



جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة كربلاء - كلية التربية للعلوم الصرفة

الدور الوقائي لمادة الكركمين Curcumin على التلف الوظيفي والنسجي للنسيج العصبي الناتج من مادة غلوتامات الصوديوم الاحادية في ذكور الارانب

اطروحة مقدمة الى مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة في جامعة كربلاء وهي جزء من
متطلبات نيل درجة الدكتوراه فلسفه في علم الحيوان / فسلجة حيوان

من قبل الطالبة

هبة علوان عبد السلام السلامي

بكالوريوس كلية التربية للعلوم الصرفة - علوم حياة 2006

ماجستير كلية التربية للعلوم الصرفة - علوم حياة 2011

إشراف

الأستاذ الدكتورة

مي فاضل ماجد الحبيب

ايلول/2016 م

الأستاذ الدكتورة

وفاق جبوري محمد البازي

ذي الحجة/1437 هـ

سَلَامٌ عَلَى الْمُرْسَلِينَ

" يُؤْتِي الْحِكْمَةَ مَنْ يَشَاءُ وَمَنْ
يُؤْتِ الْحِكْمَةَ فَقَدْ أُوتِيَ خَيْرًا كَثِيرًا
وَمَا يَذَّكَّرُ إِلَّا أُولُو الْأَلْبَابِ "

صدق الله العلي
العظيم
سورة البقرة / آية
٢٦٩

الإهداء

إلى من أملي رضاه وغايتي حبه ورحمته وغفرانه الله رب العالمين
إلى من اذهب الله عنهم الرجس وطهرهم تطهيراً..... سادتي ومعتدي والنور الذي ينير حياتي
..... خير الخلق أجمعين محمد وآله الطيبين الطاهرين
إلى من تُكتب لأجلها أجمل الكلمات وتُصاغ على أعتاب فضلها أروع العبارات إلى قطعة
الفردوس والجنان أمي نور عيني
إلى من ظل طيفه يرافقتني وسيظل مصدر قوتي واصراري إلى القلب الطيب أبي الحنون
إلى سندي ورفقة عمري زوجي حسام
إلى اللآلئ الاتي شاركني رحلتي الطويلة قرة عيني رزان و ناز
إلى كل قلب أحبني بصدق وإخلاص إلى كل يد امتدت لمساعدتي

هبة

شكر وتقدير

لك الحمد ياذا المجد والجلود والعلا تباركت تعطي من تشاء وتمتع ، الهى وخلاقي وحرزي وموئلي إليك لدى الاعسار واليسر أفزع . الحمد لله رب العالمين والصلاة والسلام على أفضل أنبيائه وخيرة أصفياؤه محمد المصطفى وعلى آله الطيبين الطاهرين... أعلام الهدى والعروة الوثقى واولي الحجة والنهى ... الحمد لله الذي جعل العلم ضياءً والقران نوراً ورفع الذين اتوا العلم درجات عالية إنه كان ذلك في الكتاب مسطورا ... إلهي ما بي من نعمة فمنك وحدك لا شريك لك فلك الحمد والشكر على ذلك .

ها أنا أطوي الصفحات الأخيرة من رحلتي الطويلة ويطيب لي فيها ويشرفني أن أتقدم بالشكر والامتنان والاحترام العميق الى الاستاذتين المشرفتين الدكتورة وفاق جبوري البازي و الدكتورة مي فاضل الحبيب لما كان لهما من الفضل في اختيار موضوع البحث واشرفهما على متابعتها على أكمل وجه واسأل الله العلي القدير أن يمن عليهما بكل خير وعافية ويمد خطاهما لكل خير .

كما اتقدم بالشكر والتقدير الجزيل الى رئاسة جامعة كربلاء لاتها الفرصة لاكمال دراستي واتقدم بالشكر الجزيل الى عمادة كلية التربية / قسم علوم الحياة والى منتسبي القسم كافة لكل ما قدموه من تسهيلات ودعم ساعدت على اخراج هذه الرسالة على افضل وجه .ومن العرفان بالجميل اتقدم بالشكر الجزيل الى مستشفى الحسيني التعليمي في محافظة كربلاء / شعبة الكيمياء السريرية وأخص بالذكر الدكتور رياض حنيوة .

ويطيب لي أن أتقدم بالشكر الجزيل الى الاستاذ الدكتور عبد الكريم البيروماني جامعة الكوفة /كلية العلوم للبنات لما قدمه لي من مساعدة في تصنيف النبات المستخدم في دراستي .

يشرفني ويسعدني ان اتقدم بالشكر الجزيل الى عائلتي العزيزة (امي ، حسام ، رزان ، ناز ، حسين ، حوراء ،فاضلة ، تيسير ، طيبة ، علي ، محمد، مصطفى) لمساعدتهم لي في تسهيل الكثير من الصعوبات خلال ايام الدراسة والبحث ، ولايفوتني ان اقدم خالص اعترازي وتقديري الى رفاقي في دراستي طلاب الدراسات العليا (علياء ،الاء ، زينة ، حيدر) . اهدي شكري وتقديري الى كل من غاب اسمه وحضر فضله وخير عمله و فقههم الله جميعا لما فيه خير وعافية .

هبة

الخلاصة

تهدف هذه الدراسة معرفة الدور الوقائي لمادة الكركمين Curcumine ضد التلف الحاصل في الجهاز العصبي والمستحث بمادة غلوتامات الصوديوم الاحادية (MSG) في ذكور الارانب .

هدفت التجربة الاولى الى استخلاص وتنقية مادة الكركمين من رايزومات نبات الكركم وجرت عملية الاستخلاص باستخدام جهاز السكسليت Sexhlet apparatus وتم التحليل الكمي للكركمين باستخدام جهاز HPLC ، تضمنت التجربة الثانية تحديد الجرعة المؤثرة النصفية (ED₅₀) لمادة الكركمين من خلال دراسة منحنى الجرعة المؤثرة فقد تم استخدام 90 من ذكور الأرناب البالغة تراوحت اعمارها بين 8-9 أشهر واوزانها ما بين 1500-2000 غرام والتي قسمت عشوائيا الى ستة مجاميع متساوية (15 حيوان / مجموعة) وجرعت فمويا خمس جرع متزايدة من مادة الكركمين يوميا (0، 20، 40، 60، 80 و 100 ملغم/كغم) ولمدة اربعة اسابيع ، جمعت عينات الدم بعد نهاية كل اسبوع لدراسة المعايير التالية : تركيز المالنولديهايد (MDA)، الكلوتاثيون المختزل (GSH) ، الكولسترول الكلي (TC) وتركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة (HDL) وكانت الجرعة المؤثرة النصفية للكركمين تساوي (60 ملغم /كغم / و.ج) .

هدفت التجربة الثالثة دراسة الدور الوقائي لمادة الكركمين على التأثير الضار في النسيج العصبي والمستحث باستخدام غلوتامات الصوديوم الاحادية ، فقد تم استخدام 60 من ذكور الأرناب البالغة والتي قسمت عشوائيا الى اربعة مجاميع متساوية (15 حيوان / مجموعة) ، جرعت المجموعة الاولى (G1) 1 مل/ كغم من زيت الذرة وعدت كمجموعة سيطرة ، وجرعت المجموعة الثانية (G2) 3 ملغم /كغم من MSG لمدة ثلاثة اشهر يوميا ، جرعت المجموعة الثالثة (G3) ب 60 ملغم /كغم ، في حين جرعت حيوانات المجموعة الرابعة (G4) 3 ملغم /كغم من MSG و 60 ملغم /كغم من الكركمين ولمدة ثلاثة اشهر يوميا .

جمعت عينات الدم بعد تجويع الحيوانات Fasting blood sample في فترة ما قبل المعاملة ، بعد منتصف التجربة و حتى نهاية التجربة لدراسة المعايير التالية : تركيز انزيم الاستيل كولين استريزاذائب (G1) AChE ، الاستيل كولين استريز المرتبط بالغشاء Neuronal Mitochondrial ATPase (Nmit ATPase) ، تركيز انزيم AChE(G4)

، المالنوالديهايد (MDA) ، الكلوتاثيون المختزل (GSH) ، البيروكسي نايتريت (-ONOO) ، تركيز البروتين الكلي Total protein (TP) في المصل السائل المخي الشوكي ، تركيز الكلوكوز (GLU) في المصل والسائل المخي الشوكي ، تركيز ايون الكالسيوم Ca^{+} و ايون الحديد Fe^{+} اضافة الى قياس تركيز نسبة هرموني الكرلين والابستاتين و ghrelin/obestatin ratio و هرمون الكورتكوستيرون .

اظهرت نتائج هذه التجربة ان التجريع الفموي ب MSG أدى الى حدوث انخفاض معنوي ($P<0.01$) في معدل تركيز انزيم AchE(G4) ، Nmit ATPase ، GSH ، TP في المصل والسائل المخي الشوكي، ghrelin/obestatin ratio ، وارتفاع معنوي ($P<0.01$) في معدل تركيز انزيم AchE (G1) ، $ONOO^{-}$ ، MDA ، GLU في المصل والسائل المخي الشوكي ، Ca^{+} و Fe^{+} و تركيز هرمون الكورتكوستيرون مقارنة مع مجموعة السيطرة .

فيما اظهرت المجموعة المعاملة ب ED_{50} للركمين حدوث ارتفاع معنوي ($P<0.01$) في تركيز انزيم Nmit ATPase ، GSH ، TP في المصل والسائل المخي الشوكي ، GLU في المصل والسائل المخي الشوكي وانخفاض معنوي ($P<0.01$) في تركيز انزيم (G4) AchE ، انزيم AchE (G1) ، MDA ، $ONOO^{-}$ ، Ca^{+} و Fe^{+} ، تركيز هرمون الكورتكوستيرون وعدم وجود فروق معنوية في معدل تركيز GLU في المصل والسائل المخي الشوكي ، ghrelin/obestatin ratio مقارنة مع مجموعة السيطرة .

كما تبين التجربة ان التجريع الفموي ب MSG مع التجريع الفموي بال ED_{50} من الكركمين ادى الى ارتفاع معنوي ($P<0.01$) في معدل تركيز انزيم AchE (G4) ، وانخفاض معنوي ($P<0.01$) في معدل تركيز انزيم AchE(G1) ، TP في المصل والسائل المخي الشوكي، Ca^{+} ، ghrelin/obestatin ratio وعدم وجود فروق معنوية في تركيز انزيم Nmit ATPase ، GSH ، MDA ، $ONOO^{-}$ ، Fe^{+} و تركيز هرمون الكورتكوستيرون .

اظهرت نتائج الفحص النسيجي ان التجريع الفموي ب MSG ولمدة ثلاثة اشهر ادى الى حدوث تغيرات تنكسية واضحة في النسيج العصبي بعد المعاملة بصبغة H&E ، في حين يظهر من معاملة النسيج العصبي بصبغة السلفر Silver stain ظهور واضح للويحات البيتا امليويد $A\beta$ منتشرة في نسيج المخ و المخيخ والحبل الشوكي ، كما يلاحظ التركيب الطبيعي للنسيج العصبي بصبغتي H&E بالنسبة للمجموعة التي جرعت فمويا ب MSG مع التجريع

الفموي بالكرمين وانعدام ترسب البيتا امليويد A β في النسيج العصبي بعد التصبيغ بصبغة السلفر مقارنة مع مجموعة السيطرة.

يستنتج من الدراسة الحالية ان مادة غلوتامات الصوديوم الاحادية (MSG) تسبب تغيرات مرضية واضحة للنسيج العصبي وتؤكد ان المعاملة بالجرعة المؤثرة النصفية لمادة الكركمين Curcumin (60 ملغم /كغم) لها دور الوقائي ضد التلف الحاصل في النسيج العصبي المستحث بمادة MSG لذكور الارانب المحلية .

قائمة المحتويات

الصفحة	الموضوع	التسلسل
I	الخلاصة	
IV	المحتويات	
VIII	قائمة الجداول	
X	قائمة الاشكال والصور	
XII	قائمة المختصرات	
الفصل الاول المقدمة		
1	المقدمة	
الفصل الثاني استعراض المراجع		
4	غلوتامات الصوديوم الاحادية (MSG) Monosodium glutamate	1-2
5	اكتشاف مركب غلوتامات الصوديوم الاحادية	2-2
6	Dietary source of glutamate المصادر الغذائية للغلوتامات	3-2
8	التخليق والفعالية الحيوية للغلوتامات في الجسم	4-2
11	تمثيل الغلوتامات في الجسم	5-2
11	امتصاص الغلوتامات	1-5-2
12	استجابة الدماغ للغلوتامات الموجودة في المعدة	2-5-2
14	فرط تحفيز الغلوتامات	6-2
17	تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على الجهاز العصبي المركزي	7-2
19	امراض الجهاز العصبي	8-2
19	مرض الزهايمر	1-8-2
21	البيتا - امليويد β -Amyloid	9-2
25	تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على الوظائف المعرفية	10-2
26	مرض الزهايمر وخلل الية عمل المايتوكوندريا	11-2
28	الاستيل كولين و الاستيل كولين استريز	12-2
30	هرمون الكارلين	13-2
32	هرمون الاوبستاتين	14-2
33	تأثيرات غلوتامات الصوديوم الاحادية على الشهية والسمنة	15-2
35	النبات الطبي المستخدم في هذه الدراسة (الكركم)	16-2
35	الخواص العلاجية لمادة الكركمين	1-16-2
37	الكركمين ومرض الزهايمر	2-16-2

الفصل الثالث المواد وطرائق العمل		
44	حيوانات التجربة	2-3
44	تصميم التجربة	3-3
44	التجربة الاولى	1-3-3
45	استخلاص الكركمين	1-1-3-3
45	التحليل الكمي للمستخلص الكحولي لنبات الكركم باستخدام طرق الكروماتوجرافي عالي الاداء	2-1-3-3
46	فصل و تنقية الكركمين بطريقة العمود اللوني	3-1-3-3
46	التجربة الثانية	2-3-3
47	التجربة الثالثة	3-3-3
48	سحب الدم	4-3-3
49	سحب عينة السائل المخي الشوكي	5-3-3
50	قياس تركيز الانزيمات	4-3
50	قياس تركيز انزيم الاستيل كولين استريز	1-4-3
50	المحاليل المستخدمة	1-1-4-3
51	تحضير النسيج	2-1-4-3
52	قياس تركيز انزيم Neuronal Mitochondrial ATPase	2-4-3
53	الفحوصات الكيموحيوية	5-3
53	تقدير تركيز المالوندايالديهيد في مصل الدم	1-5-3
55	تقدير تركيز الكلوتاثيون المختزل في مصل الدم	2-5-3
56	تقدير تركيز الكوليسترول الكلي في مصل الدم	3-5-3
58	تقدير تركيز الشحوم البروتينية العالية الكثافة في مصل الدم	4-5-3
60	تقدير تركيز البيروكسي نايتريت في مصل الدم	5-5-3
61	تقدير البروتين الكلي في مصل الدم	6-5-3
63	تقدير مستوى تركيز الكلوكوز في مصل الدم	7-5-3
65	قياس مستوى تركيز البروتين الكلي في عينة السائل المخي الشوكي	8-5-3
66	قياس مستوى تركيز الكلوكوز في عينة السائل المخي الشوكي	9-5-3
68	قياس تركيز الايونات	6-3
68	تقدير تركيز الكالسيوم في مصل الدم	1-6-3
69	قياس تركيز الحديد الحر في المصل	2-6-3
71	قياس تركيز الهرمونات	7-3
71	قياس تركيز هرمون Ghrelin/Obestatin ratio	1-7-3
72	قياس تركيز هرمون الكورتيكوستيرون	2-7-3
73	التحضيرات النسجية	8-3
75	التصوير المجهرى	9-3
75	التقدير الكمي للبيتا املويد بصبغة السلفر	10-4
78	التحليل الأحصائي	11-3

الفصل الرابع النتائج		
80	التجربة الاولى التحليل الكمي للمستخلص الكحولي لنبات الكركم باستخدام طرق الكروماتوجرافي عالي الاداء	1-4
82	التجربة الثانية تحديد الجرعة المؤثرة للكركمين	2-4
82	تأثير الجرع المختلفة من الكركمين على بعض المعايير الكيموحيوية	2-1-4
82	تأثير الجرع المختلفة من الكركمين على تركيز المالمونالديهايد	1-2-1-4
83	تأثير الجرع المختلفة من الكركمين على تركيز الكلوتاثيون المختزل	2-2-1-4
85	تأثير الجرع المختلفة من الكركمين على تركيز الكولسترول الكلي	3-2-1-4
86	تأثير الجرع المختلفة من الكركمين على تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة	4-2-1-4
87	العلاقة الخطية بين التراكيز المختلفة من الكركمين والمعايير الوظيفية لدم ذكور الارانب	2-2-4
87	تأثير الجرع المختلفة من الكركمين على تركيز المالمونالديهايد في مصل دم ذكور الارانب	1-2-2-4
87	تأثير الجرع المختلفة من الكركمين على تركيز الكلوتاثيون المختزل في مصل دم ذكور الارانب	2-2-2-4
88	تأثير الجرع المختلفة من الكركمين على تركيز الكوليستيرول الكلي في مصل دم ذكور الارانب	3-2-2-4
89	تأثير الجرع المختلفة من مادة الكركمين على تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة في مصل دم ذكور الارانب	4-2-2-4
90	التجربة الثالثة	3-4
90	تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على المعايير الانزيمية	1-3-4
90	التغيرات في معدل تركيز انزيم الاستيل كولين استريز الذائب	1-1-3-4
91	التغيرات في معدل تركيز انزيم الاستيل كولين استريز المرتبط بالغشاء	2-1-3-4
92	التغيرات في معدل Nurodal mitochondrial ATPase تركيز انزيم	3-1-3-4
94	تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على المعايير الكيموحيوية	2-3-4
94	التغيرات في معدل تركيز الكلوتاثيون المختزل	1-2-3-4
95	التغيرات في معدل تركيز المانولديهايد	2-2-3-4
96	التغيرات في معدل تركيز البيروكسي نايتريت	3-2-3-4
97	التغيرات في معدل تركيز البروتين الكلي في المصل	4-2-3-4
98	التغيرات في معدل تركيز الكلوكوز في المصل	5-2-3-4
99	التغيرات في معدل تركيز البروتين الكلي في السائل الشوكي	6-2-3-4
100	التغيرات في معدل تركيز الكلوكوز في السائل الشوكي	7-2-3-4
101	تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على معدل تركيز بعض الايونات	3-3-4
101	التغيرات في معدل تركيز الكالسيوم	1-3-3-4
102	التغيرات في معدل تركيز الحديد الحر في المصل	2-3-3-4
103	تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على معدل تركيز بعض الهرمونات	4-3-4

103	التغيرات في على معدل تركيز هرمون الكرلين والابوستاتين	1-4-3-4
104	التغيرات في على معدل تركيز هرمون الكورتكوستيرون	2-4-3-4
105	التغيرات النسيجية	5-3-4
104	تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على نسيج المخ	1-5-3-4
108	التقدير الكمي للبيتا امليويد بصبغة السلفر في نسيج المخ	1-1-5-3-4
108	تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على نسيج المخ	2-5-3-4
111	التقدير الكمي للبيتا امليويد بصبغة السلفر في نسيج المخ	2-1-5-3-4
111	تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على نسيج الحبل الشوكي	3-5-3-4
114	التقدير الكمي للبيتا امليويد بصبغة السلفر في نسيج الحبل الشوكي	1-3-5-3-4
الفصل الخامس المناقشة		
115	تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على بعض المعايير الانزيمية	1-5
118	الدور الوقائي للكرامين على بعض المعايير الانزيمية	2-5
120	تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على بعض المعايير الكيموحيوية (الكلوتاثيون المختزل GSH ، المانولديهايد MDA ، البيروكسي نايتريت - ONOO ، البروتين الكلي ، الكلوكوز)	3-5
124	الدور الوقائي للكرامين على بعض المعايير الكيموحيوية (الكلوتاثيون المختزل GSH ، المانولديهايد MDA ، البيروكسي نايتريت - ONOO ، البروتين الكلي ، الكلوكوز)	4-5
127	تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على معدل تركيز بعض الايونات (الكالسيوم Ca^{+} والحديد الحر Fe^{+})	5-5
130	الدور الوقائي للكرامين على معدل تركيز بعض الايونات (الكالسيوم Ca^{+} والحديد الحر Fe^{+})	6-5
131	تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على بعض المعايير الهرمونية (Corticosteron و Ghrelin/obestatin ratio)	7-5
133	الدور الوقائي للكرامين على بعض المعايير الهرمونية (Corticosteron و Ghrelin/obestatin ratio)	8-5
135	تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على النسيج العصبي	9-5
136	الدور الوقائي للكرامين على النسيج العصبي	10-5
الفصل السادس الاستنتاجات والتوصيات		
139	الاستنتاجات	
140	التوصيات	
141	المصادر	
200	الخلاصة باللغة الانكليزية	

