي اعراض جانبية وانه يستخدم بجرعة 180-200 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 ، جاءت اهداف الدراسة الحالية للتعريف بتأثير مادة ال MSG على تركيز ايونات الكالسيوم (Ca+) والحديد الحر (Fe+) في الدم واضرارها على نسيج المخ، ودراسة الدور الوقائي للكركمين في الحد من هذه الاضرار.

المواد وطرائق العمل

استخدمت في هذه التجربة ٦٠ أرنب من ذكور الأرانب المحلية *Oryctatagus cuniculus* وتراوحت اعمارها بين ٨-٩ أشهر واوزانها ما بين ١٥٠٠ - ٢٠٠٠ غرام تم شرائها من الأسواق المحلية ووضعت في أقفاص معدة لهذا الغرض في البيت الحيواني التابع الى كلية الطب البيطري - جامعة كربلاء ، اخضعت هذه الحيوانات لظروف مختبرية خاصة بدرجة حرارة ٢٥ م ، وتم تغذيتها بعليقة من البلت المركز concentrate pullet المتكون من (١٠% بروتين خام ، ٢٠ % فول الصويا ، ٣٥% طحين الحنطة ، ٣٥% ذرة اضافة الى فيتامينات ومعادن ١ ملغم / كغم) تركت الحيوانات مدة اسبوعين للتأقلم مع الظروف المشار اليها اعلاه قبل اجراء التجربة. تم شراء مادة ال MSG من مكتب لبيع المواد الكيميائية الكائن في محافظة بابل اما مادة الكركمين فقد تم استخلاصها يدويا من رايزومات نبات الكركم وتم تقدير نسبة مادة الكركمين في المستخلص بجهاز ال HPLC بعدها تم تنقية وعزل مادة الكركمين من المستخلص بطريقة العمود اللوني.

تصميم التجربة:

استخدم ٦٠ من ذكور الارانب وقسمت عشوائيا الى اربعة مجاميع بواقع 15 ارنب لكل مجموعة: تم تجريب المجموعة الاولى (G1) 1مل/ كغم زيت الذرة لمدة ٩٠ يوم يوميا واعتبرت كمجموعة سيطرة، تم تجريب المجموعة الثانية (G2) فمويا 3ملغم / كغم من MSG لمدة ٩٠ يوم يوميا ، وجرعت المجموعة الثالثة (G3) فمويا 60 ملغم / كغم من مادة الكركمين ولمدة ٩٠ يوم يوميا ، فيما تم تجريب المجموعة الرابعة (G4) فمويا 3ملغم / كغم من MSG + 60 ملغم / كغم من مادة الكركمين ولمدة ٩٠ يوم يوميا.

مصل الدم

تم سحب عينات الدم بعد تجويع الحيوانات طول الليل وذلك بعد ٤٥ و ٩٠ يوم من التجريب 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 centrifuge بسرعة 3000 دورة/ دقيقة لمدة 15 دقيقة لقياس تركيز ايون الكالسيوم Ca^{+2} وايون الحديد الحر Fe^{+3}

قياس تركيزي ايوني الكالسيوم والحديد الحر

استخدمت طريقة [10] لتقدير تركيز الكالسيوم في المصل عن طريق تفاعل محلول Cresolphatein *comlexone (OCC)* والكالسيوم في وسط قاعدي، ويستدل على تركيز الكالسيوم في العينة من اللون المتكون الذي يمكن قياسه لونياً على طول موجي ٥٧٠ نانومتر باستخدام جهاز المطياف الضوئي

Spectrophotometer. تم تقدير تركيز الحديد الحر في المصل باستعمال عدة قياس حديد المصل (Serum Iron Kit) يذكر هنا اسم الشركة المصنعة لكت الحديد.

التقطيع النسيجي

تم اجراء التحضيرات النسيجية اعتماداً على الطريقة الموصوفة في [11] للتصبغ بصغة الهيماتوكسلين والايوسين (H&E) فيما استخدمت طريقة [12] في عملية التصبغ بصغة السلفر.

التحليل الأحصائي

تم تحليل النتائج عن طريق الاستعانة ببرنامج SPSS يذكر هنا version ووسنته واختبرت معنوية معامل الارتباط عن طريق تحليل التباين لتجربة عاملية 15X3X4 وفق التصميم العشوائي الكامل Complete randomized design (CRD) كما تم إستخدام إختبار أقل فرق معنوي Least Significant difference (L.S.D) للإظهار معنوية النتائج . [13]

