Qom University of Medical Sciences Journal

2023. Volume 17

Research Paper

Effect of Curcumin on Hippocampal Cell Death in Rats With Methamphetamine-induced Neurotoxicity

Mahbobe Hadi Zade Bazaz[1], *Gholamhassan Vaezi[1], Mehdi Khaksari[2], Vida Hojati[1]

1. Department of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran.
2. Department of Physiology, Faculty of Medicine, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.

Use your device to scan and read the article online

Citation Hadi Zade Bazaz M, Vaezi Gh, Khaksari M, Hojati V. [Effect of Curcumin on Hippocampal Cell Death in Rats With Methamphetamine-induced Neurotoxicity (Persian)]. Qom Univ Med Sci J. 2023; 17:E2821.1. https://doi.org/10.32598/qums.17.2821.1

https://doi.org/10.32598/qums.17.2821.1

Received: 03 Feb 2023

Accepted: 06 Aug 2023

Available Online: 29 Dec 2023

Keywords:
Curcumin, Neurotoxicity, Methamphetamine

ABSTRACT

Background and Objectives Methamphetamine (METH) is widely used as a psychostimulant. Neurotoxicity is one of the side effects of METH. Curcumin is effective against nerve damage due to its antioxidant and anti-inflammatory effects. In this study, we aim to assess the effects of curcumin on cognitive memory and cell death in the hippocampus of rats with neurotoxicity induced by METH.

Methods In this study, 60 male Wistar rats were divided into the following groups: Control (n=12), negative control (n=12, received dimethyl sulfoxide), positive control (n=12, received METH), METH+100 mg/kg curcumin (n=12), and METH+200 mg/kg curcumin (n=12). Neurotoxicity was induced by 40 mg/kg METH injected intraperitoneally 4 times (once per two hours). Curcumin treatment was done for 7 consecutive days after the last injection of METH. One day after the last curcumin injection, cognitive memory in the hippocampus of rats was assessed using the object recognition test. Nissl staining was used to assess cell death. The data analysis was done in GraphPad Prism software, version 6.

Results Administration of curcumin with a dose of 200 mg/kg significantly reduced the cognitive impairment and increased necrotic cell death.

Conclusion Curcumin can improve cognitive memory and increase cell death in the hippocampus of rats with METH-induced neurotoxicity.

**** Corresponding Author:***
Gholamhassan Vaezi, PhD
Address: Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran.
Tel: +98 (912) 9178644
E-Mail: gh.vaezi@damghaniau.ac.ir

Copyright © 2023 Qom University of Medical Sciences.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license(https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).
Noncommercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

Extended Abstract

Introduction

Methamphetamine (METH) is a narcotic drug that can affect the monoamine neurotransmitter system of the brain, causing a feeling of increased energy and euphoria. METH is used worldwide as a psychostimulant. Oxidative stress and irritant toxicity are among the side effects of this drug. METH enters the neuronal terminals via dopamine or serotonin transporters (dopamine transferase or serotonin transferase) and replaces with intracellular and vesicular dopamine and serotonin. These replaced amines are oxidized to reactive oxygen species through autoxidation or by monoamine oxidase. By increasing the production of oxygen-derived free radicals through NO and H_2O, necrotic cell death occurs. METH causes the death of neurons through the production of free radicals and the induction and activation of mitochondrial-dependent apoptotic cascades.

Turmeric (*Curcuma longa*) is a plant belonging to the Zingiberaceae family. Curcumin is a polyphenol extracted from the rhizome of this plant. This chemical compound has anti-inflammatory, antiviral, antifungal, anticancer and neuroprotective effects. It can improve Alzheimer's and Parkinson's diseases, epilepsy, cerebral ischemia, and depression, and also reduces the brain damage caused by stroke. In this study, we aim to investigate the effect of curcumin administration on cognitive impairment and cell death in the hippocampus region of rats with METH-induced neurotoxicity.

Methods

In this study, 60 adult male Wistar and inbred rats with an approximate weight of 200-250 grams were used and divided into five groups.

Group 1: Control (n=12, without any treatment);

Group 2: Negative control (n=12, received 0.5 mL of dimethyl sulfoxide 5%, intraperitoneally) for 7 days;

Group 3: Positive control (n=12, received 40 mg/kg METH intraperitoneally, 10 mg/kg in 4 consecutive doses at an interval of two hours);

Group 4: METH+100 mg/kg curcumin (n=12, received 40 mg/kg METH+100 mg/kg curcumin intraperitoneally for 7 consecutive days);

Group 5: METH+200 mg/kg curcumin (n=12, received 40 mg/kg METH+200 mg/kg curcumin with a dose of 200 mg/kg intraperitoneally for 7 consecutive days).

After the 7th day, the rats were examined by the object recognition test at two phases of familiarization and recall test, which is done 24 hours later. In the familiarization phase, the rat was allowed to explore two identical objects for 5 minutes, and the total time spent exploring each object was recorded. In the recall phase, one new object was replaced with one of the old objects. Then, the rat was placed in the device for 5 minutes and the time spent exploring each object and the total time spent exploring both objects were recorded. The index for evaluating cognitive memory was determined by obtaining the difference in exploration time for new and old objects divided by the total time spent for the exploration of both objects. After performing the memory test, the cell death rate by necrosis in the CA1 region of the right hippocampus in rats was evaluated by Nissl staining method. Only the irregular and dark cells that had no clear nuclei were considered as dead cells and were counted. The obtained results were expressed as Mean±SD. Data analysis was performed in GraphPad Prism software, version 6. One-way analysis of variance was used to evaluate differences between the study groups, followed by Bonferroni and Tukey post hoc tests and two-way repeated measures ANOVA. $P<0.05$ was considered statistically significant.

Results

Based on the results, the cognitive memory performance of rats exposed to METH was lower compared to the control group ($P<0.001$). The cognitive memory of rats in the group treated with 100 mg of curcumin increased compared to the METH group, but it was not significant; however, the use of 200 mg curcumin with caused a significant increase in performance compared to the MET group ($P<0.01$). Regarding the total exploration time, no significant difference was observed neither between the METH and control groups, nor between the METH group and the groups treated with curcumin.