قائمة الجداول

الصفحة	العنوان	التسلسل
7	جدول يبين المستويات الطبيعية للغلوتامات في بعض انواع منتجات اللحوم والخضروات	1-2
40	جدول الاجهزة المستخدمة حسب الشركة والمنشا	1-3
41	جدول الادوات الزجاجية والبلاستيكية حسب الشركة والمنشا	2-3
41	جدول المواد الكيميائية حسب الشركة والمنشا	3-3
80	جدول قراءة المحاليل القياسية للكرم	1-4
80	جدول قراءة محلول النموذج المفصول بتقنية ال HPLC	2-4
83	في ذكور الارانب جدول تأثير تراكيز مختلفة من الكركمين على تركيز المانولديهايد في مصل ذكور الارانب	3-4
84	جدول تأثير تراكيز مختلفة من الكركمين على تركيز الكلوتاثيون المختزل في مصل ذكور الارانب	4-4
85	جدول تأثير تراكيز مختلفة من الكركمين على تركيز الكولسترول الكلي في مصل ذكور الارانب	5-4
86	جدول تأثير تراكيز مختلفة من الكركمين على تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة في مصل ذكور الارانب	6-4
91	جدول تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على معدل تركيز انزيم AChE(G1) الذائب في مصل ذكور الارانب المعرضة لغلوتامات الصوديوم الاحادية	7-4
92	جدول تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على معدل تركيز انزيم AChE(G4) المرتبط بالغشاء في مصل ذكور الارانب المعرضة لغلوتامات الصوديوم الاحادية	8-4
93	جدول تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على معدل تركيز انزيم Nuronal mitochondrial ATPase في مصل ذكور الارانب المعرضة لمادة غلوتامات الصوديوم الاحادية	9-4
94	جدول تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على معدل تركيز الكلوتاثيون المختزل GSH في مصل ذكور الارانب المعرضة لغلوتامات الصوديوم الاحادية	10-4
95	جدول تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على معدل تركيز المانولديهايد (MDA) في مصل ذكور الارانب المعرضة لغلوتامات الصوديوم الاحادية	11-4
96	جدول تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على معدل تركيز البيروكسي نايتريت -ONOO في مصل ذكور الارانب المعرضة لغلوتامات الصوديوم الاحادية	12-4
97	جدول تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على معدل تركيز البروتين الكلي في مصل ذكور الارانب المعرضة لغلوتامات الصوديوم الاحادية	13-4
98	جدول تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على معدل تركيز	14-4

	الكلوكوز في مصّل ذكور الارانب المعرضة لغلوتامات الصوديوم الاحادية	
99	جدول تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على معدل تركيز البروتين الكلي Mmol/L في السائل الشوكي ذكور الارانب المعرضة لغلوتامات الصوديوم الاحادية	15-4
100	جدول تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على معدل تركيز الكلوكوز في السائل الشوكي في مصّل ذكور الارانب المعرضة لغلوتامات الصوديوم الاحادية	16-4
101	جدول تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على معدل تركيز الكالسيوم في مصّل ذكور الارانب المعرضة لغلوتامات الصوديوم الاحادية	17-4
102	جدول تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على معدل تركيز الحديد الحر في مصّل ذكور الارانب المعرضة لغلوتامات الصوديوم الاحادية	18-4
103	جدول تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على معدل تركيز هرمون الكرلين والاوبستاتين Ghrelin/Obestatin ratio في مصّل ذكور الارانب المعرضة لغلوتامات الصوديوم الاحادية	19-4
104	جدول تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على معدل تركيز هرمون Corticosteron في مصّل ذكور الارانب المعرضة لغلوتامات الصوديوم الاحادية	20-4
108	جدول التقدير الكمي للبيتا امليويد بصبغة السلفر في نسيج المخ	21-4
111	جدول التقدير الكمي للبيتا امليويد بصبغة السلفر في نسيج المخ	22-4
114	جدول التقدير الكمي للبيتا امليويد بصبغة السلفر في نسيج الحبل الشوكي	23-4

قائمة الصور والاشكال

الصفحة	العنوان	التسلسل
4	شكل التركيب الكيميائي لغلوتامات الصوديوم الاحادية	1-2
9	شكل يوضح انتقال الغلوتامات عبر الحاجز الدماغي – الدموي (BBB)	2-2
12	شكل يوضح المصير الايضي للغلوتامات داخل الخلايا المعوية	3-2
14	شكل يوضح مسار انتقال الغلوتامات من المعدة الى الدماغ	4-2
16	مخطط يوضح تأثير ايونات الكالسيوم الناتجة من التحفيز الزائد للغلوتامات في الخلية العصبية	5-2
21	شكل يوضح الملامح المرضية الاساسية لمرض الزهايمر التي تتضمن انفلاق ال APP وتكوين βA ، تكوين وترسب NFTs و خلل في وظيفة المشبك العصبي نتيجة تجمع βA	6-2
24	شكل يوضح مسارات تحلل وانشطار ال APP في خلايا الدماغ	7-2
28	شكل يوضح خلل الية عمل المايتوكوندريا في حالة مرض الزهايمر	8-2
36	شكل التركيب الكيميائي للكرامين	9-2
39	شكل تفاعل مادة الكركمين مع لويحات البيتا امليويد ($A\beta$)	10-2
44	شكل تصميم التجربة	1-3
76	صورة توضح مجهر (Genix) مع الكاميرا الرقمية التي تم استخدامها في تصوير المقاطع وتوضح ظهور شاشة البرنامج المستخدم في القياسات (Aperio image scope soft ware)	1-3
76	صورة توضح نتائج المعلومات التي تم ادخالها الى البرنامج مع ظهور الاعداد والبيانات الخاصة بكل نوع من انواع القياسات وبحسب اللون	2-3
77	صورة توضح صورة النسيج المستخدم والبيانات التي تم استخدامها في تحديد المناطق المتأثرة ومدى الايجابية في كل منطقة	3-3
78	صورة تبين كيف تم تحديد المنطقة المراد قياسها بالبيانات الظاهرة في الشاشة الرقمية مع الاحداثيات التي تم ادخالها	4-3
81	شكل يوضح منحنى المكونات الكيميائية لنبات الكركم بتقنية HPLC	1-4
87	شكل تأثير الجرعة المختلفة من الكركمين على تركيز المالمونالديهايد MDA	2-4
88	شكل تأثير الجرعة المختلفة من الكركمين على تركيز الكلوتاثيون المختزل GSH	3-4
88	شكل تأثير الجرعة المختلفة من الكركمين على تركيز الكوليسترول الكلي TC	4-4
89	شكل تأثير الجرعة المختلفة من مادة الكركمين على تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL	5-4
106	صورة تبين مقطع نسيجي لمخ حيوان في مجموعة ذكور الارانب (H&E) بصيغة الهيماتوكسلين والايوسن	1-4

107	صورة تبيين مقطع نسيجي لمخ حيوان في مجموعة ذكور الارانب السلفر (Silver stain)	2-4
109	صورة تبيين مقطع نسيجي لمخيخ حيوان في مجموعة ذكور الارانب بصبغة الهيماتوكسلين والايوسين (H&E)	3-4
110	صورة (4-4) تبيين مقطع نسيجي لمخيخ حيوان في مجموعة ذكور الارانب معاملة بصبغة السلفر Silver stain	4-4
112	صورة (5-4) تبيين مقطع نسيجي للحبل الشوكي لحيوان في مجموعة ذكور الارانب بصبغة الهيماتوكسلين والايوسين (H&E)	5-4
113	صورة تبيين مقطع نسيجي للحبل الشوكي لحيوان في مجموعة ذكور الارانب معاملة بصبغة السلفر Silver stain	6-4

قائمة المختصرات

المختصرات	المصطلحات
3-NP	3-nitro propionic acid
5-HT	5-hydroxy tryptamine
ACH	Acetyl choline
AChE	Acetyl choline estrase
AgRP	Agouti - related peptide
AD	Alzheimer's disease
AMPK	AMP-activated protein kinase
APP	Amyloid Precursor Protein
AICD	APP intercellular C-terminal domain
ARC	Aurcuate Nucleus
ABAD	A β binding alcohol dehydrogenase
A β	Beta amyloid
BACE1	beta-site APP-cleaving enzyme1
BBB	Blood brain barrier
BMI	Body mass index
Ca ⁺	Calcium
CPT1	Carnitine palmitoyl transferase 1
CAT	Catalase
CSF	Cerebro Spinal Fluid
C/EBP α	C-terminal enhancing binding protein α
CDK	cyclin-dependent kinases
CySS	Cysteine
Cyt C	Cytochrome C
DNM1L	Diamine like GTPase
eNOS	endothelial nitric oxide synthase
EC	Enterochromaffin cells
EAAC- 1	Excitatory amino acid carrier 1
EAAT _s	Excitatory amino acid transporters
ECF	Extracellular fluid
ERK1/2	Extracellular signal regulated kinase 1/2
FAS	Fatty acid synthase
Fe ⁺	Free iron
GPR-39	G protein coupled receptor
GLAST-1	Gltamate -aspartate transporter 1
GLT -1	Gltamate transporter 1

Glucose	GLU
glucose -6- phosphate	G6Pase
Glutamate dehydrogenase	GDH
Glutathione peroxidase	GPx
Glutathione reductase	GR
Glutathione S-transferase	GST
Heme oxygenase-1	HO-1
High Density Lipoprotein	HDL
High Performance Liquid_Chromatography	HPLC
Huntington's disease	HD
Hydrogen peroxide	H ₂ O ₂
Hydroxyl radical	OH ⁻
Hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis	HPA
Inositol triphosphate	IP3
Lateral Sclerosis	ALS
lipid peroxidation	LPO
Long term potentiation	LTP
low density lipoprotein receptor related protein 1	LRP1
Malondialdehyde	MDA
Membrane -bound acetyl choline esterase	AchE(G4)
metabotropic glutamate receptor 1	mGluR1
metabotropic Glutamate receptors	mGluRs
Mitochondrial DNA	mt DNA
mitochondrial permeability transition pore	MPTP
Mitogen-activated protein kinases	MAPKs
Monosodium glutamate	MSG
NeuroFibrillary Tangles	NFTs
Neuronal Mitochondrial ATPase	Nmit ATPase
Neuropeptide Y	NPY
nicotine amide dinucleated phosphate	NADPH
Nitric oxide	NO
Nitric oxide synthase	iNOS
N-methyl-D-aspartate	NMDA
Nuclear factor kappa beta	NF-Kb
Nucleus of solitary tract	NTS
Optic atrophy 1	OPA1
Oxidative Phosphorylation	OXPHOS
Paired Helics Fibers	PHFs
Parkinson's disease	PD
Periventricular nucleus	PVN
Peroxisome proliferator- activated receptor	PPAR γ

Peroxy nitrate	ONOO ⁻
phosphoenol pyruvate carboxy kinase	PEPCK
proliferator – activated receptor γ coactivator-1 α	PGC-1 α
Protein kinase	PKC
Reactive nitrogen species	RNS
Reactive oxygen species	ROS
Reduced Glutathion	GSH
Senile Plaques	SP
Serotonin	5-HT
Sodium Phosphate Buffer	PB
Sodium Phosphate Buffer Saline	PBS
Soluble- acetyl choline esterase	AchE(G1)
Soluble N- ethylmaleimide- sensitive factor attachment receptor	SNARE
Super oxide	O ₂ ⁻
Superoxide dismutase	SOD
Total Cholesterol	TC
Total protein	TP
Transferrin receptor 1	TfR1
Tricarboxylic acid cycle	TAC
Uncoupling protein 2	UCP2
Voltage –dependent anion-selective channel protein -1	VDAC-1
World Health Organization	WHO
α - Ketoglutarate dehydrogenase	α KGD
α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isox-azolepropionic acid	AMPA
α -ketoglutarate	AKG
γ –amino- butyric acid	GABA

المقدمة

Introduction

يعد الغلوتامات أحد الأحماض الأمينية غير الأساسية الأكثر وفرة في الجسم و يلعب دوراً خاصاً في الجهاز العصبي كناقل عصبي ، فهو من النواقل العصبية المهمة في الجسم ، ويتواجد بشكلين رئيسيين هما الغلوتامات الحر Free glutamate والغلوتامات المرتبط Bound glutamate (Sharma & Deshmukh , 2015) . ويوجد بتراكيز قليلة جدا في الجسم وهذه النسبة القليلة منه ضرورية جدا لوظائف الدماغ المثالية (Cooper & Jeithner , 2016) ان التحرير المتزايد للغلوتامات و زيادة تركيزه في الجهاز العصبي يؤدي الى حدوث التهيج العصبي excitotoxicity ، الذي يكون سبب رئيسي للعديد من الاعتلالات العصبية بضمنها مرض الزهايمر (AD) (Prentice et al , 2015) .

عَرَّف اتحاد منظمة الصحة العالمية و إدارة الغذاء والدواء الأمريكية WHO/FDA المضافات الغذائية بأنها اي مادة ليست لها قيمة غذائية تضاف الى الغذاء، وبكميات قليلة، لتحسين مظهره أو طعمه أو قوامه أو قابليته للتخزين (Jaina & Mathura , 2015) ، و صدر تعريف دولي اخر يعرّف المواد المضافة بأنها مادة لا تُستهلك بذاتها كغذاء ، ولا تُستعمل عادة كمكون غذائي ، سواء كان لها قيمة غذائية أم لا وتضاف لتحقيق اغراض تكنولوجية و اصبحت هذه المواد جزءاً من الغذاء، وتؤثر على خواصه سواء بشكل مباشر او غير مباشر (Mephram , 2011) .

تعد مادة غلوتامات الصوديوم الاحادية (MSG) monosodium glutamate واحدة من اكثر المضافات الغذائية استخداما في العالم كمحسنات للطعم (Husarova & Ostatnikova , 2013) ، ويتم إخفاء اسم هذه المادة السامة في الأغذية تحت مسميات مختلفة منها الجلوتامات ، Ajinomoto وغيرها ، في حين تصنف ادارة الاغذية والادوية الامريكية ملح غلوتامات الصوديوم الاحادية على انه طعام امن معترف به Generally recognized as safe (GRAS) ، كما يصنفه الاتحاد الاوربي على انه من المضافات الغذائية المسموح به في بعض الاطعمة لكنه يخضع لقيود الكمية (Elyazji et al , 2015)

تمتلك مادة MSG العديد من التأثيرات على الجهاز العصبي المركزي ، فقد افادت العديد من الدراسات ان استخدام هذه المادة يؤدي الى العديد من التأثيرات الضارة على الدماغ ، اذ تسبب الجرعة العالية منها الاخلال في وظائف الدماغ ، الرعاش ، فقدان الاتزان والحركات غير المتناسقة ، و تسبب اضطرابات في افراز العديد من الغدد الصماء العصبية Neuroendocrine disorders (Ashaolu *et al*, 2011) ، كما ان اعطاء جرعات عالية من MSG تؤدي الى حدوث تلف للخلايا الدماغية في منطقة القشرة الدماغية نتيجة لتأثيراتها على زيادة الاثارة العصبية (Lim *et al*, 2013) .

نظرا للدور الوقائي للعديد من مضادات الأكسدة في علاج الكثير من حالات الإجهاد التأكسدي جاءت فكرة استخدام مادة الكركمين كمادة وقائية ضد الاعتلالات العصبية التي يمكن ان تسببها مادة MSG نتيجة لامتلاكها العديد من الخواص العلاجية فضلا عن دوره كمادة مضادة للأكسدة نتيجة لامتلاكه مجاميع الهيدروكسيل الفينولية و مجاميع الارييل التي تمكنها من اكتساح انواع الاوكسجين التفاعلية ROS مما يمنحها تأثيرات مضادة للأكسدة التي تحمي الجسم من العديد من المشاكل الصحية المتسببة بفعل الجذور الحرة ، فضلا عن قدرتها على العبور خلال الحاجز الدماغي الدموي وذلك نتيجة لخواصها الكارهة للماء ، ونظرا لقلّة الدراسات التجريبية عن الأضرار الصحية التي تسببها مادة MSG ، ونتيجة لزيادة استخدام المنتجات الغذائية المعلبة والمحفوظة ، ولقلة الدراسات التي تناولت تأثير MSG على الجهاز العصبي في الجسم لاسيما الانزيمات الخاصة بالوظائف المعرفية ومنها انزيم الاستيل كولين استريز Acetylcholine esterase (Ache) و انزيم Neuronal Mitochondrial ATPase لذا جاءت اهداف الدراسة الحالية كما يأتي :

- 1- دراسة الدور الوقائي لمادة الكركمين ضد الإجهاد التأكسدي المستحث بمادة MSG
- 2- دراسة تأثير مادة MSG على بعض المعايير الانزيمية (انزيم الاستيل كولين استريز Acetylcholine esterase (Ache) و انزيم Neuronal Mitochondrial ATPase) وبعض المعايير الكيموحيوية (MDA ، GSH ، تركيز ONOO- ، تركيز الكلوكوز و تركيز البروتين الكلي) و بعض الايونات المعدنية (Ca^{+} و Fe^{+})

3- معرفة تأثير MSG على بعض الهرمونات (الكورتكوستيرون و
(ghrelin/obestatin ratio

4- دراسة التلف النسيجي المتسبب عن MSG في نسيج المخ ، المخيخ والحبل الشوكي .

استعراض المراجع

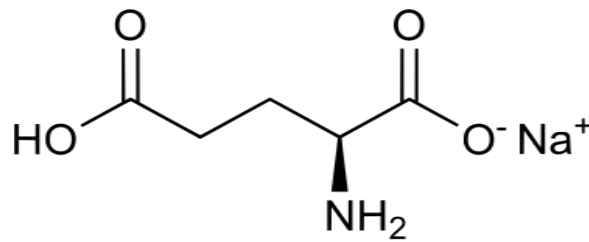
Literature Review

1-2 غلوتامات الصوديوم الاحادية (MSG) Monosodium glutamate

الاسم الكيميائي : (2)-S2-aminopentanedioate monohydrate

التسميات الاخرى : Monosodium L-glutamate ; sodium glutamate ;
MSG ; L-glutamic acid , sodium salt (1:1) ; L-glutamic acid
monosodium salt monohydrate

غلوتامات الصوديوم الاحادية هو مركب كيميائي يوجد على شكل بلورات بيضاء اللون ذات صيغة كيميائية $C_5H_8NO_4Na$ ، وزنه الجزيئي 169.11 غم / مول ، درجة غليانه 232 C^0 (450 F⁰) وقابلية ذوبانه بالماء 74 غم / 100 مل ، ورمزه التجاري E 621 (European Food Safety , 2015) . وهو احد الاحماض الامينية غير الاساسية المتواجدة بكثرة في الطبيعة (Watford , 2015; Willard & Koochekpour , 2013) ، ويحتوي مركب غلوتامات الصوديوم الاحادية (MSG) على % 78 من حامض الغلوتاميك و % 22 من الصوديوم والماء (Sharma & Deshmukh , 2015) قابل للذوبان بسهولة في الماء وغير قابل للذوبان في المذيبات العضوية مثل الايثانول و الايثر (European Food Safty , 2015) ، غير استرطابي وهو مركب مستقر الى حد كبير اذ انه لا يتغير في المظهر والجودة اثناء التخزين لفترات طويلة في درجة حرارة الغرفة ، كما انه لا يتحلل او يتعفن ، لكن عند الظروف الحامضية (PH 2.2 - 2.4) وعند درجات الحرارة العالية فانه يجف نسبيا ويتحول الى 5- Pyrrolidone -2- carboxylate (Yamaguchi & Ninomiya , 1998; June , 2003)



شكل (1-2) التركيب الكيميائي لغلوتامات الصوديوم الاحادية (European Food Safety , 2015)

تصنف ادارة الاغذية والادوية الامريكية ملح MSG على انه طعام آمن معترف به Generally recognized as safe (GRAS) ، كما يصنفه الاتحاد الاوربي على انه من المضافات الغذائية المسموح به في بعض الاطعمة لكنه يخضع لقيود الكمية (Elyazji *et al*, 2015) .

يستخدم ملح MSG كمحسن للطعم ، و يعد من اكثر انواع المضافات الغذائية المستخدمة لتحسين مذاق الطعام (Husarova & Ostatnikova , 2013) اذ وجد بانه يعطي النكهة والمذاق اللذيذ للعديد من الاطعمة بضمنها الحساء واللحوم (Singh *et al*, 2014)

2-2 اكتشاف مركب غلوتامات الصوديوم الاحادية monosodium glutamate

تم اكتشاف حامض الغلوتاميك عام 1866 من قبل الكيميائي الالمانى كارل هينريك ، ونجح البروفيسور كيكوناي اكيدا عام 1908 في فصل حامض الغلوتاميك باعتباره مادة محسنة للمذاق من العشب البحري لاميناريا جابونيكيا *Laminaria japonica* عن طريق الاستخلاص المائي والبلمرة واطلق على هذا المذاق اسم اومامي Umami او ما يعني انه مذاق لذيق ، اذ لاحظ ان المرق الياباني لطحلب كاتسوبوشي *Katsuobushi* و طحلب كومبو *Kombu* له مذاق فريد لم يتم وصفه علميا في ذلك الوقت وكان هذا الطعم مختلفا عن الطعم الحلو والمالح والحامض والمر (Lindemann *et al*, 2002) ، وللتحقق من ان الغلوتامات هي المسؤولة عن المذاق الاومامي او اللذيذ قام البروفيسور اكيدا بدراسة خصائص المذاق للعديد من املاح الغلوتامات مثل غلوتامات الكالسيوم ، البوتاسيوم ، الالمنيوم والمغنيسيوم فوجد ان كل هذه الاملاح تعطي الطعم الاومامي او اللذيذ بالإضافة الى طعم معدني خاص ناجم عن المعادن الاخرى ومن بين هذه الاملاح كان ملح غلوتامات الصوديوم وهو الملح الاكثر قابلية للذوبان والاطيب طعما اضافة الى انه يتبلور بسهولة عندها اطلق البروفيسور اكيدا على هذا المركب اسم غلوتامات الصوديوم الاحادية Monosodium glutamate (MSG) وحصل بذلك على براءة اختراع (Kurihara , 2009) وبدأ بعدها سوزوكي اخوان Suzuki brothers بالإنتاج التجاري لملاح MSG عام 1909 تحت اسم Aji-no-moto والذي

يعني اصل المذاق باللغة اليابانية وهذه هي اول مرة يتم فيها انتاج غلوتامات الصوديوم الاحادية في العالم (Yamaguchi & Shizuko , 1998; Sano & Chiaki , 2009) ، ووجد (Walker & Lupion , 2000) ان التركيز الاستساغة الامثل من MSG هو 0.2- 0.8 % اي ما يعادل 60 ملغم /كغم والافراط في استخدامه يميل الى الاقلال من استساغة الطعم ، كما وجد ان مقدار الجرعة نصف القاتلة منه (LD₅₀) تقدر ب 15000-18000 ملغم /كغم /و.ج ، في حين وجد (Rhodes *et al* , 1991; Husarova & Ostatnikova ,) ان معدل الاستهلاك اليومي لملح MSG في الولايات المتحدة يقدر ب 580 ملغم/ يوم مع استهلاك بنسبة 4.68 غم/ يوم لمجموعة اخرى من السكان ، في حين بلغ معدل الاستهلاك اليومي منه الى 0.3 - 1 غم /يوم في العديد من الدول الصناعية (Husarova & Ostatnikova , 2013).