النتائج والمناقشة

بينت نتائج الدراسة الحالية وجود ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في معدل تركيز Ca^{+} بعد التجريع الفموي بـ MSG وهذه النتائج تتفق مع [14][15][16][17] ان الارتفاع المعنوي ($P < 0.01$) في معدل تركيز Ca^{+} يعود الى الكميات المتزايدة من الغلوتامات الموجودة في مادة الـ MSG، ان الكميات المتزايدة من الغلوتامات تسبب العديد من التغيرات التحطمية للخلايا العصبية نتيجة قدرته على تغيير وظائف مستقبلات NMDA و AMPA، اذ ان ارتباط الغلوتامات بمستقبلاته المختلفة يؤدي الى فتح قنوات الايوناتوز و الاستقطاب depolarization لاغشية الخلايا العصبية مما يؤدي الى زيادة تركيز ايونات الـ Ca^{+} و Na^{+} الداخل خلوي [18][19]، كما ان زيادة تدفق ايونات Ca^{+} نتيجة تحفيز مستقبلات الغلوتامات يعمل على تنشيط قنوات الكالسيوم للخلايا العصبية مسببة زيادة في كميات الـ Ca^{+} داخل الخلية [20][21]، فقد ارتبط زيادة تحفيز الغلوتامات بخلل توازن الكالسيوم الخلوي وزيادة توليد OH ، H_2O_2 ، ROS (و O_2) و NOS (و NO) و $ONOO$ والتي بدورها تؤثر على العديد من العضيات الخلوية بضمنها المايتوكوندريا والشبكة الاندوبلازمية والتي تعد ايضا مصدر مهم للكالسيوم داخل الخلية [21][22]، اذ ان زيادة ايونات Ca^{+} تؤدي الى حدوث خلل في الية عمل قنوات الكالسيوم للمايتوكوندريا وزيادة مستويات العديد من المؤكسدات بضمنها NADPH oxidase و xanthine oxidase وتنشيط المعقدات الانزيمية للسلسلة التنفسية مؤديا الى زيادة مستويات Ca^{+} و نفاذ ATP وفتح Mitochondrial permeability transition pore (mPTP) مما يزيد من تحرير انزيم Cytochrome C، وبالتالي تحطم المايتوكوندريا [23][24][25]، كما وجد ان فرط تحفيز مستقبلات NMDA و AMPA يحفز تحرير inositol triphosphate (IP_3) والذي ينشط قنوات Ca^{+} للشبكة الاندوبلازمية ويعطل Ca^{+}/Na^{+} exchanger مؤديا الى زيادة تركيز Ca^{+} داخل الخلية وزيادة احتمال تحطم الخلية العصبية [26]، فضلاً عن ذلك فان زيادة Ca^{+} داخل الخلية ممكن ان يثير استجابات خلوية مختلفة

بضمنها تنشيط nitric oxide synthase و protein kinase C وانزيمات تحطمية اخرى، كما انه يسبب زيادة تحرير الغلوتامات الموجود في الحويصلات العصبية و ينشط مسارات انزيم protein kinase التي تحرر مخزون الكالسيوم الداخل خلوي والتي بدورها تحفز توليد الجذور الحرة وبيروكسيدية الدهون مؤدية الى حدوث الموت [27][15].

اشارت نتائج الدراسة الحالية ان زيادة الغلوتامات ادت الى حدوث ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في معدل تركيز ايون الحديد الحر وهذه النتائج تتفق مع [28][14]، وان زيادة الغلوتامات تؤدي الى زيادة معدل تركيز الحديد في الدماغ عن طريق حدوث خلل في مستقبلات (DMT1 و TfR1 receptor 1 transferrin) والتي تعد من المستقبلات المهمة في تنظيم مستويات الحديد الحر في الخلية العصبية وهذا بدوره يؤدي حدوث تغيرات تحطمية للخلايا العصبية من خلال دوره في حث تفاعلات الفنتون Fenton reaction، التي ينتج عنها العديد من الجذور الحرة منها O_2 و H_2O_2 مؤديا الى حدوث الاجهاد التاكسدي وتحطم الخلية العصبية [28]. فضلا عن التأثيرات الضارة لجذور الاوكسجين الفعالة ROS مثل جذر الهيدروكسيل (OH)، اذ يمتلك جذر الهيدروكسيل الفعال القدرة للحث على موت الخلايا من خلال بدء سلسلة من التفاعلات الكيميائية التي تشترك فيها العديد من الجزيئات الحيوية المهمة مما يؤدي الى اكسدة الحامض النووي منقوص الاوكسجين DNA، تحطم الماييتوكوندريا، واكسدة الدهون [29]. كما ان زيادة ايونات الحديد الحرة لها القدرة على التفاعل مع الدهون غير المشبعة مكونة جذر البيروكسيل Peroxyl والكوكسيل alkoxyl، وان مثل هذه التفاعلات المؤكسدة تؤدي الى ضعف في الوظائف الخلوية وتحطم الخلايا والأنسجة والأعضاء [30]، فيما اكدت دراسة اخرى ان زيادة معدل تركيز الحديد في الدماغ يسبب تحطم الحاجز الدماغي الدموي (BBB) Blood brain barrier وهذا بدوره ينعكس على الوظائف العصبية والمعرفية [31]. اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة من الكركم يقلل وبشكل كبير من تأثيرات MSG على معدل تركيزي Ca^{+2} و Fe^{+2} والذي قد يعود السبب في ذلك الى دور مادة الكركمين في التقاط الجذور الحرة والتقليل من تأثير ROS و NOS [33][32]، بالإضافة الى دور مادة الكركمين في حماية النواة من خلال دورها في تنظيم عوامل الاستنساخ، الساييتوكاينينات والانزيمات التي ارتبطت مع فعالية Nuclear factor kappa beta (NF-Kb) (معقد بروتيني يسيطر على استنساخ ال DNA) [28] كذلك حماية الماييتوكوندريا من تأثير الموت الخلوي بفعل الجذور الحرة ومنع تحطم الغشاء الخلوي، تسرب Ca^{+2} احداث اضطراب وظائف المشبك العصبي [35][34]، اذ يلعب الكركمين دورا فعالاً في دعم وظائف الماييتوكوندريا عن طريق دورها في الحماية ضد التغيرات في الفسفرة التاكسدية وتنشيط معقدا تسلسلة نقل الالكترونات منها NADH و cytochrome c oxidase، cytochrome c reductase وبذلك تعمل على المحافظة على توازن الكالسيوم داخل الخلية [36][35]، كما اكدت العديد من الدراسات ان الكركمين له دور فعال في المحافظة على توازن الايونات المعدنية بضمنها Ca^{+2} و Fe^{+2} فقد وجد ان Fe^{+2} له دور كبير في احداث السمية العصبية من خلال ارتباطه بتكوين لويحات A β و NTF، وان زيادة ايونات Fe^{+2} تسبب تحفيز تجمع A β من خلال دوره في احداث تغيرات في بروتين APP، ووجدت دراسات عديدة ان الكركمين يمتلك القدرة على عبور الحاجز الدماغي الدموي (BBB) ويعمل على اكتساح الجذور الحرة والايونات بضمنها Ca^{+2} و Fe^{+2} وبذلك يقلل فسفرة بروتين Tau، فضلا عن ذلك تمتلك مادة الكركمين القدرة