Since the treatment with curcumin increased the exploration of new object, and resulted in an increase in cognitive memory performance, it can be said that curcumin has therapeutic effects on the cognitive impairment caused by METH. The results of Nissl staining showed that necrotic cell death in the hippocampus CA1 region in the group that received curcumin had a significant increase compared to the control group. The number of necrotic cells in the METH group showed a significant increase compared to the control group ($P<0.001$). The

results of the histological study showed that, in the curcumin group, the percentage of necrotic cells was lower than in the METH group (P<0.01).

Conclusion

The results of the present study indicate the protective and therapeutic effects of curcumin on cognitive impairment caused by METH use, and it can improve cognitive memory in rats. Also, METH-induced necrotic cell death can be significantly reduced by curcumin administration. Therefore, curcumin extract can be a promising agent for the production of drugs for reducing memory and learning disorders.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

This study was approved by the Ethics Committee of Islamic Azad University, Damghan Branch (Code: IR.SHMU.REC.1399.126).

Funding

This research received no specific grant from any funding agency in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Authors contributions

All authors contributed equally to preparing this article.

Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest.

Acknowledgements

The authors would like to thank the Vice-Chancellor for Research of Islamic Azad University, Damghan Branch.

مجله
دانشگاه علوم پزشکی قم

مقاله پژوهشی

بررسی اثر کورکومین بر مرگ سلولی هیپوکامپ در موش های صحرایی به دنبال سمیت عصبی ناشی از مت آمفتامین

محبوبه هادی زاده بزاز[۱]، *غلامحسن واعظی[۱]، مهدی خاکساری[۲]، ویدا حجتی[۱]

۱. گروه زیست‌شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران.
۲. گروه فیزیولوژی، دانشگاه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم‌پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران.

Use your device to scan and read the article online

Citation Hadi Zade Bazaz M, Vaezi Gh, Khaksari M, Hojati V. [Effect of Curcumin on Hippocampal Cell Death in Rats With Methamphetamine-induced Neurotoxicity (Persian)]. Qom Univ Med Sci J. 2023; 17:E2821.1. https://doi.org/10.32598/qums.17.2821.1

https://doi.org/10.32598/qums.17.2821.1

تاریخ دریافت: ۱۴ بهمن ۱۴۰۱
تاریخ پذیرش: ۱۵ مرداد ۱۴۰۱
تاریخ انتشار: ۰۸ دی ۱۴۰۲

چکیده

زمینه و هدف مت آمفتامین در سراسر جهان به عنوان یک محرک روانی استفاده می‌شود. از عوارض ناشی از مصرف آن استرس اکسیداتیو و سمیت تحریکی به شمار می‌آید. کورکومین به دلیل اثرات آنتی اکسیدانی و ضد التهابی خود در برابر آسیب‌های عصبی مؤثر است. در این مطالعه، اثرات محافظتی کورکومین در برابر سمیت عصبی مت آمفتامین بررسی شد.

روش بررسی ۶۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به گروه‌های زیر تقسیم شدند: گروه کنترل (n=۱۲)، گروه DMSO (n=۱۲)، گروه مت آمفتامین (n=۱۲) و گروه مت آمفتامین+کورکومین ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (n=۱۲) و گروه مت آمفتامین+کورکومین ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (n=۱۲). مسمومیت عصبی توسط ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مت آمفتامین که از طریق ۴ تزریق (هر ۲ ساعت، داخل صفاقی) القا شد. کورکومین در ۷ روز متوالی پس از آخرین تزریق مت آمفتامین انجام شد. ۱ روز پس از آخرین تزریق کورکومین با روش آزمون تشخیص شیء جدید، حافظه وابسته به هیپوکامپ ارزیابی شد. همچنین از رنگ‌آمیزی نیسل برای ارزیابی مرگ سلولی استفاده شد. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها نیز با نرم‌افزار اختصاصی دستگاه انجام شد.

یافته‌ها تجویز کورکومین با دُز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به شکل معناداری نقص شناختی و مرگ سلولی نکروتیک ناشی از مت آمفتامین را کاهش داد.

نتیجه‌گیری با مصرف کورکومین، اختلالات حافظه شناختی و مرگ سلولی در ناحیه هیپوکامپ در موش‌های مدل نوروتوکسیسیته ناشی از مت آمفتامین کاهش می‌یابد.

کلیدواژه‌ها:
کورکومین، سمیت عصبی، مت آمفتامین

* **نویسنده مسئول:**
دکتر غلامحسن واعظی
نشانی: دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، دانشکده علوم پایه،گروه زیست‌شناسی.
تلفن: ۹۱۷۸۶۴۴ (۹۱۲) ۹۸+
رایانامه: gh.vaezi@damghaniau.ac.ir

Copyright © 2023 Qom University of Medical Sciences.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).
Noncommercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

مقدمه

مت آمفتامین یکی از انواع داروهای مخدر روان‌گردان است که بر سیستم نوروترانسمیترهای مونوآمین مغز اثر گذاشته، سبب افزایش انرژی و سرخوشی می‌شود [۱]. عقیده بر این است که اثرات پاتوژنیک نوروتوکسیسیته ناشی از مت آمفتامین در بخش‌هایی، مشابه سایر بیماری‌های تحلیل برنده عصبی نظیر پارکینسون، آلزایمر و اختلال در حافظه و یادگیری است [۲].

مت آمفتامین از طریق ناقل‌های دوپامین[1] یا سروتونین[2] وارد پایانه‌های نورونی شده و جایگزین دوپامین و سروتونین درون سلولی و وزیکولار می‌شود. این‌گونه آمین‌های جایگزین‌شده از طریق اتواکسیداسیون یا به وسیله مونوآمین اکسیداز[3] به رادیکال‌های آزاد اکسیژن[4] اکسیده می‌شوند [۳]. با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن از طریق NO و H2O مرگ نکروتیک سلولی رخ می‌دهد [۲].

