

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

Kiasalari Z<sup>1</sup>, Roghani M<sup>1\*</sup>, Baluchnejadmojarad T<sup>2</sup>, Hasas MJ<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Neurophysiology Research Center, Shahed University, Tehran, Iran

<sup>2</sup> Department of Physiology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>3</sup> Geneal 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 موش‌های صحرایی صرعی شده توسط اسید کائینیک

زهراء کیاسالاری<sup>۱</sup>، مهدداد روغنی<sup>\*</sup>، توراندخت بلوج نژاد مجرد<sup>۲</sup>، محمد جواد حساس<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران <sup>۲</sup> گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران،

تهران، ایران <sup>۳</sup> پزشک عمومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

\*نویسنده مسئول: تلفن: ۰۲۱۸۸۹۶۴۷۹۲ . فاکس: ۰۲۱۸۸۹۶۶۳۱ . پست الکترونیک: mehjour@yahoo.com

### چکیده

**زمینه و هدف:** حملات صرع موجب بروز اختلال در یادگیری و حافظه می‌گردد. با توجه به اثر ضدتشنجی کورکومین و اثبات اثر آن بر یادگیری و حافظه، در این تحقیق اثر تجویز این ماده بر اختلال یادگیری و حافظه در موش صحرایی صرعی شده توسط اسید کائینیک مورد بررسی قرار گرفت.

**روش کار:** ۴۰ موش صحرایی نر به پنج گروه شم، کنترل مثبت (صرعی شده و دریافت کننده اسید والپروئیک)، صرعی، و دو زیر گروه صرعی دریافت کننده کورکومین تقسیم شدند. برای صرعی نمودن حیوانات از تزریق داخل هیپوکامپی و یک طرفه اسید کائینیک 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 هفتۀ 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 غیرفعال و درصد رفتار تناوب در ماز ۷ تعیین گردید.

**یافته‌ها:** از نظر تأخیر اولیه، تفاوت معنادار بین گروه‌ها مشاهده نشد. تأخیر در حین عبور در گروه صرعی شده با اسید کائینیک و تحت پیش درمان با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم کورکومین یک کاهش معنی دار در مقایسه با گروه شم نشان داد ( $p < 0.05$ ) (تفییر از ۱/۲۶۳ به ۰/۱۸۴) 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 کائینیک و تحت پیش درمان با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم کورکومین نسبت به گروه شم مشاهده نشد (تفییر از ۱/۲۶۳ به ۰/۱۴۵) (تفییر از ۰/۰۷ به ۰/۰۲۰) این پارامتر در این گروه یک افزایش معنی دار نسبت به گروه صرعی نشان داد (تفییر از ۰/۰۱ به ۰/۰۲۲) (تفییر از ۰/۰۷ به ۰/۰۲۰). این پارامتر در گروه صرعی شده و تحت تیمار با والپروئات در حد معنی دار بیشتر از گروه صرعی شده بود ( $p < 0.05$ ) (تفییر از ۰/۰۱ به ۰/۰۷) درصد تناوب نیز در گروه صرعی شده با اسید کائینیک و تحت پیش درمان با هر دو دوز کورکومین نسبت به گروه صرعی شده به طور معناداری بیشتر بود ( $p < 0.05$ ) (تفییر از ۰/۰۵ به ۰/۰۶) (تفییر از ۰/۰۷ به ۰/۰۷) (درصد).

**نتیجه‌گیری:** تجویز کورکومین به صورت وابسته به دوز در حیوانات صرعی موجب بهبود توانایی نگهداری اطلاعات و یادآوری آن‌ها در آزمون اجتنابی غیرفعال می‌گردد و موجب بهبود حافظه فضائی در حیوانات صرعی شده می‌گردد.

**کلمات کلیدی:** کورکومین، والپروئات، صرع، تشنج، اسید کائینیک، یادگیری، حافظه

دريافت: ۹۱/۱۱/۱۹ پذيرش: ۹۳/۵/۱۶

**مقدمه**  
بندي می‌شوند. ظاهرات باليني صرع موضعی با توجه به منشاء تخلیه‌های آن شامل نشانه‌های حسی، حرکتی، اوتونومیک، و روانی می‌باشد که با حفظ نسبی هوشیاری و یا از دست رفتن هوشیاری است [۲،۱]. یکی از انواع مهم صرع از دیدگاه بالینی صرع

صرع یک بیماری عصبی مزمن می‌باشد که به صورت تشنج‌های مکرر بروز می‌کند. تشنج‌های ناشی از صرع به دو نوع موضعی و عمومی تقسیم

<sup>۱</sup> 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 موش های صحرایی نر ویستار در محدوده وزنی ۳۴۰-۳۰۰ گرم به تعداد ۴ 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 ۲۱-۲۲ 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 پرتوکلها و دستورالعمل های توصیه شده توسط انسیتیوی ملی بهداشت آمریکا (National Institutes of Health) برای نگهداری و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی به انجام رسید.

