

Dose-Dependent Effect of Curcumin on Learning and Memory Deficit in Kainate-Epileptic Rats

Kiasalari Z¹, Roghani M^{1*}, Baluchnejadmojarad T², Hasas MJ³

¹ Neurophysiology Research Center, Shahed University, Tehran, Iran

² Department of Physiology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

³ General Practitioner, School of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran

*Corresponding Author: Tel: +982188964792 Fax: +982188966310 E-mail: mehjour@yahoo.com

Received: 7 Feb 2013 Accepted: 7 Aug 2014

ABSTRACT

Background & objectives: Epileptic seizures accompany disturbances in learning, memory, and cognitive skills. With regard to antiepileptic potential of curcumin and its beneficial effect on memory, the effect of its administration on learning and memory in kainate-epileptic rats was investigated.

Methods: Forty male rats were divided into sham, positive control (valproate-treated epileptic), epileptic, and two curcumin-treated epileptic groups. Rat model of epilepsy was induced by unilateral intrahippocampal administration of 4 µg of kainate per rat. Rats received intraperitoneal injection of curcumin (50 and 100 mg/kg) daily for 1 week before surgery. For evaluation of learning and memory, initial (IL) and step-through latencies (STL) were determined using passive avoidance test and alternation behavior percentage was obtained according to Y maze test.

Results: Regarding IL, there was no significant difference between the groups. In contrast, STL significantly decreased in curcumin-50-treated epileptic group ($p<0.05$) (a change from 263.1 to 184.5 s). However, this parameter significantly increased in curcumin-100-treated epileptic group as compared to epileptic group ($p<0.01$) (a change from 263.1 to 220.3 s). In addition, STL was also significantly higher in valproic acid-treated epileptic group versus epileptic group ($p<0.05$) (a change from 145.7 to 210.3 s). Alternation percentage was also significantly higher in curcumin-50- and curcumin-100-treated epileptic groups relative to epileptic group ($p<0.05$) (a change from 60.5 to 77.6 and 80.3%).

Conclusion: Curcumin could dose-dependently enhance the consolidation and recall in epileptic animals and could improve spatial memory in such animals.

Keywords: Curcumin, Valproate, Epilepsy, Seizure, Kainate, Learning, Memory

اثر وابسته به دوز کورکومین بر اختلال یادگیری و حافظه در موش های

صحرائی صرعی شده توسط اسید کاینیک

زهرا کیاسالاری^۱، مهرداد روغنی^{۱*}، توراندخت بلوچ نژاد مجرد^۲، محمد جواد حساس^۳

^۱ مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران ^۲ گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران،

تهران، ایران ^۳ پزشک عمومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

* نویسنده مسئول: تلفن: ۰۲۱۸۸۹۶۴۷۹۲ فاکس: ۰۲۱۸۸۹۶۶۳۱۰ پست الکترونیک: mehjour@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: حملات صرع موجب بروز اختلال در یادگیری و حافظه می گردد. با توجه به اثر ضد تشنجی کورکومین و اثبات اثر آن بر یادگیری و حافظه، در این تحقیق اثر تجویز این ماده بر اختلال یادگیری و حافظه در موش صحرائی صرعی شده توسط اسید کاینیک مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار: ۴۰ موش صحرائی نر به پنج گروه شم، کنترل مثبت (صرعی شده و دریافت کننده ی اسید والپروئیک)، صرعی، و دو زیر گروه صرعی دریافت کننده ی کورکومین تقسیم شدند. برای صرعی نمودن حیوانات از تزریق داخل هیپوکامپی و یک طرفه ی اسید کاینیک به میزان ۴ میکروگرم به ازای هر موش استفاده شد. کورکومین به میزان ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم بطور روزانه و به صورت داخل صفاقی و از یک هفته قبل از جراحی به حیوان تا یک ساعت قبل از جراحی تجویز شد. جهت بررسی یادگیری و حافظه، تأخیر اولیه و تأخیر در حین عبور در آزمون اجتنابی غیر فعال و درصد رفتار تناوب در ماز Y تعیین گردید.

یافته ها: از نظر تأخیر اولیه، تفاوت معنادار بین گروه ها مشاهده نشد. تأخیر در حین عبور در گروه صرعی شده با اسید کاینیک و تحت پیش درمان با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم کورکومین یک کاهش معنی دار در مقایسه با گروه شم نشان داد ($p < 0.05$) (تغییر از ۳۶۳/۱ به ۱۸۴/۵ ثانیه) هر چند که میزان کاهش آن در مقایسه با گروه صرعی شده کمتر بود و این کاهش معنی دار در گروه صرعی شده با اسید کاینیک و تحت پیش درمان با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم کورکومین نسبت به گروه شم مشاهده نشد (تغییر از ۲۶۳/۱ به ۲۲۰/۳ ثانیه) و این پارامتر در این گروه یک افزایش معنی دار نسبت به گروه صرعی نشان داد ($p < 0.01$) (تغییر از ۱۴۵/۷ به ۲۲۰/۳ ثانیه). بعلاوه، این پارامتر در گروه صرعی شده و تحت تیمار با والپروئات در حد معنی دار بیشتر از گروه صرعی شده بود ($p < 0.05$) (تغییر از ۱۴۵/۷ به ۲۱۰/۳ ثانیه). درصد تناوب نیز در گروه صرعی شده با اسید کاینیک و تحت پیش درمان با هر دو دوز کورکومین نسبت به گروه صرعی شده به طور معناداری بیشتر بود ($P < 0.05$) (تغییر از ۶۰/۵ به ۷۷/۶ و ۸۰/۳ درصد).