مت آمفتامین از طریق تولید رادیکال‌های آزاد، القا و راه‌اندازی آبشارهای آپوپتوزی وابسته به میتوکندری سبب مرگ نورون‌ها می‌شود [۴]. همچنین به کمک آزمون‌های نوروسایکولوژی و روش‌های تصویربرداری پرتو مغناطیسی[5] (ام‌آرآی) یا تصویرسازی تشدید مغناطیسی کارکردی[6] (اف‌ام‌آرآی) مشخص شده که مصرف مت آمفتامین، مناطق قشری، هیپوکامپ و ماده سفید مغز و نخاع را دچار ناهنجاری‌های ساختاری می‌کند و این ناهنجاری‌ها با نقایص شناختی ارتباط دارد. در حقیقت، به‌طور میانگین هیپوکامپ موش‌های مصرف‌کننده مت آمفتامین، ۷/۸ درصد کوچک‌تر و مقدار ماده سفید آن‌ها بیشتر از موش‌های سالم است. این تغییرات ساختاری و پلاستی‌سیتی مغزی، به‌ویژه در مدار مزولیمبیک باعث می‌شود قوای شناختی این افراد مختل شود و بخشی از اختلالات شناختی و رفتارهای اعتیادی مدت‌ها پس از پرهیز باقی بمانند و زمینه تداوم ولع مصرف و عود مکرر در اعتیاد است [۵].

از طرفی اثرات نوروتوکسیسیته مت آمفتامین با کاهش نوروژنز در هیپوکامپ نیز در ایجاد اختلالات شناختی پایدار نقش دارند [۶]. به همین دلیل در حال حاضر در بهترین شرایط و با بهترین درمان‌ها نیز بیشتر معتادان ۶ ماه پس از ترک دوباره به چرخه اعتیاد بازگشته و درصد باقی‌مانده نیز در یکی دو سال آینده به این چرخه باز خواهند گشت. در چندین مطالعه گزارش شده که سازوکار نوروتوکسیک مت آمفتامین شامل استرس اکسیداتیو، رادیکال‌های آزاد و سیتوکین‌های التهابی و مرگ برنامه‌ریزی‌شده در سلول‌های عصبی است [۶].

زردچوبه با نام علمی Curcuma Longa از خانواده Zingiberaceae است. کورکومین ماده مؤثره ریزوم گیاه زردچوبه و یک پلی فنول است [۷]. این گیاه یکی از قوی‌ترین آنتی اکسیدان‌هاست و باعث کاهش التهاب در بدن، ترمیم پوست و بهبود حواس شناختی (حافظه) می‌شود. زردچوبه به دلیل غنی بودن از ترکیب شیمیایی به نام کورکومین باعث بهبود مقاومت به انسولین در بیماران دیابتی، خنثی شدن انسولین اضافی خون و در نتیجه، جلوگیری از خستگی ناشی از کاهش گلوکز خون و کاهش اشتها و وزن می‌شود و آثار فارماکولوژیکی متعددی مثل اثر آنتی اکسیدانی، ضد التهابی، حفاظت عصبی و افزایش حافظه دارد [۸].

کورکومین با خاصیت قدرتمند حفاظت عصبی در درمان اختلالات شناختی، حافظه و یادگیری در حیوانات مؤثر است [۹]. این ترکیب خواص ضد التهابی، ضد ویروسی، ضد قارچی، ضد سرطان و اثرات محافظت نورونی دارد [۱۰]. کورکومین موجب بهبود بیماری‌های آلزایمر و پارکینسون، صرع، ایسکمی مغزی و افسردگی شده و همچنین آسیب‌های مغزی ناشی از سکته مغزی را کاهش می‌دهد [۱۱]. کورکومین با سد کردن راه JNKها (Janus kinase) از طریق جلوگیری از سوء کارکرد میتوکندری‌ها مانع از بین رفتن نورون‌های دوپامینرژیک در مدل موش‌های مبتلا به پارکینسون می‌شود [۱۱]؛ بنابراین در این طرح بر آن هستیم به بررسی اثر تجویز کورکومین بر اختلالات حافظه شناختی و مرگ سلولی در ناحیه هیپوکامپ در مدل نوروتوکسیسیته ناشی از مت آمفتامین بپردازیم.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان با کد اخلاق IR.SHMU.REC.1399.126 انجام شده و شرح تحقیق آن به صورت زیر است:

تعداد ۶۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار و Inbreed با وزن تقریبی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم از پژوهشکده رویان تهران خریداری شد و تحت شرایط استاندارد با دوره معکوس روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته (۸ صبح تا ۸ شب) و دمای ۳±۲۱ درجه سانتی‌گراد و دسترسی به آب آشامیدنی و غذای کافی نگهداری شدند.

حیوانات برای سازگاری با محیط حداقل ۱۰ روز قبل از مطالعه به حیوانخانه منتقل شدند. رَت‌ها ۳ بار در هفته وزن شدند. شرایط نگهداری و انجام همه مراحل آزمایش از قوانین و اصول اخلاقی ثبت‌شده در دانشگاه تهران استفاده شده است. تقسیم‌بندی حیوانات به ترتیب زیر انجام گرفت:

1. Dopamin Transferase (DAT-4)
2. Serotonine Transferase (Serto)
3. Mono Amin Oxidase (MAO)
4. Reactive Oxygen Species (ROS)
5. Magnetic Resonance Imaging (MRI)
6. Functional Magnetic Resonance Imaging (fMRI)

گروه ۱: گروه کنترل شامل ۱۲ سر موش که هیچ درمانی نداشتند.

گروه ۲: (گروه کنترل منفی) دریافت‌کننده به میزان (۵ درصد DMSO، داخل صفاقی ۰/۵ میلی‌لیتر) به مدت ۷ روز هستند.

