Archive of SID

فصلنامه علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان
شماره پیاپی ۱۲، جلد ۴، شماره ۱، زمستان ۸۹، صفحه ۶۷ تا صفحه ۷۸

اثر حفاظتی عصاره الکلی ریزوم گیاه *Curcuma longa* بر دژنراسیون سلول‌های نوروگلیا نخاع پس از کمپرسیون عصب سیاتیک در رت‌های دیابتی

مریم طهرانی‌پور[۱]، **مریم عرفانی**[۲]، جینا خیاطزاده[۳]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، استادیار، فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، مشهد- ایران.
۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم جانوری، مشهد- ایران. maryamerfany@Yahoo.com
۳- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مشهد، استادیار، تکوین جانوری، گروه زیست شناسی، مشهد- ایران.

تاریخ دریافت: ۸۹/۷/۲۶ تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۰/۹

چکیده

سلول‌های نوروگلیا به منزله بافت پشتیبان عصبی عمل می‌کند و شامل نوروگلیای مرکزی و محیطی است. ضایعات عصبی محیطی به صورت رتروگراید سبب دژنراسیون مرکزی در نخاع می‌شود و به دنبال کاهش تعداد نورون‌ها، سلول‌های نوروگلیا نیز به علت نرسیدن فاکتورهای حیاتی کاهش می‌یابد. هدف از این تحقیق بررسی اثرات حفاظتی عصاره الکلی ریزوم گیاه زردچوبه بر دژنراسیون سلول‌های نوروگلیای شاخ قدامی نخاع پس از کمپرسیون عصب سیاتیک در رت‌های دیابتیک می‌باشد. در این تحقیق تجربی آزمایشگاهی ۳۰ رت نر نژاد ویستار در گروه‌های کنترل، کمپرسیون،دیابت + کمپرسیون، دیابت+ کمپرسیون+ تزریق عصاره الکلی *Curcuma longa* با دوز ۲۵ mg/kg و دیابت+ کمپرسیون+ تزریق عصاره الکلی *Curcuma longa* با دوز ۵۰ mg/kg تقسیم شدند. از ریزوم گیاه *Curcuma longa* عصاره الکلی به روش سوکسله تهیه و برای القای دیابت در حیوانات از تزریق استرپتوزوتوسین با دوز ۵۵ mg/kg (به طریقه داخل صفاقی) استفاده شد. پس از یک ماه کنترل قند خون نمونه‌های با قند خون ۲۰۰mg/dl به بالا انتخاب و سپس برای ایجاد کمپرسیون حیوان با محلول رامپون ۶ mg/kg و کتامین ۶۰ mg/kg بیهوش شده عصب سیاتیک در محل ران آشکار شده و با قیچی قفل‌دار، قفل دوم برای ۳۰ ثانیه تحت فشار قرار داده می‌شود. در گروه‌های تیمار با عصاره، عصاره گیاه در ۳ نوبت در طی (۲۸ روز) به طریقه داخل صفاقی تزریق می‌شود سپس با انجام متد پرفیوژن از نخاع ناحیه کمری نمونه برداری شده و پس از فیکساسیون و طی مراحل پاساژ بافت، برش‌های ۷ میکرونی سریال با رنگ آمیزی آبی تولوئیدین و ایتروزین رنگ آمیزی شده و به طریقه دایسکتور دانسیته سلول‌های نوروگلیای نخاع محاسبه شد و توسط تست‌های آماری ANOVA و t-test اطلاعات گروه‌های مختلف آنالیز شد.آنالیز داده‌ها کاهش معنی داری در تعداد سلول‌های نوروگلیا در شاخ قدامی سمت چپ گروه کمپرسیون در مقایسه با گروه کنترل و نیز کاهش معنی دار سلول‌های نوروگلیا در گروه دیابت+کمپرسیون نسبت به گروه کمپرسیون را نشان داد($P<۰,۰۰۱$). مقایسه دانسیته نورونی دو گروه تیمار با دوز۲۵ mg/kg و ۵۰ mg/kg با گروه (دیابت +کمپرسیون) نیز افزایش معنی داری را بین گروه‌های با تزریق عصاره نسبت به گروه (دیابت +کمپرسیون) نمایش می‌دهد.

کلید واژه: دیابت، نوروگلیا، نخاع، زرد چوبه.

مقدمه

دیابت شایع‌ترین اختلال متابولیک مزمن همراه با افزایش قند خون در انسان و عارضه ناشی از اختلال در تولید یا عملکرد انسولین در بدن است(۲۲). افراد مبتلا به دیابت نسبت به دیگر افراد در سوخت و ساز بدن خود نمی توانند به خوبی از گلوکز یا قند خون استفاده کنند، در نتیجه قند خون آن‌ها به میزان قابل ملاحظه‌ای افزایش