على تقليل انتاج لويحات (A β) Amyloid-beta plaques من خلال تحويل مسار بروتين APP، ووجدت دراسة اخرى ان الكركمين يعمل على تقليل فعالية انزيم γ -secretase وبذلك يقلل من تجمع لويحات A β مما يعمل على حماية الخلايا العصبية من تأثيراتها الضارة [34]

جدول (1) تأثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة للكركمين لمدة ٩٠ يوم على معدل تركيز الكالسيوم mg/dl في مصل ذكور الارانب المعرضة لغلوتامات الصوديوم الاحادية

المدة	المجاميع	(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		9.03±0.16 A a	9.13±0.22 Aa	9.10±0.22 Aa	9.09±0.18 A a	0.55
بعد ٤٥ يوم		9.15±0.16 A a	9.69±0.10 Bb	9.07±0.17 A a	9.21± 0.16 Aa	0.41
بعد ٩٠ يوم		9.09±0.15 Aa	10.08±0.18 Cb	9.02±0.15 A a	9.55±0.08 Bc	0.41
LSD		0.44	0.49	0.51	0.41	

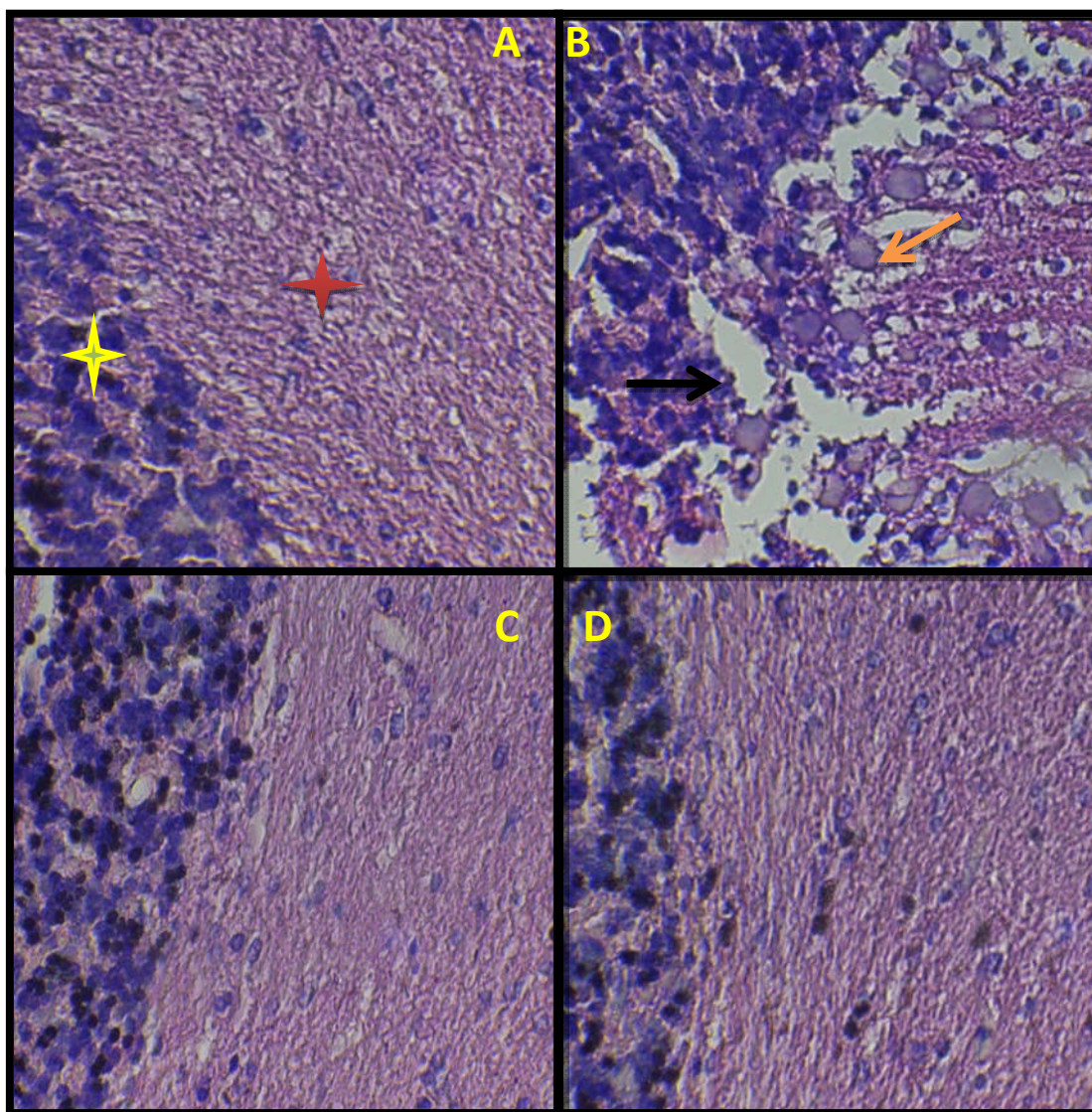