گروه ۳: گروه (کنترل مثبت) دریافت‌کننده مت آمفتامین به میزان (۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در ۱ روز و این مقدار مت آمفتامین به صورت ۴ دُز متوالی و مساوی (۱۰ میلی‌گرم به ازای ۱ کیلوگرم وزن بدن) به فاصله ۲ ساعت داخل صفاقی تزریق شد [۱۲].

گروه ۴: گروه مت آمفتامین ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم+کورکومین (CUR) با دُز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم هستند که کورکومین به مدت ۷ روز متوالی بعد از آخرین تزریق مت آمفتامین به صورت داخل صفاقی تزریق شد.

گروه ۵: گروه مت آمفتامین ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم+کورکومین (CUR) با دُز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم هستند که کورکومین به مدت ۷ روز متوالی بعد از آخرین تزریق مت آمفتامین به صورت داخل صفاقی تزریق شد.

تشخیص آزمون شیء

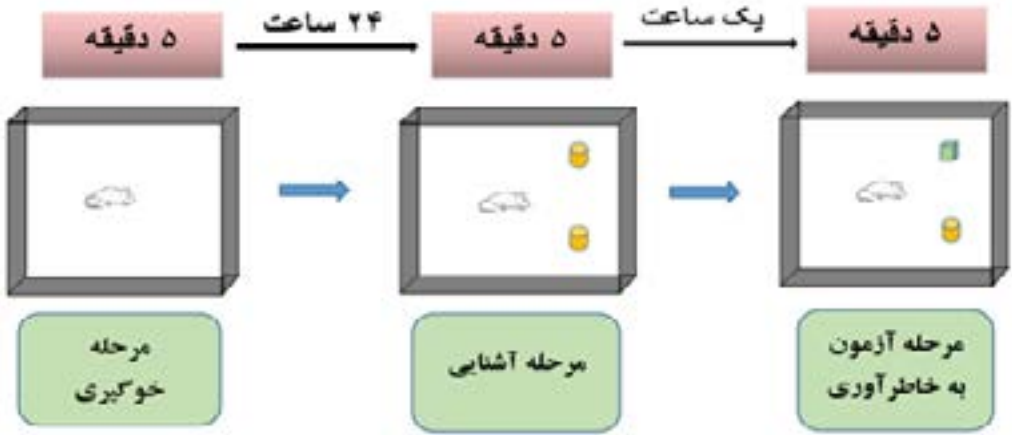
پس از ۷ روز موش‌ها، مورد بررسیِ آزمون تشخیص شیء جدید قرار گرفتند. این آزمون یک ارزیابی ساده حافظه است که در آن نیازی به هیچ انگیزه خارجی، پاداش یا تنبیه نیست و تنها بر رفتار ذاتی جست‌وجوگری جوندگان تکیه دارد. هر چند این آزمون مدل پرکاربردی برای بررسی تغییرات حافظه شناختی است، اما کاربرد آن به این زمینه تحقیقی محدود نیست و در مطالعات مربوط به ارزیابی حافظه کاری، تأثیر نواحی مختلف مغز در پردازش فرایند شناخت، افسردگی و فرایند توجه کردن نیز کاربرد دارد و برای ارزیابی اثرات درمان‌های مختلف فارماکولوژیکی و آسیب‌های مغزی نیز استفاده می‌شود.

این تست رفتاری شامل ۲ مرحله است: مرحله اول، مرحله آشنایی است و مرحله دوم، تست به خاطرآوری است که با فاصله ۲۴ ساعت بعد انجام می‌شود. در جلسه آشنایی، به موش اجازه کشف ۲ شیء یکسان برای ۵ دقیقه داده می‌شود و کل زمان صرف‌شده برای کاوش هر یک از ۲ اشیا ثبت می‌شود. در جلسه به خاطرآوری، یک شیء جدید با یکی از ۲ شیء قدیمی جایگزین می‌شود. سپس موش به مدت ۵ دقیقه در دستگاه قرار گرفته و زمان صرف‌شده برای کاوش هر جسم و نیز کل زمان صرف‌شده برای کاوش هر ۲ جسم ثبت می‌شود. شاخص ارزیابی عملکرد حافظه شناختی با به دست آوردن تفاوت زمان کاوش برای شیء جدید در مقابل شیء قدیمی و آشنا تقسیم به کل زمان صرف‌شده برای مجموع زمان کاوش هر ۲ شیء محاسبه می‌شود [۱۳] (تصویر شماره ۱).

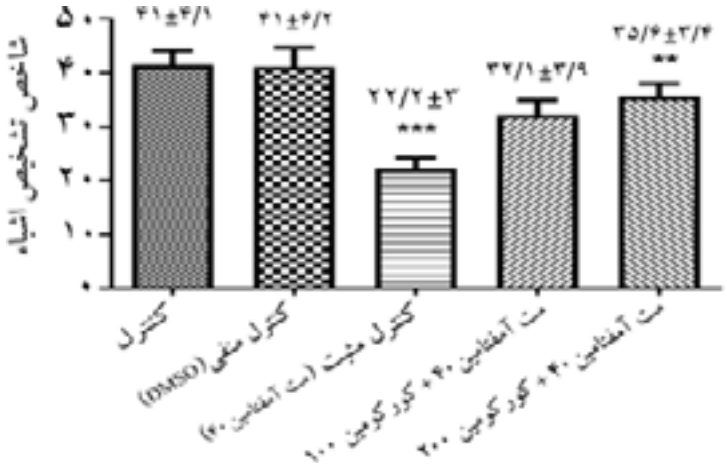
روش ارزیابی میزان مرگ سلولی نکروزیس

رنگ‌آمیزی نیسل معمولاً برا ی شناسایی ساختار پایه‌ای نورون‌های سالم از نورون‌های نکروزشده در بافت مغز و طناب نخاعی استفاده می‌شود. در این رنگ‌آمیزی، سلول‌های سالم به صورت سلول‌های یوکروماتین دیده می‌شوند. پس از انجام آزمون حافظه، برای آماده‌سازی بافت‌ها، ابتدا موش‌ها بی‌هوش شده و مغز آن‌ها به روش پرفیوژن ترانس‌کاردیال تثبیت شد. سپس مغز موش‌های صحرایی برداشته شد و به مدت ۱ شبانه‌روز در فیکساتیو قرار داده شدند. سپس از مغزها بلوک‌های پارافینه تهیه شد و با استفاده از دستگاه میکروتوم، مقاطع کرونال با ضخامت 7µm برای رنگ‌آمیزی بافتی تهیه شد.