www.SID.ir

Archive of SID

می‌یابد(۱۱). براساس مطالعات انجام شده در سال ۲۰۰۰ شیوع جهانی دیابت ۲/۸ درصد بوده و تخمین زده می‌شود تا سال ۲۰۱۰ بیش از ۲۰۰ میلیون نفر از مردم جهان به دیابت مبتلا شوند(۵). دیابت نوع یک (Diabetes mellitus) در اثر عوامل ژنتیکی، محیطی و ایمونولوژیکی ایجاد می‌شود و موجب از بین رفتن سلول‌های بتای پانکراس می‌شود، در افراد مستعد از نظرژنتیکی حجم سلول‌های بتا که در هنگام تولد طبیعی بوده و بعدها کاهش می یابد و این شاید به علت خود ایمنی، ورود عوامل عفونی یا عوامل محیطی باشد که موجب از بین رفتن این سلول‌ها در طول زمان شده است(۵). مطالعات ثابت کرده که وقایع مربوط به عدم تحمل گلوکز در دیابت با افزایش نیاز به انسولین همراه است، حتی اگر این حالت در زمان بلوغ یا هنگام ایجاد عفونت باشد(۲۰). اختلالات عروقی و عصبی که همیشه در دیابت وجود دارند، معمولاً ۲۰ سال بعد از زمان تشخیص ظاهر می شوند، میزان مرگ و میر در این نوع دیابت بیشتر از دیابت نوع دو است(۵،۲۰). دیابت منجر به آسیب مستقیم به نورون‌ها و در نهایت مرگ نورونی به علت افزایش گلوکز داخل سلولی می‌شود(۲۷). افزایش مزمن قند خون در دراز مدت منجر به آسیب اندام‌ها و سیستم‌های مختلفی از جمله سیستم قلبی عروقی، چشم، کلیه، سیستم عصبی و در نهایت اختلال در کارکرد آن‌ها می‌شود(۳۶). در بافت عصبی علاوه بر نورون‌ها که مسئول هدایت پیام‌های عصبی هستند سلول‌های دیگری به نام سلول‌های نوروگلیا وجود دارند که سلول‌هایی تحریک ناپذیر هستند و وظایف متعددی را به آن‌ها نسبت می‌دهند این دسته از سلول‌ها وظیفه حمایت از سلول‌های عصبی یا همان نورون‌ها را بر عهده دارند و غیر عصبی هستند. گرچه این سلول‌ها کوچک تر از نورون‌ها بوده ولی از لحاظ تعداد ۵ تا ۱۰ برابر نورون‌ها هستند به طوری که نصف حجم مغز و نخاع را شامل می‌شوند و و با نورون‌ها ارتباط متقابل دارند و برخلاف نورون‌ها قابلیت تقسیم نیز دارند(۲۴). نوروگلیاها یک رده متمایز از سلول‌ها برای نورون‌ها حمایت‌های تکاملی فیزیولوژیکی و متابولیک را فراهم می‌کنند(۷). آن‌ها مسئول حفظ و کنترل همئوستازی و ایجاد ایمنی در سیستم نورونی (۲۱) کنترل التهاب سیستمیک هستند(۳۴). نوروگلیاها با تکثیر شدن و تاثیر بر سیستم عروقی از التهاب جلوگیری می‌کنند(۳۴). این سلول‌ها به تاثیرات مضر اختلال سیستمیک، استرس و التهاب موثر بر سیستم عصبی مرکزی پاسخ می‌دهند(۱۲). در هنگام آسیب این سلول‌ها به کاهش خسارات ایجاد شده کمک می‌کنند و نیز می‌توانند از پیشروی آسیب‌های ایجاد شده جلوگیری نمایند(۳۴).آن‌ها این عمل را با محدود کردن آسیب ایجاد شده انجام می‌دهند(۳۴). نوروگلیاها به نوعی سیستم دفاعی سیستم عصبی مرکزی محسوب می‌شوند این سلول‌ها در تمام انواع نوروپاتولوژی‌ها وجود دارند(۱۲). بیماری‌های نورودژنراتیو ارتباطات مداری موجود میان نورون‌ها در سیستم عصبی مرکزی را مختل می‌کنند در چنین شرایطی میکروگلیاها و آستروگلیاها فعال شده و با راه اندازی واکنش‌های گلیال بافت عصبی را حفظ می‌نمایند(۸).از لحاظ عملکردی آستروسیت‌ها به عنوان حمایت کننده سلول‌ها و الیاف عصبی، داربستی برای مهاجرت نورون‌های نابالغ، یک عایق الکتریکی و ذخیره کننده گلیکوژن در سیتوپلاسم عمل می‌کنند. گلیکوژن در پاسخ به نوراپی نفرین به گلوکز تبدیل شده و به نورون‌های مجاور می‌رود. هم چنین بعد از مرگ نورون‌ها در اثر بیماری، آستروسیت‌ها تکثیر یافته و فضاهایی را که قبلا نورون‌ها اشغال کرده بودند پر می‌کنند که به این پدیده گلیوز جایگزین (Gliosis) گفته می‌شود(۲۴). در مطالعات اخیر مشخص شده بین سلول‌های نوروگلیا و نورون‌ها تبادلات میان سلولی وجود دارد که یکی از این موارد انتقال آمینو اسیدهاست که با مطالعات صورت گرفته مشخص شده آمینو اسیدهایی چون لوسین وگلایسین از سلول نوروگلیا به نورون انتقال یافته و به درون آکسون حمل می‌شوند. در این تحقیق پیشنهاد شده انتقال متابولیت‌ها از طریق جفت شدن الکتریکی سلول‌ها

www.SID.ir

Archive of SID

(رتزیوسل‌ها) صورت می‌گیرد(۳۴).بنابراین به نظر می رسد که هر گونه ضایعه ای که در سلول‌های عصبی ایجاد شود نوروگلیاها را نیز متاثر می نماید. زردچوبه گیاهی است علفی، پایا و دارای ریزوم‌هایی که از آن ساقه ی هوایی به ارتفاع یک تا یک و نیم متر خارج می‌شود (۱۳ ریزوم قسمت مورد استفاده است که کشت کاران پس از کندن و بیرون آوردن آن از زمین، ریشه‌های فرعی را جدا کرده و پس از شست و شو، در آفتاب، خشک می کنندسپس به مصرف می رسانند(۱۶). زردچوبه در ایران نمی روید و جزء اقلام وارداتی است زردچوبه در طب آسیایی، از گذشته‌های دور کاربرد داشته است(۱۰). در طب چینی، برای درمان مشکلات متفاوتی نظیر نفخ، به کار می رفته، هم‌چنین به شکل ضماد و پماد به عنوان مسکن و برای درمان عفونت‌های قارچی نظیر کچلی، به طور موضعی کاربرد داشته است(۱۰). از زردچوبه برای کنترل زردی و هپاتیت، و از روغن آن نیز گاهی در عطر سازی استفاده می شود. زردچوبه در نواحی گرم آسیا و آفریقا کشت می گردد(۳۴). بیشترین صادرات این محصول از کشورهای هند، اندونزی و چین صورت می گیرد(۳۰). جزء اصلی زردچوبه ماده‌ای به نام Curcumin است که مشخص شده دارای اثرات وتوان شگرفی است ودر داروسازی هم به رسمیت شناخته شده است زردچوبه دارای ده‌ها هزار اثر درمانی است(۱۹). روغن فرار *Curcuma longa*دارای عملکرد ضد هیالورونیداز و عملکرد آنتی اکسیدان است و ضد سرطان خون وسرطان کلون و تومورCNS و کلیه و ضد سرطان سینه است ماده‌ای به نام phenylbutazone در برگ‌های زردچوبه موجود است ودر بهبود ورم پنجه رت‌ها موثر بوده است(۳۱). پروتئین TAP موجود در زردچوبه یک ماده کاهنده تومور و آنتی اکسیدان است این ماده قدرت حفظ لیپیدها هموگلوبین وDNA در مقابل اکسیداتیو کاهشی را دارا می‌باشد کورکومینوئید هم یک آنتی اکسیدان طبیعی است و این خاصیت باعث عملکرد ضدجهش می‌شود و بر روی کم خونی و ماهیچه‌های قلبی اثر دارد(۹،۲۳). معالجه با زردچوبه باعث حفاظت از کبد کاهش مقدار بیلی روبین و کلسترول و کاهش اثر سمیت اتانول بر کبد می‌شود(۱). استفاده از عصاره زردچوبه باعث کاهش کلسترول، تری گلیسیرید وLDL می‌شود. اتیل استات که در عصاره ریشه زردچوبه یافت می‌شود یک آنتی آلرژیک قوی است و باعث مهار هیستامین آزاد شده از سلول‌ها می‌شود استفاده از پودر زردچوبه برای درمان زخم‌های عفونی در بیماران دیابتی موثر است زردچوبه دارای خاصیت ضد باکتریایی و ضد قارچ است(۲). موادی به نام curcumin و کورکومینوئید در زردچوبه دارای خاصیت ضد سرطان وضد متاستاز است واین ماده عامل اصلی مهار تومورهاست و باعث تحریک آپوپتوزیس در سلول‌های سرطانی در انسان می‌شود(۳۲). کورکومین مهار کننده قوی موتاژن‌ها است وسبب کاهش رشد وپیشرفت تومور در جانوران می‌شود و هم‌چنین سبب جمع شدن آب در سلول‌های سرطانی و آپوپتوزیس در آن‌ها می‌شود کورکومین در سرطان تخمدان و کلون با تحریک آپوپتوزیس مانع از پیشروی سرطان می‌شود این ماده باعث مهار عملکرد آنزیم تلومراز در سلول‌های سرطانی می‌شود واین مقدمه‌ای برای آپوپتوزیس و خاصیت ضد رشد سلول‌های سرطانی کورکومین است(۱).عصاره زردچوبه دارای عملکرد ضد اسپرم است وعصاره روغنی این ماده دارای خاصیت ضد آندروژن جنس نر است(۳۲). کورکومینوئید یک اثر حفاظتی بر اپی درم پوست در مقابل رادیکال‌های آزاد اکسیژن نشان می‌دهد هم‌چنین زردچوبه باعث مهار آنزیم تیروزیناز میشود این آنزیم مسئول کاهش نروترانس میتر در سیناپس است هم‌چنین کورکومین به اضافه بور باعث مهار پروتئازهای HIV-۲ و HIV-۱ می‌شود(۲).یکی از اثرات دیابت افزایش فشار اکسیداتیو است که باعث پیشبرد ضایعات در افراد دیابتی شده و هم زمان روندهای ترمیم را نیز کند می‌نماید، ضایعات ایجاد شده در اعصاب محیطی جسم سلولی نورون‌ها را در شاخ قدامی نخاع