نتیجه گیری: تجویز کورکومین به صورت وابسته به دوز در حیوانات صرعی موجب بهبود توانایی نگهداری اطلاعات و یادآوری آن ها در آزمون اجتنابی غیر فعال می گردد و موجب بهبود حافظه فضائی در حیوانات صرعی شده می گردد.

کلمات کلیدی: کورکومین، والپروئات، صرع، تشنج، اسید کاینیک، یادگیری، حافظه

دریافت: ۹۱/۱۱/۱۹

پذیرش: ۹۳/۵/۱۶

مقدمه

صرع یک بیماری عصبی مزمن می باشد که به صورت تشنج های مکرر بروز می کند. تشنج های ناشی از صرع به دو نوع موضعی و عمومی تقسیم

بندی می شوند. تظاهرات بالینی صرع موضعی با توجه به منشأ تخلیه های آن شامل نشانه های حسی، حرکتی، اوتونومیک، و روانی می باشد که با حفظ نسبی هوشیاری و یا از دست رفتن هوشیاری است [۲، ۱]. یکی از انواع مهم صرع از دیدگاه بالینی صرع

¹ Epilepsy

سودمند بودن اثر تجویز کورکومین در مدل تجربی صرع القا شده توسط اسید کاینیک در موش صحرایی بر میزان یادگیری و حافظه با استفاده از روش های رفتاری بود.

روش کار

در این تحقیق از موشهای صحرایی نر ویستار در محدوده وزنی ۳۰-۳۴۰ گرم به تعداد ۴۰ مورد برای مطالعه در دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد در سال ۱۳۹۰ استفاده شد و حیوانات بطور تصادفی به ۵ گروه تقسیم شدند. تمام حیوان ها در دمای ۲۲-۲۱ درجه سانتی گراد در گروه های ۳ تا ۴ تایی در هر قفس قرار داده شدند. حیوان ها آزادانه به آب لوله کشی و غذای موش دسترسی داشتند. در ضمن، بررسی بر اساس پروتکلها و دستورالعملهای توصیه شده توسط انستیتوی ملی بهداشت آمریکا (National Institutes of Health) برای نگهداری و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی به انجام رسید.

موشهای صحرایی به تعداد ۴۰ سر بطور تصادفی به ۵ گروه Sham (جراحی کاذب)، کنترل مثبت (صرعی شده و دریافت کننده ی اسید والپروئیک)، صرعی، و دو گروه صرعی دریافت کننده ی کورکومین در دو دوز تقسیم شدند. برای صرعی نمودن حیوانات از اسید کاینیک (سیگما، آمریکا) به میزان ۴ میکروگرم به ازای هر موش حل شده در محلول نرمال سالین تزریق شده به داخل ناحیه CA3 هیپوکامپ سمت راست با مختصات قدامی خلفی: ۴/۳ میلیتر، جانی: ۴ میلی متر، و ونترال ۴/۲ تا ۴/۴ میلی متر زیر سطح جمجمه با استفاده از سرنگ هامیلتون (حجم تزریقی برابر با ۵ میکرولیتر) و به روش استریوتاکسی و بیپوشی با کلرال هیدرات (مرک، آلمان) (۳۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) استفاده شد. گروه شم نیز فقط محلول سالین را با همان حجم دریافت نمود. کورکومین (سیگما، آمریکا) به میزان ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم بطور روزانه و به صورت داخل

لوب گیجگاهی می باشد که فراوانترین صرع موضعی در بزرگسالان محسوب می شود که به درمان های داروئی رایج مقاوم می باشد [۴،۳]. بروز مکرر حملات صرع میزان یادگیری و حافظه را در بیماران مبتلا بطور بارز کاهش می دهد و مبتلایان به صرع لوب گیجگاهی معمولاً دچار مشکلات حافظه ی فضائی و بیانی می شوند [۵-۷]. علیرغم آنکه در دو دهه اخیر پیشرفت های زیادی در خصوص درمان های داروئی برای صرع و عوارض ناشی از آن حاصل شده است و داروهای ضدصرع متعدد به بازار داروئی ارائه شده است ولی حدود یک سوم بیماران کماکان به داروهای رایج پاسخ نداده و مصرف دراز مدت خود داروها نیز عملاً در جلوگیری از پیشرفت بیماری و روند پاتوژنز آن تاثیر محسوسی ندارد [۹،۸].

در طی چند سال اخیر، مواد طبیعی در درمان حفاظتی بیماری های عصبی نظیر صرع بطور روزافزون مورد استفاده قرار گرفته اند [۱۱]. در این خصوص، کورکومین، جزء نارنجی رنگ زردچوبه و پودرکاری و یک پلی فنل است که از قسمت ریزوم این گیاه جدا شده است و به عنوان ماده فعال در طب سنتی به کار می رود. در حال حاضر زرد چوبه و به تبع آن کورکومین موجود در آن در غذا و محصولات غذایی به عنوان یک رنگ زرد طبیعی و اسانس و همچنین به عنوان یک ماده افزودنی مجاز و تایید شده جهت خوش طعم کردن انواع مختلف محصولات خوراکی استفاده می شود. کورکومین در گروه فلاونوئیدها دارای خواص آنتی اکسیدانتی، ضد صرعی در مدل صرع القا شده با پنتیلن تترازول، ماکزیمال الکتروشوک و کیندلینگ الکتریکی می باشد. بعلاوه، اثر آن در بهبود پارامترهای رفتاری در مدل صرع القا شده با اسید کاینیک اثبات شده است [۱۴-۱۰]. با توجه به شباهت بالای مدل صرع القا شده توسط تزریق داخل مغزی اسید کاینیک با روند پاتوژنیک صرع لوب گیجگاهی در انسان و اهمیت بالینی این نوع صرع [۱]، هدف بررسی حاضر تعیین

صفاقی و از یک هفته قبل از جراحی به حیوان تا یک ساعت قبل از جراحی تجویز شد. همین برنامه تجویز در مورد اسید والپروئیک نیز با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وجود داشت. برای حل کردن کورکومین از حلال پروپیلن گلیکول (مرک، آلمان) و برای حل کردن اسیدوالپروئیک از نرمال سالین استفاده شد. حجم تزریق در مورد هر حیوان نیز ۰/۳ میلی لیتر بود. برای تعیین دوز کورکومین از فرانس قبلی در این زمینه استفاده شد [۱۵].