3-2 المصادر الغذائية للغلوتامات Dietary source of glutamate

يعد الغلوتامات احد الاحماض الامينية الاكثر وفرة في الطبيعة ، ويتواجد بشكلين رئيسيين هما الغلوتامات الحر Free glutamate والغلوتامات المرتبط Bound glutamate الذي يرتبط مع الاحماض الامينية الاخرى في العديد من جزيئات البروتين ، اذ تحتوي البروتينات الحيوانية على 11-22 % من حامض الغلوتاميك في حين تحتوي البروتينات النباتية على اكثر من 40 % منه في العديد من المنتجات النباتية (Sharma & Deshmukh , 2015) .

يضاف الغلوتامات الى العديد من انواع الاطعمة نتيجة لتأثيراته المحسنة للطعم ، وعادة يضاف الى الطعام على هيئة ملح احادي الصوديوم يسمى غلوتامات الصوديوم الغذائية Monosodium glutamate (MSG) ، فقد بلغ عدد المنتجات الغذائية الحاوية على ملح MSG نسبة عالية جدا ، اذ يوجد بشكل رئيسي في عدد هائل من المنتجات المتوفرة في الاسواق بضمنها الشيبس ، المتلجات ، اللحوم ، الجلاتين ، المعجنات ، الحلوى ، البسكويت ، المعكرونة ، العصائر ، الشوكولاته ، العلكة والعديد من المنتجات الاخرى ، ومن الحقائق الملفتة للنظر هي زيادة كمية ال MSG في كثير من الاطعمة المتوفرة في الاسواق يوما بعد اخر (Sharma & Deshmukh , 2015) ، فضلا عن وجوده في الحليب واللحوم اذ قدرت

نسبة الغلوتامات الحر في حليب الابقار 2 ملغم /100غم في حين بلغت نسبة الغلوتامات المرتبط فيه 819 ملغم /100غم ، وبلغت نسبة الغلوتامات الحر في حليب الانسان 22 ملغم /100غم و نسبة الغلوتامات المرتبط فيه 229 ملغم /100غم (Yamaguchi & Ninomiya , 1998) وفيما يأتي جدول يبين المستويات الطبيعية للغلوتامات في بعض منتجات اللحوم والخضروات :

جدول (1-2) يبين المستويات الطبيعية للغلوتامات في بعض انواع منتجات اللحوم

والخضروات (Yamaguchi & Ninomiya , 1998)

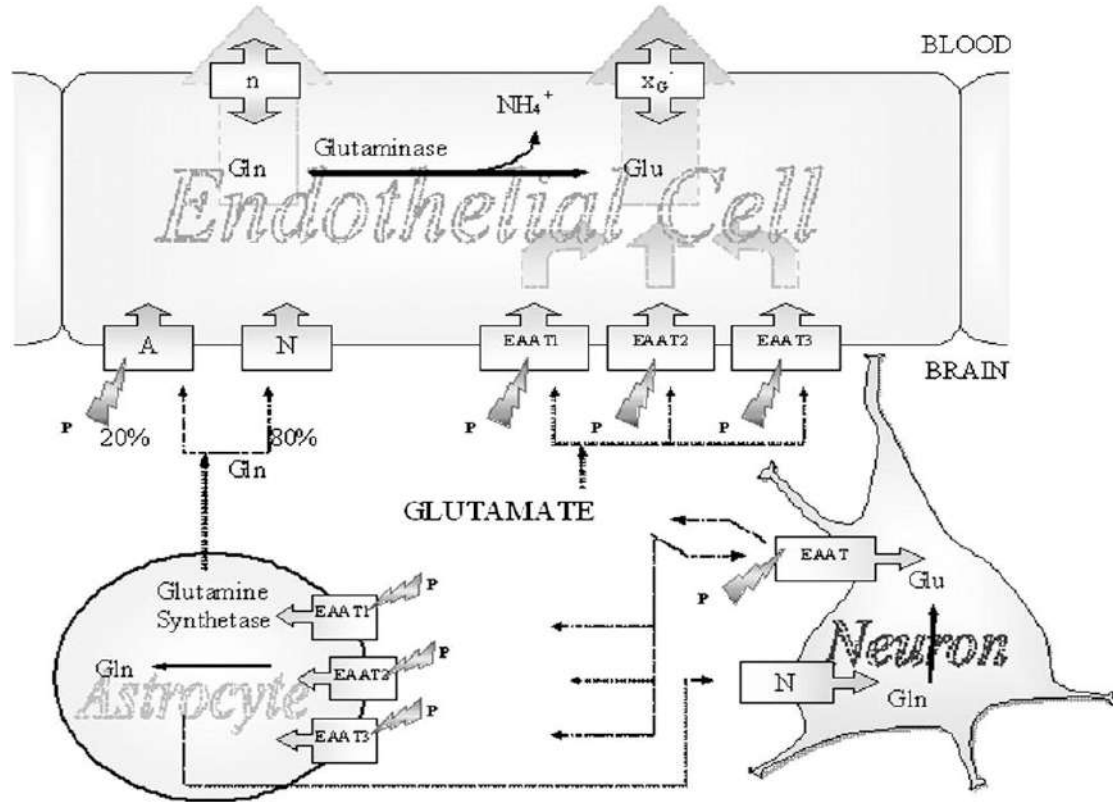
اسم المنتج	الغلوتامات الحر (ملغم/100غم)	الغلوتامات المرتبط (ملغم/100غم)
اللحوم		
لحم الابقار	33	2846
لحم الخنزير	23	2325
لحم الدجاج	44	3309
لحم البط	69	3636
البيض	23	1583
اسماك الكود Cod	9	2101
اسماك Macherel	36	2382
اسما السلمون Salmon	20	2216
الخضروات		
البازلاء	200	5583
الذرة	130	1765
الجزر	33	218
السبانخ	39	289
الطماطم	140	238
البطاطا	180	280

4-2 التخليق والفعالية الحيوية للغلوتامات في الجسم Biosynthesis And Bioactivity Of Glutamate In The Body

الغلوتامات او حامض الغلوتاميك هو أحد المكونات الرئيسية لمجموعة واسعة من البروتينات، وهو احد الأحماض الأمينية الأكثر وفرة في الجسم ، ونتيجة لذلك يوجد بتراكيز عالية في كل جزء من أجزاء الجسم و يلعب دورا خاصا في الجهاز العصبي كناقل عصبي neurotransmitter ، اذ يعد من النواقل العصبية الأكثر وفرة في الجهاز العصبي للبلائن (Zhou & Danbolt ,2014; Willard & Koochekpour , 2013) ، وتعد الغلوتامات من الاحماض الأمينية غير أساسية، لأنه يمكن تصنيعها من الحامض α -Ketoglutaric acid ، الذي يتم انتاجه كجزء من دورة حامض الستريك عن طريق سلسلة من التفاعلات التي تبدأ بالستريت citrate ، ويصنع من عدد من الاحماض الامينية بضمنها الاورنثين Ornithine و الارجنين Arginine (Smith , 2000)، ويعد الغلوتامات من الاحماض الامينية المهمة لتصنيع جزيئة الكلوتاثيون Glutathion (GSH) الفعالة حيويا بالاشتراك مع السيستين Cystein والكلايسين Glycine عن طريق اشتراك اثنين من التفاعلات الانزيمية ، اذ يتحد الغلوتامات و السيستين في التفاعل الاول عن طريق انزيم γ -glutamyl cysteinyl synthase ليكون γ -glutamyl cysteine الذي يتحد مع الكلايسين في التفاعل الثاني لتوليد جزيئة الكلوتاثيون (GSH) عن طريق انزيم GSH synthetase (Cooper & Jeitner , 2016) .

يقدر تركيز الغلوتامات في البلازما بحدود 50-100 مايكرو مول/لتر ، وفي الدماغ بحدود 10000-120000 مايكرو مول/لتر ، فيما توجد نسبة قليلة منه في السائل الخارج خلوي Extracellular fluid (ECF) تقدر بحدود 0,5- 2 مايكرو مول/لتر وهذه النسبة القليلة منه في ال ECF ضرورية جدا لوظائف الدماغ المثالية والتي يحافظ عليها بواسطة الخلايا النجمية Astrocytes والحاجز الدماغي الدموي Blood brain barrier (BBB) ، ان الغلوتامات لا يمكنها أن تخترق ال BBB بسهولة ، ولكنها تنتقل بفعالية في الجهاز العصبي من خلال نظام نقل فعال و ميسر active and facilitative transport system عبر غشائي ال BBB ، اذ يتم نقل الغلوتامات عبر غشاء ال BBB المقابل للدماغ بواسطة نواقل خاصة معتمدة على الصوديوم Na^+ - dependent glutamate cotransporters والتي تعرف ب Excitatory amino acid transporters

(EAATs) ، تعمل على نقل الغلوتامات بالتبادل مع الصوديوم عكس التدرج الكيميائي من ال ECF الى الخلايا الطلائية عن طريق نظام نقل فعال ، في حين يتم نقل الغلوتامات من الخلايا الطلائية الى الدم عن طريق نظام نقل ميسر ، الأمر الذي يحافظ على تركيزه في سائل الدماغ عند مستوى ثابت إلى حد ما (Hawkins , 2009) .



شكل (2-2) يوضح انتقال الغلوتامات عبر الحاجز الدماغي - الدموي (BBB)

(Hawkins , 2009)

وتعمل الغلوتامات نفسها بمثابة السلف للناقل العصبي ال GABA ، عن طريق عمل

انزيم كربوكسيل الغلوتامات Glutamate decarboxylase (Cooper & Jeitner ,) (2016 ; Pham et al , 2016) .

تتجمع جزيات الغلوتامات في الحويصلات المشبكية Synaptic vesicle عن طريق نواقل الغلوتامات وتتحرك الى الشق المشبكي Synaptic cleft عن طريق مستلمات Soluble N- ethylmaleimide- sensitive factor attachment receptor

(SNARE) (El- Mestikawy *et al* , 2011) ، تسبب زيادة الغلوتامات في الشق المشبكي زيادة في تنشيط مستقبلات الغلوتامات (EAATs) الامر الذي يؤدي الى تحطم الخلية العصبية وبالتالي موتها وهذا يمكن مشاهدته في حالات مرض الزهايمر disease (Anggono *et al* ;2016) Alzheimers Ischemia (Lai *et al* ,) ، نقص التروية ، وحالات الصرع Epilepsy (Huberfeld & Vecht , 2016) ، اذ ان ارتباط الغلوتامات بالمستقبل NMDA يعمل على فتح قنوات الايونات الموجبة الشحنة cation channel التي تزيل استقطاب جهد الغشاء وتزيد من توليد جهد الفعل (Vyklicky *et al* , 2014) ، على العكس من النواقل العصبية المثبطة مثل γ -amino-butyric acid (GABA) التي تعمل على فتح قنوات البوتاسيوم والكلور و تزيد من قطبية جهد الغشاء وبذلك توقف نشوء جهد الفعل (Setiadi *et al* ,2015) .

تصنف المستقبلات الكيميائية للغلوتامات إلى مستقبلات منفذة للأيونات Iontropic ، وتشمل مستقبلات α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isox-azolepropionic acid (AMPA) ، مستقبلات N-methyl-D-aspartate (NMDA) و مستقبلات kainate ، و مستقبلات ايضية metabotropic وتشمل مستقبلات glutamate(mGluRs) ، اذ تخصص مستقبلات AMPA بنقل الاشارات السريعة لقدرتها على انتاج استجابات كهربائية متهيجة بعد تحفيزها في وقت قصير جدا يقدر بالمللي ثانية ، وتختلف مستقبلات NMDA عن الاولى بكونها تصبح نفاذة لأيونات الكالسيوم عند تنشيطها الامر الذي جعلها ذات أهمية خاصة للتعلم والذاكرة ، ويشبه الصنف الثالث والمعروفة باسم مستقبلات kainate ، في كثير من النواحي لمستقبلات AMPA لكنها أقل وفرة ، اذ تشارك الغلوتامات في الوظائف المعرفية مثل التعلم والذاكرة بسبب دورها في مرونة المتشابك العصبية Synaptic plasticity ، التي تكون من النوع الطويل المدى Long term potentiation(LTP) التي تحدث في المتشابك العصبية لمنطقة الذاكرة Hippocampus ، قشرة الدماغ وأجزاء أخرى من الدماغ ، اما مستقبلات Metabotropic فهي تعمل من خلال نظام الرسول الثاني second messenger في خلق تأثيرات بطيئة، مستمرة على أهدافها ، (Setiadi *et al* , 2015 ; Willard & Koochekpour , 2013) .

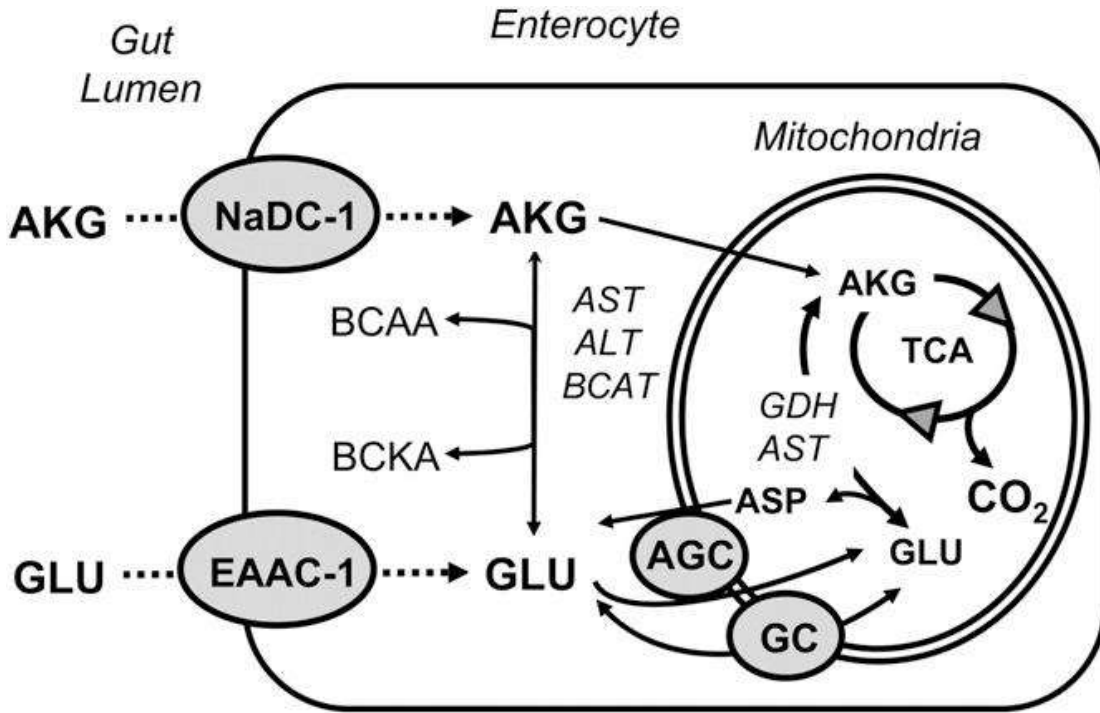
5-2 تمثيل الغلوتامات في الجسم Metabolism of glutamate in the body

1-5-2 امتصاص الغلوتامات Glutamate absorption

يحدث امتصاص الغلوتامات في معظم اجزاء القناة الهضمية تقريبا وتعتمد الية الامتصاص على وقت بقاءه في المعدة ، اذ يعمل كمادة مؤكسدة مهمة للخلايا المخاطية المعوية Mucous enterocyte ، وقد وجد ان الغلوتامات المضاف للغذاء بشكل MSG يتعامل الجسم معه بنفس الاسلوب للغلوتامات الموجود طبيعيا في العديد من انواع الاطعمة (Daniels *et al* , 1995) ، ويعد الغلوتامات مصدرا مهما لطاقة الجسم ، اذ تشتق المناطق الحشوية اغلب طاقتها من تقويض الاحماض الامينية بدلا من الكلوكوز والاحماض الدهنية ، ووجدت العديد من الدراسات ان الامعاء والكبد تعد مواقع رئيسية لتقويض الاحماض الامينية وبشكل اساسي الغلوتامات glutamate ، الغلوتامين glutamine و الاسبارتيت aspartate (Burrin & Stoll , 2016) .

يعد الغلوتامات من الاحماض الامينية الرئيسية التي تربط بين تقويض الاحماض الامينية وبناء الكلوكوز gluconeogenesis ، اذ تؤيض العديد من الاحماض الامينية الى الغلوتامات عن طريق نقل مجموعة الامين transamination ، يحدث التمثيل المعوي للغلوتامات بشكل اساسي في الخلايا الطلائية المبطنه للطبقة المخاطية والتي تعرف بالخلايا المعوية Enterocytes ، اذ تنتقل الغلوتامات من تجويف الامعاء عبر الغشاء القمي للخلايا المعوية عن طريق العديد من نواقل الغلوتامات بضمنها glutamate -aspartate transporter 1 (GLAST-1) ، glutamate transporter 1 (GLT -1) و excitatory amino acid carrier 1 (EAAC- 1) (Beart & O'Shea , 2007) ، وبينت الدراسات ان EAAC- 1 يعد من نواقل الغلوتامات الاكثر وفرة في الامعاء ويوجد على الحافة القمية والمخططة brush border للزغيبات في الامعاء الدقيقة (Iwanaga *et al* , 2005) . يحدث تقويض الغلوتامات داخل الخلايا المعوية في الساييتوسول cytosol والمايتوكوندريا عن طريق نقل مجموعة الامين transamination من خلال عمل الانزيمات alanine aminotransferase ، aspartate aminotransferase ، glutamate dehydrogenase و branched -chain aminotransferase

(GDH) ، ونتيجة لذلك يتحرر α -ketoglutarate (AKG) ليدخل دورة حامض الستريك في المايٲوكوندريا ويؤيض الى ثاني اوكسيد الكربون (CO_2) ويتم تحرير الطاقة (Burrin & Stoll , 2016) كما مبين في المخطط التالي



شكل (3-2) يوضح المصير الايضي للغلوتامات داخل الخلايا المعوية

(Burrin & Stoll , 2016)

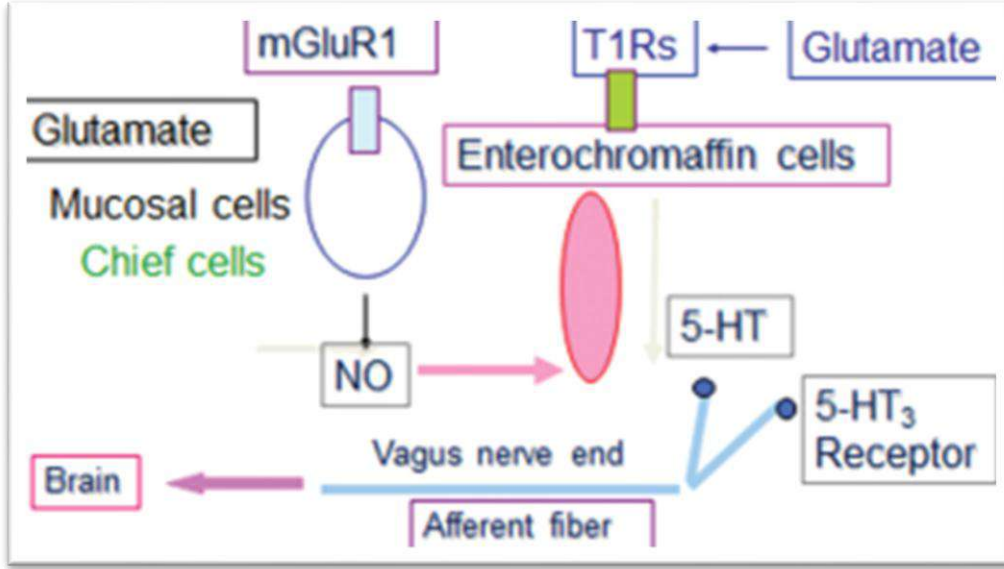
((NaDC-1) Na-dicarboxylate cotransporter-1; (AGC) aspartate-glutamate carrier ; (GC) glutamate carrier)

2-5-2 استجابة الدماغ للغلوتامات الموجودة في المعدة Brain Response to the gastric glutamate

عند تناول الطعام الحاوي على الغلوتامات الحر فانه يرتبط بمستقبلاته الموجودة في المعدة منها مستقبل metabotropic glutamate receptor 1 (mGluR1) الموجود في الطبقة الجوفية للمعدة Luminal layer خصوصا في الخلايا المخاطية ، وتعمل هذه الخلايا

على تحرير انزيم NO Synthase الذي يعمل على تحرير اوكسيد النترريك (NO) الى الجانب القاعدي للمعدة الذي يعمل بدوره على تحفيز افراز السيروتونين (5-HT) من Serotonin من خلايا الانتيروكرومافين (EC) Enterochromaffin cells الواقعة في الطبقة الحشوية للمعدة والتي تحتوي ايضا مستقبلات اخرى للطعم الاومامي (مستقبلات TIR1/TIR3) ويعمل السيروتونين على تحفيز مستقبلات 5-HT3 عند النهاية العصبية للعصب المبهم وبذلك تنتقل الإشارة الى الدماغ بوجود الغلوتامات في المعدة (Tsurugizawa et al , 2014) .