موش های صحرایی به تعداد ۴۰ سر بطور تصادفی به ۵ گروه Sham (جراحی کاذب)، کنترل مثبت (صرعی شده و دریافت کننده ای اسید والپرولیک)، صرعی، و دو گروه صرعی دریافت کننده کورکومین در دو دوز تقسیم شدند. برای صرعی نمودن حیوانات از اسید کاینیک (سیگما، آمریکا) به میزان ۴ میکرو گرم به ازای هر موش حل شده در محلول نرمال سالین تزریق شده به داخل ناحیه CA3 هیپو کامپ سمت راست با مختصات قدامی خلفی: ۴/۳ میلیمتر، جانبی: 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 بیهوشی با کلرال هیدرات (مرک، آلمان) به ۳۵۰ میلی گرم بر کیلو گرم) 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 کیلو گرم 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 [۴,۵]. 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 ای فضائی و بیانی می شوند [۶-۷]. 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 عملأ در جلوگیری از پیشرفت بیماری و روند پاتوژنی آن تاثیر محسوسی ندارد [۸,۹].

در طی چند سال اخیر، مواد طبیعی در درمان حفاظتی بیماری های عصبی نظری صرع بطور روزافزون مورد استفاده قرار گرفته اند [۱۱]. در این خصوص، کورکومین، جزء نارنجی رنگ زرد چوبه و پودر کاری 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 فلاونوئید ها دارای خواص آنتی اکسیدانتی، ضد صرعی در مدل صرع القا شده با پنتیلن تترازول، ماکریمال الکتروشوک و کیندلینگ الکتریکی می باشد. بعلاوه، اثر آن در بهبود پارامترهای رفتاری در مدل صرع القا شده با اسید کاینیک اثبات شده است [۱۰-۱۴]. 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

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 محفظه‌ی روشن قرار داده می‌شد و به مدت ۵ دقیقه، این محفظه تاریک نگه داشته می‌شد. 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 می‌گردید. به محض باز کردن در، کورنومتر بکار اندخته می‌شد و مدت زمانی که طول می‌کشید تا حیوان از محفظه روشن به محفظه تاریک ببرود، یادداشت می‌گردید که این تأخیر اولیه‌ی زمانی، تحت عنوان تأخیر اولیه یا II اطلاق گردید (ملاک برای ورود حیوان به محفظه‌ی تاریک، عبور اندام‌های حرکتی پشتی حیوان از درب ارتباط دهنده دو محفظه بود). سپس، درب پایین آورده می‌شد و یک تک شوک به حیوان وارد می‌آمد. در پایان کار پس از ۱ دقیقه، حیوان به قفس منتقل می‌گردید. در ارتباط با این مرحله، موش‌های 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 می‌شد، هیچ گونه شوک را دریافت نمی‌کرد. 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 می‌ماند. زمان قطع آزمایش (Cut off) نیز ۴۰۰ ثانیه در نظر گرفته شد.

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 کیلو گرم وجود داشت. برای حل کردن کورکومین از حلal پروپیلن گلیکول (مرک. آلمان) و برای حل کردن اسیدوالپروئیک از نرمال سالین استفاده شد. حجم تزریق در مورد هر حیوان نیز  $\frac{۳}{۰} \cdot ۰$  میلی لیتر بود. برای تعیین دوز کورکومین از رفرانس قبلی در این زمینه استفاده شد [۱۵].