در بیست و چهار ساعت اول پس از جراحی، موشها از نظر رفتار تشنجی بر اساس تقسیم بندی Racine (رتبه بندی از صفر تا پنج) در یک فاصله زمانی چهار ساعته با استفاده از دوربین ثبت رفتار و انتقال داده ها به کامپیوتر مورد ارزیابی دقیق قرار گرفتند. در این خصوص، نمره صفر برای عدم مشاهده پاسخ، نمره یک برای ماتینگ، چشمک زدن، و یا کلونوس صورت در حد خفیف، نمره دو برای تکان دادن سر و یا کلونوس های متعدد در ناحیه سر، نمره سه برای پرش های میوکلونیک در اندام های حرکتی جلو، نمره چهار برای تشنجات کلونیک در اندام حرکتی جلویی و بلند شدن بر روی دو پا، و نمره پنج برای تشنجات کلونیک و سرتاسری در بدن و از دست رفتن تعادل در نظر گرفته شد. در پایان هفته چهارم پس از جراحی، برای ارزیابی یاد گیری و حافظه حیوانات نیز از روش استاندارد رفتار اجتنابی غیرفعال و ماز Y در پایان کار به شرح زیر استفاده شد.

آزمون رفتار اجتنابی غیر فعال

برای بررسی رفتار احتراز غیرفعال، از یک دستگاه به ابعاد ۲۰×۸۰×۲۰ سانتی متر (شامل باکس) دارای یک محفظه روشن و یک محفظه تاریک استفاده شد. از میله های فلزی موجود در کف محفظه تاریک برای شوک دادن به پای حیوان استفاده شد. برای اعمال تحریک به محفظه تاریک، از دستگاه استیمولاتور خاص (بهبودپرداز، تهران) استفاده گردید. بدین منظور، تک تحریکی به شدت یک میلی آمپر و به

مدت یک ثانیه اعمال گردید. در این مطالعه، روش بررسی رفتار احترازی غیرفعال پس از بررسی به شرح زیر بود:

(الف) سازش: در این مرحله، قبل از شروع آزمایش، هر حیوان برای ۲ روز متوالی حداقل به مدت ۵ دقیقه در داخل دستگاه قرار داده شد.

(ب) اکتساب: در این مرحله (روز سوم) حیوان در محفظه تاریک روشن قرار داده می شد و به مدت ۵ دقیقه، این محفظه تاریک نگه داشته می شد. در این مدت درب گیوتینی ارتباط دهنده محفظه روشن و تاریک کاملاً بسته بود. در انتهای دوره، لامپ محفظه روشن شده و درب گیوتینی باز می گردید. به محض باز کردن درب، کورنومتر بکار انداخته می شد و مدت زمانی که طول می کشید تا حیوان از محفظه روشن به محفظه تاریک برود، یادداشت می گردید که این تأخیر اولیه ی زمانی، تحت عنوان تأخیر اولیه یا IL₁ اطلاق گردید (ملاک برای ورود حیوان به محفظه تاریک، عبور اندام های حرکتی پشتی حیوان از درب ارتباط دهنده دو محفظه بود). سپس، درب پایین آورده می شد و یک تک شوک به حیوان وارد می آمد. در پایان کار پس از ۱ دقیقه، حیوان به قفس منتقل می گردید. در ارتباط با این مرحله، موش های باتأخیر اولیه بیشتر از ۶۰ ثانیه از آزمایشات حذف گردیدند.

(ج) نگهداری اطلاعات: این مرحله ۲۴ ساعت پس از مرحله دوم در روز چهارم انجام پذیرفت. این مرحله مشابه مرحله قبل بود با این تفاوت که زمانی که حیوان به محفظه تاریک وارد می شد، هیچ گونه شوکی را دریافت نمی کرد. در این مرحله، تأخیر در حین عبور یا STL اندازه گیری گردید. منظور از تأخیر در حین عبور مدت زمانی است که قبل از آنکه حیوان وارد محفظه تاریک شود، در محفظه روشن باقی می ماند. زمان قطع آزمایش (Cut off) نیز ۴۰ ثانیه در نظر گرفته شد.