مقاطع بر اساس اطلس پاکسینوس بین ۳/۳ و ۴/۲ میلی‌متر پشت برگما تهیه و سپس با استفاده از محلول کرزیل ویوله استات رنگ‌آمیزی شدند. سپس با استفاده از میکروسکوپ نوری و با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ از برش‌ها تصویر تهیه شد. پس از تهیه تصاویر، با نرم افزار Olysia Bio Report شمارش سلولی در امتداد خطی



تصویر ۱. تصویر شماتیک از آزمون تشخیص شیء جدید



تصویر ۲. نمودار شاخص تشخیص اشیا. شاخص عملکرد حافظه شناختی در گروه‌های آزمایشی
** در مقایسه با مت آمفتامین (P<۰/۰۱)
*** در مقایسه با گروه کنترل (P<۰/۰۰۱)

مجله
دانشگاه علوم پزشکی قم

با طول ۴۰۰ میکرومتر مساحتی حدود ۰/۱۶ میلی‌مترمربع از ناحیه 1CA هیپوکامپ راست رت‌ها انجام شد. فقط سلول‌های نامنظم و تیره که هسته و هستک مشخص نداشتند، به عنوان سلول‌های مرده در نظر گرفته و شمارش شدند.

تجزیه‌وتحلیل آماری

نتایج به‌دست‌آمده به صورت میانگین±انحراف‌معیار بیان شده است. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با استفاده از GraphPad Prism 6 انجام شد. برای ارزیابی تفاوت‌ها بین گروه‌های حیوانی از آنالیز واریانس یک‌طرفه استفاده شد. سپس از آزمون‌های تعقیبی بونفرنی[7]، توکی[8]، آنووا[9] و اندازه‌گیری‌های مکرر دوطرفه استفاده شد. (P<۰/۰۵) معنادار تلقی شد.

یافته‌ها

برای بررسی حافظه شناختی از آزمون شیء جدید استفاده شد. بر اساس نتایج حاصل از آنالیز آماری شاخص عملکرد حافظه شناختی در گروه موش‌های در معرض مت آمفتامین در مقایسه با گروه کنترل پایین‌تر است (P<۰/۰۰۱). همچنین شاخص مذکور در گروه درمان با ۱۰۰ میلی‌گرم کورکومین در مقایسه با گروه مت آمفتامین افزایش معناداری نداشته، در صورتی که مصرف کورکومین با دُز ۲۰۰ میلی‌گرم سبب افزایش شاخص مذکور نسبت به گروه مت آمفتامین نشان داد (P<۰/۰۱) (تصویر شماره ۲).

علاوه بر این، با توجه به نتایج نشان داده شده در تصویر شماره ۲، با مقایسه مدت زمان کل جست‌وجو در گروه مت آمفتامین با گروه کنترل و نیز مقایسه گروه مت آمفتامین با گروه‌های تحت درمان با کورکومین تفاوت معناداری مشاهده نشد. از آنجا که تیمار با کورکومین باعث افزایش کاوش شیء جدید شد و به عبارتی افزایش در شاخص عملکرد حافظه شناختی را به دنبال داشت؛ بنابراین می‌توان گفت این ماده اثرات درمانی بر تخریب حافظه شناختی ناشی از مت آمفتامین دارد (تصویر شماره ۳). نتایج رنگ‌آمیزی نیسل نشان داد مرگ سلولی نکروز در ناحیه CA1 هیپوکامپ در گروه دریافت‌کننده کورکومین افزایش معناداری نسبت به گروه کنترل داشت (تصویر شماره ۴).

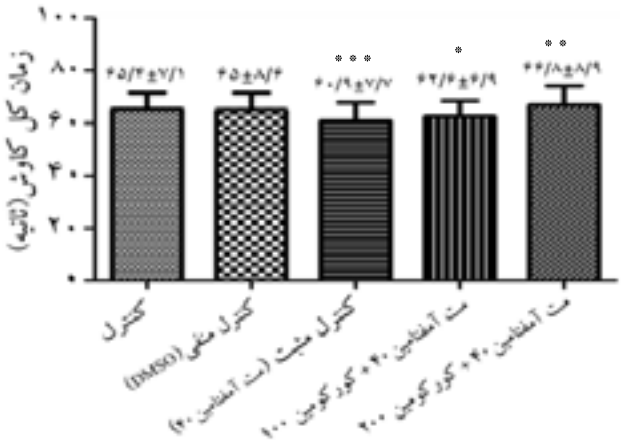
تعداد سلول‌های نکروتیک در گروه مت آمفتامین نسبت به گروه کنترل افزایش معناداری نشان داد (P<۰/۰۰۱). نتایج مطالعات بافتی نشان داد در گروه کورکومین، درصد سلول‌های نکروتیک کمتر از گروه مت آمفتامین است (P<۰/۰۱) (تصویر شماره ۵).

بحث

مت آمفتامین سبب القای بیماری‌های تحلیل‌برنده عصبی در سلول‌های بدن نظیر سلول‌های عصبی می‌شود [۱۴]. هر چند سازوکارهای تخریب سلول‌های عصبی و مرگ سلول‌های عصبی در نتیجه مصرف مت آمفتامین در سیستم عصبی مرکزی به‌طور دقیق مشخص نشده است، اما تحقیقات نشان داده استرس اکسیداتیو، تغییر در عملکرد گیرنده‌های ان متیل دی آسپاراتات[10]، القای آپوپتوز، فعال‌سازی میکروگلیا اکسیداتیو، هیپرترمی این امر دخیل هستند [۱۴].