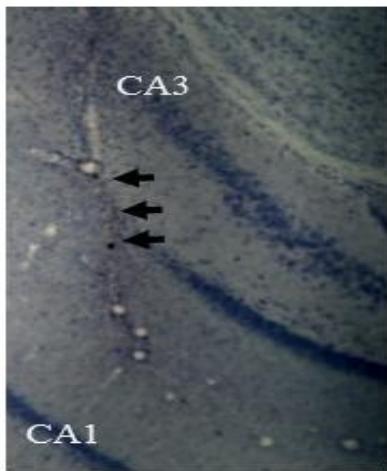
در بیست و چهار ساعت اول پس از جراحی، موشها از نظر رفتار تشنجی بر اساس تقسیم بندی Racine (رتبه بندی از صفر تا پنج) در یک فاصله زمانی چهار ساعته با استفاده از دوربین ثبت رفتار و انتقال داده ها به کامپیوتر مورد ارزیابی دقیق قرار گرفتند. در این خصوص، نمره صفر برای عدم مشاهده پاسخ، نمره یک برای مانتنینگ، چشمک زدن، و یا کلونوس صورت در حد خفیف، نمره دو برای تکان دادن سر و یا کلونوس‌های متعدد در ناحیه سر، نمره سه برای پرش‌های میوکلونیک در اندام‌های 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 ۷ در پایان کار به شرح زیر استفاده شد.

### آزمون رفتار اجتنابی غیرفعال

برای بررسی رفتار احتراز غیرفعال، از یک دستگاه به ابعاد  $۲۰ \times ۸۰ \times ۲۰$  سانتی متر (شاتل باکس) دارای یک محفظه روشن و یک محفظه تاریک استفاده شد. از میله‌های فلزی موجود در کف محفظه تاریک برای شوک دادن به پای حیوان استفاده شد. برای اعمال تحریک به محفظه‌ی تاریک، از دستگاه استیمولاپور خاص (بیبو دپرداز، تهران) استفاده گردید. بدین منظور، تک تحریکی به شدت یک میلی آمپر و به

### یافته ها

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



شکل ۱. محل تزریق اسید کاینیک بداخل ناحیه CA3 هیپوکمپ در رنگ آمیزی نیسل با استفاده از رنگ کرزیل ویوله در بزرگنمایی ۱۵ $\times$  برابر.

نمودار ۱ نتایج مربوط به اندازه گیری تأخیر اولیه در آزمون رفتار اجتنابی غیرفعال را در موش‌های گروه‌های مختلف نشان می‌دهد. تأخیر اولیه که خود نشان دهنده توانایی حیوان برای فراگیری رفتار مربوطه است، در گروه‌های 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 موش‌های گروه‌های مختلف نشان می‌دهد. تأخیر در حین عبور شاخصی از توانایی حیوان برای تثبیت اطلاعات در انباههای حافظه و به یاد آوری آن‌ها می‌باشد. 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

### آزمون ماز Y

آزمون ماز Y در پایان کار، ۲-۳ 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 جلسه‌ی 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 می‌گردیدند. برای انجام آزمون، هر موش صحرایی در قسمت انتهایی یک بازو قرار داده می‌شد و امکان دسترسی آزاد آن به تمام نواحی ماز در یک پریود زمانی ۸ دقیقه فراهم می‌گردید. تعداد دفعات ورود حیوان به داخل هر بازو با مشاهده نمودن ثبت می‌گردید. ورود حیوان به داخل یک بازو زمانی بود که پاهای عقبی حیوان به طور کامل در داخل بازو قرار می‌گرفت. رفتار تناوب به عنوان ورودهای موفق و پشت سر هم (سریال) به داخل تمام بازوها در مجموعه‌های سه تایی در نظر گرفته شد. بدین ترتیب درصد تناوب، از نسبت تناوب مشاهده شده به حداقل تناوب (۲ - تعداد کل بازوهای وارد شده)  $\times 100$  محاسبه گردید.

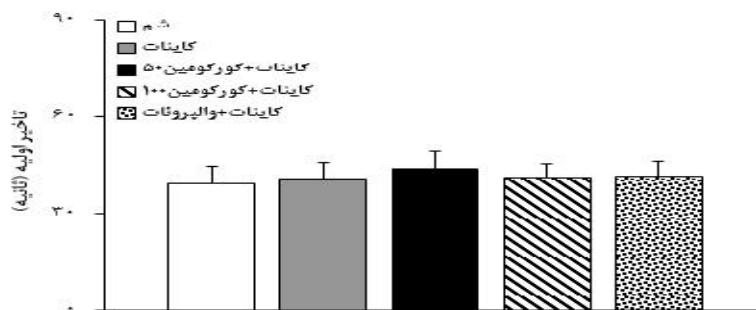
### آنالیز آماری

از نظر آماری، تمامی نتایج بصورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد (SEM) بیان گردید. پس از تائید نرمال بودن توزیع داده‌ها، از آزمون پارامتریک آنواروای یکطرفه و تست تعقیبی توکی برای آنالیز داده‌های نسبت رفتاری شامل زمان‌های تأخیر در آزمون اجتنابی غیرفعال و درصد 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 بررسی‌ها  $p < 0.05$  به عنوان سطح معنی دار در نظر گرفته شد.