آزمون ماز Y

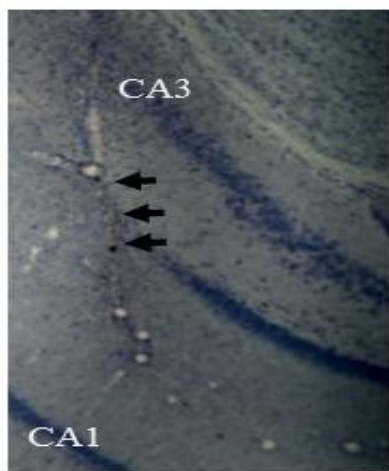
آزمون ماز Y در پایان کار، ۳-۲ روز قبل از تست رفتار اجتنابی انجام پذیرفت. در این ارتباط میزان عملکرد حیوانات از نظر حافظه کاری از طریق مشاهده و اندازه گیری نمودن رفتار تناوب خودبخودی حیوان، در یک جلسه ی کاری مورد بررسی قرار گرفت. ماز مربوط به این آزمون از جنس پلکسی گلاس بود و هر بازو دارای ابعاد $15 \times 30 \times 40$ سانتی متر بود که بازوها از طریق یک محوطه مرکزی به هم متصل می گردیدند. برای انجام آزمون، هر موش صحرایی در قسمت انتهایی یک بازو قرار داده می شد و امکان دسترسی آزاد آن به تمام نواحی ماز در یک پریود زمانی ۸ دقیقه فراهم می گردید. تعداد دفعات ورود حیوان به داخل هر بازو با مشاهده نمودن ثبت می گردید. ورود حیوان به داخل یک بازو زمانی بود که پاهای عقبی حیوان به طور کامل در داخل بازو قرار می گرفت. رفتار تناوب به عنوان ورودهای موفق و پشت سر هم (سریال) به داخل تمام بازوها در مجموعه های سه تایی در نظر گرفته شد. بدین ترتیب درصد تناوب، از نسبت تناوب مشاهده شده به حداکثر تناوب (۲ - تعداد کل بازوهای وارد شده) $\times 100$ محاسبه گردید.

آنالیز آماری

از نظر آماری، تمامی نتایج بصورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد (SEM) بیان گردید. پس از تأیید نرمال بودن توزیع داده ها، از آزمون پارامتریک آنوای یکطرفه و تست تعقیبی توکی برای آنالیز داده های تست رفتاری شامل زمان های تاخیر در آزمون اجتنابی غیر فعال و در صد تناوب در آزمون ماز Y، و نتایج رفتار تشنجی استفاده گردید. برای انجام آنالیز آماری از برنامه SigmaStat نسخه ۳/۵ استفاده شد. در تمام بررسی ها $p < 0.05$ به عنوان سطح معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

شکل ۱ محل تزریق اسید کاینیک بداخل ناحیه CA3 هیپوکمپ در رنگ آمیزی نیسل با استفاده از رنگ کرزیل ویوله را نشان می دهد.



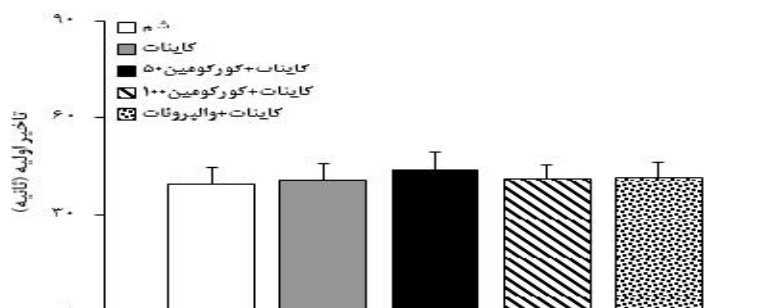
شکل ۱. محل تزریق اسید کاینیک بداخل ناحیه CA3 هیپوکمپ در رنگ آمیزی نیسل با استفاده از رنگ کرزیل ویوله در بزرگنمایی ۱۵۰ برابر.

نمودار ۱ نتایج مربوط به اندازه گیری تأخیر اولیه در آزمون رفتار اجتنابی غیرفعال را در موش های گروه های مختلف نشان می دهد. تأخیر اولیه که خود نشان دهنده توانایی حیوان برای فراگیری رفتار مربوطه است، در گروه های صرعی شده با اسید کاینیک و تحت تیمار با کورکومین و صرعی شده با اسید کاینیک و تحت تیمار با اسید والپروئیک (گروه کنترل مثبت) در مقایسه با گروه کنترل با جراحی کاذب (شم) تفاوت معناداری را نشان نداد.

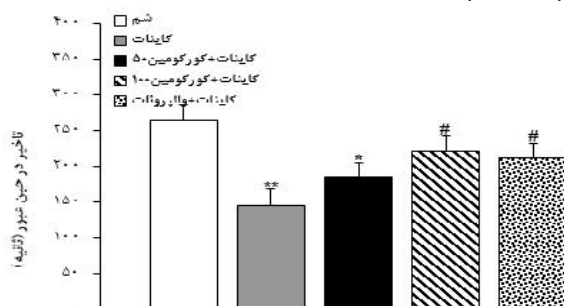
نمودار ۲ نتایج مربوط به اندازه گیری تأخیر در حین عبور را در موش های گروه های مختلف نشان می دهد. تأخیر در حین عبور شاخصی از توانایی حیوان برای تثبیت اطلاعات در انبارهای حافظه و به یاد آوری آن ها می باشد. این پارامتر در گروه صرعی شده با اسید کاینیک بطور معنی داری و بارز نسبت به گروه با جراحی کاذب کم تر بود ($p < 0.01$). بعلاوه، این پارامتر در گروه صرعی شده با اسید کاینیک و تحت پیش تیمار با دوز ۵۰ میلی گرم بر

بعلاوه، تأخیر در حین عبور در گروه صرعی شده و تحت تیمار با والپروئات در حد معنی دار بیشتر از گروه صرعی شده بود ($p < 0.05$) هر چند که افزایش آن در حد مختصر کمتر از گروه صرعی دریافت کننده دوز بالای کورکومین بود. نمودار ۳ عملکرد موش های گروه های مختلف را در آزمون ماز Y نشان می دهد. از این آزمون جهت اندازه گیری حافظه فضایی از نوع باز شناختی استفاده

کیلوگرم کورکومین نیز یک کاهش معنی دار در مقایسه با گروه شم نشان داد ($p < 0.05$) هر چند که میزان کاهش آن در مقایسه با گروه صرعی شده کمتر بود. این کاهش معنی دار در گروه صرعی شده با اسید کاینیک و تحت پیش تیمار با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم کورکومین نسبت به گروه شم مشاهده نشد و این پارامتر در این گروه یک افزایش معنی دار نسبت به گروه صرعی نشان داد ($p < 0.01$).