www.SID.ir

Archive of SID

تحت تاثیر قرار داده و سبب روندهای دژنراسیون در نخاع می‌شود.سلول‌های نوروگلیا دارای ارتباط متقابل با نورون‌ها هستند و در هنگام آسیب، پایانه‌های عصبی در حال تحلیل بافت عصبی را فاگوسیته کرده و حمایت کننده بافت عصبی هستند هدف از این تحقیق بررسی اثرات حفاظتی عصاره الکلی ریزوم گیاه زردچوبه بر دژنراسیون سلول‌های نوروگلیای شاخ قدامی نخاع پس از کمپرسیون عصب سیاتیک در رت می‌باشد.

مواد وروش‌ها

روش کار

مطالعه از نوع تجربی آزمایشگاهی است که در سال۱۳۸۸ انجام شد. تعداد ۳۰ راس رت نر نژاد ویستار با وزن ۳۰۰-۳۵۰ گرم و سه ماهه از موسسه سرم سازی رازی خریداری و در حیوان خانه دانشکده علوم در شرایط ۱۲ ساعت نور ۱۲ ساعت تاریکی در درجه حرارت ۲۱ درجه سانتی گراد به طوری که امکان دسترسی به آب و غذای مناسب داشته باشند، نگهداری شدند. از ریزوم گیاه *Curcuma longa* عصاره الکلی به روش سوکسله تهیه شده و حیوانات در گروه‌های زیر تقسیم می‌شوند ;۱- کنترل ۲- کمپرسیون ۳- کمپرسیون +القای دیابت ۴- کمپرسیون + القای دیابت +تیمار با عصاره الکلی گیاه با دوز ۲۵ mg/kg (۳بار در ۲۸ روز) ۵- کمپرسیون + القای دیابت +تیمار با عصاره الکلی گیاه با دوز ۵۰ mg/kg (۳ بار در ۲۸ روز) (n=۶)برای القای دیابت در حیوانات از استرپتوزوتوسین با دوز ۵۵mg/kg استفاده شدکه به طریقه داخل صفاقی تزریق شد (۳۳). پس از ۴۸ ساعت از شبکه عروقی گوشه چشم خون گیری شده و نمونه‌های با قند خون زیر ۲۰۰mg/dl از آزمایش حذف شدند، این رت‌ها برای ۴ هفته نگهداری شده و هر هفته قند خون آن‌ها سنجیده شد تا اطمینان حاصل شود که دیابت القا شده است. سپس برای ایجاد کمپرسیون حیوان با رامپون /mg kg ۶و کتامین ۶۰mg/kg بیهوش شده عصب سیاتیک در محل ران آشکار شده و با قیچی قفل‌دار، قفل دوم برای ۳۰ ثانیه تحت فشار قرار داده شد(۶). سپس عضله و پوست بخیه زده شده و حیوان برای ۴ هفته تحت مراقبت قرار گرفت. در گروه‌های تیمار با عصاره، عصاره الکلی گیاه *Curcuma longa* با دوز mg/kg ۲۵ و۵۰ در ۳ نوبت در طی (۲۸ روز) به طریقه داخل صفاقی تزریق شد پس از ۲۸ روز تمام حیوانات بیهوش شده و پس از انجام متد پرفیوژن از نخاع ناحیه کمری نمونه برداری شده و پس از فیکساسیون و طی مراحل پاساژ بافت، برش‌های ۷ میکرونی سریال با رنگ آمیزی آبی تولوئیدین و ائوزین رنگ آمیزی شده و به طریقه دایسکتور دانسیته نورونی نوروگلیاهای نخاع محاسبه شده و توسط تست‌های آماری ANOVA و t-test و سطح معنی داری (P<۰/۰۰۱) از نرم افزار MINITAB اطلاعات گروه‌های تیمار و کنترل آنالیز شد. برای آنالیز داده‌های کمی نیاز به پارامترهایی مانند; ΣQ (مجموع نوروگلیاهای شمارش شده در نیمه چپ نمونه)، Σframe (مجموع دفعات نمونه برداری شده)، V dissector (حجم چهارچوب نمونه برداری) که برابر است با A frame (مساحت چهارچوب نمونه برداری) در H (فاصله بین دو برش یا ضخامت برش‌ها) و ND (Numerical density)یا دانسیته تعداد با استفاده از فرمول می باشد.

$$NV=\frac{\Sigma Q}{V\ dissecto \times \Sigma\ frame}$$

مساحت چهارچوب نمونه برداری بر روی مانیتور ۲/۵ ×۲/۵سانتی متر است که برای به دست آوردن اندازه واقعی این مساحت به میکرون از لام میکرومتری استفاده می کنیم.