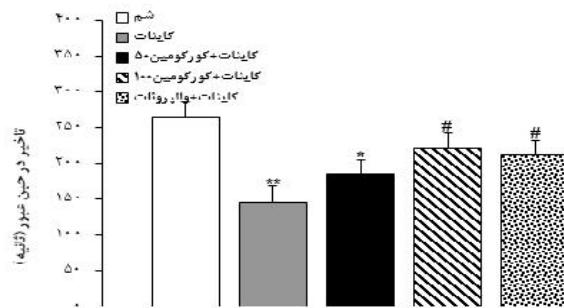
بعلاوه، تأخیر در حین عبور در گروه صرعی شده و تحت تیمار با والپروریات در حد معنی دار بیشتر از گروه صرعی شده بود ( $p < 0.05$ ) هر چند که افزایش آن در حد مختصر کمتر از گروه صرعی شده دریافت کننده دوز بالای کورکومین بود.

نمودار ۳ عملکرد موش های گروه های مختلف را در آزمون ماز ۷ نشان می دهد. از این آزمون جهت اندازه گیری حافظه فضایی از نوع باز شناختی استفاده

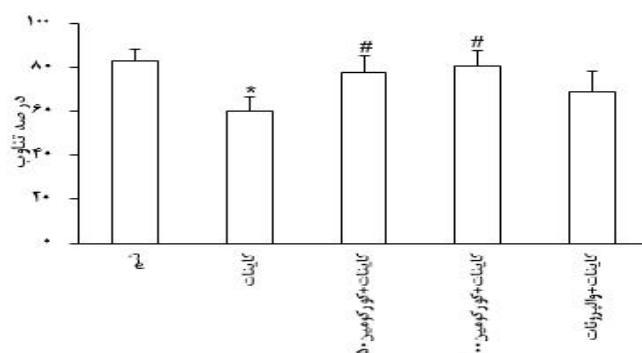
کیلوگرم کورکومین نیز یک کاهش معنی دار در مقایسه با گروه شم نشان داد ( $p < 0.05$ ) هر چند که میزان کاهش آن در مقایسه با گروه صرعی شده کمتر بود. این کاهش معنی دار در گروه صرعی شده با اسید کائینیک و تحت پیش تیمار با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم کورکومین نسبت به گروه شم مشاهده نشد و این پارامتر در این گروه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



نمودار ۱. میزان تأخیر اولیه در آزمون اجتنابی غیر فعال در موش های صحرایی کنترل و صرعی تیمار شده با کورکومین در دو دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و والپروریات 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 موش های صحرایی کنترل و تیمار شده با کورکومین در دو دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و والپروریات 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)



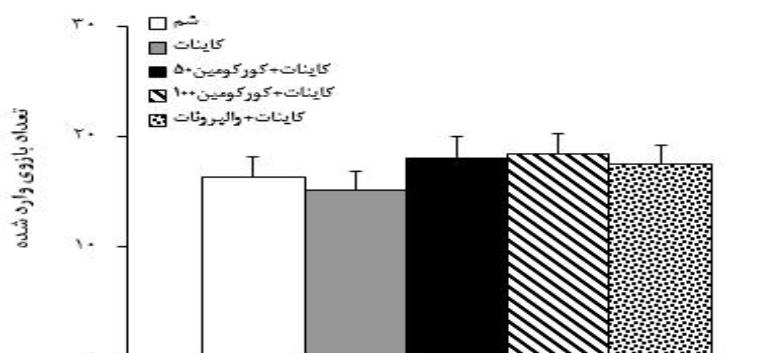
نمودار ۳. میزان درصد تناوب در آزمون ماز ۷ در موش های صحرایی کنترل و صرعی تیمار شده با کورکومین در دو دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و والپروریات به میزان ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم پس از گذشت ۳ هفته  
\* $p < 0.05$  (در مقایسه با گروه کنترل با جراحی کاذب) # $p < 0.05$  (در مقایسه با گروه صرعی)

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.