المعدل $\pm$ الخطأ القياسي ، n = 15/ مجموعة . الحروف الصغيرة تدل على وجود فروق معنوية افقيا تحت مستوى احتمال P<0.01 ، الحروف الكبيرة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال P<0.01

جدول (2) تأثير التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة للكركمين لمدة ٩٠ يوم على معدل تركيز الحديد الحر (µg/100 ml) في مصل ذكور الارانب المعرضة لغلوتامات الصوديوم الاحادية

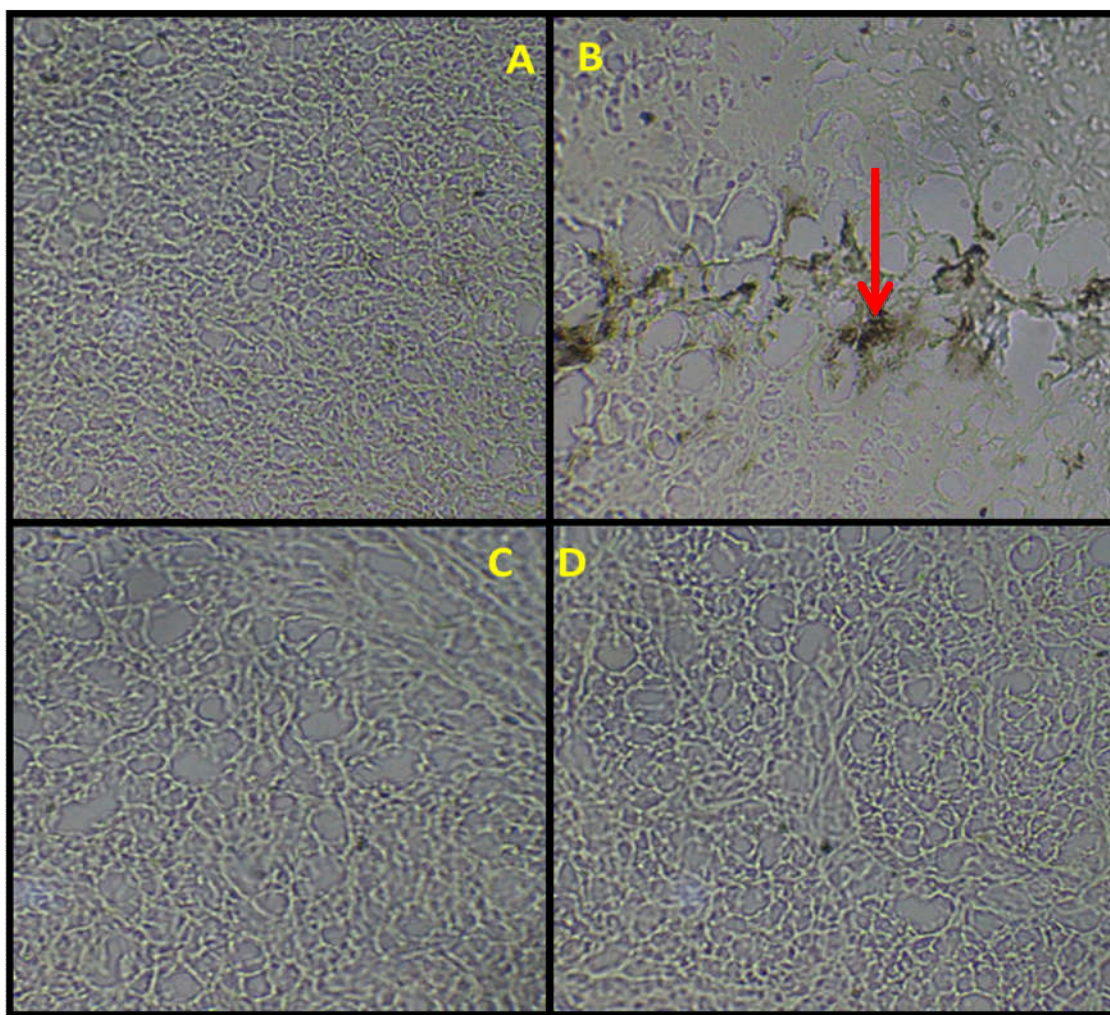
المدة	المجاميع	(G1) السيطرة	(G2) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية	(G3) 60 ملغم/كغم مادة الكركمين	(G4) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية + 60 ملغم/كغم مادة الكركمين	LSD
قبل المعاملة		115.99±0.11 A a	116.37±0.13 A a	116.20±0.22 Aa	115.87±0.10 Aa	1.75
بعد ٤٥ يوم		114.74±0.11 Aa	131.91±1.04 Bb	116.03±0.16 A a	118.57±0.16 Bc	1.48
بعد ٩٠ يوم		115.48±0.13 A a	176.80±1.17 C b	115.77±0.15 A a	121.27±0.43 C c	1.75