7. Bonferroni
6. Tukey
9. ANOVA

8. N-Metyle Diaspartate (NMDA)



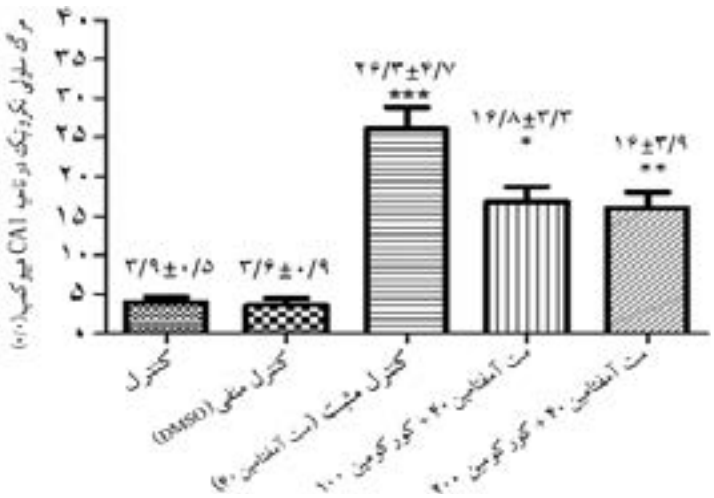
تصویر ۳. نمودار زمان کل کاوش
* در مقایسه با مت آمفتامین (P<۰/۰۵)
** در مقایسه با مت آمفتامین (P<۰/۰۱)
*** در مقایسه با گروه کنترل (P<۰/۰۰۱)

مجله
دانشگاه علوم پزشکی قم

استرس اکسیداتیو به علت سنتز مقدار زیادی رادیکال‌های آزاد یا گونه‌های فعال اکسیژن[11] و گونه‌های فعال نیتروژن[12] ایجاد می‌شود. به خوبی مشخص شده که افزایش استرس اکسیداتیوها به دنبال مصرف مت آمفتامین با کاهش در فعالیت آنتی اکسیدان‌های اندروژن نظیر گلوتاتیون همراه می‌شود و کاهش این آنتی اکسیدان‌ها باعث افزایش گونه‌های فعال اکسیژن و به دنبال آن مرگ سلولی می‌شود [۱۵]. تولیدات بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن که به دلیل مصرف مت آمفتامین آزاد می‌شوند، می‌توانند بیش از ظرفیت سیستم آنتی اکسیدانی درون‌زاد نورونی بوده و آن را درهم بریزد یا سبب تخریب لیپیدهای سلولی یا پروتئین‌ها و نوکئیک اسیدها شود [۱۶].

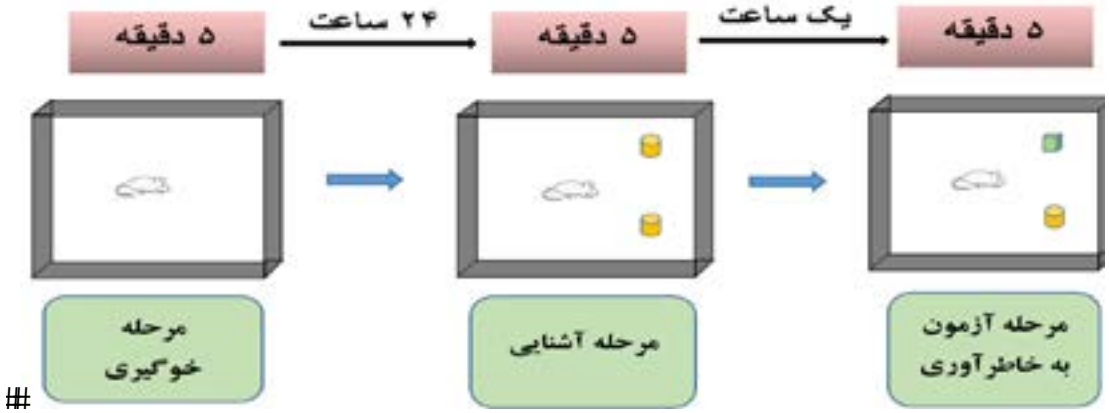
افزایش گلوتامات در اثر مصرف مت آمفتامین سبب فعالسازی گیرنده‌های ان متیل دی آسپاراتات شده و اجازه نفوذ Ca^{+2} درون سلولی را می‌دهد. این افزایش Ca^{+2} درون سلولی سیستم‌های آنزیمی را فعال می‌کند که منجر به تولید مضاعف گونه‌های فعال اکسیژن و گونه‌های فعال نیتروژن خواهد شد [۱۶، ۱۷]. مسیرهای مرگ وابسته به میتوکندری در ایجاد آپوپتوز عصبی در مدل‌های مختلف مرگ سلولی نقش دارند. در واقع، مت آمفتامین از طریق به هم ریختن سیستم آنتی اکسیدانتی سلول‌های عصبی منجر به ایجاد استرس اکسیداتیو و در نهایت، نکروز و آپوپتوز می‌شود [۱۷].