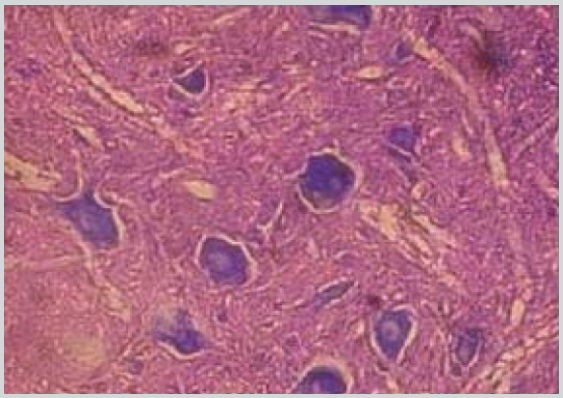
نتایج

آنالیز داده‌ها نشان داد که بین میانگین دانسیته سلول‌های نوروگلیا در گروه دیابت +کمپرسیون (۲۲۵±۲۶۳۱) و گروه کمپرسیون (۳۲۰±۴۶۵۸) کاهش معنی داری وجود دارد(P=۰). هم چنین بین میانگین دانسیته سلول‌های نوروگلیا در گروه کمپرسیون (۳۲۰±۴۶۵۸) و گروه

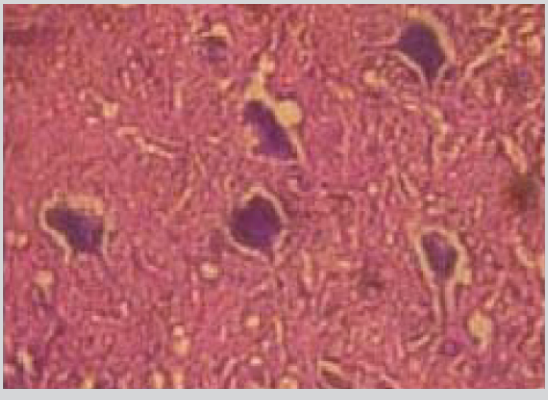
www.SID.ir

Archive of SID

کنترل (۳۵۵±۸۳۷۷) نیز کاهش معنی داری وجود دارد (P=۰). میانگین دانسیته سلول‌های نوروگلیا در گروه دیابت+کمپرسیون+تزریق داخل صفاقی عصاره الکلی ریزوم گیاه *Curcuma longa* با دوز ۲۵ (۵۳۸±۷۲۶۵) است که نسبت به گروه دیابت+کمپرسیون (۲۲۵±۲۶۳۱) افزایش یافته و اختلاف معنی داری را نشان می‌دهد (P=۰). در گروه دیابت +کمپرسیون+ تزریق داخل صفاقی عصاره الکلی ریزوم گیاه *Curcuma longa* با دوز ۵۰ میانگین دانسیته سلول‌های نوروگلیا (۴۵۳±۵۸۶۵) است که نسبت به گروه دیابت+ کمپرسیون (۲۲۵±۲۶۳۱) افزایش یافته و اختلاف معنی داری را نشان می‌دهد(P=۰) (نمودار۱). این مطلب نشان می‌دهد که عصاره گیاه در دو گروه دیابت+ کمپرسیون +تزریق داخل صفاقی عصاره الکلی ریزوم گیاه *Curcuma longa* با دوز ۲۵ و ۵۰ توانسته است تا حدی سبب افزایش نوروگلیاها شود، به طوری که این افزایش در گروه دیابت+ کمپرسیون +تزریق داخل صفاقی عصاره الکلی ریزوم گیاه *Curcuma longa* با دوز ۲۵بیشتر بوده است. این یافته‌ها هم چنین نشان می‌دهند که تزریق داخل صفاقی عصاره الکلی ریزوم گیاه *Curcuma longa* به میزان قابل قبولی می‌تواند سبب افزایش سلول‌های نوروگلیا حتی در شرایطی که بیماری دیابت نیز وجود دارد شود به عبارت دیگر می‌توان گفت تعداد سلول‌های نوروگلیا در گروه‌های دیابت+ کمپرسیون+ تزریق عصاره ۲۵ و ۵۰ حد واسط میان تعداد سلول‌های نوروگلیا در گروه کنترل و گروه‌های دیابت+ کمپرسیون و کمپرسیون می‌باشد که این مطلب در نمودار (۱) قابل مشاهده است.بنابراین همان طور که مقایسه شکل‌های (۳-۱) نشان می‌دهد در گروه‌های تیمار با عصاره الکلی ریزوم گیاه *Curcuma longa* تعداد سلول‌های نوروگلیا (نقاط تیره کوچک در شکل‌ها)، بیشتر از گروه دیابت +کمپرسیون است و ظاهر سلول‌ها طبیعی به نظر می رسد.



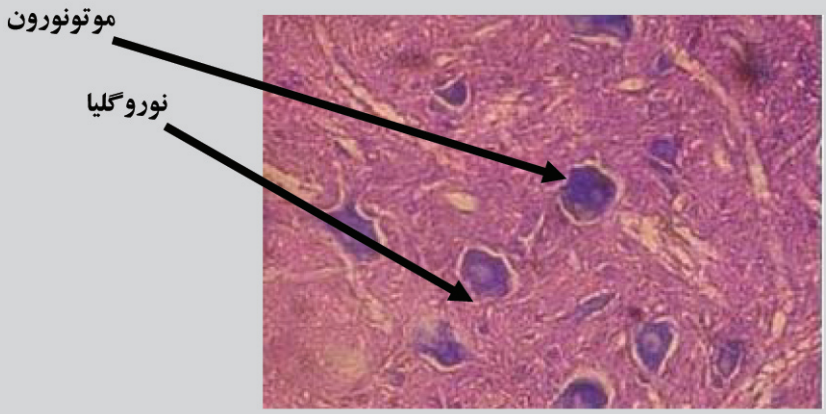
شکل۱ - برش عرضی نیمه چپ نخاع در گروه کنترل.درشت‌نمایی X۱۰۰۰.رنگ آمیزی آبی تولوئیدین