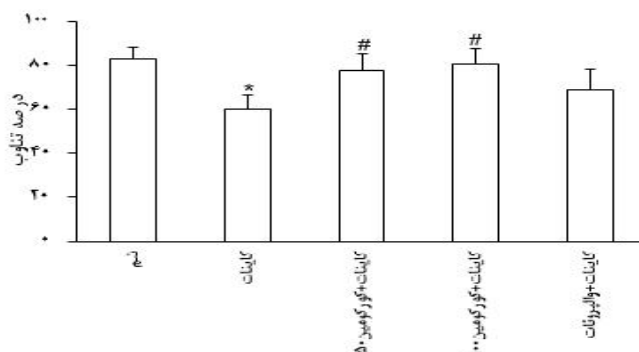


نمودار ۱. میزان تأخیر اولیه در آزمون اجتنابی غیر فعال در موشهای صحرایی کنترل و صرعی تیمار شده با کورکومین در دو دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و والپروئات به میزان ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم پس از گذشت ۳ هفته



نمودار ۲. میزان تأخیر در حین عبور در آزمون اجتنابی غیر فعال در موشهای صحرایی کنترل و تیمار شده با کورکومین در دو دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و والپروئات به میزان ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم پس از گذشت ۳ هفته

* $p < 0.05$ (در مقایسه با گروه کنترل با جراحی کاذب)، ** $p < 0.01$ (در مقایسه با گروه کنترل با جراحی کاذب)، # $p < 0.05$ (در مقایسه با گروه صرعی تیمار نشده)



نمودار ۳. میزان درصد تناوب در آزمون ماز Y در موشهای صحرایی کنترل و صرعی تیمار شده با کورکومین در دو دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و والپروئات به میزان ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم پس از گذشت ۳ هفته

* $P < 0.05$ (در مقایسه با گروه کنترل با جراحی کاذب)، # $p < 0.05$ (در مقایسه با گروه صرعی)

حد چشمگیر بین گروه های مختلف مشاهده نشد که خود به خوبی نشان دهنده آن است که اعمال انجام شده در مورد آن ها به طور محسوسی بر رفتار حرکتی حیوان تأثیر نداشته است.

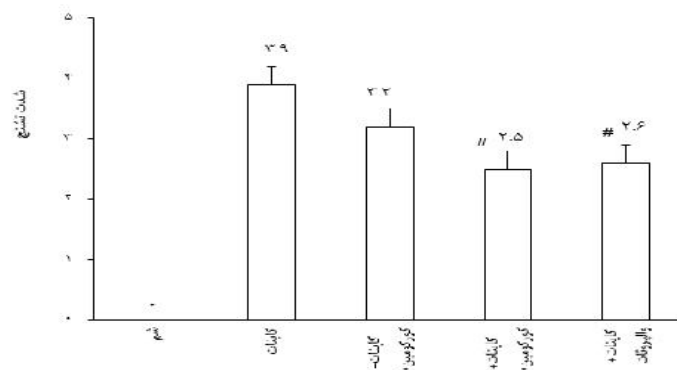
نمودار ۵ نیز نتایج مربوط به کمیت رفتار تشنجی حیوان را بر اساس تقسیم بندی راسین (رتبه بندی از ۰ تا ۵) در بیست و چهار ساعت اول پس از جراحی در گروه های مختلف نشان می دهد. در این خصوص در گروه کنترل با جراحی کاذب عملاً هیچ گونه رفتار تشنجی در حیوانات مشاهده نشد. در گروه صرعی شده با اسید کاینیک یک رفتار تشنجی بارز با نمره ۳/۹ مشاهده شد و پیش تیمار فقط با دوز بالای کورکومین (۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) باعث کاهش معنی دار در رفتار تشنجی حیوانات شد ($p < 0.05$). بعلاوه پیش تیمار با اسید والپروئیک در گروه صرعی شده در مقایسه با گروه پیش تیمار با کورکومین در

می شود. در این خصوص درصد تناوب در گروه صرعی شده با اسید کاینیک بطور معنی دار از گروه کنترل کم تر بود ($P < 0.05$). در گروه صرعی شده با اسید کاینیک و تحت پیش تیمار با هر دو دوز کورکومین این پارامتر نسبت به گروه صرعی به طور معناداری بیشتر بود ($P < 0.05$). از طرف دیگر، تفاوت موجود بین دو گروه صرعی شده با اسید کاینیک و تحت پیش تیمار با اسید والپروئیک و گروه صرعی شده با اسید کاینیک نیز از نظر آماری در حد معنادار نبود و کماکان اختلال حافظه فزائی در این گروه وجود داشت.