	1.75	1.49	2.52	1.32	LSD
--	------	------	------	------	-----

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



صورة (1) تبين مقطع نسيجي لمخيخ حيوان في مجموعة ذكور الارانب بصيغة الهيماتوكسلين والايوسين (H&E 400X) ،
 (A) تمثل مجموعة السيطرة اذ يلاحظ التركيب الطبيعي للطبقة الحبيبية (★) والطبقة الجذينية (★) لنسيج المخيخ، (B) تمثل
 مجموعة ذكور الارانب التي جرعت فمويا ب ٣ ملغم / كغم من MSG ٩٠ يوم، اذ يلاحظ حدوث تغيرات تنكسية واضحة في
 نسيج المخيخ وفقدان الارتباط بين الطبقتين الحبيبية والجذينية (→) وانحلال وفقدان انوية خلايا بيركنجي العصبية (→).
 (C) تمثل مجموعة ذكور الارانب التي جرعت فمويا ب ٦٠ ملغم / كغم من الكركمين ٩٠ يوم اذ يلاحظ التركيب الطبيعي للطبقة
 الحبيبية والطبقة الجذينية لنسيج المخيخ، المقطع (D) تمثل مجموعة ذكور الارانب التي جرعت فمويا ب ٣ ملغم / كغم من MSG
 اضافة الى التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة من الكركمين لمدة ٩٠ يوم اذ يلاحظ التركيب الطبيعي لنسيج المخيخ



صورة (٢) تبين مقطع نسيجي لمخيخ حيوان في مجموعة ذكور الارانب معاملة بصبغة السلفر (Silver stain) 400X (A) مجموعة السيطرة يلاحظ فيها انعدام ظهور لويحات الببتا امليويد $A\beta$ ، (B) تمثل مجموعة ذكور الارانب التي جرعت فمويا ب 3 ملغم / كغم من MSG ولمدة ٩٠ يوم، اذ يلاحظ ظهور لويحات الببتا امليويد $A\beta$ منتشرة في نسيج المخيخ (C) ، (D) تمثل مجموعة ذكور الارانب التي جرعت فمويا ب 3 ملغم / كغم من MSG ولمدة ٩٠ يوم، اذ يلاحظ ظهور لويحات الببتا امليويد $A\beta$ في نسيج المخيخ ، 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 ٩٠ يوم و يلاحظ ايضا انعدام ظهور لويحات الببتا امليويد $A\beta$ في نسيج المخيخ .