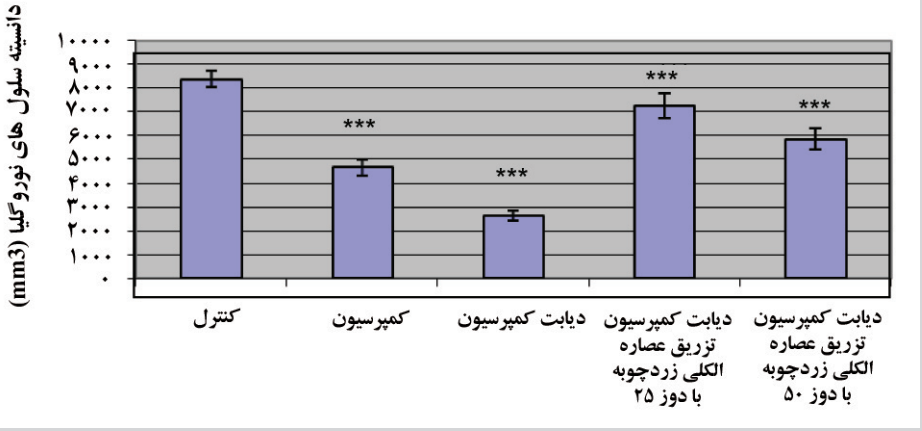
شکل ۲- برش عرضی نیمه چپ نخاع در گروه کمپرسیون. درشت‌نمایی X۱۰۰۰.رنگ آمیزی آبی تولوئیدین

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳- برش عرضی نیمه چپ نخاع در گروه تیمار. درشت‌نمایی X۱۰۰۰.رنگ آمیزی آبی تولوئیدین



نمودار ۱- مقایسه دانسیته سلول‌های نوروگلیا در نخاع در گروه‌های مختلف (n=٦) ،ستاره ها نشانه معنی‌دار بودن است

بحث و نتیجه‌گیری

حاصل از این تحقیق نشان داد که دانسیته تعداد سلول‌های نوروگلیا در گروه‌های کمپرسیون شده و شرایط دیابتک نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری یافته است.علاوه بر این داده‌ها نشان داد که در گروه‌های تیمارشده با عصاره الکلی زردچوبه دانسیته تعداد این سلول‌ها نسبت به شرایط بدون تیمار افزایش معنی داری یافته است. در سال ۲۰۰۲ میلادی مشخص شد ترکیب کورکومین از کورکوما لونگا یا زردچوبه دارای خاصیت آنتی اکسیدانی و کاهش دهنده قند و لیپید در دیابت تولید شده به وسیله استرپتوزوتوسین است (۱۶،۲۸،۳۱). پودر زردچوبه دارای خواص آنتی اکسیدانی بر روی رت‌هایی که به وسیلهSTZ دیابتی شده بودند است(۳۱). تاثیر آنتی اکسیدانی تتراهیدروکورکومین در رت‌های دیابتی شده به وسیله STZ و نیکوتین آمید به اثبات رسیده است(۲۳).در سال ۲۰۰۷ مشخص شد کورکومین بیماری آنسفالوپاتی را در رت‌ها کاهش می‌دهد این اطلاعات بر اساس مطالعات بیوشیمیایی و رفتاری بیان شده است(۵). این ماده به عنوان یک ماده ضد التهاب و عامل ضد انحطاط و فساد نورونی در بیماری‌ها نقش بازی می کند(۲۲). هم چنین در سال ۲۰۰۹ مشخص شد تغذیه از عصاره کورکوما لونگا میزان گلوکز و چربی خون را در خرگوش‌های دیابتی شده به وسیله آلوکسان کاهش می‌دهد(۲). نتایج تحقیق ما نیز با نتایج تحقیقات مذکور سازگاری دارد همان طور که در بالا ذکر شد زردچوبه دارای خواص ضد دیابتی و آنتی اکسیدانی می باشد. رت‌های دیابتی وزن خود را از دست می‌دهند اما تغذیه با زردچوبه باعث بهبود وزن از دست

www.SID.ir

Archive of SID

رفته می‌شود. هم چنین در رت‌هایی که این تغذیه را دارند ۳۰ درصد کاهش در حجم ادرار وقند دفع شده در ادرار مشاهده شده است وپروتئین‌های موجود در عصاره زردچوبه عملکرد التیام بخشی به زخم را در رت‌های دیابتی دارند (۱۷).از طرفی یکی از فاکتورهای مهمی که باعث مرگ سلول‌ها می‌شود رادیکال‌های آزاد تشکیل شده در بدن است که پس از ایجاد ضایعه تولید می‌شوند از جمله رادیکال‌های آزاد می‌توان به (ROS) یا Reactive oxygen species اشاره نمود که به طور طبیعی توسط متابولیسم بدن و از ترکیبات اکسیژن دار تولید می‌شود. تولید بیش از حد(ROS) سبب آسیب به عملکردهای سلولی شود(۱). آنتی‌اکسیدان‌ها نقش ارزنده‌ای در حفاظت نورونی بر عهده دارند. اولین بار در سال ۱۹۷۵ فعالیت آنتی اکسیدانی زردچوبه کشف شد(۱۳). این گیاه همانند یک خنثی کننده رادیکال‌های آزاد اکسیژن عمل می‌کند در آزمایشگاه کورکومین می‌تواند به طور موثری از تولید انواع اکسیژن فعال (ROS) مثل آنیون‌های سوپر اکسید، آب اکسیژنه و تولید رادیکال توسط ماکروفاژهای فعال شده (که نقش مهمی در التهاب بازی می‌کنند) جلوگیری کند، هم چنین کورکومین تولید (ROS) را در محیط طبیعی (in vivo) کاهش می‌دهد(۱). سایر مشتقات کورکومین از جمله دمتوکسی کورکومین و بیس دمتوکسی کورکومین هم اثرات آنتی اکسیدانی دارند کورکومین به طور موثری اثر ممانعتی علیه آب اکسیژنه که باعث ایجاد آسیب در کراتینوسیت‌ها و فیبروبلاست‌ها و سلول‌های NG۱۰۸-۱۵ انسان می‌شود دارد(۱۳). از آن جایی که ROS بر تکامل حالت‌های پاتولوژیک گوناگون دلالت دارد، کورکومین دارای پتانسیلی برای کنترل این بیماری‌ها به کمک فعالیت آنتی اکسیدانی قویی که دارد می‌باشد(۱۸). نوروگلیاها نقش مهمی در کنترل التهاب سیستمیک دارند التهاب سیستمیک سبب انحطاط نورونی می‌شود.مطالعات مختلف نشان داده است که بیماری دیابت زمینه را برای بیماری‌های مغزی عروقی،آنسفالوپاتی دیابتی و اضطراب مهیا می‌کند (۵).آنسفالوپاتی دیابتی به وسیله معیوب شدن هدایت نورون به علت وجود گلوکز در فضای بین سلولی ایجاد می‌شود (۵). ضایعه عصبی آسیبی است که به نورون‌ها وارد می‌شود و سبب له شدگی یا پارگی در نقطه‌ای از این اعصاب می‌شود و نتیجه آن کاهش یا از دست رفتن عملکرد ارگان‌های بدن است (۲۶). در اثر آسیب‌های عصبی نورون‌ها از بین می‌روند و سلول‌های نوروگلیا با عمل فاگوسیتوز، پایانه‌های عصبی در حال تحلیل را می‌بلعند بیماری‌های نورودژنراتیو ارتباطات مداری موجود میان نورون‌ها در CNS را مختل می‌کنند در چنین شرایطی میکروگلیاها و آستروگلیاها فعال شده و با راه اندازی واکنش‌های گلیال بافت عصبی را حفظ می‌نمایند(۲۱). نوروگلیاها نقش مهمی در کنترل التهاب سیستمیک دارند این سلول‌ها به تاثیرات مضر اختلال سیستمیک، استرس و التهاب موثر بر سیستم عصبی مرکزی پاسخ می‌دهند(۱۲).کورکومین دارای یک نقش آنتی اکسیدانی در برابر ضایعات ایجاد شده در آسیب‌های دندریتی است بنابراین می‌تواند نقش مهمی در حفاظت نورون داشته باشد (۳). در رت‌های دیابتی افزایش فعالیت استیل کولین استراز در اثر سیستم کولینرژیک در مخچه ایجاد می‌شود (۵).که درمان طولانی مدت با کورکومین به طور معنی داری باعث کاهش این ضایعه در رت‌های دیابتی می‌شود (۲۵).استرس اکسیداتیو نیز یک عامل کمک کننده به گسترش دیابت است و تترا هیدرو کورکومین یا (THC) که یکی از متابولیت‌های فعال کورکومین است بر روی استرس اکسیداتیو از طریق فعالیت آنتی اکسیدانی خود در رت‌های دیابتی شده به وسیله (STZ) و نیکوتین آمید موثر است (۳۳).کورکومین بر روی نارسایی‌های خونی در مغز رت‌ها نیز موثر است (۲۹). بر طبق مطالعات اخیر کورکومین سبب کاهش آسیب اکسیداتیو و آپوپتوز می‌شود (۴). علاوه بر این در مطالعات اخیر چندین ژن جدید که توسط کورکومین