تنتقل المعلومات حول وجود الغلوتامات من المعدة الى الدماغ عن طريق الالياف الصادرة المبهمة ، اذ تزود هذه الاشارات العصبية معلومات حول كمية الغلوتامات في المعدة (Nakamura et al , 2013) . و يعد الصوديوم والكالسيوم من العوامل الاولية التي تتوسط نقل الإشارة للخلايا العصبية حول وجود الغلوتامات والتي تكون مسؤولة عن الاثارة الداخلية للخلايا العصبية اثناء انتقال الغلوتامات ، اذ تتفاعل الغلوتامات في الحويصلات قبل المشبكية مع مستقبلات AMPA و NMDA وتعمل على تحويل نفاذيتها لايونات الصوديوم (مستقبلات AMPA) ولايونات الصوديوم والكالسيوم (مستقبلات NMDA) الذي ينتهي بتوليد جهد فعل بعد مشبكي post synaptic potential يتوسط التأثيرات الاساسية للغلوتامات في زيادة مرونة وقابلية اثاره المشابك العصبية (Magistretti , 2009) ، كما اشارت العديد من الدراسات الى ان زيادة الغلوتامات يعمل ايضا على الخلايا النجمية خلال الية عمل بين الخلايا العصبية والخلايا النجمية ، وفي الخلايا النجمية فان الغلوتامات الموجودة في السائل الخارج خلوي يتحول الى غلوتامين Glutamine ويتحرر الى السائل الخارج خلوي مرة اخرى ويؤخذ من قبل الخلايا العصبية ويعاد تحويله مرة اخرى الى غلوتامات Glutamate داخل الخلايا العصبية (Herbst & Holloway , 2016 ; Coulter & Eid , 2012) . ووجد (Kitamura et al , 2011) ان حامض الغلوتاميك له القدرة على حث الافعال الواردة للعصب المبهم الموجود في المعدة وبذلك يؤثر على امتصاص ، هضم وتنشيط الايض بعد امتصاص المواد الغذائية خلال تحفيز الدماغ بواسطة متحسسات الغلوتامات المعدية كما انه يعمل على تسهيل هضم وامتصاص المواد الغذائية على اللسان من خلال تحفيز مستقبلات الطعم للدماغ (Tsurugizawa et al , 2014) .



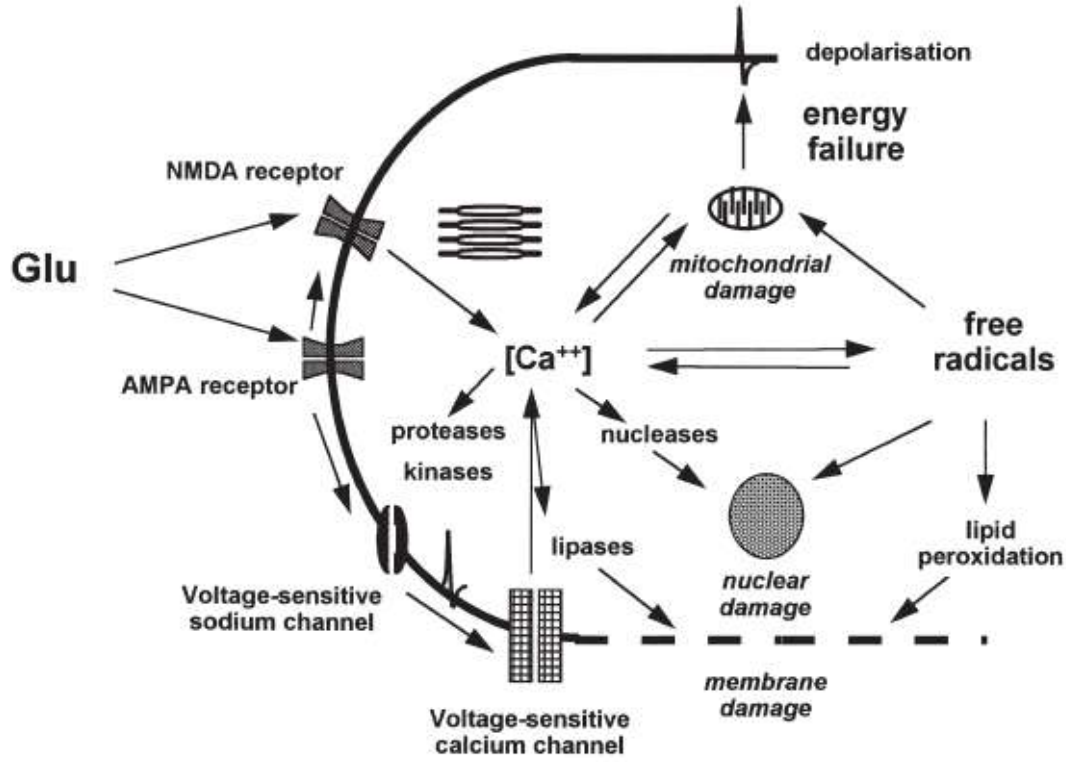
شكل (2-4) يوضح مسار انتقال الغلوتامات من المعدة الى الدماغ
(Tsurugizawa *et al*, 2014)

6-2 فرط تحفيز الغلوتامات glutamate excitotoxicity

ان التحرير المتزايد للناقل العصبي الغلوتامات و زيادة تركيزه في الجهاز العصبي يؤدي الى حدوث التهيج العصبي excitotoxicity الذي يكون سبباً رئيسياً للعديد من الاعتلالات العصبية بضمنها مرض الزهايمر Alzheimer's disease (AD) ، مرض باركنسون Parkinson's disease (PD) ، مرض هنتنغتون Huntington's disease (HD) و نقص التروية Ischemia (Prentice *et al*, 2015) . وقد ارتبط التحفيز المفرط للغلوتامات بخلل توازن ايونات الكالسيوم ، فشل المايوكونديريا وتوليد العديد من المواد المؤكسدة بضمنها انواع الاوكسجين التفاعلية (ROS) وانواع النتروجين التفاعلية (RNS) في الخلايا العصبية اضافة الى فقدان الجهد الايوني لغشاء مايوكونديريا الخلايا العصبية الذي ينتهي بموت الخلية العصبية (Bak *et al*, 2016) .

ان استمرار التحفيز المتزايد للغلوتامات يجعل من التغيرات التحطمية في المايوكونديريا غير عكسية Irreversible مما يسبب فتح ثقب الانتقال المنفذة للمايوكونديريا mitochondrial permeability transition pore (MPTP) والذي

ينتهي بحدوث موت الخلايا المبرمج apoptosis اضافة الى حدوث التنخر necrosis للخلية العصبية (Hu *et al* , 2016) ، كما ان انخفاض مستويات ال ATP الناتجة من تحطم الماييتوكوندريا يسبب توليد كميات متزايدة من انزيمات الاكسدة منها xanthine oxidase و NADPH oxidase بالإضافة الى توليد جذر super oxide ، ووجد ان استمرار تحفيز الغلوتامات ووجود كميات كبيرة منه يؤدي الى ارتفاع مستويات ايونات الكالسيوم في سايتوبلازم الخلية العصبية نتيجة حدوث خلل في قنوات نقل ايونات الكالسيوم والتي تسبب تغير مستوياته منها قنوات Na^+/Ca^+ ، acid sensing ion channels و volume regulated ion channels TRP channels (Prentice *et al* , 2015) ، ان تدفق ايونات الكالسيوم خلال التهيج العصبي هو المسؤول عن جميع التغيرات الفسيولوجية والكيموحيوية التي تحدث في الخلايا العصبية ، اذ ان دخول كميات كبيرة من ايونات الكالسيوم الى داخل الخلية العصبية ينشط العديد من الانزيمات منها Tyrosine kinase اضافة الى توليده العديد من الجذور الحرة ومسارات موت الخلية المبرمج عن طريق تنشيطه لانزيمات nitric oxid synthase ، xanthine oxidase ، protease وانزيمات تحطمية اخرى ، كما انه يسبب زيادة تحرير الغلوتامات الموجود في الحويصلات العصبية وينشط مسارات انزيم protein kinase التي تحرر مخزون الكالسيوم الداخل خلوي (Sundaram *et al* , 2012) ، كما مبين بالمخطط الاتي:



مخطط (5-2) يوضح تأثير ايونات الكالسيوم الناتجة من التحفيز الزائد للغلوتامات في الخلية العصبية (Tupa , 2014)

كما وجدت العديد من الدراسات ان فرط الغلوتامات يمكن ان يؤثر على محتوى الحديد الحر في الدماغ ، من خلال دوره في تنشيط مستقبلات DMT1 المهمة في زيادة مستويات الحديد الحر في الخلية العصبية الذي بدوره يحث على حدوث تغيرات تحطمية للخلايا العصبية ، وذلك من خلال دوره في حث تفاعلات الفنتون Fenton reaction، التي ينتج عنها العديد من الجذور الحرة منها السوبر اوكسيد (O_2^-) وبيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) التي ينتج عنها حصول الاجهاد التاكسدي (Yu et al , 2015).

7-2 تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على الجهاز العصبي المركزي Effect of monosodium glutamate on central nervous system

يتكون الجهاز العصبي المركزي من الدماغ و الحبل (النخاع) الشوكي، ويسيطر الدماغ على جميع الوظائف الحيوية الإرادية وغير الإرادية في الجسم، بما في ذلك الحواس والذاكرة والتفكير والحركة، كما يتحكم بوظائف الأعضاء الأخرى بالجسم، و نقل المعلومات و تخزينها ، يشكل الدماغ والحبل الشوكي الجزء الأكبر من النسيج العصبي لذا يسمى بالجهاز العصبي المركزي ويتضمن الخلايا العصبية Neurons ، الخلايا الدبقية Neuroglia والألياف العصبية Nerve fibers ، وتعد الخلايا العصبية من أهم الخلايا المعقدة ذات الفعالية العالية في الجسم . وتكون حساسة جدا للأذى والأضرار (Mescher , 2016) ، يقدر عدد الخلايا العصبية في الرجل البالغ حوالي 86 بليون خلية ، اذ يبلغ عدد الخلايا الواقعة في قشرة الدماغ حوالي 16 بليون خلية عصبية (19%) و 69 بليون خلية عصبية (80%) واقعة في منطقة المخيخ و 1% من الخلايا العصبية واقعة في بقية اجزاء الدماغ (Azevedo et al , 2009) .

يبلغ متوسط وزن الدماغ في الانسان حوالي 1.3-1.4 كغم بما يعادل حوالي 2% من وزن الجسم ، تتجمع الخلايا العصبية إما على شكل طبقات في قشرة المخ Cerebral cortex أو قشرة المخيخ Cerebellar cortex أو على شكل مجاميع غير منتظمة تعرف بالأنوية Nuclei. توجد القشرة أو المادة السنجابية Gray matter في المخ والمخيخ وتحتوي على طبقات عدة من العصبات والتشجرات ، أما المادة البيضاء White matter فتحتوي على الألياف العصبية فقط (Kristin et al , 2015) .

تتألف الخلايا من جسم الخلية Cell body والتشجرات Dendrites التي هي تشعبات تتفرع من جسم الخلية إلى صفوف مختلفة كذلك يوجد المحور Axon ويمتد لمسافات طويلة من الجسم وقد يتصل المحور بخلية عصبية أو بمحور آخر. ويحتوي جسم الخلية على عدد من الحبيبات القاعدية Basophilic granules وتعرف بحبيبات نسل Nissl's granules . تعيش الخلايا العصبية سنوات عديدة وليست لها القابلية على التجدد Regeneration لأنها فقدت قابلية الانقسام ولا تستطيع أن تحل محل الخلايا المتضررة، إن الخلايا العصبية حساسة جداً للأذى وتعتمد العلامات السريرية المرافقة لأذى هذه الخلايا على

أعداد الخلايا المتأثرة ونمطها (Michael *et al.*, 1995 ; Kierszenbaum , 2016).

يعد الجهاز العصبي المركزي من أهم الأجهزة الحيوية في جسم الكائن الحي، ويحاط من الخارج بأغشية تعرف بالسحايا *Meninges* وهي ثلاثة أغشية تعمل على حماية الدماغ وتتكون من غشاء خارجي يعرف بالأم الجافية *Duramater* والآخر داخلي يكون بتماس شديد مع الدماغ وهو يعرف بالأم الحنون *Piamater* ويقع بينهما العنكبوتي *Arachnoid* (Mescher , 2016).

ويمتلك الجهاز العصبي أهمية خاصة إذ إنه يمثل حجر الأساس في توجيه بقية الأجهزة وعملها، فإن أي خلل في هذا الجهاز سيؤثر بالتأكيد على بقية أجهزة الجسم المختلفة وبالنتيجة يكون المصاب بأي خلل في الجهاز العصبي المركزي معرضاً للموت في أية لحظة (White *et al* , 2016 ; Mescher , 2016 ; Kierszenbaum , 2016 ; 2000).

تمتلك مادة *MSG* العديد من التأثيرات على الجهاز العصبي المركزي ، فقد افادت العديد من الدراسات ان استخدام هذه المادة يظهر العديد من التأثيرات الضارة على الدماغ ، و تسبب الجرع العالية منها الاخلال بالعديد من وظائف الدماغ ، الرعاش ، فقدان الاتزان والحركات غير المتناسقة ، كما انها تسبب اضطرابات في افراز العديد من الغدد الصماء العصبية *Neuroendocrine disorders* (Ashaolu *et al*, 2011) ، ومن اكثر التشخيصات النسيجية التي لوحظت على الجهاز العصبي بعد اعطاء جرعات عالية من مادة *MSG* هي حدوث تلف للخلايا الدبقية الصغيرة *Microglial cells* في منطقة القشرة المخية نتيجة لتأثيراتها على زيادة الاثارة العصبية *excitability* لمنطقة قشرة الدماغ (Lim *et al* , 2013) ، كما وجد ان التجريع الفموي بمادة *MSG* بجرعة 2.5 غم /كغم لمدة 14 يوم قد تسبب في تحطم وفقدان الخلايا العصبية وبشكل خاص خلايا *Purkinje cells* (Ajibade & Fakunle , 2015) في حين ادى الحقن داخل البريتوني منها بجرعة 2غم/كغم لمدة 7 أيام الى انخفاض كبير في وزن الجسم ، الفعالية الحركية وقوة السيطرة على العضلات في الفئران (Shanmuga *et al* , 2013) ، في حين وجد (Pelaez & Blazquez , 1999) ان الجرعات العالية من مادة *MSG* ادت الى حدوث تنخر عصبي للانوية المقوسة تحت المهاد *Hypothalamic arcuate nuclei* في الفئران حديثة الولادة

. ولا تقتصر تأثيرات هذه المادة على منطقة تحت المهاد فقد وجد ان حقتها تحت الجلد بجرعة 4 ملغم /غم ادى الى تغيرات في قشرة الدماغ الجبهية Prefrontal cerebral cortex بضمنها قصر وقلة عدد التشعبات للبروزات الشجرية Dendrites و قلة عدد الخلايا العصبية (Gonzalez *et al*, 2001) واختزال في وزن الغدة النخامية بنسبة % 30-40 (Miskowiak & Partyka, 2000) ، علاوة على ذلك فقد بين (Regan *et al* , 1981; Hyndaman & Adler, 1981) ان معاملة الفئران حديثة الولادة بمادة MSG ادى الى موت الخلايا العصبية وانخفاض عدد المستقبلات الضوئية Photoreceptor والخلايا الدبقية .

2-8 امراض الجهاز العصبي

2-8-1 مرض الزهايمر Alzheimer's Disease

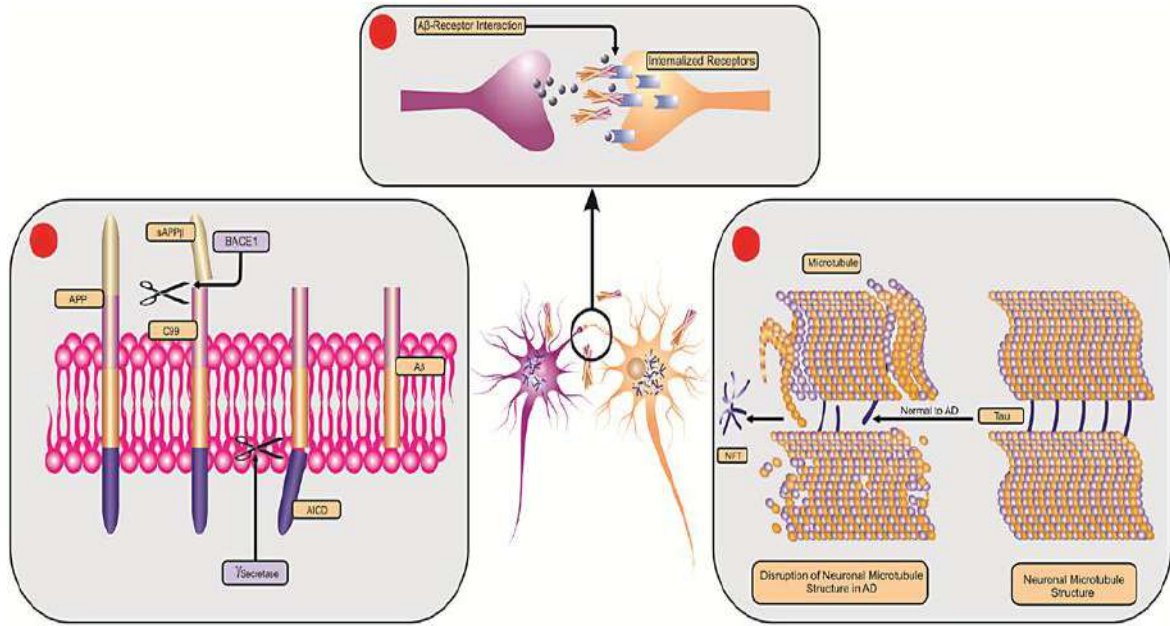
اكتشف مرض الزهايمر لأول مرة من قبل العالم الالمانى الويس الزهايمر Alois Alzheimer عام 1902 ، ويعد من اكثر الاضطرابات العصبية الشائعة وهو مسؤول عن 75% من جميع حالات الخرف (Sadigh-Eteghad *et al*, 2014a; Carlo, 2012) ، اذ يؤثر بحوالي 35.6 مليون شخص في جميع انحاء العالم وتزداد هذه النسبة مع تقدم العمر وازدياد حالات الشيخوخة (Anstey *et al*, 2014) ، وتشير الدراسات ان مرض الزهايمر سوف يؤثر على ما يقارب 106.8 مليون شخص بحلول عام 2050 (Sadigh-Eteghad *et al*, 2014a) ، اذ ارتبط هذا المرض بالعديد من الاضطرابات العقلية والمعرفية مثل ضعف الذاكرة واضطراب الشخصية لدى الاشخاص الذين تزيد اعمارهم عن 65 سنة (Mehan *et al*, 2012; Khorrami *et al*, 2014) .

يعد العالم الألماني الويس الزهايمر Alois Alzheimer هو أول من شخص التغيرات النسيجية في أنسجة الدماغ المصاب خلال السنة نفسها ، وذلك عندما قام بفحص وتشريح دماغ امرأة تبلغ من العمر 51 سنة توفيت بعد مرور 4 سنوات من تطور إصابتها بفقدان الذاكرة التدريجي مع عجز واضح في القابلية الإدراكية للدماغ (Oltmanns & Emery, 2004) ، ومن خلال الفحص والتشريح لاحظ Alzheimer ضمور الأعصاب في دماغ المرأة المتوفاة نتيجة لحدوث تلف حاد في الخلايا العصبية، و استطاع أن يثبت وجود

تجمعات غير طبيعية للخلايا العصبية في دماغ المرأة المصابة التي عانت من حالة الخرف. ووجد ان سبب هذه التجمعات وجود كمية من البروتين الـ Amyloid حول الأعصاب، أطلق على هذه التجمعات بلويحات الشيخوخة (SP) Senile Plaques ، كما لاحظ وجود تجمع غير طبيعي لمجموعة من الألياف العصبية بشكل معقد ، وقد أشار إلى مثل هذه التجمعات بما يعرف تشابك الاليف العصبية (NFTs) NeuroFibrillary Tangles (Fox et al ,) (1999) .