اظهرت نتائج الفحص النسيجي ان التجريع الفموي ب MSG ولمدة ٩٠ يوم ادى الى حدوث تغيرات تنكسية واضحة في النسيج العصبي في نسيج المخيخ بعد المعاملة بصبغة H&E ، في حين يظهر من معاملة النسيج العصبي بصبغة السلفر Silver stain ظهور واضح للويحات الببتا امليويد $A\beta$ منتشرة في نسيج المخيخ مقارنة مع مجموعة السيطرة

ان سبب ظهور لويحات $A\beta$ 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 كما انها تسبب زوال استقطاب

الميتوكوندريا مؤديا الى زيادة توليد ROS (O_2^- , H_2O_2 , OH^-) والتي بدورها تقلل من فعالية Cytochrome oxidase و تقلل من انتاج الطاقة ATP كذلك تسبب زيادة تنشيط مسارات تحلل وانحطاط Amyloidogenic and nonamyloidogenic) APP Pathway عن طريق تنشيط انزيمات α -secretase و γ -secretases التي تؤثر على بروتين APP وتسبب توليد كميات متزايدة من $A\beta$ [37][38][39] ، 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 $A\beta$ [38][40]، فيما اكدت دراسة اخرى ان لويحات $A\beta$ تسبب زيادة فسفرة (P-tau protein tau) عن طريق تنشيط ERK1/2 ، PKC ، Fyn kinase ، GSK-3 β و cyclin-dependent kinases (CDK) ، وان تثبيط فسفرة P-tau ممكن ان تمنع تكوين $A\beta$ وبالتالي تقليل تأثيرها على الجهاز العصبي [41]، فضلا عن ذلك فقد وجد ان $A\beta$ تسبب تغيرات تحطمية في الخلايا العصبية من خلال دورها في زيادة انتاج ROS في الخلية العصبية و خلل في توازن الـ Ca^{+2} الخلوي كما انها تؤثر على العديد من الانزيمات بضمنها flavoprotein-linked enzyme و NADPH oxidase مسببة زيادة توليد الجذور الحرة وتخریب السلسلة التنفسية للميتوكوندريا وانخفاض الـ GSH وبالتالي الموت الخلوي [42][43] . .

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 [44][42]. ودور ROS في تنشيط مسارات موت الخلية المبرمج من خلال تحرير بروتينات Cytochrome c و apoptosis inducing factor الذي ينتهي بموت الخلية العصبية [45] . بالإضافة الى تحطم الميتوكوندريا عن طريق تثبيط المعقدات الانزيمية للسلسلة التنفسية Mitochondrial Respiratory enzyme complex مؤديا الى انخفاض انتاج الـ ATP وزيادة انتاج ROS [46] ، كذلك دور $A\beta$ في التفاعل لويحات الـ ABAD على اغشية الميتوكوندريا مسببة خلل في الية عمل الميتوكوندريا مؤدية الى تحطم المشبك العصبي [47][48].

اظهرت نتائج التقطيع النسيجي لأنسجة الحيوانات المعاملة بـ 3 ملغم من MSG والمجرعة يوميا بـ 60 ملغم / كغم من الكركمين انعدام ترسب لويحات $A\beta$ في نسيج المخ والمظهر الطبيعي للخلايا العصبية مقارنة مع مجموعة السيطرة ويرجع السبب في ذلك الى دور مادة الكركمين في منع تكوين لويحات $A\beta$ ، فقد اكدت العديد من الدراسات ان الكركمين يثبط انتاج لويحات $A\beta$ عن طريق تغيير مسار بروتين APP خلال المسارات الافرازية [34] ، كما وجد ان الكركمين يمتلك القدرة على موازنة الشكل غير الناضج من APP وتقليل الكمية الواصلة منه الى سطح الخلية والتخلص منه بعملية endocytosis [49] ، بالإضافة الى ذلك فقد اكدت دراسات عديدة فعالية الكركمين في تقليل السمية الناتجة من $A\beta$ [50] ، اذ يمتلك القدرة على تقليل الاجهاد التاكسدي والجذور الحرة الناتجة منه، تقليل تدفق ايونات Ca^{+2} وبالتالي الحماية من تحطم DNA الخلية والموت الخلوي [51] ، ويثبط المسارات الالتهابية inflammatory pathways الناتجة من $A\beta$ التي تعزز التحطم العصبي عن طريق تثبيط interlokin (IL-1 β) ، interlokin (IL-6) و tumor necrosis factor (TNF- α alfa-) بالإضافة الى قدرته على تقليل فسفرة بروتين ERK1/2 و P38 وبالتالي تقليل انتاج

cytokine عن طريق [52] microglia ، 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 البيتا املويد A β حيث تتفاعل مجموعة الهيدروكسيل القطبية للكركمين المرتبطة بالحلقة الاورماتية مع الجيوب القطبية لبروتين A β مما يجعله يعيق تكوين لويحات البيتا املويد [53] ، كذلك تحسين التخلص منها عن طريق BBB ، اثاره الاستجابة المناعية ضد A β و تحلل الباف الاملويـد amyloid fibrils و تنشيط خلايا microglia وبالتالي التخلص من A β [54] ، كما يظهر الكركمين تأثير تحفيزي لـ proteasomal activity (قدرة الخلايا على ازالة البروتينات المتأثرة بالاجهاد التاكسدي) وبالتالي تحطم لويحات A β وتقليل تأثيرها على النسيج العصبي [34] [55] ، بالإضافة الى دور الكركمين في المحافظة على المظهر الطبيعي للانسجة وذلك نتيجة الخاصية المضادة للأكسدة التي يمتلكها الكركمين التي تمكنها من التقاط نسبة عالية من الجذور الحرة وقدرته على عبور Blood Brain Barrier (BBB) و اكتساح الجذور الحرة نتيجة لوجود المجاميع الفينولية phenol و مجاميع methoxy مما ادى الى تقليل تأثيرها على الانسجة[34].