www.SID.ir

Archive of SID

تنظیم می‌شوند شناسایی شده‌اند این ژن‌ها عبارتند از ژن‌های آلدو- کتو ردوکتاز، گلوکز ۶ فسفات دهیدروژناز و آلدئید اکسیداز که موجود زنده را علیه استرس اکسیداتیو حفاظت می‌کنند.هم چنین افزایش بیان چند ژن کنترل سیکل سلولی مثل پروتئین‌های رله کننده آپوپتوزیس (pirn) و فاکتورهای رشد شبه انسولینی (IGF) از جمله عملکردهای کورکومین است(۱۵).شاید کاهش اثرات تخریبی در نوروگلیاهای نخاع مربوط به اثرات آنتی اکسیدانی کورکومین موجود در عصاره الکلی ریزوم گیاه کورکوما لونگا باشد که باعث القای اثرات نوروپروتکتیوی آن می‌شود و در نتیجه سلول‌های نوروگلیا نیز افزایش چشم گیری نشان می‌دهند و همان طور که گفته شد در هنگام آسیب‌های بافت عصبی میکروگلیاها و آستروگلیاها فعال شده و با راه اندازی واکنش‌های گلیال بافت عصبی را حفظ می‌نمایند پژوهش حاضر بر پایه آثار حفاظتی عصاره الکلی ریزوم گیاه کورکوما لونگا بر جلوگیری از دژنراسیون مرکزی طراحی شده است. نتایج حاصل از مقایسه آماری یافته‌های مربوط به آثار تزریق عصاره الکلی این گیاه در جلوگیری از دژنراسیون مرکزی نورون‌ها در نخاع و افزایش تکثیر سلول‌های نوروگلیا حاکی از آن است که بین میانگین دانسیته سلول‌های نوروگلیا در گروه دیابت+ کمپرسیون+تزریق عصاره ۲۵ و ۵۰ و گروه دیابت+ کمپرسیون و گروه کنترل و گروه کمپرسیون تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($P<۰/۰۰۱$) (نمودار۱). این تفاوت نشان می‌دهد که کمپرسیون عصب سیاتیک سمت چپ موجب کاهش معنی دار دانسیته نورون‌ها در شاخ قدامی سمت چپ ماده خاکستری نخاع و در نتیجه افزایش سلول‌های نوروگلیا می‌شود. کاهش دانسیته نورون‌های نخاع و افزایش دانسیته سلول‌های نوروگلیا را می‌توان به عنوان معیاری برای ارزیابی میزان دژنراسیون مرکزی ناشی از ضایعات اعصاب محیطی و افزایش سلول‌های نوروگلیا که وظیفه حمایت از بافت عصبی را بر عهده دارند، در نظر گرفت. در این رابطه نتایج حاصل از گزارش دیگری حاکی از آن است که قطع عصب سیاتیک موجب تخریب ۱۵ تا ۳۰ درصد سلول‌ها می‌شود(۱۴) که با نتایج حاصل از این تحقیق همسو است زیرا تعداد نوروگلیاها در گروه کمپرسیون کاهش چشمگیری داشته است.نتایج به دست آمده از دانسیته سلول‌های نوروگلیا بین گروه کنترل و گروه کمپرسیون هم‌چنین بین گروه دیابت +کمپرسیون در مقایسه با دو گروه دیابت+ کمپرسیون+ تزریق عصاره ۲۵ و ۵۰ نشان می‌دهد که میانگین دانسیته سلول‌های نوروگلیا در دو گروه دیابت +کمپرسیون +تزریق عصاره ۲۵ و ۵۰ نسبت به گروه دیابت+کمپرسیون به طور معنی داری بیشتر است. هم‌چنین مقایسه دانسیته سلول‌های نوروگلیا بین گروه کنترل و گروه کمپرسیون کاملا معنی دار می‌باشد($P<۰/۰۰۱$) (شکل ۱). این مسئله بیان گر آثار مثبت ۳ بار تزریق عصاره الکلی ریزوم گیاه کورکوما لونگا در طی ۲۸ روز مراقبت پس از کمپرسیون می‌باشد که در جلوگیری از دژنراسیون مرکزی نورون‌های نخاع و افزایش سلول‌های نوروگلیا نقش مهمی داشته است. از آن جا که عصاره ریزوم گیاه دارای ترکیبات و عناصر مختلفی است با توجه به نتایج حاصل از آزمایش فوق می‌توان چنین استدلال کرد که ترکیبات موجود در عصاره الکلی گیاه کورکوما لونگا توانسته است تا حدی از دژنراسیون مرکزی جلوگیری کند در نتیجه تکثیر سلول‌های نوروگلیا افزایش یافته است که با کاهش مرگ نورونی به علت فراهم شدن حمایت‌های تکاملی، متابولیک و فیزیولوژیک همراه بوده. در ارتباط با مکانیسم احتمالی دژنراسیون مرکزی نورون‌های نخاع می‌توان به حذف اطلاعات عصبی ورودی به جسم سلولی نورون‌ها که به طور طبیعی از طریق فیبرهای حسی دریافت می‌شوند اشاره کرد. بنابراین اگر عصب سیاتیک که عصبی مختلط است و دارای فیبرهای حسی و حرکتی قطور میلین دار است تحت کمپرسیون قرار گیرد فیبر حسی Aa نیز آسیب می‌بیند و نورون نخاعی نیز اطلاعات ورودی کافی دریافت نخواهد