نمودار ۴ نتایج مربوط به میزان تحرک حیوان را در آزمون ماز Y در موش های گروه های مختلف نشان می دهد. برای این منظور تعداد کل بازوهای وارد شده در هر جلسه به عنوان شاخصی از میزان تحرک حیوان لحاظ شد. از این نظر عملاً تفاوت معنادار و در



نمودار ۴. میزان رفتار حرکتی حیوان به صورت تعداد کل بازوی وارد شده در آزمون ماز Y در موشهای صحرایی کنترل و صرعی تیمار شده با کورکومین در دو دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و والپروئات به میزان ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم پس از گذشت ۳ هفته



نمودار ۵. شدت رفتار تشنجی بر اساس تقسیم بندی راسین در موشهای صحرایی کنترل و صرعی تیمار شده با کورکومین در دو دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و والپروئات به میزان ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم پس از گذشت ۳ هفته # $p < 0.05$ (در مقایسه با گروه صرعی شده)

دوز بالا نیز تقریباً همان کاهش را از نظر رفتار تشنجی به دنبال داشت بطوریکه اختلاف بین دو گروه صرعی شده و با پیش تیمار والپروئات و گروه صرعی شده نیز از نظر آماری به حد معنی دار رسید ($p < 0.05$).

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که پیش تیمار با کورکومین به صورت وابسته به دوز موجب کاهش یافتن رفتار تشنجی حیوانات در مقایسه با گروه صرعی در حد معنی دار می شود، از نظر تأخیر اولیه، تفاوت معنادار بین گروه ها یافت نشد، تأخیر در حین عبور در گروه صرعی و تحت تیمار با کورکومین به صورت وابسته به دوز نسبت به گروه صرعی شده بطور معنی دار افزایش نشان داد، و تیمار با اسید والپرویک نیز موجب افزایش معنادار آن در مقایسه با گروه صرعی شد، و درصد تناوب که شاخص حافظه فضائی می باشد در گروه صرعی شده و تحت تیمار با کورکومین به صورت وابسته به دوز و بطور معنی دار از گروه صرعی شده بیشتر بود هر چند پیش تیمار با اسید والپروئیک چنین افزایشی را بدنبال نداشت.

در این تحقیق برای ایجاد مدل تجربی صرع از تزریق داخل هیپوکامپی اسید کاینیک استفاده گردید که موجب ایجاد مدل تجربی صرع لب گیجگاهی می گردد [۱۶] که به حالت صرع در انسان بسیار شبیه می باشد [۴]. بروز اختلال یادگیری و حافظه و مشکل شناختی در مدل های تجربی صرع در حیوانات آزمایشگاهی قبلاً مورد تأیید قرار گرفته است [۱۸، ۱۷]. در این خصوص مشخص شده است که در صرع القا شده توسط تزریق داخل صفاقی پنتیلن تترازول به روش کیندلینگ و تجویز در دوزهای افزایش یابنده ماده، نورون های دخیل در یادگیری و حافظه در ناحیه هیپوکامپ (نواحی CA1، CA3، و دنتیت) دچار آسیب شده و همین واقعه در مورد

برخی نورون های آمیگدال و قشر انتورینال نیز رخ می دهد [۱۷] که این می تواند بخشی از اختلالات یادگیری و حافظه را در حالت صرع توجیه نماید. بعلاوه، بروز حالت صرع و حملات تشنجی آن موجب تشدید استرس اکسیداتیو در مغز از جمله در ناحیه هیپوکامپ می گردد که این یکی از دلایل اصلی دژنراسیون نورونها و نقص یادگیری و حافظه در موش های صرعی می باشد [۱۸] که در بررسی ما نیز این اختلال به صورت کاهش زمان تأخیر در حین عبور در آزمون اجتنابی غیر فعال و کاهش حافظه فضائی در آزمون ماز Y خود را نشان داد.

در خصوص اثرات سودمند کورکومین در این بررسی، مشخص شده است که برخی مواد آنتی اکسیدانت قادر به اعمال اثرات ضد صرعی در بدن می باشند [۲۰، ۱۹]. نتایج بررسیهای قبلی نشان می دهد که آنتی اکسیدانت ها از طریق کاهش دادن استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از تشدید تشکیل رادیکال های آزاد اکسیژن در نواحی دخیل در پاتوژنز صرع شامل هیپوکامپ موجب کاهش شدت و احتمال رخداد صرع در حیوانات آزمایشگاهی می گردند [۲۰]. در همین ارتباط مطالعات نشان می دهند که آنتی اکسیدانت ها می توانند از طریق افزایش پایداری غشا های سلولی موجب افزایش مقاومت نورون ها در برابر آسیب اکسیداتیو گردند و از طرفی ظرفیت آنتی اکسیدانتی مغز را در برابر آسیب اکسیداتیو افزایش دهند [۱۹]. همین مکانیسم احتمالاً می تواند در مورد اثرات حفاظتی کورکومین در مدل صرع القا شده توسط اسید کاینیک در این تحقیق نیز مطرح باشد. در همین ارتباط معلوم شده است که در حالت صرع اوتوفازی در برخی نواحی مغز افزایش می یابد و ترکیبات با خاصیت آنتی اکسیدانت می توانند در جهت کاهش اوتوفازی و مرگ نورونی عمل نمایند [۲۱]. بعلاوه، بخشی از اثر سودمند کورکومین را احتمالاً می توان به اثرات نوروپروتکتیو و محافظت