تشمل العلامات السريرية لمرض الزهايمر اعتلال واضطراب الاعصاب والذي يؤدي الى التدهور المعرفي وفقدان الذاكرة (Seifan et al , 2015) ، كما تتميز اضطرابات هذا المرض في فقدان التناسق العقلي وتأثيره على الذاكرة، وضعف الاتصال العصبي بين الخلايا والارتعاش وبطء في أداء الحركة وتراجع الفكر وضعف او فقدان الذاكرة المعرفي وارتفاع معدلات الكآبة النفسية Depression وحدث تغيرات في المزاج Mood مثل القلق والمعاناة الكثيرة (Shuster et al , 2008) .

تقدر نسبة الاصابة بمرض الزهايمر للأشخاص الذين تزيد اعمارهم عن 65 سنة بنسبة 6-8 % (Ferri et al ,2005) ، و يمكن تمييز ثلاث مؤشرات حيوية اساسية لتحديد الملامح المرضية لمرض الزهايمر وهي تجمع لويحات البيتا اميلويد $A\beta$ ، تشابك الاليف العصبية (NFTs) وتحطم المشبك العصبي (Revett et al , 2013)



شكل (2-6) يوضح الملامح المرضية الأساسية لمرض الزهايمر التي تتضمن انفلاق ال APP وتكوين $A\beta$ ، تكوين وترسب NFTs و خلل في وظيفة المشبك العصبي نتيجة تجمع βA (Sadigh-Eteghad *et al* 2014 a)

تستغرق مدة التقدم بالمرض حوالي 10-15 سنة، وقد تقل الفترة لتصل إلى 4-5 سنوات أو تزداد لتصل إلى 25 سنة وذلك اعتماداً على عوامل عدة تشترك معا في تطور مرض الزهايمر (Clark & Trojanowski , 2000) .

2-9 البيتا - املويد β -Amyloid

البيتا املويد هي تجمعات بروتينية ليفية غير دائبة ترافق اعتلال الخلايا العصبية في منطقة القشرة المخية Cerebral Cortex ، ويمكن ملاحظة هذه التجمعات في أدمغة المسنين فوق سن الـ 75 سنة ولكن بنسبة اقل مما هو عليه في حالة مرضى الزهايمر، (Fabian *et al* , 1993; Helisalmi, 1998) . وهو بيتيد يتألف من 36-43 حامض اميني ، تنشأ هذه اللويحات من انشطار البروتين السالف للاملويد Amyloid Precursor Protein (APP) بواسطة انزيم α - Secretase ، β ، γ ، تتفاعل هذه البروتينات مع بعضها البعض ومع بروتينات اخرى مسببة تراكم اللييفات الاميلويدية في اعضاء خاصة مؤدية الى حدوث ما يسمى بالداء النشواني amyloidosis الذي يعد صفة تشخيصية للعديد من

الامراض مثل مرض الزهايمر ، الجنون ، داء السكري – النوع الثاني ، الداء النشواني الوراثي Familial amyloidosis وامراض عديدة اخرى (, Cárdenas-Aguayo , 2014) .

ينشأ نوع من التغيرات النسجية نتيجة تجمع هائل وغير طبيعي لبروتينات ال Tau المفسفرة في داخل جسم الخلايا العصبية. تتفاعل هذه البروتينات مع الكلوكوز امينو كلايكان، وجميع هذه التغيرات تتطور إلى كتلة كثيفة من الألياف الحلزونية المزدوجة Paired Helics Fibers (PHFs) في داخل الخلية العصبية إذ تكون بقطر 20 نانوميتر . (Graham & Lantos, 2002).

ان الطفرات الوراثية التي تحدث لجين APP تؤدي الى تطور مرض الزهايمر الوراثي ، كما ان وجود نسخة خارجية لجين APP تؤدي الى ظهور مرض الزهايمر في العقد الخامس من العمر كما هو الحال في متلازمة دون Down's syndrome (, Wiseman , 2015) في الدماغ السليم توجد حالة موازنة بين انتاج وازالة البيتا اميلويد ، اما في حالة الشيخوخة وبعض الحالات المرضية كالاضطرابات الايضية فيحدث اضطراب في تكوين لويحات البيتا اميلويد (Xiang *et al* , 2015) ، وتوجد مسارات عديدة لتصفية البيتا اميلويد في الدماغ مثل تنشيط الانزيمات المحطمة activation of degenerating enzyme والتصفية الوعائية والخلوية عبر المستقبلات receptor – mediated cellular and vascular clearance (, Kanekiyo *et al* , 2013; Wang *et al* , 2006) ، اذ تلعب بعض انواع المستقبلات مثل low density lipoprotein receptor related protein 1 (LRP1) دور مهم في المسار الثاني لتصفية البيتا اميلويد ووجدت العديد من الدراسات ان تحطم مستقبلات LRP1 للفئران يزيد من مستويات البيتا اميلويد في قشرة الدماغ بشكل خاص (Kanekiyo *et al* , 2013) كما وجد ان P-glycoprotein يعمل كمضخة تضخ البيتا اميلويد عند الحاجز الدماغي – الدموي (BBB) (Bello & Salerno , 2015) ، حيث بينت الدراسات التجريبية على الفئران ان ازالة P-glycoprotein يزيد من ترسب لويحات البيتا اميلويد في الدماغ (Cirrito *et al* , 2005) ، علاوة على ذلك فقد وجد ان البيتا اميلويد تتحطم بواسطة العديد من الانزيمات وبشكل خاص انزيم Nepriylsin و insulin-degrading enzyme (Wang *et al* , 2006) .

وهناك مسارين لتحلل وانشطار APP وتجمعها في خلايا الدماغ الذي يعد السبب الرئيسي للإصابة بمرض الزهايمر :

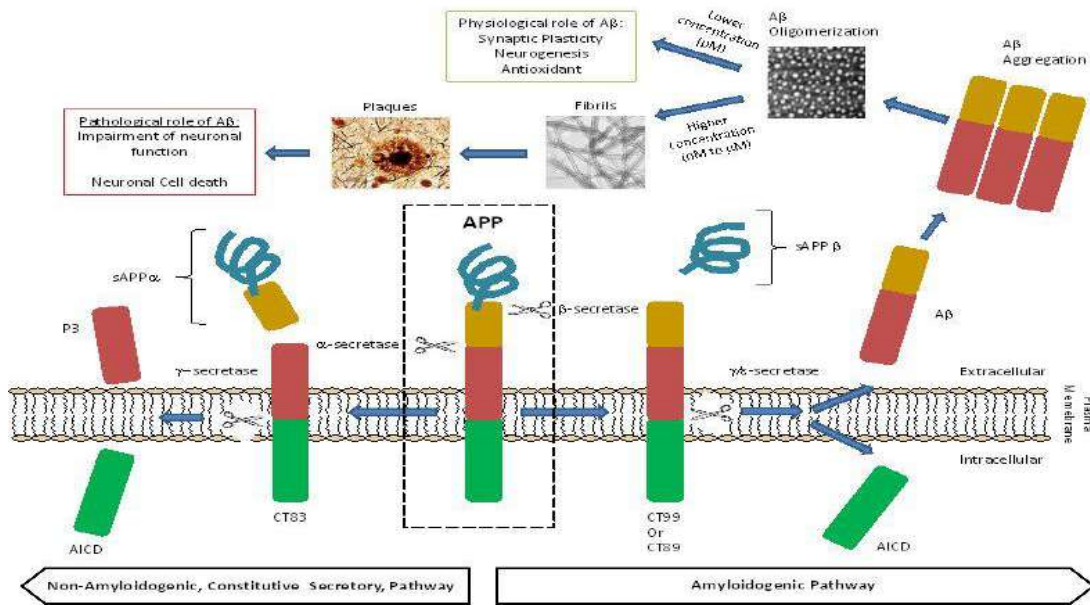
1 - المسار الاول Non -amyloidogenic Pathway

يحصل في هذا المسار انشطار ال APP من خلال نشاط انزيم α -secretase محررة قطع من ال APP ذائبة خارج خلوية تعرف $sAPP-\alpha$ وهذا الناتج يعرف بـ neurotrophic neuroprotective peptide (Carlo , 2012) بعد ذلك يعمل انزيم γ -secretase الموجود في الغشاء البلازمي على توليد قطع من ال APP التي تعرف بال APP intercellular C-terminal domain (AICD) (Mehan *et al* , 2012) ، وتقدر كمية قطع APP التي ينتج من هذا المسار بنسبة 30 % (Hartman *et al* , 2007) .

2 - المسار الثاني pathological amyloidogenic pathway:

ينشط ال APP في هذا المسار من خلال فعالية انزيم β - secretases (Grienberger *et al* ; 2012; Khorrami *et al* , 2014) لينتج نوعين من قطع ال APP وهي $sAPP-\beta$ (N-terminal fragment) و CT99 او CT89 ، بعدها ينشط ال CT99 عن طريق معقدات ال γ -secretases (بضمنها Nicastrin ، Anterior ، pharynx defective 1 ، Presenilin enhancer 2 ، Presenilin1 و او Presenilin2) داخل الغشاء البلازمي ، اذ يعمل كلا النوعين من الانشطارات (β - secretases و γ -secretases) على توليد العديد من لويحات البيتا اميلويد والعديد من قطع ال AICD ، وتمتلك قطع ال AICD العديد من الفعاليات الفسلجية والمرضية خصوصا في نقل الاشارات من الغشاء الى الانوية اثناء التعبير الجيني ، علاوة على ذلك يتم معالجة قطع ال AICD داخل الخلية عن طريق انزيم Caspase لتنتج العديد من قطع تسمى بال CT31 التي تعد من المحفزات الفعالة لبدء موت الخلية المبرمج (Sadigh-Eteghad *et al* ; 2014b) .

وفي كلا المسارين الاول والثاني يتحرر APP intracellular domain (AICD) الى داخل سايتوبلازم الخلية والذي يشارك في الاستنساخ الجيني للمتغيرات في اطوال الأحماض الأمينية الرئيسة هي 40 و 42 والتي يطلق عليها $A\beta$ 1-40 و $A\beta$ 1-42 ، على التوالي . وتحت الظروف الطبيعية حوالي 90% ينتج AB من النوع (AB 40) وهو من النوع الذائب في الدماغ والذي يتحول الى غير ذائب وهذا لا يمكن ان يطرح من الدماغ وعلى العكس فإن 10% من الببتيد $A\beta$ ناتج من $A\beta$ 42 وهو ليفي الشكل ويترسب ويعد دلالة اولية لظهور مرض الزهايمر (Pakaski & Kalman,2008).



شكل (2-7) يوضح مسارات تحلل وانشطار ال APP في خلايا الدماغ

(Cárdenas-Aguayo *et al* , 2014)

10-2 تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على الوظائف المعرفية Effect of monosodium glutamate on cognitive functions

يوجد الغلوتامات بتراكيز عالية في مناطق الدماغ المهمة في الاداء المعرفي منها قشرة الدماغ وتلافيف منطقة الذاكرة Hippocampus (Park *et al*, 2014) ، مما يشير ان هذا الحامض الاميني يلعب دوراً مهماً في الوظائف المعرفية العليا بضمنها وظائف الذاكرة (Iwata *et al*, 2015; Takahashi *et al*, 2015) ، فهو يلعب دور مهم في مرونة المشابك العصبية ، التعلم وتطور الدماغ ، وقد وجد خلال العقود الاربعة الاخيرة ان هنالك ارتباط مباشر بين الاثارة العصبية والتاثيرات السمية للغلوتاميت التي ارتبطت مع تنشيط مستقبلات هذه الاحماض الامينية التي بدورها تؤدي الى حدوث سريان انزيمي للحوادث العصبية وينتهي بموت الخلية العصبية (Takahashi *et al*, 2015; Park *et al*, 2015; Maragakis & Rothstein, 2001).

تمتلك مادة MSG العديد من الخصائص السمية داخل وخارج جسم الكائن الحي ، اذ ارتبطت التاثيرات السمية للغلوتاميت بالعديد من التغيرات التحطمية الحادة Acute degenerative changes كالتالي تحدث بعد الاصابة بالصرع ، انخفاض السكر hypoglycemia ونقص التروية Ischemia والتغيرات التحطمية المزمنة Chronic degenerative changes مثل مرض الزهايمر ، الخرف ، مرض باركنسون ، مرض Huntingtons ، Olivopontocerebellar atrophy و Andamyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) (Sharma & Deshmukh , 2015) . فعند ارتباط الغلوتاميت مع المستقبلات العصبية خصوصا مع مستقبل NMDA يؤدي الى حدوث تغيرات تحطمية عصبية عن طريق السماح لكميات كبيرة من الكالسيوم بالدخول الى الخلايا العصبية (Park *et al*, 2015) ، اذ تكون فعالية الغلوتامات متوازنة جدا عند المشبك العصبي لكن عندما يضطرب هذا الاتزان تصبح هذه المادة نفسها سامة عصبيا (Maragakis & Rothstein , 2001) . فقد وجد ان الحقن داخل البريتوني بمادة MSG بجرعة 4 ملغم / غم ادى الى تحطم الخلايا العصبية تحت المهاد في الانوية المقوسة ويضعف استرجاع الذاكرة في الفئران البالغة (Park *et al*, 2014) ، في حين وجدت دراسة اخرى ان حقن ذكور الفئران تحت الجلد بجرعة 4 ملغم / غم من مادة MSG ادى الى زيادة التحفيز العصبي مما ادى الى موت الخلايا في قشرة الدماغ الجبهية ، كما ان هذه المادة تؤدي الى زيادة فعالية

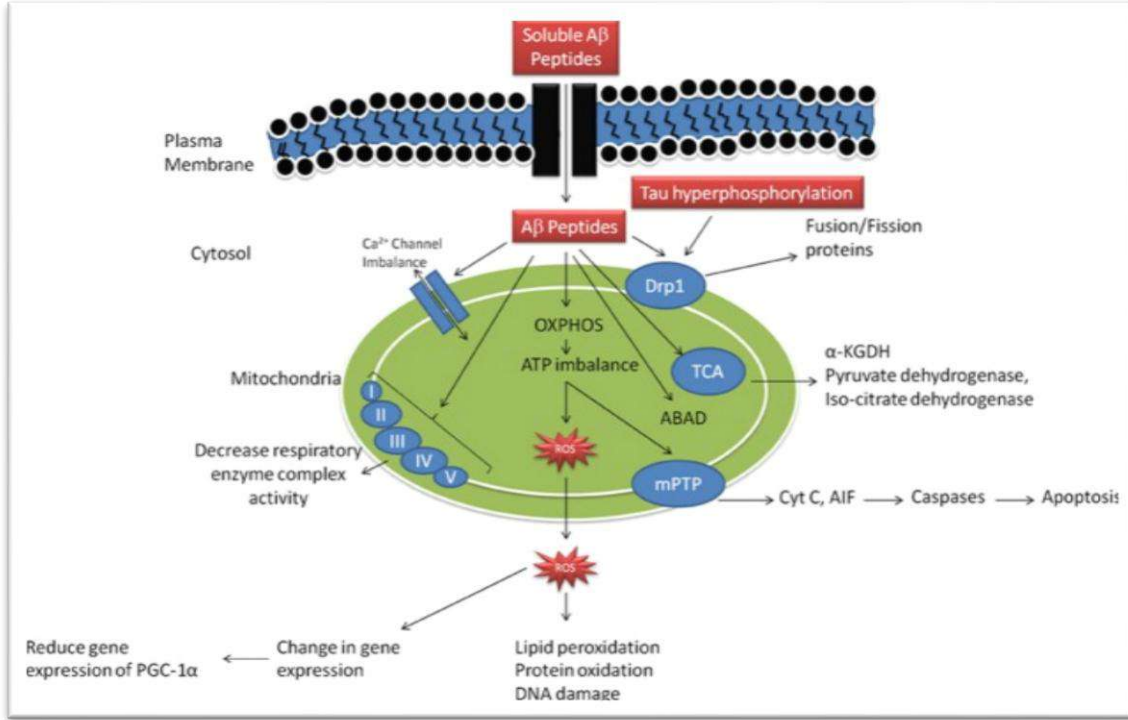
Fronto - parietal الخلايا النجمية والخلايا الدبقية في قشرة الدماغ الامامية - الجانبية
 cortex مسببة حدوث تضخم hypertrophy في انواع هذه الخلايا (Onaolapo OJ &
 (Onaolapo A Y, 2013

11-2 مرض الزهايمر وخلل الية عمل الماييتوكوندريا Alzheimer's disease and mitochondrial dysfunction

تعد الماييتوكوندريا من العضيات الرئيسية المنتجة للطاقة كما انها تعرف ايضا ببيت الطاقة (Du & Yan , 2010 ; Chaturvedi & Beal , 2008) ، عن طريق دورها الفعال في السلسلة التنفسية او الفسفرة الاكسدية Oxidative Phosphorylation (OXPHOS) المنتجة للطاقة مثل الاديونوسين ثلاثي الفوسفات ATP (Schapira , 2012 ; Zeviani *et al* , 2012) ، اضافة الى دورها في تنظيم ايض الكالسيوم Calcium homeostasis و توليد الجذور الحرة Free radicals (Swerdlow , 2011) ، اذ اكدت العديد من البحوث ان الخلل في الية عمل الماييتوكوندريا يشتمل على التبدلات التي تحدث في انزيمات السلسلة التنفسية ، توليد انواع الاوكسجين الفعالة Reactive Oxygen Species (ROS) ، فتح ثقب الانتقال المنفذة للماييتوكوندريا Mitochondrial permeability transition pore (mPTP) ، الخلل في تركيب الماييتوكوندريا ، الاجهاد التاكسدي وموت الخلية المبرمج Apoptosis (Eckert &) (Muller , 2014 ; Rao *et al* , 2014; Guo *et al* , 2013) ، تحدث مثل هذه الاضطرابات للماييتوكوندريا في مراحل مبكرة من مرض الزهايمر قبل ترسب لويحات البيتا اميلويد A β (Swerdlow *et al* , 2010 ; Maruszak & Zekanowski , 2011)

يسبب تجمع لويحات ال A β في الماييتوكوندريا تثبيط المعقدات الانزيمية للسلسلة التنفسية Mitochondrial Respiratory enzyme complex (I,II,III,IV) مما يؤدي الى انخفاض انتاج ال ATP وزيادة انتاج ROS (Singh & Kumar , 2016 ;) (Swerdlow *et al* , 2010) ، كما يقلل تجمع لويحات ال A β من فعالية العديد من انزيمات دورة الحامض الكربوكسيلي Tricarboxylic acid cycle (TAC) بضمنها

Pyruvate dehydrogenase ، α -Ketoglutarate dehydrogenase (α KGD) و Isocitrate dehydrogenase (Huang *et al* , 2003 ; Bubber *et al* ,2005) ، اذ وجد ان لويحات ال $A\beta$ تتفاعل مع مواقع الربط الخاصة بها والتي تعرف بال $A\beta$ binding alcohol dehydrogenase (ABAD) التي توجد على اغشية المايوتوكونديريا مسببة خلل في الية عمل المايوتوكونديريا مؤدية بالنهاية الى تحطم المشبك العصبي (Lustbader *et al* , 2004 ; Reddy & Reddy , 2011) ، علاوة على ذلك فان تجمع لويحات البيتا اميلويد يسبب خلل في الية عمل قنوات الكالسيوم للمايوتوكونديريا ويعمل على فتح ثقب المايوتوكونديريا (mPTP) مما يزيد من تحرير انزيم Cytochrome C (Cyt C) (Calkins *et al* , 2011) ، ويثبط نشاط بروتينات رئيسية داخل المايوتوكونديريا مما يزيد من نسبة حوث الطفرات في DNA المايوتوكونديريا (mt DNA) (Lakatos *et al* , 2010) ، كما انها تسبب زيادة في فسفرة بروتين ال Tau وزيادة DRP-1 nitrosylation التي تسبب انفلاق مفاجئ للمايوتوكونديريا مما يؤدي الى موت الخلية العصبية (Manczak *et al* , 2011) ، كما وجدت دراسة اخرى ان تراكم لويحات ال $A\beta$ يقلل من تعبير PGC-1 α (proliferator - activated receptor γ coactivator-1 α) الذي يؤدي الى انخفاض البناء الحيوي للمايوتوكونديريا ، قلة محتوى ال DNA في المايوتوكونديريا (mt DNA) وزيادة تحطم الخلايا العصبية ، اذ ان تنشيط ال PGC-1 α يسبب تنشيط المسار الثاني لتحلل ال APP (non - amyloidogenic) و انخفاض مستويات ال $A\beta$ التي تؤدي الى زيادة فرصة بقاء الخلية العصبية (Kumar & Singh , 2015; McGill & Beal , 2006) .



شكل (2-8) يوضح خلل الية عمل الماييتوكوندريا في حالة مرض الزهايمر

(Kumar & Singh , 2015)

12-2 الاستيل كولين و الاستيل كولين استريز Acetyl choline and acetyl choline estrase (AChE)

الاستيل كولين (ACH) هو ناقل عصبي يوجد عند الاتصال العصبي العضلي autonomic ganglia وفي العقد العصبية الذاتية neuro-muscular junctions و neuronal excitability ، يعمل على حث الاثارة العصبية (Changeux , 2010) ، كما يؤثر على انتقال الاشارات العصبية عبر المشبك العصبي synaptic transmission ، كما انه يزيد من مرونة المشابك العصبية synaptic plasticity وينسق اثاره العديد من الخلايا العصبية وبذلك يعمل على تغيير الحالة العصبية للدماغ ويحور استجابته للعديد من الاشارات الداخلية والخارجية (Picciotto *et al* , 2012).