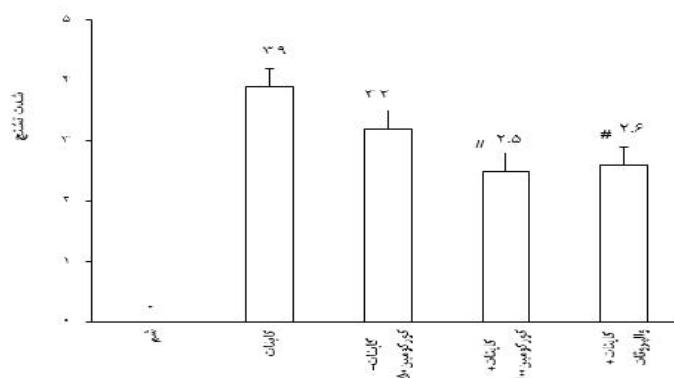
نمودار ۵ نیز نتایج مربوط به کمیت رفتار تشنجی حیوان را بر اساس تقسیم بندی راسین (رتبه بندی از ۰ تا ۵) در بیست و چهار ساعت اول پس از جراحی در گروه های مختلف نشان می دهد. در این خصوص در گروه کنترل با جراحی کاذب عملًا هیچ گونه رفتار تشنجی در حیوانات مشاهده نشد. در گروه صرعی شده با اسید کاینیک یک رفتار تشنجی 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 فضائی در این گروه وجود داشت.

نمودار ۶ نتایج مربوط به میزان تحرک حیوان را در آزمون ماز ۷ در موش های گروه های مختلف نشان می دهد. برای این منظور تعداد کل بازو های وارد شده در هر جلسه به عنوان شاخصی از میزان تحرک حیوان لحاظ شد. از این نظر عملًا تفاوت معنادار و در



نمودار ۴. میزان رفتار حرکتی حیوان به صورت تعداد کل بازوی وارد شده در آزمون ماز ۷ در موش های صحرایی کنترل و صرعی تیمار شده با کورکومین در دو دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و والپروئیک به میزان ۲۰۰ میلی گرم پس از گذشت ۳ هفته



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

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 دلائل 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 فعلی و کاهش حافظه فضائی در آزمون ماز ۷ 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 [۱۹، ۲۰]. نتایج بررسیهای قبلی نشان می دهد که آنتی اکسیدانت ها از طریق کاهش دادن استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لبیبدی 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 اوتوفاژی در برخی نواحی مغز افزایش می یابد و ترکیبات با خاصیت آنتی اکسیدانت می توانند در هیبت کاهش اوتوفاژی و مرگ نورونی عمل نمایند [۲۱]. بعلاوه، بخشی از اثر سودمند کورکومین را احتمالاً می توان به اثرات نوروپروتکتیو و محافظت

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 والپروئیت 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 والپروئیک 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 بدبیال 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 CA3، CA1، و Dentitit) دچار آسیب شده و همین واقعه در مورد

در خصوص اثرات سودمند کورکومین بر یادگیری و حافظه در تست اجتنابی غیر فعال و آزمون ماز ۷ در این بررسی، مشخص شده است که آنتی اکسیدانت ها بعلت 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 نوروپرتوکنیو 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 گی خود بر یادگیری و حافظه را در دوز بالاتر

کنندگی آن [۲۶] در جلوگیری از آسیب نورون های هیپوکامپ بدنبال تزریق اسید کاینیک نسبت داد که این با کاهش دادن شدت اسپروتینگ فیبرهای موسی در روز های بعد رفتار تشنجی کمتری را بدنبال دارد. این موضوع در مورد اثر بخشی کورکومین در صرع الا 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 آنوفوادیا و همکاران در سال ۲۰۱۳ مطابقت داشت [۲۳]. در این خصوص محققان اخیر مدل تجربی صرع را با استفاده از اعمال تحریکات الکتریکی (تشنجات الا شده با الکتروشوک ماکزیمال) و یا تزریق داخل صفاقی داروی استاندارد پنتیلین تترازول ایجاد نمودند و مشاهده نمودند که تجویز کورکومین در دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم 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 نظری فنی توئین و والپروئات موجب تقویت اثر ضد تشنجی کورکومین به فرم سینترژیستیک 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 هیپوکامپ اسید کاینیک، داروی حفاظت عصبی یعنی کورکومین تجویز شده در حالیکه در بررسی آنوفوادیا 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.

<sup>۱</sup> Yadav

ببود حافظه فضائی در حیوانات صرعی شده می‌گردد.

### تقدیر و تشکر

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

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

### نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که تجویز کورکومین به صورت وابسته به دوز در حیوانات صرعی شده با تزریق داخل هیپوکمپی اسید کاینیک موجب ببود توانایی نگهداری اطلاعات و یادآوری آنها در آزمون اجتنابی غیرفعال می‌گردد 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, Rafrati 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 *Platonia insignis* 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 $\beta$  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- Anovadiya 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, Dominguini 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.