کنندگی آن [۲۲] در جلوگیری از آسیب نوروپاتی های هیپوکامپ بدنبال تزریق اسید کاینیک نسبت داد که این با کاهش دادن شدت اسپروتنینگ فیبرهای موسی در روز های بعد رفتار تشنجی کمتری را بدنبال دارد. این موضوع در مورد اثر بخشی کورکومین در صرع القا شده با پیلوکارپین نیز اثبات شده است [۲۲]. بخشی از نتایج مطالعه ما در خصوص اثر ضد تشنجی کورکومین با نتایج بدست آمده از بررسی آنووادیا و همکاران در سال ۲۰۱۳ مطابقت داشت [۲۳]. در این خصوص محققان اخیر مدل تجربی صرع را با استفاده از اعمال تحریکات الکتریکی (تشنجات القا شده با الکتروشوک ماکزیمال) و یا تزریق داخل صفاقی داروی استاندارد پنتیلن تترازول ایجاد نمودند و مشاهده نمودند که تجویز کورکومین در دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم بطور موثر و معنی دار شدت تشنج ها را کاهش داد. با این وجود، در همین مطالعه کورکومین موجب بهبود نگهداری اطلاعات در انبار حافظه در آزمون بعلاوه ای شکل مرتفع در دوز های استفاده شده نگردید که این با نتایج مطالعه ما مغایرت دارد. همچنین، این محققان نشان دادند که استفاده از داروهای با خاصیت ضد صرعی رایج نظیر فنی توئین و والپروئات موجب تقویت اثر ضد تشنجی کورکومین به فرم سینرژستیک می شود [۲۳]. بخشی از این تفاوت در جواب های بدست آمده را می توان به تجویز از نوع پیش تیمار در بررسی ما نسبت داد به این مفهوم که قبل از ایجاد ضایعه توسط تزریق داخل هیپوکامپی اسید کاینیک، داروی حفاظت عصبی یعنی کورکومین تجویز شده در حالیکه در بررسی آنووادیا و همکاران چنین حالتی مطرح نبوده است. بعلاوه، در مدل صرع ایجاد شده با اسید کاینیک استرس اکسیداتیو نقش مهمی در ایجاد تغییرات پایدار در مدار های عصبی مربوطه دارد لذا پیش تیمار کورکومین با دارا بودن خاصیت ضد استرس اکسیداتیو به خوبی توانسته است جلوی آسیب مغزی را بگیرد.

در خصوص اثرات سودمند کورکومین بر یاد گیری و حافظه در تست اجتنابی غیر فعال و آزمون ماز Y در این بررسی، مشخص شده است که آنتی اکسیدانت ها بعلاوه خاصیت حذف کنندگی رادیکال های آزاد اکسیژن توانائی بهبود یادگیری و حافظه را دارند [۲۴] و احتمالاً کورکومین بخشی از اثرات سودمند خود بر روند یادگیری و حافظه را احتمالاً از این طریق اعمال نموده است. بعلاوه، بخش دیگر از اثر سودمند کورکومین در بررسی حاضر را شاید بتوان به تقویت سیستم کولینرژیک در حضور این آنتی اکسیدانت نسبت داد [۲۵]. در این خصوص مطالعه یاداو و همکارانش در سال ۲۰۱۱ نشان داده است که کورکومین به عنوان یک عامل نوروپروتکتیو قادر است جلوی تضعیف فعالیت سیستم کولینرژیک را بدنبال تجویز سم آرسنیک بگیرد [۲۵]. با توجه به نقش مهم این سیستم در فرآیندهای یادگیری و حافظه در سیستم لیمبیک مغز، شاید بخشی از تاثیر مطلوب کورکومین بر یادگیری و حافظه در این تحقیق از طریق جلوگیری از تضعیف سیستم کولینرژیک و تقویت آن در موش های صرعی شده اعمال شده باشد که این خود به بررسی های بیشتر نیاز خواهد داشت. در همین خصوص، مشخص شده که ایجاد مدل تجربی صرع در حیوانات آزمایشگاهی با گذشت زمان موجب تضعیف عملکردی سیستم کولینرژیک مرتبط با یادگیری و حافظه می گردد و تجویز آنتی اکسیدانت ها احتمالاً می تواند سطح فعالیت این سیستم را به سمت نرمال تغییر دهد [۲۶، ۲۵] که این در مورد کورکومین هم می تواند رخ داده باشد. بنابراین، ماده اخیر احتمالاً از طریق تشدید فعالیت سیستم کولینرژیک و بهبود متابولیسم میانجی های عصبی موجب بهبود یادگیری و حافظه و حافظه فضائی در این بررسی شده است. بعلاوه، در مطالعه حاضر، تجویز کورکومین اثرات بهبود دهنده خود بر یادگیری و حافظه را در دوز بالاتر

¹ Yadav

۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم اعمال نمود و در دوز پائین ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم چنین اثر معنی داری بجا گذاشت که این به خوبی نشاندهنده اثرات وابسته به دوز این ماده می باشد.

بهبود حافظه فضائی در حیوانات صرعی شده می گردد.

تقدیر و تشکر

پژوهش حاضر حاصل پایان نامه دانشجوی پزشکی محمد جواد حساس مصوب معاونت پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد در سال ۱۳۹۰ می باشد و با حمایت مالی این دانشگاه به انجام رسیده است که بدینوسیله تشکر می گردد.

نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان می دهد که تجویز کورکومین به صورت وابسته به دوز در حیوانات صرعی شده با تزریق داخل هیپوکمپی اسید کاینیک موجب بهبود توانایی نگهداری اطلاعات و یادآوری آنها در آزمون اجتنابی غیرفعال می گردد و موجب

References

- 1- Dichter MA. Emerging concepts in the pathogenesis of epilepsy and epileptogenesis. Arch Neurol. 2009 Apr; 66(4):443-447.
- 2- Riviello JJ. Classification of seizures and epilepsy. Curr Neurol Neurosci Rep. 2003 Jul; 3(4):325-31.
- 3- Banerjee PN, Filippi D, Allen Hauser W. The descriptive epidemiology of epilepsy-a review. Epilepsy Res. 2009 Jul; 85(1):31-45.
- 4- McHugh JC, Delanty N. Epidemiology and classification of epilepsy: gender comparisons. Int Rev Neurobiol. 2008 Jan; 83(1):11-26.
- 5- Schwarcz R, Witter MP. Memory impairment in temporal lobe epilepsy: the role of entorhinal lesions. Epilepsy Research. 2002 Jun; 50(1-2):161-177.
- 6- Gonzalez LM, Mahdavi N, Anderson VA, Harvey AS. Changes in memory function in children and young adults with temporal lobe epilepsy: a follow-up study. Epilepsy Behav. 2012 Mar; 23(3): 213-9.
- 7- Chauvière L, Raftafi N, Thinus-Blanc C, Bartolomei F, Esclapez M, Bernard C. Early deficits in spatial memory and theta rhythm in experimental temporal lobe epilepsy. J Neurosci. 2009 Mar; 29(17): 5402-10.
- 8- Beghi E. Treating epilepsy across its different stages. Ther Adv Neurol Disord. 2010 Mar; 3(2):85-92.
- 9- Kim HG, Oh MS. Natural products as potential anticonvulsants: caffeoylquinic acids. Arch Pharm Res. 2012 Mar; 35(3): 389-92.
- 10- Mehla J, Reeta KH, Gupta P, Gupta YK. Protective effect of curcumin against seizures and cognitive impairment in a pentylenetetrazole-kindled epileptic rat model. Life Sci. 2010 Nov; 87(19-22): 596-603.
- 11- Gupta YK, Briyal S, Sharma M. Protective effect of curcumin against kainic acid induced seizures and oxidative stress in rats. Indian J Physiol Pharmacol. 2009 Jan-Mar; 53(1): 39-46.
- 12- Du P, Li X, Lin HJ, Peng WF, Liu JY, Ma Y, et al. Curcumin inhibits amygdaloid kindled seizures in rats. Chin Med J. 2009 Jun; 122(12): 1435-8.
- 13- Jyoti A, Sethi P, Sharma D. Curcumin protects against electrobehavioral progression of seizures in the iron-induced experimental model of epileptogenesis. Epilepsy Behav. 2009 Feb; 14(2):300-8.

- 14- Bharal N, Sahaya K, Jain S, Mediratta PK, Sharma KK. Curcumin has anticonvulsant activity on increasing current electroshock seizures in mice. *Phytother Res*. 2008 Dec; 22(12):1660-4.
- 15- Kiasalari Z, Roghani M, Khalili M, Rahmati B, Baluchnejadmojarad T. Antiepileptogenic effect of curcumin on kainate-induced model of temporal lobe epilepsy. *Pharm Biol*. 2013 Dec; 51(12):1572-8.
- 16- Giblin KA, Blumenfeld H. Is epilepsy a preventable disorder new evidence from animal models. *Neuroscientist*. 2010 Jun; 16(3):253-75.
- 17- Nassiri-Asl M, Mortazavi SR, Samiee-Rad F, Zangivand AA, Safdari F, Saroukhani S. The effects of rutin on the development of pentylenetetrazole kindling and memory retrieval in rats. *Epilepsy Behav*. 2010 May; 18(1-2):50-53.
- 18- Uzüm G, Akgün-Dar K, Aksu U. The effects of atorvastatin on memory deficit and seizure susceptibility in pentylenetetrazole-kindled rats. *Epilepsy Behav*. 2010 Nov; 19(3):284.
- 19- Júnior JS, de Almeida AA, Tomé Ada R, Citó AM, Saffi J, de Freitas RM. Evaluation of possible antioxidant and anticonvulsant effects of the ethyl acetate fraction from *Platoniainsignis* Mart. (Bacuri) on epilepsy models. *Epilepsy Behav*. 2011 Dec; 22(4):678-84.
- 20- Costello DJ, Delanty N. Oxidative injury in epilepsy: potential for antioxidant therapy. *Expert Rev Neurother*. 2004 May; 4(3):541-53.
- 21- Wang J, Zhang YJ, Du S. The protective effect of curcumin on A β induced aberrant cell cycle reentry on primary cultured rat cortical neurons. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2012 Apr; 16(4): 445-54.
- 22- Ezz HS, Khadrawy YA, Noor NA. The neuroprotective effect of curcumin and *Nigella sativa* oil against oxidative stress in the pilocarpine model of epilepsy: a comparison with valproate. *Neurochem Res*. 2011 Nov; 36(11): 2195-204.
- 23- Anovadiya1 AP, Sanmukhani JJ, Vadgama VK, Tripathi CB. Evaluation of antiepileptic and memory retention activity of curcumin per se and in combination with antiepileptic drugs. *Asian J Pharm Clin Res*. 2013 Jun; 6(2): 145-148.
- 24- Scaini G, Teodorak BP, Jeremias IC, Morais MO, Mina F, Domingui D. Antioxidant administration prevents memory impairment in an animal model of maple syrup urine disease. *Behav Brain Res*. 2012 May; 231(1): 92-6.
- 25- Yadav RS, Chandravanshi LP, Shukla RK, Sankhwar ML, Ansari RW, Shukla PK. Neuroprotective efficacy of curcumin in arsenic induced cholinergic dysfunctions in rats. *Neurotoxicology*. 2011 Dec; 32(6): 760-8.
- 26- Cunha GM, Farias PA, Viana GS. Evidence for the involvement of the muscarinic cholinergic system in the central actions of pentoxifylline. *Behav Pharmacol*. 2002 Mar; 13(2):149-56.