الاستيل كولين استريز (AChE) ويعرف ايضا بال Acetyl hydrolase وهو انزيم يعود الى عائلة انزيمات الكاربوكسليستريز Carboxylsterase family يوجد في المشابك العصبية الكولينية Cholinergic Synapses والاتصالات العصبية العضلية

neuro-muscular junctions ، يلعب دور اساسي في تحطيم مادة الاستيل كولين Acetyl choline (ACh) وبعض استرات الكولين الاخرى التي تعمل كناقل عصبية Neurotransmitters ، ويمكن تثبيط هذا الانزيم بواسطة العديد من المركبات الفوسفاتية مثل بعض الادوية العصبية والسموم (Katzung , 2001) .

يمتلك ال AChE قدرة عالية على تحطيم وتحليل ال ACh فكل جزيئة واحدة من AChE تحطم حوالي 25000 جزيئة ACh في الثانية الواحدة (Taylor & Radić , 1994) ، اذ يشمل الموقع الفعال لل AChE على اثنان من المواقع الثانوية هي anionic subsite و esteratic subsite وتأتي الية عمل AChE من التركيب البلوري للانزيم (Sussman *et al* ,1993 ; Sussman *et al* , 1991) ، اذ يتحلل الاستيل كولين Ach عند الموقع الثانوي esteratic subsite لتكوين الكولين الذي يحتوي على ثلاثة احماض امينية هي السيرين serine ، الهستيدين histidine و الغلوتاميت glutamate ، ويؤدي التحلل المائي لل carboxyl ester الى تكوين acyl-enzyme والكولين الحر free choline بعدها ينم مهاجمة ال acyl-enzyme بواسطة جزيئة ماء من الهستيدين مؤدية الى تحرير ال acetic acid وتوليد الانزيم الحر (Pohanka , 2011; Pohanka , 2012)

يتحرر الاستيل كولين من الخلايا العصبية الى المشبك العصبي اثناء انتقال الايعازات العصبية ويرتبط بمستقبلاته الخاصة الموجودة في اغشية الخلايا العصبية بعد المشبكية post synaptic neuron ويعمل على نقل الاشارة العصبية، بعدها يعمل انزيم الاستيل كولين استريز AChE الموجود ايضا على اغشية الخلايا العصبية بعد المشبكية على انهاء ايصال هذه الاشارات الى الخلايا العصبية من خلال تحليله لل Ach الى الكولين choline والاسيتات acetate ، وتقوم الخلايا العصبية قبل المشبكية pre-synaptic neuron بأخذ الكولين المتحرر مرة اخرى لتستخدمه في بناء الاستيل كولين بعد اضافة ال acetyl CoA عن طريق انزيم Choline acetyltransferase (Pohanka , 2012; Purves *et al* , 2008) .

اشارت العديد من الدراسات الى وجود علاقة بين انزيم الاستيل كولين استريز ومرض الزهايمر وعلى الرغم من وجود هذه العلاقة تبقى الالية التي يؤثر بها هذا الانزيم على ظهور العلامات المرضية لمرض الزهايمر غير مفهومة بشكل واضح لحد الان ، اذ يوجد الاستيل

كولين استريز في الدماغ بأشكال جزيئية مختلفة يعبر عنها بطرق مختلفة في العديد من انواع الخلايا العصبية (García-Ayllón *et al*, 2011) ، ويعكس التوزيع الخلوي لكل نوع الوظائف الفسلجية المختلفة الخاصة به ، فقد بينت العديد من الدراسات ان انزيم AChE يمتلك وظائف اخرى غير معروفة لحد الان (García-Ayllón *et al*, 2011 ; Soreq & Seidman 2001,)، اذ يوجد انزيم AChE في المناطق الكولينية وغير الكولينية للدماغ Cholinergic and non – cholinergic areas وتبقى الاهمية الوظيفية للاستيل كولين استريز غير الكولينية غير مفهومة لحد الان ، اذ عزي انخفاض فعالية ال AChE في مرض الزهايمر لنفاذ الالياف الكولينية (الغنية بالكولين) والالياف غير الكولينية في منطقة قشرة الدماغ لمرضى الزهايمر ، لكن هذا النقصان في الالياف العصبية لا يرتبط مع عدد الخلايا العصبية الكولينية مما يدل على ان التغيرات في مستوى ال AChE لاتعكس التغيرات في الانتقال العصبي الكوليني (Heckers *et al* , 1992 ; García-Ayllón *et al* , 2011) . ولا تتأثر الاشكال الجزيئية المختلفة لل AChE بشكل متساوي في ادمغة الاشخاص المصابين بالزهايمر فقد بينت الدراسات وجود شكلين رئيسيين لانزيم AChE وهي الشكل الرباعي Tetramer ويرمز له G4 وهو يمثل الانواع الكولينية للانزيم ، والشكل الاحادي Monmer الذي يشمل G1 و G2 (Massoulie *et al* , 1993) ، ففي حالة مرض الزهايمر وجد انخفاض في معدل الشكل الرباعي (G4) لانزيم AChE بينما تبقى الاشكال الاحادية محافظة على نسبتها او تزداد في بعض الحالات المتقدمة من مرض الزهايمر اذ يعتقد بوجود علاقة بين وجود الاشكال الاحادية و تكوين لويحات ال $A\beta$ وتكوين التشابكات الليفية العصبية Neurofibrillary Tangles (NFT) فضلا عن الفسفرة غير الطبيعية لبروتين التايو tau (García-Ayllón , 2010 ; García-Ayllón *et al* , 2011)

13-2 هرمون الكرلين Ghrelin hormone

هرمون الكرلين ويعرف ايضا بهرمون الجوع هو هرمون بيتيدي مكون من 28 حامض اميني اشتق من جزيئة سلف بيتيدية تسمى بال Preproghrelin التي تتالف من 117 حامض اميني (Alexander *et al* , 2014) ، تم عزله لأول مرة عام 1999 من المعدة كجزيئات رابطة داخلية Endogenous ligands مرتبطة بمستقبل هرمون النمو Kojima & Growth hormone secretagogue receptor Ia (GHS-R1a)

Ghrelin التي تغير اسمها فيما بعد الى مستقبلات الكرلين (Kangawa , 2005) receptors (Davenport *et al* , 2005) ، يفرز هذا الهرمون من الخلايا الحامضية Oxyntic cells للطبقة المخاطية للمعدة ، اضافة الى افرازه من اجزاء اخرى للجسم بضمنها الامعاء ، البنكرياس ، تحت المهاد والغدة النخامية (Date *et al* , 2000) ، اوضحت الدراسات التركيبية لهذا الهرمون ان الاحماض الامينية الخمسة الاولى للنهاية N-terminals التي تتضمن اجزاء غير محبة للماء تكون قادرة على تنشيط مستقبلاته الخاصة الامر الذي يزيد من افرازه (Bednarek *et al* , 2000) ، يزداد افراز هرمون الكرلين في الاشخاص الاصحاء خلال فترات الصيام ويقل بعد تناول الطعام (Cummings , 2006) .

يصل هرمون الكرلين المفرز من المعدة الى الدماغ عن طريق جهاز الدوران ، اذ يعبر الحاجز الدماغي الدموي خلال نظام نقل ثنائي الاتجاه Bidirectional transport system ليعمل على تحفيز المناطق المنظمة للشهية في الدماغ بضمنها Hypothalamic Central ، Periventricular nucleus (PVN) ، Arcuate Nucleus (ARC) و nucleus of amygdala (Banks *et al* ,) Nucleus of solitary tract (NTS) ، اما هرمون الكرلين الذي يبني موضعياً في منطقة تحت المهاد فيمارس تأثيراته على المناطق المجاورة (Korbonits & Grossman , 2004) ، و تحدث العديد من تأثيرات هرمون الكرلين المعدي عن طريق العديد من الخلايا العصبية الواردة المبهمة vagal afferent neurons الموجودة في المعدة عن طريق ارتباطه بمستقبلات GHS-R1a الموجودة في نهايات الخلايا العصبية الواردة المبهمة معطية الاشارة الى مراكز الشهية عن طريق مسار عصبي (Holst & Schwartz , 2004) .

يلعب هرمون الكرلين دوراً اساسياً في العديد من الوظائف الحيوية المهمة وبشكل اساسي في تنظيم ايض الغذاء ، الحركة المعوية ، توازن الطاقة وتنظيم نمو الجسم ، اذ يعمل على زيادة الشهية ، زيادة وزن الجسم والاسراع من عملية الافراغ المعدي (Stengel *et al* , 2011 ; Nogueiras *et al* , 2007) ، اضافة الى دوره في عملية التكاثر والعديد من وظائف الجهاز الوعائي القلبي والجهاز المناعي (Ukkola , 2011) ، اذ يشترك هرمون الكرلين المفرز من الخلايا العصبية المقوسة arcuate neurons لمنطقة تحت المهاد بدور كبير في تنظيم عملية تناول الطعام فقد بينت دراسات الاليات العصبية ان الخلايا العصبية المقوسة المحتوية على هرمون الكرلين ghrelin containing arcuate

neuropeptide Y (NPY) neurons ارتبطت وظيفيا مع الخلايا العصبية المحتوية على (NPY) و agouti - related peptide (AgRP) (Cowley *et al* , 2003 ; Guan *et al* ,) ، ووجد ان الحقن بهرمون الكرلين يعمل على تنشيط الخلايا العصبية الغنية بالببتيدات العصبية NPY و AgRP (Kamegai *et al* , 2001 ; Wang *et al* , 2002) .

تشارك العديد من الانزيمات في تنشيط هذا النوع من الخلايا العصبية بضمنها AMP-activated protein kinase (AMPK) و Carnitine palmitoyl transferase 1 (CPT1) اضافة الى (UCP2) Uncoupling protein 2 التي تعمل على تعزيز كفاءة المايتركوندريا وتحمي الخلايا العصبية من ROS ، اذ يعمل هرمون الكرلين على زيادة اعداد المايتركوندريا وزيادة معدل تنفس المايتركوندريا Mitochondrial respiration في NPY arcuate neurons للفئران البرية بالاعتماد على UCP2 ، فقد وجد ان هذا الهرمون يزيد من ROS في الفئران التي تفتقد الى ال UCP2 (Andrews *et al* , 2008) ، في حين يحث الصيام على زيادة فسفرة AMPK لتحت المهاد مؤديا الى انخفاض مستويات ال Malonyl COA ويزيد فعالية CPT1، كما ان تثبيط AMPK يقلل من تعبير انزيم Fatty acid synthase (FAS) مؤديا الى انخفاض مستوى الشهية لهرمون الكرلين (Lopez *et al* , 2008 ; Andrews *et al* , 2008)

14-2 هرمون الاوبستاتين Obestatine hormone

هرمون الاوبستاتين ويعرف ايضا بهرمون الشبع هو هرمون ببتيدي مكون من 23 حامض اميني اشتق من النهاية الكاربوكسيلية C-terminal لنفس جزيئة السلف الببتيدي لهرمون الكرلين (Preproghrelin) (Beberashvili *et al* , 2013) ، تم عزله لأول مرة كجزيئات رابطة داخلية Endogenous ligands لمستقبل بروتين ج G protein coupled receptor (GPR-39) الذي يعود لعائلة مستقبل هرمون النمو GH secretagogue receptor family الواقعة في اجزاء مختلفة من الدماغ والانسجة المحيطة (Zhang *et al* , 2005) ، وقد فتح هذا الهرمون المجال لاستهداف مستقبل GPR-39 في العديد من الادوية المضادة للسمنة (Nogueiras *et al* , 2007) ، فقد بينت الدراسات التجريبية على الفوارض ان المعالجة بهرمون الاوبستاتين تقلل من نسبة تناول الطعام

وتثبط من تقلص الصائم Jejunal contraction وتقلل من وزن الجسم (Zhang *et al* , 2005 ; Bresciani *et al* , 2006) ، و يظهر هرمون الاوبستاتين تأثيرات معاكسة لعمل هرمون الكرلين منها تقليل الرغبة في تناول الطعام ، تثبيط الحركة المعدية ، تقليل وزن الجسم وتأخير عملية الافراغ المعدي (Zhang *et al* , 2005) ، اضافة الى تأثيراته الوقائية على الجهاز الوعائي القلبي وحماية الخلية من موت الخلية المبرمج Apoptosis (Alloatti *et al* 2010) ، فضلا عن دوره في عملية التكاثر (Alexander *et al* , 2014) .

2-15 تأثيرات غلوتامات الصوديوم الاحادية على الشهية والسمنة Effects of monosodium glutamate on appetite and obesity

اصبحت السمنة اليوم من الامراض الشائعة في العالم ، اذ يعاني ما يقارب 1.7 بليون شخص في العالم من زيادة الوزن ، وقد اعلنت منظمة الصحة العالمية World Health Organization (WHO) السمنة باعتبارها مرض وبائي عالميا Global epidemic ، اذ تسبب الاضطرابات الايضية للسمنة العديد من الامراض وبشكل اساسي امراض القلب الوعائية (ارتفاع الضغط ، تصلب الشرايين وامراض القلب الوعائية) ، داء السكري المعتمد على الانسولين ، امراض الجهاز العضلي الهيكلي (Osteochondrosis و Metabolic dystrophic arthritis) ، امراض الكبد (Gall bladder dyskinesia ، Chronic cholecystitis و Cholelithiasis) و العديد من حالات السرطان بضمنها سرطان الرئة ، سرطان الثدي ، سرطان الحالب وسرطان المبايض لدى النساء كما انها تقلل من فترة الحياة المتوقعة بمعدل 3-5 سنوات وفي حالات السمنة المفرطة بمعدل 15 سنة (Sharma & Deshmukh , 2015) .

درست العديد من الخواص المسببة للسمنة لمادة MSG خلال العقود الاخيرة ووجد ان الانوية المقوسة للخلايا العصبية تحتوي على حزم من الخلايا العصبية neuron bundles التي ارتبطت وظيفيا مع اداء الغدد الصماء العصبية وبشكل خاص في افراز هرمون النمو Growth hormone ، كما انها تخضع لتأثير مثبطات الانسولين وهرمون اللبتين (هرمون بيتيدي يشترك في تنظيم الشهية والايض وينتج بشكل رئيسي من النسيج الدهني الابيض وترتبط

مستوياته في الجسم بكمية النسيج الدهني) (Matyskova et al , 2008) ، ويسبب استهلاك كميات كبيرة من مادة MSG الى زيادة الوزن اذ يعمل الغلوتامات على نقل الاشارات العصبية بين الجهاز العصبي والجهاز الهضمي ، واقترحت العديد من الدراسات ان تحطم الانوية المقوسة تحت المهاد يساهم بشكل غير مباشر في زيادة كتلة الجسم والسمنة في الفئران والانسان ، كذلك زيادة معدل استهلاك الطعام (Pepino et al , 2010) ، وان الارتباط المحتمل بين مادة ال MSG و السمنة يتضمن تأثيرات هذه المادة على توازن الطاقة عن طريق استساغة الطعام وعرقلة سريان الاشارات لهرمون اللبتين في منطقة تحت المهاد (He et al , 2011) ، واوضح Roman وجماعته 2011 ، ان السمنة المستحدثة بمادة MSG في الفئران ان هذه المادة تعمل على زيادة التعبير الجيني للحامض النووي الرايبوزي المرسل mRNA ، الانترلوكين interleukin-6 ، عامل التخر الورمي الفا tumor necrosis factor α ومستويات هرمون ال resistin و leptin في النسيج الدهني الحشوي ، كما انه يزيد من مقاومة الانسولين insulin resistance في المصل ويضعف تحمل الكلوكوز Glucose tolerance ، ووجد ان مادة ال MSG تعمل على زيادة التعبير الجيني للعديد من الجينات المشتركة في تمايز الخلايا الدهنية وتزيد من مستويات الاحماض الدهنية الحرة Free fatty acids و الدهون الثلاثية Triglyceride في المصل كما انها تعمل على زيادة صنع مادة الصفراء Bile synthesis (Collison et al , 2010) ، وهناك نتائج تشير الى حدوث زيادة في مستويات انزيم aspartate aminotransferase وانزيم alanine aminotransferase في ذكور الفئران المعاملة ب 0.04 ملغم / كغم و 0.08 ملغم / كغم من مادة MSG مع حدوث تغيرات تحطمية للكبد وتوسع الوريد المركزي الكبدي (Eweka et al ; 2011) ، وانخفاض توليد الحرارة والايض و زيادة الوزن (He & Liancheng , 2008).

2-16-16 النبات الطبي المستخدم في هذه الدراسة (الكرم)

الاسم الشائع : الكرم

الاسم الانكليزي : Curcumine

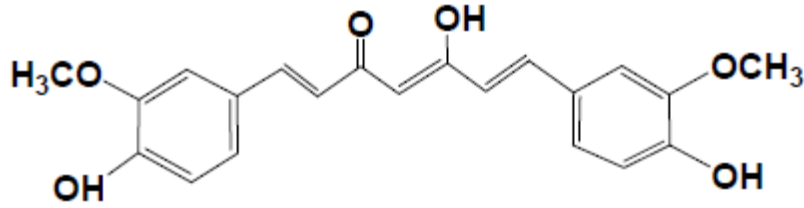
الاسم العلمي : *Curcuma longa*

العائلة : Zingiberaceae

الجزء المستخدم : الرايزومات Rhizomes

2-16-16-1 الخواص العلاجية لمادة الكركمين

الكركمين curcumin هي المادة الفعالة لنبات الكرم *Curcuma longa* وهو نبات عشبي معمر يعود الى عائلة الزنجبيل ginger family يزرع على نطاق واسع في جنوب و جنوب شرق اسيا والصين (Lestari & Indrayanto , 2014) ، هو مسحوق بلوري اصفر- برتقالي عديم الذوبان في الماء و الايثر ، لكنه يذوب في الايثانول ، ثاني مثيل السلفوكسيد dimethyl sulfoxid والاسيتون. تم عزله اول مره عام 1825، على شكل بلورات مميزه 1,6- [4-hydroxy-3-methoxy -1,7-bis[4-heptadiene-3,5-dione-1,7-bis[4-phenyl]-[1E,6E]، الكرم له درجة ذوبان عالية C^0 138 ، صيغته الجزيئية $C_{21}H_{20}O_6$ له وزن جزئي 368.37 (Kiuchi , 1993; Elsayed , 2016) يمتلك الكركمين عمر نصف حوالي 8 ساعات في دم الانسان ، وهو مادة حساسة للتحلل بالضوء المرئي والاشعة فوق البنفسجية كذلك درجة الحموضة العالية (Metzler et al , 2013) يتألف تركيب الكركمين من سلسلة كاربون مرتبطة مع مجموعتين اريل aryl groups ، اذ وجد ان مجاميع الهيدروكسيل الفينولية قد ارتبطت بمجاميع الاريل لتصبح قادرة على اكتساح انواع الاوكسجين التفاعلية ROS مما يمنحها تأثيرات مضادة للاكسدة بالاضافة الى انه يتفاعل مع البروتينات والدهون وال DNA (Priyadarsini , 2013).



شكل (9-2) التركيب الكيميائي للكرمين (Priyadarsini, 2014)

استخدم الكركمين على مدى قرون عديدة كتابل وعلى شكل صبغه غذائية ويستخدم في الهند كطب شعبي لعلاج مختلف الامراض اضافة الى استخدامه في النسيج والصناعات الدوائية (Siviero *et al* , 2015) ، ويستخدم للاستهلاك الغذائي بمعدل 100 ملغم/يوم (Ammon & Wahl , 1991)، ووجدت دراسات عديدة ان استخدام الكركمين لا يظهر اي اعراض جانبية و انه يستخدم بجرعة 180-200 ملغم/كغم كمادة مضادة للالتهابات ، كما وجد ان استخدامه بجرعة 1-2 غم/كغم لمدة 4 اسابيع لم يظهر اي اعراض جانبية في حين قدرت الجرعة القاتلة النصفية LD₅₀ للكرمين بحدود 12.2 غم/كغم (Kohli *et al* , 2005) ، كما يستخدم لعلاج الاضرابات الصفراوية ،فقدان الشهية ،السعال ،داء السكري ،الجروح ،اضطرابات الكبد ،الروماتزم والتهاب الجيوب الأنفية (He *et al* , 2015) . كما يحتوي الكركم على مواد فعالة اخرى تدعى اشباه الكركمين Curcuminoids ، ان غالبية Curcuminoids الموجود بالكركم هو bisdemethoxycurcumin ، و تحتوي الانواع التجارية للكرم على 77% curcumin و 17% Curcuminoids و 3% bisdemethoxycurcumin (Kiuchi , 1993; He *et al* , 2015) .

تعد مادة الكركمين Curcumin المشتقة من نبات الكركم *Curcuma longa* واحدة من افضل المواد التي تعد فعالة لعلاج السرطان، اذ اوضحت العديد من الابحاث خلال العقود القليلة الماضية عن دور مادة الكركمين كعامل مضاد للالتهاب anti-inflammatory agent وله خصائص علاجية قوية ضد انواع عديدة من السرطان ،اذ تعمل هذه المادة على تثبيط النقل transformation ،التمايز proliferation والتنسج metastasis في الخلايا السرطانية التي تكون وسطية من خلال تنظيمه لمختلف عوامل الاستنساخ transcription factors ،

عوامل النمو growth factors السيتوكاينينات الالتهابية inflammatory cytokines ، بروتين الكاينيز protein kinase وانزيمات اخرى . كما انه يثبط تمايز الخلايا السرطانية وذلك عن طريق حبسها في اطوار مختلفة من دورة حياة الخلية وتضمينها الى موت الخلية المبرمج apoptosis (Shanmugam *et al* , 2015 ; Curr probl cancer , 2007) .