www.SID.ir

Archive of SID

کرد. دوم این‌که قطع فیزیولوژیک آکسون نورون‌ها موجب عدم دریافت عوامل تروفیک (به عنوان سیگنال‌های شیمیایی) به جسم سلولی نورون می‌شود و عدم دریافت تروفیک خود می‌تواند منتهی به مرگ نورونی شود(۴).به دنبال آسیب ایجاد شده و پس از تزریق عصاره گیاه تعداد سلول‌های نوروگلیا افزایش داشته که در این حالت کاهش مرگ نورونی مشاهده شده ممکن است در اثر عملکرد حمایتی این سلول‌ها نسبت به نورون‌ها باشد که با جلوگیری از پیشرفت آسیب ایجاد شده و تبادلات میان سلولی متابولیت‌ها با نورون‌های آسیب دیده مانع از مرگ نورونی شده اند. در این تحقیق با تزریق عصاره الکلی ریزوم گیاه کورکوما لونگا افزایش معنی داری در تعداد نوروگلیاها دیده شد که با توجه به نقش حمایتی این سلول‌ها از پیشبرد دژنراسیون جلوگیری شده است بهبود عملکرد نوروگلیاها نسبت به گروه‌هایی که عصاره دریافت نکرده اند احتمالا ناشی از اثرات آنتی اکسیدانی یا ضد التهابی عصاره است که به نوروگلیاها در جلوگیری از التهاب سیستمیک که وجود آن باعث مرگ نورونی می‌شود کمک نموده است. لذا نتایج تحقیق حاضر هم راستا با تحقیقات مربوطه می‌باشد.کمپرسیون با ایجاد ضایعه فشاری در اعصاب دارای اثرات تخریبی در جسم سلولی نورون‌های نخاع است. این اثرات تخریبی به وسیله حمل آکسونی رتروگراد به جسم سلولی رسیده و باعث دژنراسیون مرکزی می‌شود این پدیده در شرایط دیابتی تشدید می شود. نورون‌های نابود شده تجدید ناپذیر هستند تجدید نشدن نورون‌ها ضایعات جبران ناپذیری را برای فرد به وجود می‌آورد با آسیب به نورون‌ها تعداد سلول‌های نوروگلیا ابتدا افزایش ولی در نهایت کاهش یافته و با نقشی که این سلول‌ها در انتقال متابولیت‌ها به نورون‌ها دارند و هم چنین جلوگیری از پیشرفت آسیب ایجاد شده و جلوگیری از التهاب سیستمیک که وجود آن باعث مرگ نورونی می‌شود می توانند از نابود شدن نورون‌ها جلوگیری کنند استفاده از عصاره الکلی ریزوم گیاه *Curcuma longa* به عنوان یک ماده نوروپروتکتیو می‌تواند با کمک به افزایش نوروگلیاها و جلوگیری از مرگ نورونی از ضایعات بعدی جلوگیری کند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که در گروه دیابت+ کمپرسیون +تیمار با عصاره الکلی ریزوم گیاه *Curcuma longa* اثرات رتروگراد کمپرسیون به جسم سلولی نورون‌ها بسیار کاهش یافته است و تعداد سلول‌های نوروگلیا در گروه‌های تیمار بیشتر از دانسیته این سلول‌ها در گروه کمپرسیون و دیابت کمپرسیون است. دانسیته نورونی افزایش یافته وشکل سلول‌ها طبیعی‌تر به نظر می‌رسد و نوروگلیاها افزایش چشم گیری نشان می‌دهند.این نتیجه می‌تواند راهی برای درمان یا کاهش اثرات تخریبی سیستم عصبی مرکزی در شرایط دیابتیک باشد. از آن‌جا که این عصاره در کاهش قند خون نیز نقش دارد پس خواص درمانی چند برابری خواهد داشت.

تشکر و سپاس‌گزاری

این تحقیق در گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد صورت گرفت که از تمام همکاران گروه زیست و مدیریت محترم گروه سرکار خانم محمودزاده و ریاست محترم دانشکده علوم جناب آقای دکتر هروی جهت همکاری‌های بی دریغشان تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1.Aggarwal B., Harikumar K.(2008). Potential therapeutic effects of curcumin , the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, neoplastic diseases. International journal. 41;40-59.

2.Aggarwal B.,Kumar A., Bharti A. (2003). Anticancer potential of curcumin;Preclinical and clinical studies. Anticancer research. 23;363-398.

www.SID.ir

Archive of SID

3.Anurag K., Kanwaljit C. (2007). Curcumin attenuates diabetic encephalopathy in rats; Behavioral and biochemical evidences. European journal of pharmacology. 576;34-42.

4.Arvidsson J.,Ygge J.,&Grant G.(1996). Cell loss in lumbar dorsal root ganglia and transganglionic degeneration after sciatic nerve resection in the rat.Brain res.327;15-21.

5.Azaruba, R.,Nepstein ,P., Acarr, P.(2007). Hyperglycemia alter enzyme activity and cell number in spinal sensory ganglia. Journal of brachial plexus and peripheral nerve injury, 2;2-11.

6.Behnam-Rasouli M.,Nikravesh M., Mahdavi N.,&Tehranipour M.(2000).Post-operative time effects after sciatic nerve crush on the number of alphamotoneurons, using a stereological counting method (Disector). Iranian biomedicall journal.4(1);45-49.

7.Bennett, G., Ray, D.(2007). Glia or Neuroglia. Encyclopedia of Stress, 14;161-166

8.Bhaumik, S., Jyothi, M., Khar, A.(2000). Differential modulation of nitric oxide production by curcumin in host macrophages and NK cells. FEBS Lett, 483; 78–82.