EFFECT OF CURCUMIN ON SOME IONS AND BRAIN DAMAGE INDUCED BY MONOSODIUM GLUTAMATE IN MALE RABBITS

*Heba A. Abd-Alsalam Alsalam. Wefak G. Mohammad Al-

*** May F. Magid Al-Habeb

* College of Education for pure science, University of Kerbala, Kerbala ,Iraq.

** College of Veterinary Medicine, University of Kerbala, Kerbala ,Iraq

*** College of Medicine, Alnahrn University, Baghdad, Iraq.

ABSTRACT

This study aimed to know the protective role of Curcumin .against the damage of the nervous system which induced by monosodium glutamate (MSG) in male rabbits. , Sixty adult male rabbits were randomly divided into four equal groups (15 animals / group), the first group (G1) intubated with 1 ml / kg of corn oil and served as a control group (G1). The second group were intubated orally with 3 mg/kg of MSG daily for 90 days , while the third group (G3) has intubated orally with 60 mg / kg curcumin daily for 90 days, the fourth group intubated orally with 3mg /kg of MSG and 60 mg / kg of curcumin daily for 90 days. Blood samples were collected from fasted rabbits during the mid and end of the experiment to study the following parameters: concentration of calcium ion (Ca⁺) and free iron (Fe⁺). The results revealed that MSG caused a significant increase (P <0.01) in the concentration of

Ca⁺ and Fe⁺ compared with the control group. The group that treated with 60 mg/kg curcumin revealed a significant decrease ($P < 0.01$) in the concentration of Ca⁺ and Fe⁺ ions compared with the control group. Experience also shows that oral dose of a combination of MSG and curcumin caused significant decrease ($P < 0.01$) in the concentration of Ca⁺ ion, while no significant difference was observed in the concentration of Fe⁺ ion compared with the control group.

Histological results of brain samples (after 90 days post treatment) of rabbits in the second group showed degenerative changes in brain tissue and deposition of beta amyloid A β plaques in cerebellum while the results of in the 4th group showed no clear lesion except some gaps in cerebrum with lack of deposition of A β in the nervous tissue

In conclusion, curcumin decrease the high blood level of Ca⁺ and Fe⁺ and reduce brain damage which induced by MSG in male rabbits.

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. **Young, D.S., (2000).** Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, AACC, 5th Edition, AACC Press .
11. **Presnell, J.K. & Schreibman, M.P. (1997).** Humason's animal tissue techniques, 5th edn., John Hopkins Univ. Press, Baltimore, 546.
12. **Mirra, S. S. ; Hart, M. N. & Terry, R. D. (1993).** Making the Diagnosis of Alzheimer's Disease . *Arch Pathol Lab Med.* , 117:132-144.
13. **Spss .(1999).** Statistical packages social sciences , Verion 10 .USA.
14. **Ateya, R. H.; Taha, N.M.; Mandour, A.; da M.L. & El- Morshedy, A.M. (2016).** Effect of Monosodium Glutamate and Sodium Nitrite on Some Biochemical Parameters in Japanese Quails . *Alex. J Vet. Sci.* , 48 (1): 107-114.
15. **Sharma, A. (2015).** Monosodium glutamate-induced oxidative kidney damage and possible mechanisms :a mini-review . *J. Biomed. Sci.* , 22(93):1-6 .
16. **Bojanić ,V. ; Bojanić , Z.; Najman, S.; Savić , T.; Jakovljević, V . Najman, S. & Jančić, S. (2009).** Diltiazem prevention of toxic effects of monosodium glutamate on ovaries in rats . *Gen. Physiol. Biophys.* , 28 (1):149–154.
17. **Pavlovic, V. ; Pavlovic, D. ; Kocic, G. ; Sokolovic, D. ; Jevtovic-Stoimenov, T. ; Cekic, S. & Velickovic, D. (2007).** Effect of monosodium glutamate on oxidative stress and apoptosis in rat thymus . *Mol. Cell Biochem.* , 303(7):161–166.
18. **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 .
19. **Whitelaw, B. S. & Robinson, M. B. (2013)** Inhibitors of glutamate dehydrogenase block sodium-dependent glutamate uptake in rat brain membranes. *Front Endocrinol. (Lausanne)* ,17(4) :123.
 20. **Halliwell, B. & Gutteridge, J. (2007).** *Free Radicals in Biology and Medicine* . Oxford Press, Oxford
 21. **Mark, L. P. ; Prosta, R. W. ; Ulmera, J. L. ; Smitha, M. M. ; Danielsa, D. L. ; Strottmanna, J. M. ; Browna, W. D. & Haccin-Bey, L .(2001).** Pictorial Review of Glutamate Excitotoxicity: Fundamental Concepts for Neuroimaging , *AJNR Am. J. Neuroradiol.* , 22(1) :1813–182 .
 22. **Prentice, H. ; Modi, J. P. & Wu, J. (2015).** Mechanisms of Neuronal Protection against Excitotoxicity , Endoplasmic Reticulum Stress, and Mitochondrial Dysfunction in Stroke and Neurodegenerative Diseases . *Oxid. Med. Cell Longev.* , 6(18): 1-8.
 23. **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.
 24. **Lam, T. I. ; Brennan-Minnella, A. M. ; Won, S. J. ; Shen, Y. ; Hefner, C. ; Shi, Y. ; Sun, D. & Swanson, R. A (2013)** .Intracellular pH reduction prevents excitotoxic and ischemic neuronal death by inhibiting NADPH oxidase . *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* , 110(46) : 4362– 4368 .
 25. **Alleyne, T. ; Mohan, N. ; Joseph, J. & Adogwa, A. (2011).** Unraveling the role of metal ions and low catalytic activity of cytochrome C oxidase in Alzheimer’s disease . *J. Mol. Neurosci.* , 43(3): 284–289 .
 26. **Mattson, M. P. (2007).** Calcium and neurodegeneration . *Aging Cell* , 6(1) : pp337–350.
 27. **Sundaram, R. ; Gowtham, L. & Nayak, B. (2012)** . The Role of Excitatory Neurotransmitter Glutamate in Brain Physiology and Pathology. *Asian J. Pharm. Clin. Res.* , 5(2):1-5
 28. **Yu, P. ; Zhang, M. ; Ding, H. ; Di, X. ; Guan, P. ; Wang, S. ; Shi, Z. ; Jiang, D. ; Duan, X. & Chang, Y. (2015).** Effect of Glutamate on