خلال الخمسون سنة الماضية نشرت 1700 صحيفة عن الخواص العلاجية لمادة الكركمين curcumin ، و اشارت العديد من الدراسات الشاملة بان هذه المادة تقلل نسبة الكولسترول بالدم) وتمنع اكسدة البروتينات الدهنية واطئة الكثافة LDL (Mirzabeigi *et al* , 2016 ; Elsayed , 2015 ; al) ، تثبط تجمع الصفائح الدموية (Maheswaraiah *et al* , 2015) ، تمنع انهك العضلة القلبية (Kapagos *et al* , 2012) ، تقلل الاعراض المرتبطة بالنوع الثاني من داء السكري Type II diabetes (Rouse *et al* , 2014) ، التهاب المفاصل (Ahmed *et al* , 2015) ، تصلب الشرايين (Li *et al* , 2015) ، مرض الزهايمر (Goozee *et al* , 2016) ، تثبط تضاعف فايروس التهاب الكبد الفايروسي HIV (Wang *et al* , 2015) ، يحسن شفاء الجروح ، ويمنع تكوين ماء العين cataract formation (Ozgen , *et al* , 2012) ، كما وجد ان له امكانيات عديدة لمنع وعلاج السرطان (Shanmugam *et al* , 2015) .

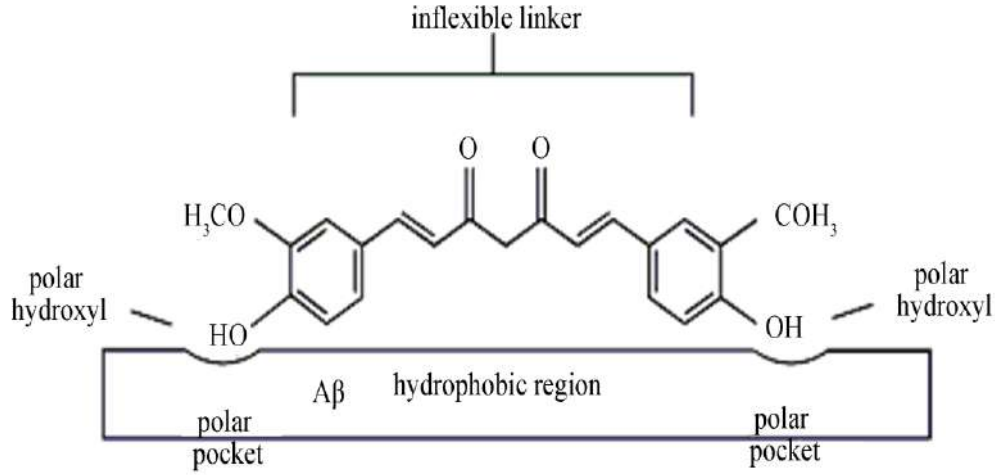
2-16-2 الكركمين ومرض الزهايمر Curcumine And Alzheimer's Disease

وجدت الدراسات التي اجريت على سكان الهند والولايات المتحدة ان الهنود الذين تتراوح اعمارهم بين 70-79 سنة يظهرون انخفاض كبير بنسبة الاصابة بمرض الزهايمر مقارنة مع سكان الولايات المتحدة من نفس الفئات العمرية (Ganguli *et al* , 2000) ، وقد عزا بعض الباحثين انخفاض نسبة الاصابة بمرض الزهايمر لدى السكان الهنود الى الاستهلاك المتزايد من التوابل التي تحتوي على نسبة كبيرة من الكركمين ، كما وجد تحسن في اداء الوظائف المعرفية والادراكية لدى الاشخاص الذين يستهلكون الكركمين على اساس منتظم (Ng *et al* , 2006) ، فقد وجدت الدراسات التي اجريت على الكركمين ان قدرة هذه المادة

تفوق قدرة فيتامين E (α -tocopherol) على اكتساح الجذور الحرة (Ak & Gülçin , 2008 ; Begum *et al* , 2008).

اجريت العديد من الدراسات لإلقاء الضوء على العلاقة بين الكركمين وانخفاض معدل الاصابة بمرض الزهايمر وحاولت من خلال ذلك التوصل الى الالية التي يعمل فيها الكركمين لمنع الاصابة بمرض الزهايمر (Yang *et al* , 2005 ; Mishra & Palanivelu , 2008) ، وقد اعطى الباحثون اهمية خاصة في ذلك الى الحاجز الدماغي الدموي (BBB) (Lin & Tsai , 2011) ، فقد وجد ان الكركمين يمتلك القدرة على العبور خلال الحاجز الدماغي الدموي نتيجة لخواصها الكارهه للماء (Lin & Tsai , 2011; Jiang *et al* , 2007) ، وانه يمتلك القدرة على حماية ومنع تحطم الحاجز الدماغي الدموي بفعل جذر البيوكسي نايتريت-ONOO (Jiang *et al* , 2007) ، كما انه يرتبط بلويحات البيتا امليويد $A\beta$ وتمنع تأثيراتها على الجهاز العصبي (Wang *et al* , 2014). وقد كشفت الدراسات ان لويحات البيتا امليويد تتجذب الى المشبك العصبي عن طريق ايونات الزنك و النحاس وافترض هذا ان صلتها بمثل هذه الايونات المعدنية عند المشابك العصبية تكون مسؤولة عن سميتها عند مواقع المستقبلات العصبية (Bush & Tanzi , 2008) ووفقا لهذه النتائج اقترحت العديد من العلاجات التي استهدفت هذه اللويحات بضمنها العلاجات الدوائية والعلاجات المناعية (Lambracht- Washington & Rosenberg, 2013) ، ومثل هذه العلاجات يمتلك الكركمين القدرة على تثبيط تكوين لويحات البيتا امليويد $A\beta$ فقد وجد ان معاملة الفئران المحورة جينيا (تحويل جيني لبروتين APP لاستحداث مرض الزهايمر) بجرعات قليلة من مادة الكركمين ادت الى انخفاض مستويات البيتا امليويد $A\beta$ ، كما لوحظ انخفاض في معدل الاجهاد التأكسدي والتجمعات الليفية (Lim *et al* , 2001) ، اضافة الى ذلك وجد ان الكركمين يعمل على منع تكوين لويحات شيخوخة جديدة وازالة اللويحات الموجودة وتحويل اللويحات غير الذائبة الى الشكل الذائب (Garcia-Alloza *et al* , 2007) . وفي دراسة اجريت على نموذج لمرض الزهايمر في ذبابة الدروسوفيلا وجد ان الكركمين يزيد من معدل فترة الحياة Life span وزيادة فعالية ونشاط الذباب الحامل للويحات البيتا امليويد (Caesar *et al* , 2012) ، وفي الدراسات خارج جسم الكائن الحي وجد ان الكركمين يميل الى زعزعة ثبات لويحات البيتا امليويد بسبب طبيعتها الكارهه للماء ، كذلك تخريب التفاعل بين حلقات الكيتو keto والايونول enol للكركمين (Garcia-Alloza *et al* , 2007) ، وقد اقترح (Reinke & Gestwicki , 2007) نموذج افقال

غولدي لوصف التفاعل بين الكركمين والبيتا امليويد ، اذ يظهر الكركمين فعالية شديدة ضد لويحات البيتا امليويد $A\beta$ حيث تتفاعل مجموعة الهيدروكسيل القطبية للكركمين المرتبطة بالحلقة الاورماتية مع الجيوب القطبية لبروتين $A\beta$ مما يجعله يعيق تكوين لويحات البيتا امليويد كما هو مبين بالشكل الاتي :



شكل (10-2) تفاعل مادة الكركمين مع لويحات البيتا امليويد ($A\beta$) (Edward & Lei , 2014)

المواد وطرائق العمل

Materials and Methodes

1-3 المواد Materials

1-1-3 الاجهزة

جدول (1-3) الاجهزة المستخدمة حسب المنشأ والشركة

الشركة	المنشأ	الاجهزة	التسلسل
LG	USA	Refrigerator ثلاجة	1
Hermile	Germany	Centerfuge جهاز الطرد المركزي	2
Shimadzu	Japan	جهاز الكروماتوجرافي عالي الاداء (HPLC)	3
Daihan Labtech	Korea	Sexhlet apparatus جهاز سكسليت	4
Heidolph	Germany	Rotary Laborata جهاز	5
Daihan Labtech	Korea	Digital Incubator حاضنة	6
Daihan Labtech	Korea	Digital Water bath حمام مائي	7
Shimadzu	Japan	Ultrasnic حمام موجات فوق صوتية bath	8
Mettle	Germany	Hot plate صفيحة حارة	9
Osterizer	USA	blender طاحونة	10
PMPHD 60 f	Japan	Camera Digital كاميرا رقمية	11
Roma	Italy	Vortex مازج	12
Unico , TM	U.S.A	Rotary Microtome مايكروتوم دوار	13
Genex	Italy	Light microscope مجهر ضوئي	14
Apple 203	Japan	Spectrophotometer مطياف ضوئي	15
Sartorius	Germany	Sensitive balance ميزان حساس	16

2-1-3 الادوات

جدول (2-3) يبين الادوات الزجاجية والبلاستيكية حسب المنشأ والشركة

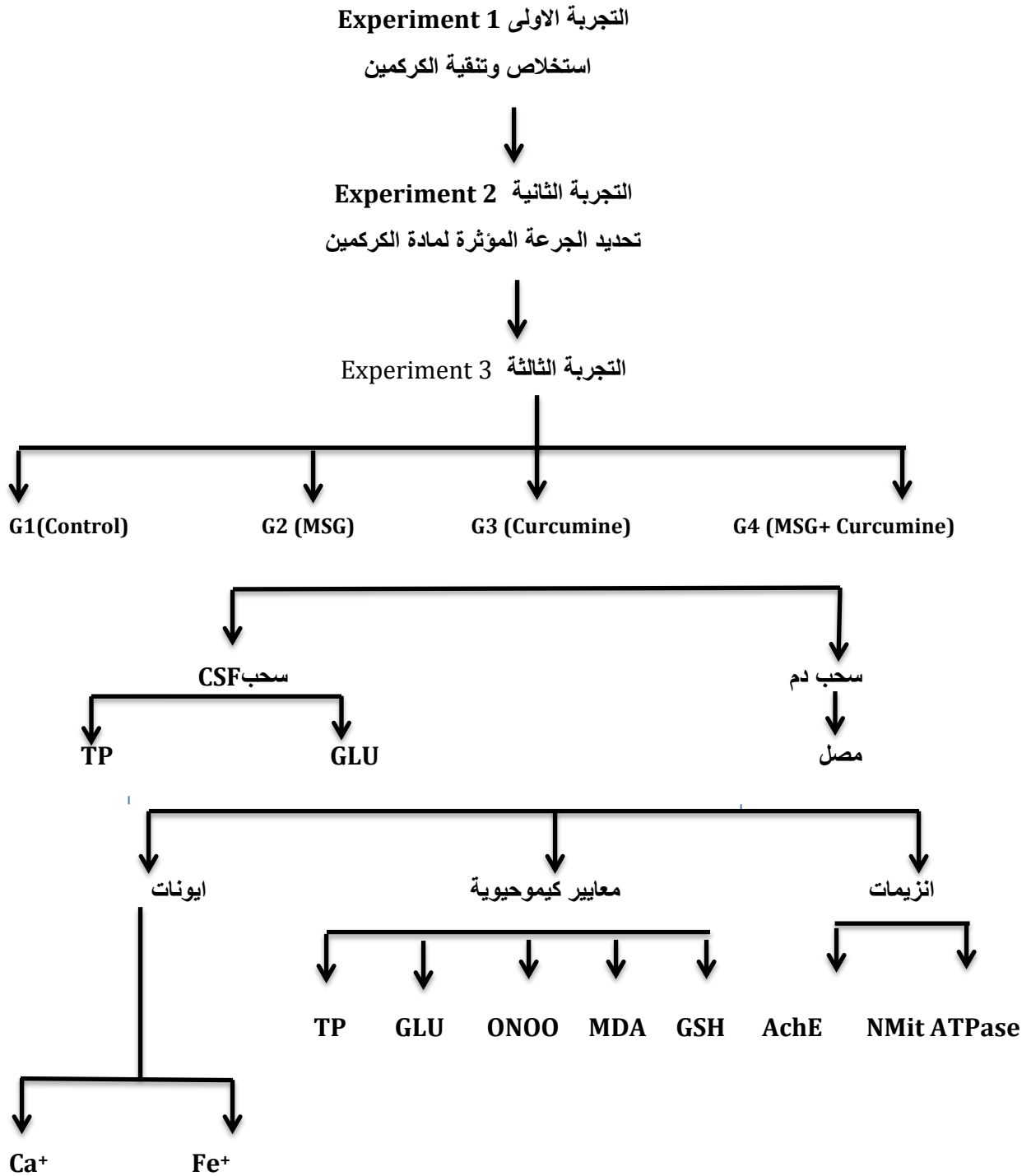
الشركة	المنشأ	الادوات الزجاجية والبلاستيكية	التسلسل
Nunclon	Denmark	ادوات بلاستيكية مختلفة الاحجام	1
Gold star	Jordan	انابيب غير حاوية على مادة مانعة للتخثر	2
Volac	Englang	زجاجيات مختلفة الاحجام Pyrex	3
China MHECO	China	شرائح زجاجية Slides	4
S.I.E.	Pakestan	عدة تشريح Dissecting Set	5
China MHECO	China	عمود زجاجي	6
Medical ject	S.A.R.	محاقن طبية Disposable syringes	7
Roma	Italy	مجرعة فموية	8
Supelco	U.S.A	مرشحة بلاستيكية	9

2-1-3 المواد الكيميائية Chemical Materiale

جدول (3-3) المواد الكيميائية حسب المنشأ والشركة

الشركة	المنشأ	المادة	التسلسل
BDH	England	امونيا Ammonia	1
BDH	England	حامض الستريك Citric acid	2
BDH	England	حامض النتريك Nitric acid	3
BDH	England	غلوتامات الصوديوم الاحادية MSG	4
BDH	England	زايلين Xylene	5
Merck	Germany	شمع البرافين Paraffin Wax	6
BDH	England	صبغة كمزا Giemsa Stain	7
BDH	England	صبغة هيماتوكسين والايوسين Hemotoxyline & Eosin	8
Atlas	U.S.A	عدة تقدير الكولسترول TC والشحوم البروتيني عالية الكثافة HDL-C	9
MyBioSource	USA	عدة تقدير انزيم الاستيل كولين استريز Acetylcholine esterase (AChE)	10

Kono bioech	Japan	Neuronal Mitochondrial ATPase	عدة تقدير انزيم 11
Kono bioech	Japan	هرمون Greline/Obestatine ratio	عدة تقدير 12
Eagle biosciences	Austria	هرمون Corticosteron	عدة تقدير 13
BDH	England	Formalin	فورمالين 14
BDH	England	Ethanol	كحول ايثيلي 15
BDH	England	Chloroform	كلوروفورم 16
BDH	England	Canada balsam	كندا بلسم 17
BDH	England	Methanol	ميثانول 18
BDH	England	Silver nitrate	نترات الفضة 19
Fucon	Germany	Hexane	هكسان 20
BDH	England	Ammonium hydroxide	هيدروكسيد الامونيا 21



شكل (1-3) تصميم التجربة

2-3 حيوانات التجربة

استخدمت في هذه التجربة 150 أرنب من ذكور الأرانب المحلية *Oryctatagus cuniculus* وتراوحت اعمارها بين 8-9 أشهر واوزانها ما بين 1500-2000 غرام تم شرائها من الأسواق المحلية ووضعت في اقفاص معدة لهذا الغرض في البيت الحيواني التابع الى كلية الطب البيطري – جامعة كربلاء للفترة الواقعة من حزيران 2015- نيسان 2016 ، اخضعت هذه الحيوانات لظروف مختبرية خاصة بدرجة حرارة 25 م ، وتم تغذيتها بعليقة من البلت المركز concentrate pullet المتكون من (10% بروتين خام ، 20 % فول الصويا ، 35% طحين الحنطة ، 35% ذرة اضافة الى فيتامينات ومعادن 1 ملغم / كغم) تركت الحيوانات مدة اسبوعين للتأقلم مع الظروف المشار اليها اعلاه قبل اجراء التجربة.

3-3 تصميم التجربة

1-3-3 التجربة الاولى experiment 1

استهدفت هذه التجربة استخلاص وتنقية مادة الكركمين Curcumine ، تم شراء رايزومات نبات الكركم من الاسواق المحلية وتم تصنيف النبات كالاتي :

Class : Liliopsida

Sub class : Commelinids

Order : Zingiberales

Family : Zingiberaceae

Genus : Curcuma

Species : *Curcuma longa*

3-3-1-1 استخلاص الكركمين

اتبعت الطريقة التي استخدمها (Kulkarni *et al* 2012) في عملية الاستخلاص ، اذ تم تنظيف رايزومات نبات الكركم، وغسلت بالماء ، وتركت لتجفف في الشمس لمدة أسبوع واحد، ثم جففت مرة اخرى بتعريضها للهواء الساخن (50 C⁰) في الفرن لمدة ست ساعات. بعد ذلك قطعت الجذور المجففة الى قطع صغيرة، و طحنت باستخدام طاحونة . وبعدها غربلت الأجزاء المطحونة من خلال غربيل مساحة ثقوبه 2 ملم²، ثم جمع المسحوق ، وزن 6 غم من المسحوق الجاف ووضع في جهاز السوكسوليت لبدء عملية الاستخلاص باستخدام 250 مل من الميثانول المطلق 99.9 % كمذيب (للحصول على المستخلص الكحولي) ، واستمرت عملية الاستخلاص لمدة سبعة ساعات .

بعد انتهاء عملية الاستخلاص تم تبريد المستخلص الناتج (البني الداكن) وتم تركيزه باستخدام المبخر الدوار Rotary evaporator للحصول على المستخلص الجاف (برتقالي مسود) لتكملة بقية الفحوصات وهي التحليل باستخدام طرق الكروماتوجرافي عالي الاداء (عالي الاداء) (High Performance Liquid_Chromatography(HPLC) .

3-3-1-2 التحليل الكمي للمستخلص الكحولي لنبات الكركم باستخدام طرق الكروماتوجرافي عالي الاداء High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

تمت عملية التحليل الكمي و تنقية وفصل الكركمين في وزارة العلوم والتكنولوجيا / دائرة بحوث المواد ،حسب طريقة (Guddarangavanahelly & jaypiakarha , 2002) اذ تم وزن 1 غم من المستخلص الجاف واذيب في 200 مل من الميثانول ، بعدها تم مزج العينة باستخدام حمام بالموجات فوق الصوتية Ultrasonic bath لمدة 10 دقائق ، ثم جرت عملية التركيز بتبخير المذيب بإمرار النتروجين السائل Liquid nitrogen على مزيج المستخلص والميثانول حتى تصل الكمية الى 10 مل ، بعدها تم تصفية النموذج باستخدام مرشحة بلاستيكية بقطر 0.2 µm و تمت عملية الفصل عن طريق حقن 20 µl من المستخلص في العمود الخاص

بجهاز ال HPLC (50 X 4.6 mm I.D.) باستخدام نوعين من المذيبات المذيب A حامض الخليك في الماء المؤين ، المذيب B الميثانول .

3-1-3-3 الحسابات

تم حساب تركيز الكركمين وفقا للقانون التالي :

$$\text{Concentration of sample \%} = \frac{\text{area of sample}}{\text{area of standard}} \times 100$$

3-1-3-3 فصل و تنقية الكركمين بطريقة العمود اللوني purification of curcumin by column Chromatography

تعد هذه الطريقة الأكثر فائدة في عملية تنقية المركبات من المستخلصات النباتية. وتعتمد طريقة العمود اللوني على مبدأ توزيع المركبات (تجزئة / امتزاز) من بين الطور الثابت و المتحرك ، اذ تم استخدام عمود زجاجي (46 سم X 2 سم) تم تنظيفه وتجفيفه . وضعت وسادة من القطن في الجزء السفلي من العمود ، تم مزج 100 غم من السيليكا جل مع الكلوروفورم وترك ليستقر ، بعدها اضيف مزيج السيليكا والكلوروفورم الى العمود وسمح له ان يستقر في اسفل العمود ، ثم اضيف 4 غم من العينة الممزوجة مع 1 لتر المذيب (methanol) الى العمود تدريجيا ، ويلاحظ نزول العينة مع المذيب الى اسفل العمود اذ يتم جمعه في دوارق زجاجية ثم تم تجفيفها المذيب عن طريق امرار النتروجين السائل للحصول على المركب النقي (Revathy et al , 2011).

2-3-3 التجربة الثانية experiment 2

صممت هذه التجربة لإيجاد الجرعة المؤثرة ED₅₀ للكركمين على بعض المعايير الحيوية لذكور الارانب ، اذ استخدمت جرع تصاعديّة مختلفة من الكركمين باستخدام جرعة فموية للإعطاء الفموي لذكور الارانب .