9.Camacho barquero, L.,Villegas, I., Sanchez, C.,Juan ,M.,Taleri ,E., Sanchez, F., Motilva, V.(2007).Curcumin a Curcuma longa constituent acts on MAPK p38 iNOS expression in chronic experimental colitis. International immuno pharmacology, 7;333-342.

10. Chattopadhyay, I.,Biswas, K., Bandyopadhyay, U., Banerjee, R. (2004). Turmeric and curcumin ;Biological actions and medicinal applications. Current science, 87;44-53.

11. Chiu, J.,Khan, Z.,Farhangkhoee, H., Chakrabarti, S. (2008). Curcumin prevents diabetes-associated abnormalities in the kidneys by inhibiting p300 and nuclear factor-kB. Nutrition,10;7-12.

12. Doris, D., Wang, Z., Bordey, A.(2008). The astrocyte odyssey. Progress in Neurobiology, 86; 342- 367.

13. Eshrat H.,&Hussain A. (2002). Hyp oglycemic,hypolipidemic and antioxidant properties of combination of curcumin from Curcuma longa , linn, and partially purified product from Abroma augusta linn. India journal of clinical biochemistry.17;33-43.

14. Gholizadeh nasri A.,Behnam rasoli M.,Nikravesh MR.,Moghimi A.,&Behnam rasoli F.(2007). Neuroprotective effects of sodium meta silicate on motoneurons of spinal cord ventral horn in rats underwent to compressived injury of sciatic nerve.Journal of Iranian Anatomical Sciences.5;9-16.

15. Guyton A.,& Hall J.(2006). Tex of medical physiology. Philadelphia;Elsevier-Saunders.P 707-708

16. Jain,S.,Shrivastava,S.,Nayak,S., Sumbhate,S. (2007). Recent trends in Curcuma longa linn. Phcog,1;119-128.

17. Koliatos V.,Parice W.,Pardo C.,&Price D.(1994).Ventral root avulsion;an experimental model of death of adult motor neurons.Journal Camp Neural.342(1);35-44.

18. Kuroda M., Mimaki Y., Nishiyama T., Mae T., Kishida H., Tsukagawa M., Takahashi K., Kawada T., Nakagawa K.,& Kitahara M. (2005). Hypoglycemic effects of turmeric (Curcuma l. Rhizomes) on genetically diabetic KK-Ay mice. Biol.28;937-939.

19. Lam BY.(2003). Neuroprotective ef-

www.SID.ir

Archive of SID

fects of tanshinones in transient focal cerebral ischemia in mice.Phytomedicine.10(4);286-291.

20. Lu B., Yang Z., Wang M., YangZ., Gong W., Yang Y.,& Wen J. (2010). High prevalence of diabetic neuropathy in population-based patients diagnosed with type 2 diabetes in the Shanghai downtown. Diabetes Research and Clinical Practice, 88;289-294.

21. Michael, T., Heneka , J., Rodríguez, A.(2010). Neuroglia in neurodegeneration. Brain Research Reviews, 63; 189-211.

22. Mrudula, T.,Suryanarayana, P.,Srinivas, P., Bhanuprakash reddy, G.(2007). Effect of curcumin on hyperglycemia-induced vascular endothelial growth factor expression in streptozotocin-induced diabetic at retina. Biochemical and biophysical research communications, 361;528-532.

23. Nwozo S.,Adaramoye O.,&Ajaiyeoba E.(2009). Oral administration of extract from Curcuma longa lowers blood glucose and attenuates alloxan-induced hyperlipidemia in diabetic rabbits. Pakistan journal of nutrition.8;625-628.

24. Perry, VH., Brown, M.C.(1992). Role of macrophages in peripheral nerve degeneration and repair. Bioessays ,14(6); 401-406.

25. Pidaran M.,Leelavinothan P.(2007). Influence of tetrahydrocurcumin on erythrocyte membrane bound enzymes and antioxidant status in experimental type 2 diabetic rats. Journal of ethnopharmacology.113;479-486.

26. Pidaran M.,&Leelavinothan P.(2006). Antioxidant effect of tetrahydrocurcumin in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. Life sciences. 79;1720-1728.

27. Ramirez, L., Rosenstock, J., Mullen, S., Koffler ,M., Greenlee ,R., Sanborn, G. (2004). Isolated symptomatic peripheral neuropathy in type 1 insulin-dependent diabetes mellitus. Diabetes Research and Clinical Practice, 7;227-233.

28. Sharma S.,Kulkarni S., Chopra K. (2006). Curcumin the active principle of turmeric (Curcuma longa) ameliorates diabetic nephropathy in rats. Pharmacology journal. 33;940-950.

29. Shukla K.,Khanna K.,Ali M.,Khan Y.,&Srimal C. (2007). Anti-ischemic effect of curcumin in rat brain. Springer journal. 33;1036-1043.

30. Suresh kumar G.,Shetty A.,Sambaiah K.,&Salimath P. (2005). Antidiabetic property of fenugreek seed mucilage and spent turmeric in streptozotocin-induced diabetic rat. Nutrition research, 25;1021-1028.

31. Swyanarayana P.,Saraswat M., Mrudula T., Krishna P., Krishnaswamy K., Bhanuprakash reddy G. (2005). Curcumin and turmeric belay streptozotocin-induced diabetic cataract in rats. Nutrition journal.49;2092-2099.

32. Vijayalakshmi B.,Suresh kumar G., Salimath,P.(2007). Effect of bitter gourd and spent turmeric on glycoconjugate metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats.Journal of diabetes and its complications.23;71-76.

33. Tehranipour M.(2008).Microanatomical study of the maternal diabetes effects on rat,s choroids plexus in embryonic ,neonatal and adulthood stages. Journal of biological sciences. 8(7);1199-1604.

34. Wiedeman, N., Neville, N., Osborne , A., Reichenbach, B.(2009). Cellular signaling and factors involved in Müller cell gliosis; Neuroprotective and detrimental effects.

www.SID.ir

Archive of SID

Progress in Retinal and Eye Research,28;423-451.

35. Zhao, Y., Ye, W., Boye, K., Holcombe, J., Hall, J., Swindle, R.(2008). Prevalence of other diabetes-associated complications and comorbidities and its impact on health care charges among patients with diabetic neuropathy. Journal of Diabetes and its Complications, 24;9-19.

36. Yu Z.,Kong L.,&Chen Y.(2002). Antidepressant activity of aqueous extracts of Curcuma longa in mice. Journal of ethno pharmacology. 83;161-165.

www.SID.ir