- Brain Iron Metabolism and the Regulation Mechanism. *J. Drug. Metab. Toxicol.* , 6(4):1-10.
29. **Barham, K. j. ; Masters, C. L. & Bush, A. L. (2004).** Neurodegenerative diseases and oxidative stress. *Nat-Rev. Drug. Discov.* , 3:205-214.
 30. **Lieu, P. T.; Heiskala, M.; Peterson, P. A. & Yang, Y. (2001).**The roles of iron in Health and disease. *Mol. Aspect Med.* , 22(1) : 1-87.
 31. **Han, M. & Kim, J. (2015).** Effect of Dietary Iron Loading on Recognition Memory in Growing Rats . *PLoS ONE* , 10(3):1-20.
 32. **Elsayed, A. S. (2016).** The curcumin as an antioxidant natural herb, with emphasize on its effects against some diseases . *Int. J. Appl. Biol. Pharm. Technol.* , 7(1):26-40.
 33. **Nabiuni, M. ; Nazari, Z. ; Angaji, S. A. ; Nejad, Z. S. (2011) .** Neuroprotective Effects Of Curcumin . *Aust. j. basic appl. sci.* , 5(9): 2224-2240.
 34. **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.
 35. **Villemagne, V. L. ; Burnham, S. ; Bourgeat, P. ; Brown, B.; Ellis, K. A. ; Salvado, O. ; Szoek, 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.
 36. **Garcia-Nino, W. R. & Pedraza-Chaverri, J. (2014).** Protective effect of curcumin against heavy metalsinduced liver damage. *Food Chem. Toxicol.* , 69 :182–201.
 37. **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.
 38. **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 .

39. **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.
40. **Silveyra, M. X. ; García-Ayll n, 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.
41. **Alvarez, G.; Munoz-Montano, J. R. ; Satrustegui, J. ; Avila, J. ; Bog nez, 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.
42. **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.
43. **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.
44. **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 .
45. **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.
46. **Swerdlow, R. H. ; Burns, J. M. & Khan, S. M. (2010) .**The Alzheimer's disease mitochondrial cascade hypothesis. J. Alzheimer's Dis., 20: 265–279.
47. **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).** A β AD directly links A β to mitochondrial toxicity in Alzheimer's Disease. Science ,304: 448–452.

48. **Reddy, P. H. & Reddy T. P. (2011)** .Mitochondria as a therapeutic target for aging and neurodegenerative diseases. *Curr. Alzheimer Res.* , 8: 393–409.
49. **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.
50. **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.
51. **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.
52. **Shi, X. ; Zheng, Z. ; Li, J. ; Xiao, Z. ; Qi, W. ; Zhang, A. ; Wu, Q. & Fang, Y. (2015)** . Curcumin inhibits Abeta-induced microglial inflammatory responses in vitro: involvement of ERK1/2 and p38 signaling pathways. *Neurosci Lett.* ,594:105–110.
53. **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.
54. **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.
55. **Cole, G. M.; Teter, B. & Frautschy, S.A. (2007)** Neuroprotective effects of curcumin. *Adv Exp Med Biol.* ,595 : 197–212.