11. Reactive Oxygen Species (ROS)
12. Reactive Nitrogen Species (RNS)



تصویر ۴. نمودار اثرات درمان با کورکومین بر مرگ سلولی نکروتیک ناشی از سمیت مت آمفتامین
*: در مقایسه با مت آمفتامین (P<۰/۰۵)
**: در مقایسه با مت آمفتامین (P<۰/۰۱)
***: در مقایسه با گروه کنترل (P<۰/۰۰۱)

مجله
دانشگاه علوم پزشکی قم



تصویر ۵. فتومیکروگراف از مرگ سلولی نکروز در گروه‌های آزمایشی
A: گروه کنترل، B: گروه کنترل منفی، (DMSO)، C: گروه کنترل مثبت (مت آمفتامین)، D: مت آمفتامین+کورکومین (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، E: گروه مت آمفتامین+کورکومین (۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)

کورکومین سبب افزایش حافظه شناختی از آزمون شیء جدید در گروه‌های دریافت‌کننده آن شد (تصویرهای ۲، ۳، ۴) [۱۸]. همچنین به نظر می‌رسد که کورکومین با تأثیر بر گیرنده‌های دخیل در یادگیری و حافظه فضایی در سلول‌های عصبی، موجب بهبود در پردازش اطلاعات فضایی می‌شود [۱۹]. در تصویر شماره ۵ نیز اثرات مثبت کورکومین در گروه‌های دریافت‌کننده آن بر آسیب یادگیری و حافظه شناختی موش‌ها پس از نوروتوکسیسیته ناشی از مت آمفتامین است که می‌تواند به دلیل اثرات نوروپروتکتیو کورکومین و کاهش مرگ سلولی در ناحیه CA1 هیپوکامپ باشد که در رنگ‌آمیزی نیسل نیز نشان داده شده است.

وو و همکاران در مقاله‌ای با عنوان کورکومین، آپوپتوز را در سلول‌های غیرکوچک سرطان ریه NCI-H460 از طریق مسیرهای وابسته به آبشار کاسپاز و میتوکندری القا می‌کند، بیان داشتند کورکومین، انواع مختلف سلول‌های سرطانی را در شرایط درون‌کشتگاهی[۱۳] و درون‌تنی[۱۴] مهار می‌کند. با این حال، سازوکارهای مهار رشد سلولی و آپوپتوز ناشی از کورکومین در سلول‌های سرطان ریه، سلول غیرکوچک انسان (NCI-H460) هنوز نامشخص است. پس از درمان با کورکومین، BAX و BAD تنظیم بالا، BCL-XL، BCL-2 و XIAP پایین تنظیم شدند. علاوه بر این، گونه‌های فعال اکسیژن، کلسیم داخل سلولی و شبکه آندوپلاسمی[۱۵]، پس از قرار گرفتن در معرض استرس، کاهش یافته و کورکومین که داروی درمانی در این پروژه است در سلول‌های NCI-H460 افزایش یافت و سبب مهار پیشرفت سلول‌های سرطانی شد [۲۰].

یکی از اثرات مهم کورکومین در جلوگیری از رشد و گسترش سلول‌های توموری است. به طور خاص، کورکومین می‌تواند با کاهش سطح فاکتور نکروزه‌کننده تومور آلفا (TNF-α)، یک پروتئین التهابی که در بسیاری از بیماری‌های التهابی و عفونی نقش دارد، به جلوگیری از رشد سلول‌های توموری کمک کند. این فاکتور نکروزه‌کننده تومور آلفا به واسطه ایجاد مدل‌های mRNA در پروتئین‌های BCL-2 که نقش مهمی در آپوپتوز سلولی دارند، باعث مرگ سلول‌های توموری می‌شود [۱۹].

مطالعات پیشین بیانگر این یافته است که نسبت زمان کاوش شیء جدید به کل زمان صرف‌شده برای کاوش هر دو شیء در گروه مت آمفتامین در مقایسه با گروه کنترل به شکل معناداری کمتر بوده است [۲۱].

در تحقیق دیگر هادی زاده و همکاران بیان داشتند که دُز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کورکومین سبب بهبود حافظه فضایی و افزایش خاصیت ضد آپوپتوز و ضد التهابی علیه سمیت سلول‌های مت آمفتامین در موش‌های نر نژاد ویستار شد و علت استفاده از دُز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم هم با استناد بر همین مقاله است [۲۲].

از جمله محدودیت‌های این تحقیق می‌توان به این مشکل اشاره کرد که به دنبال مصرف مت آمفتامین در موش‌های معتاد به مت آمفتامین، سبب بالا رفتن درجه حرارت بدن آن‌ها می‌شود و مرگ‌ومیر در این نمونه‌ها افزایش می‌یابد و این مورد سبب به تعویق افتادن زمان کل پروژه و افزایش هزینه‌ها می‌شود.

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر حاکی از وجود اثرات حفاظتی و درمانی کورکومین بر نقص حافظه شناختی ناشی از مت آمفتامین است که با آزمون شیء جدید ارزیابی شده بود و بهبود حافظه شناختی ناشی از القای استرس در موش‌های صحرایی را نشان می‌دهد.

13. in vitro
14. in vivo
15. Endoplasmic Reticulum (ER)

همچنین به شکل معناداری مرگ سلولی نکروتیک القاءشده به واسطه مت آمفتامین با تجویز کورکومین کاهش یافت؛ بنابراین عصاره کوکومین می‌تواند در آینده نویدبخش تولید داروهایی در کاهش اختلالات حافظه و یادگیری ناشی از زوال مغزی در بیماری‌ها باشند.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این پژوهش با کد اخلاق در IR.SHMU.REC.1399.126 دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان تصویب شده است.

حامی مالی

این مقاله حاصل تحقیق پایان‌نامه بوده و با هزینه شخصی انجام شده است.

مشارکت نویسندگان

همه نویسندگان به طور مساوی در تهیه تمام بخش‌های تحقیق مشارکت داشتند.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان و افرادی که در این طرح یاری رسانده‌اند، تشکر و قدردانی می‌کنند.

References

[1] Rahmayani S, Christianti RD, Rachmawati S. Application of cognitive behavior therapy (CBT) to overcome minor depression on reliability of amfetamins in the Karitas Sani Madani foundation East Jakarta, Indonesia. Eur J Soc Sci Stud. 2020; 5(4):84-99. [DOI:10.46827/ejsss.v5i4.883]

[2] Erdős Á. [Prekárius drog-klasszifikáció, avagy lehet-e egy drog "lágy" vagy "kemény? (Hungarian)]. Magyar Drogfigyelő. 2021; 1(2):34-8. [Link]

[3] Şimşek Ü, Erarslan F. [2014-2018 yılları arasında Tokat'ta uyuşturucu madde kullanımı ve uyuşturucu madde bağlantılı suçlar (Turkish)]. J Soc Sci Res. 2019; (Special Issue):103-20. [Link]

[4] Molzemi S, Bolbolhaghighi N, Sedighi M, Hadizade Bazaz M, Vaezi GH. [Effect of Ritalin on liver histology and some liver enzymes in treptozotocin-safe and diabetic rats (Persian)]. Tehran Univ Med J. 2018; 76 (2):103-10. [Link]

[5] Putu SRO. [Skrining test amfetamin pada urine sopir bus dalam kota surakarta dengan metode strip test (Indonesian)] [Diploma thesis]. Bangor: Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional; 2021. [Link]

[6] Rohmah F. [Pengembangan penuntun praktikum berbasis inkuiri terbimbing materi zat aditif dan adiktif kelas viii SMP Islam NU Palangka Rayat (Indonesian)] [Diploma thesis]. Palangkaraya: IAIN Palangka Raya; 2020. [Link]

[7] Yewle NR, Swain KC, Mann S, Singh Dhakre D. Evaluating of hermetic bags for long-term storage of turmeric (Curcuma longa L.) rhizomes. J Stored Prod Res. 2021; 92:101806. [DOI:10.1016/j.jspr.2021.101806]

[8] Tanhuad N, Thongsa-Ad U, Sutjarit N, Yoosabai P, Panvongsa W, Wongniam S, et al. Ex vivo expansion and functional activity preservation of adult hematopoietic stem cells by a diarylheptanoid from Curcuma comosa. Biomed Pharmacother. 2021; 143:112102. [DOI:10.1016/j.biopha.2021.112102] [PMID]

[9] Marchant MJ, Molina P, Montecinos M, Guzmán L, Balada C, Fassio C, et al. In vitro propagation of Easter Island Curcuma longa from rhizome explants using temporary immersion system. Agronomy. 2021; 11(11):2121. [DOI:10.3390/agronomy11112121]

[10] Khatun M, Nur MA, Biswas S, Khan M, Amin MZ. Assessment of the anti-oxidant, anti-inflammatory and anti-bacterial activities of different types of turmeric (Curcuma longa) powder in Bangladesh. J Agric Food Res. 2021; 6:100201. [DOI:10.1016/j.jafr.2021.100201]

[11] Ege D. Action mechanisms of curcumin in alzheimer's disease and its brain targeted delivery. Materials. 2021; 14(12):3332. [DOI:10.3390/ma14123332] [PMID]

[12] Ghanbari F, Khaksari M, Vaezi G, Hojati V, Shiravi A. Hydrogen sulfide protects hippocampal neurons against methamphetamine neurotoxicity via inhibition of apoptosis and neuroinflammation. J Mol Neurosci. 2019; 67(1):133-41. [DOI:10.1007/s12031-018-1218-8] [PMID]

[13] Mohseni F, Khaksari M, Rafaiee R, Rahimi K, Norouzi P, Garmabi B. Apelin 13 improves anxiety and cognition via hippocampal increases BDNF expression and reduction cell death in neonatal alcohol exposed rats. Int J Pept Res Ther. 2021; 27:1351-62. [DOI:10.1007/s10989-021-10173-4]

[14] Yılmaz V. [Üniversite öğrencilerinin madde kullanma eğilimi düzeylerine göre duygularını ifade etmeleri (Turkish)] [Msc thesis]. İstanbul: İstanbul Gelişim Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü; 2021. [Link]

[15] Nøstdahl A, Schätzer Coll ME. LAR-pasienter i norske fengsler: En beskrivelse av innsatte i LAR-behandling i fengsler i Norge (Norwegian)] [Diploma thesis]. Oslo: Det medisinske fakultet; 2022. [Link]

[16] Coll MES. LAR-pasienter i norske fengsler-En beskrivelse av innsatte i LAR-behandling i fengsler i Norge (Norwegian)] [Msc thesis]. Oslo: Det medisinske fakultet; 2022. [Link]

[17] Yue J, López JM. Understanding MAPK signaling pathways in apoptosis. Int J Mol Sci. 2020; 21(7):2346. [DOI:10.3390/ijms21072346] [PMID]

[18] Elizondo-Luévano J, Hernández-García ME, Pérez-NarváezOA, Castro-Ríos R, Chávez-Montes A. Berberina, curcumina y quercetina como potenciales agentes con capacidad antiparasitaria. Rev Biol Trop. 2020; 68(4):1241-9. [DOI:10.15517/rbt.v68i4.42094]

[19] Grover M, Shah K, Khullar G, Gupta J, Behl T. Investigation of the utility of Curcuma caesia in the treatment of diabetic neuropathy. J Pharm Pharmacol. 2019; 71(5):725-32. [DOI:10.1111/jphp.13075] [PMID]

[20] Wu MF, Huang YH, Chiu LY, Cherng SH, Sheu GT, Yang TY. Curcumin induces apoptosis of chemoresistant lung cancer cells via ROS-regulated p38 MAPK phosphorylation. Int J Mol Sci. 2022; 23(15):8248. [DOI:10.3390/ijms23158248] [PMID]

[21] Mohseni F, Rafaiee R, Rezaeian L, Niroumand Sarvandani M, Kalalian Moghaddam H. Berberine hydrochloride improves cognitive deficiency through hippocampal up-regulation of neurotrophins following inhalant self-administration of methamphetamine. Iran J Basic Med Sci. 2023; 26(1):23-9. [DOI:10.22038/IJBMS.2022.65053.14326] [PMID] [PMCID]

[22] Hadizadeh-Bazaz M, Vaezi G, Khaksari M, Hojati V. Curcumin attenuates spatial memory impairment by anti-oxidative, anti-apoptosis, and anti-inflammatory mechanism against methamphetamine neurotoxicity in male Wistar rats: Histological and biochemical changes. Neurotoxicology. 2021; 84:208-17. [DOI:10.1016/j.neuro.2021.03.011] [PMID]