قسمت عشوائيا 90 من ذكور الارانب الى 6 مجاميع وبواقع 15 ارانب لكل مجموعة وجرعت يوميا لمدة اربعة اسابيع وعلى النحو الاتي:

- 1- المجموعة الاولى تم اعطائها 1مل/كغم من زيت الذرة واستخدمت كمجموعة سيطرة G1
- 2- المجموعة الثانية G2 تم اعطائها 20 ملغم/ كغم من مادة الكركمين .
- 3- المجموعة الثالثة G3 تم اعطائها 40 ملغم/ كغم من مادة الكركمين .
- 4- المجموعة الرابعة G4 تم اعطائها 60 ملغم/ كغم من مادة الكركمين .
- 5- المجموعة الخامسة G5 تم اعطائها 80 ملغم/ كغم من مادة الكركمين .
- 6- المجموعة السادسة G6 تم اعطائها 100 ملغم/ كغم من مادة الكركمين .

تم سحب عينات الدم بعد تجويع الحيوانات طول الليل بعد نهاية كل اسبوع حتى نهاية التجربة ووضع الدم بعد ذلك في انابيب خاصة غير حاوية على مادة مانعة للتخثر ثم فصل المصل بواسطة جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة/ دقيقة لمدة 15 دقيقة لقياس المعايير التالية:

- 1- تركيز المالونالديهايد (MDA) Malondialdehyde.
- 2- تركيز الكلوتاثيون المختزل (GSH) Reduced Glutathion.
- 3- تركيز الكوليستيرول الكلي (TC) Total Cholesterol.
- 4- تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة (HDL) High Density Lipoprotein.

3-3-3 التجربة الثالثة experiment 3

قسمت 60 من ذكور الارانب عشوائيا الى اربعة مجاميع وبواقع 15 أرنب لكل مجموعة :

تم تجريع المجموعة الاولى (G1) 1 مل/ كغم زيت الذرة لمدة ثلاثة اشهر يوميا واعتبرت كمجموعة سيطرة.

تم تجريب المجموعة الثانية (G2) فمويا 3ملغم / كغم من غلوتامات الصوديوم الاحادية لمدة ثلاثة اشهر يوميا .

تم تجريب المجموعة الثالثة (G3) فمويا بالجرعة المؤثرة ED₅₀ (60 ملغم /كغم) من مادة الكركمين التي تم استخراجها من التجربة الثانية ولمدة ثلاثة اشهر يوميا.

تم تجريب المجموعة الرابعة (G4) فمويا 3 ملغم / كغم من غلوتامات الصوديوم الاحادية + تجريب فموي بالجرعة المؤثرة ED₅₀ (60 ملغم /كغم) من مادة الكركمين ولمدة لمدة ثلاثة اشهر يوميا.

4-3-3 سحب الدم

تم سحب عينات الدم بعد تجويع الحيوانات طول الليل وذلك بعد شهر ونصف وبعد نهاية ثلاثة اشهر ، تم سحب 5 مل من الدم من القلب مباشرة عن طريق التحكم بالحيوان مستلقي على ظهره ، وقد استخدمت محاقن طبية معقمة سعة 5 مل ، وضع الدم بعد ذلك في انابيب خاصة غير حاوية على مادة مانعة للتخثر ثم فصل المصل بواسطة جهاز الطرد المركزي centerfuge بسرعة 3000 دورة/ دقيقة لمدة 15 دقيقة لقياس بعض المعايير التالية :

1. المعايير الانزيمية

- تركيز انزيم الاستيل كولين استريز الذائب Soluble AchE
- تركيز انزيم الاستيل كولين استريز المرتبط بالغشاء Membrane-bound AChE
- تركيز انزيم Neuronal Mitochondrial ATPase

2. المعايير الكيموحيوية

- تركيز المالونالديهايد (MDA) Malondialdehyde.
- تركيز الكلوتاثيون المختزل (GSH) Reduced Glutathion
- تركيز البيروكسي نايتريت - ONOO Peroxy nitrate
- تركيز الكلوكوز في المصل Serum Glucose Concentration

- تركيز البروتين الكلي في المصل Serum Total protein Concentration
- تركيز الكلوكوز في السائل المخي الشوكي CSF Glucose Concentration
- تركيز البروتين الكلي في السائل المخي الشوكي CSF Total protein Concentration

3. تركيز بعض الايونات

- تركيز الكالسيوم Calcium (Ca⁺)
- تركيز الحديد الحر Free iron (Fe⁺)

4. تركيز بعض الهرمونات

- تركيز نسبة هرموني الكرلين والابوستاتين Ghrelin/Obestatin ratio
- تركيز هرمون الكورتكوستيرون Corticosterone

وقد تم حفظ الأمصال في ثلاجة Refrigerator في درجة حرارة 0 C⁻²⁰ لحين إتمام القياسات .

5-3-3 سحب عينة السائل المخي الشوكي Cerebro Spinal Fluid (CSF)

تم سحب عينة من السائل الشوكي باستخدام محاقن طبية سعة 3 مل ، وتم وضع العينة في انابيب غير حاوية على مادة مانعة للتخثر ثم نبذ السائل في جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة/دقيقة لمدة 5 دقائق وبعدها تم فصل الرائق عن الراسب و استعمل الرائق لتقدير تركيز البروتين الكلي و سكر الكلوكوز

4-3 قياس تركيز الانزيمات

تم اجراء قياس تراكيز الانزيمات باستخدام عدة التحاليل (Kits) الخاصة بكل انزيم بالاعتماد على الطريقة المناعية المعروفة Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) باستخدام جهاز ELISA Reader من نوع Axiom Minireader الالمانى المنشأ واجريت الخطوات لقياس كل انزيم بالاعتماد على الخطوات الموافقة لكل طقم وكالاتي:-

1-4-3 قياس تركيز انزيم الاستيل كولين استريز Acetylcholine Esterase (AChE)**1-1-4-3 المحاليل المستخدمة**

1- محلول دارئ فوسفات الصوديوم Sodium Phosphate Buffer (PB) بعيارية 12.5Mm ودرجة حامضية PH=7.2 (محلول 1)

حضر هذا المحلول باستخدام محلولين وكالتالي:

محلول A : حضر باذابة 1.1125 غم من $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ في كمية معينة من الماء المقطر بعدها اكمل الحجم الى 500 مل من الماء المقطر.

محلول B : حضر باذابة 0.975 غم من $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ في كمية معينة من الماء المقطر ثم اكمل الحجم الى 500 مل من الماء المقطر.

بعد انتهاء تحضير المحاليل تم مزج 360 مل من المحلول A و 140 مل من المحلول B واصبح جاهز للاستخدام .

2- محلول ملح دارئ فوسفات الصوديوم Sodium Phosphate Buffer Saline (PBS) بعيارية 12.5Mm ودرجة حامضية PH=7.2 (محلول 2)

حضر هذا المحلول باذابة 5.84 غم من NaCl بعيارية 0.4 M مع 250 مل من المحلول 1

3- محلول دارى فوسفات الصوديوم Sodium Phosphate Buffer (PB) بعيارية 13.75Mm ودرجة حامضية PH=7.2 (محلول 3)

حضر هذا المحلول باستخدام محلولين وعلى النحو الاتي :

محلول A : حضر باذابة 1.1124 غم من $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ في كمية معينة من الماء المقطر بعدها اكمل الحجم الى 500 مل من الماء المقطر.

محلول B : حضر باذابة 0.073 غم من $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ في كمية معينة من الماء المقطر ثم اكمل الحجم الى 500 مل من الماء المقطر.

بعد انتهاء تحضير المحاليل تم مزج 360 مل من المحلول A و 140 مل من المحلول B واصبح جاهز للاستخدام.

4- محلول ملح دارى فوسفات الصوديوم Sodium Phosphate Buffer Saline (PBS) بعيارية 13.5Mm ودرجة حامضية PH=7.2 (محلول 4)

حضر هذا المحلول باذابة 5.84 غم من NaCl بعيارية 0.4 M و 1.375 مل من Triton X-100 في 250 مل من المحلول 3 ، حفظت جميع المحاليل مبردة لحين الاستخدام .

3-4-1-2 تحضير النسيج

بعد التضحية بالحيوانات واستخراج الادمغة من الجمجمة ، تم هرس كل دماغ (10 غرام) في جفنة خزفية تحتوي 30 مل من المحلول الدارى (محلول 2) في حمام ثلجي لمدة 15 دقيقة ، بعدها تم طرد العينة مركزيا بدرجة 2000 X غم بدرجة حرارة 0°C -4 لمدة 20 دقيقة ، جمعت المادة الطافية (S1) ، اعيد سحق الخلايا المتبقية مع 30 مل من المحلول 4 لمدة 30 دقيقة ثم اجريت عملية الطرد المركزي بدرجة 2000 X غم بدرجة حرارة 0°C -4 لمدة 20 دقيقة جمعت المادة الطافية (S2) ، استخدم (S1) كمصدر لقياس انزيم AChE الذائب (G1) و(S2) كمصدر لقياس انزيم AChE المرتبط بالغشاء (G4) (Rackonezay,2003) .

طريقة العمل

- 1- وضع 100µl من المادة القياسية والعينات في الأوعية المخصصة لها .
- 2- اضيف 50 µl من المادة الكاشفة Enzyme Conjugate الى الاوعية ومزجت جيدا ، بعدها غطيت جميع الاوعية وحضنت بدرجة حرارة 37 C⁰ لمدة ساعة واحدة .
- 3- تم التخلص من محتويات الاوعية وذلك بقلب محتوياتها في سلة المهملات .
- 4- ملئت جميع الاوعية بمحلول الغسل ورجت لمدة 30 ثانية ، كررت عملية الغسل خمس مرات بعدها جففت الاوعية بقلبها على ورق ترشيح .
- 5- اضيف 50 µl من المحلول المظهر للون A و 50 µl من المحلول المظهر للون B على التوالي ، غطيت جميع الاوعية ووضعت في الحاضنة بدرجة حرارة 20-25 C⁰ لمدة 10 دقائق.
- 6- اضيف 50 µl من محلول الايقاف لكل وعاء ومزج جيدا .
- 7- تمت قراءة الكثافة البصرية باستخدام القاري الخاص بجهاز الاليزا وبطول موجي 450 نانوميتر .

2-4-3 قياس تركيز انزيم Neuronal Mitochondrial ATPase

تم قياس تركيز الانزيم في المصل باتباع الخطوات الآتية:

- 1- تم وضع 50 µl من المادة القياسية في الأوعية المخصصة لها .
- 2- اضيف 40 µl من محلول التخفيف الخاص Special diluent (الموجود ضمن عدة القياس) الى الاوعية الخاصة لقياس العينات ، بعدها اضيف 10 µl من العينة لكل وعاء .
- 3- اضيف 50 µl من كاشف horseradish peroxidase (HRP) الى كل وعاء ، بعدها سدت الاوعية وتم رجها بلطف و تم حضن الخليط بدرجة حرارة 37 C⁰ لمدة 60 دقيقة .
- 4- تم إزالة الخليط الفائض عن طريق قلب محتويات الاوعية في سلة المهملات ، جففت وبعدها تم ملئ الاوعية بمحلول الغسل .

- 5- تم غسل أوعية التعبير خمس مرات بالماء المقطر ثم جرى تنشيف الأوعية بورق الامتصاص لإزالة جميع قطرات الماء.
- 6- تم إضافة 50 µl من المحلول مظهر اللون A ، بعدها اضيف 50 µl من المحلول مظهر اللون B على جدران الأوعية ورج برفق وتم حضانة الأوعية بدرجة حرارة 37 C⁰ لمدة 10 دقائق .
- 7- تم إضافة 50 µl من محلول الايقاف على جدران الأوعية لاييقاف التفاعل (لوحظ تغير اللون الازرق الى اللون الاصفر في الحال) .
- 8- جرى قراءة الكثافة البصرية باستخدام القاري الخاص بجهاز الاليزا وبطول موجي 450 نانوميتر بعد 15 ثانية من اضافة محلول الايقاف .

5-3 الفحوصات الكيموحيوية

1-5-3 تقدير تركيز المالونالديهيد في مصل الدم Malondialdehyde (MDA)

استخدمت طريقة تفاعل حامض الثايوباربيتوريك (Thiobarbituric acid (TBA باستخدام جهاز المطياف الضوئي وحسب هذه الطريقة، قيس تركيز المالونالديهيد Malondialdehyde (MDA) الذي يمثل احد النواتج الرئيسية لعملية اكسدة الدهن ويعد مستواه مؤشرا لهذه العملية، اذ يعتمد القياس على التفاعل بين المالونالديهيد مع (TBA) (Muslih, et al) 2001).

المحاليل المستخدمة

1- محلول الثايوباربيتوريك (TBA- solution)

يحضر باذابة 0.6 غم من مادة الـ TBA في 100 مللتر من الصودا الكاوية بتركيز 0.05 مولالي باستخدام القليل من التسخين، ويحضر هذا المحلول عند الاستعمال.

2- محلول حامض الخليك ثلاثي الكلور (TCA-solution) Trichloro Acetic Acid

يحضر هذا المحلول بتركيزين، التركيز الاول 17.5% يحضر بإذابة 17.5 غم من مادة TCA في 100 مللتر من الماء المقطر، والتركيز الثاني 70% يحضر بإذابة 70 غم من المادة نفسها في 100 مللتر من الماء المقطر، ويحفظ في الثلاجة لحين الاستخدام.

طريقة العمل

1- يؤخذ 150 مايكروليتر من مصل الدم و يضاف اليه 1 مل من محلول TCA بتركيز 17.5%، ويضاف 1 مللتر من محلول TBA الى المزيج، ويرج جيدا وتحضن الانابيب في ماء مغلي لمدة 15 دقيقة.

2- تبرد العينات ويضاف اليها 1 مللتر من محلول TCA بتركيز 70 % ويترك المزيج بدرجة 37 مئوية لمدة 20 دقيقة.

3- يفصل الراشح باستخدام جهاز الطرد المركزي بسرعة 2000 دورة/دقيقة ولمدة 5 دقائق.

4- تقرأ الإمتصاصية عند الطول الموجي 532 نانوميتر باستخدام جهاز المطياف الضوئي ويحسب مستوى MDA حسب المعادلة الآتية:

$$\text{تركيز المالنوالديهايد (ميكرومول/مول)} = \text{امتصاصية العينة عند 532 نانوميتر} / \text{Eo} \times \text{L} \\ \text{X معامل التخفيف}$$

اذ ان :

$$\text{L} = \text{light path (1 cm).}$$

$$\text{Eo} = \text{extinction coefficient } 1.56 \times 10^5 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$$

$$\text{معامل التخفيف} = \text{0.15 / 1 ml vol. Used in Ref} = 6.7$$

2-5-3 تقدير تركيز الكلوتاثيون المختزل في مصّل الدم Reduced Glutathione (GSH)

تم قياس تركيز الكلوتاثيون في مصّل الدم باستخدام طريقة كاشف المان Ellmans المتبعة من قبل (AL-Zamely, et al , 2001).

المحاليل المستخدمة

1- محلول حامض السلفوساليسيليك sulfosalicylic acid solution

يحضر بإذابة 4 غم من حامض السلفوساليسيليك في 100 مليلتر من الماء المقطر ويحفظ في الثلاجة.

2- محلول داريّ الفوسفات phosphate buffer solution

يحضر بمزج (0.6 M KH₂PO₄) و (0.08 M Na₂HPO₄)، ويضبط الاس الهيدروجيني عند 8.

3- محلول كاشف المان Ellmans

يحضر بتركيز 0.1 ملي مول بإذابة 0.00396 غم من مادة 5-5 dithio bis 2- nitrobenzoic acid (DTNB) في 100 مليلتر من المحلول المنظم ويحفظ الكاشف في الثلاجة.

طريقة العمل

1- مزج حجم متساوي (150) مايكروليتر من مصّل الدم ومحلول حامض Sulfosalicylic acid بتركيز 4%.

2- فصل الراشح باستخدام جهاز الطرد المركزي بسرعة 2000 دورة /دقيقة لمدة 5 دقائق.

3- سحب 150 مايكروليتر من الراشح الى انبوبة اختبار، واضيف اليها 4.5 ملتر من كاشف المان 0.1 Ellmans ملي مول، وتترك لمدة 5 دقائق.

4- قرأت الامتصاصية للمحلول باستخدام جهاز الطيف الضوئي عند الطول الموجي 412 نانوميتر.

تم حساب تركيز الكلوتاتايون في مصل الدم باستخدام المعادلة الاتية :

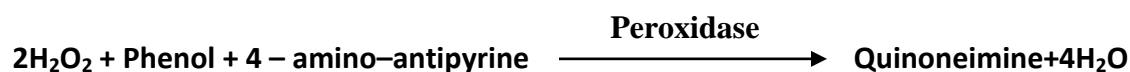
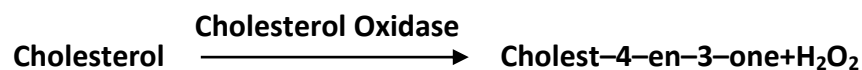
$$\text{تركيز الكلوتاتايون (ميكرومول/مول)} = \frac{E_o \times L}{412 \text{ نانوميتر}}$$

حيث ان : $E_o = 13600 \text{ M}^{-1} \text{ CM}^{-1}$

$L = \text{light path (Cm)}$

3-5-3 تقدير تركيز الكوليسترول الكلي في مصل الدم Total Cholesterol (TC)

تم تقدير تركيز الكوليستيرول في مصل الدم بالطريقة الانزيمية وفقا لطريقة (Allain,1974) اذ تعتمد هذه الطريقة على تحويل Cholesterol Esterase بوجود الاوكسجين (O_2) وانزيم Cholesterol Oxidase ، اللذان يعملان على اكسدة الكوليستيرول الحر المتكون نتيجة التفاعل الاول الى (Cholest -4en-3one) و (Hydrogen Peroxidase) وهذا الاخير يتفاعل مع الفينول Phenol و 4- Aminoantipyrinel بوجود انزيم Peroxidase ليكون كيتون امين quinoneimine وردي اللون وكما موضح في المعادلات الاتية :



طريقة العمل

تم استخدام ثلاث انابيب اختبار هي العينة sample ، المحلول القياسي standard والكفئ blank (وحسب الجدول التالي :

المحاليل	Blank	Sample	Standard
Sample		10 μ	
Standard			10 μ
Blank	10 μ		
Reagent (a)	1.0 ml	1.0 ml	1.0 ml

بعدها اضيف 1.0 ml من reagent a الى العينة والمحلول القياسي والكفئ ومزجت المحاليل جيدا وتركت لمدة 5 دقائق في الحمام المائي بدرجة 37 مئوية ، وبعدها تم قراءة الامتصاصية لها بواسطة جهاز المطياف الضوئي عند الطول الموجي 510 نانوميتر وذلك بعد تصفير الجهاز بواسطة الكفئ .

الحسابات

تم حساب تركيز الكوليسترول الكلي وفقا للقانون الاتي :

$$\text{Total Cholesterol Mg/dl} = \frac{\text{sample} \times n}{\text{standard}}$$

اذ ان :

$N = 200$ وهو تركيز المحلول القياسي.

$\text{Sample} =$ الامتصاصية الضوئية لعينة المصل .

$\text{Standard} =$ الامتصاصية الضوئية للمحلول القياسي .

4-5-3 تقدير تركيز الشحوم البروتينية العالية الكثافة في مصم الدم High Density Lipoprotein (HDL)

تم تقدير تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL cholesterol بالطريقة الانزيمية وفقا لطريقة (Burstein, 1970) وتعتمد هذه الطريقة على ترسيب دقائق الاستحلاب (الكيلوسية) و LDL و VLDL والموجودة في مصم الدم ويتم ذلك باضافة معامل الترسيب Precipitating reagent الى مصم العينات وبعد الانتهاء من هذه العملية وضعت العينات في جهاز الطرد المركزي علما ان المحلول الناتج بعد عملية الترسيب يكون رائق ويحوي على HDL والذي يمكن قياس مستوى الكوليسترول فيه باستخدام الكاشف Reagent A من العدة الخاصة بتقدير مستوى الكوليسترول .

طريقة العمل

تتضمن طريقة العمل في تقدير مستوى HDL cholesterol خطوتين هما :

1- الترسيب

استخدمت هذه الخطوة لتحضير الراشح (الرائق) وذلك بإضافة 0.5 مل من محلول الترسيب Reagent1 الى 0.5 مل من مصل الدم ويمزج جيدا ويترك لمدة 5 دقائق في درجة حرارة الغرفة ، ثم يوضع في جهاز الطرد المركزي لمدة 10 دقائق بسرعة 3000 دورة/ دقيقة .

2- تقدير كمية HDL cholesterol

قسم العمل على ثلاثة انابيب اختبار هي (العينة ، المحلول القياسي ، الكفؤ)

المحاليل	Blank	Sample	Standard
محلول رائق من sample		0.5 μ	
Standard			0.5 μ
Blank	0.5 μ		
Working reagent	2.0 ml	2.0 ml	2.0 ml

بعدها اضيف 2.0 مل من Reagent A الى المحاليل الثلاثة المذكورة اعلاه ومزجت جيدا ثم تركت لمدة 5 دقائق في الحمام المائي بدرجة حرارة 37 مئوية وبعدها تقرا الامتصاصية بواسطة جهاز المطياف الضوئي عند الطول الموجي 510 نانوميتر.

الحسابات

تم حساب تركيز HDL cholesterol من القانون الاتي :

$$\text{S.HDL-Cocentration} = \frac{\text{sample}}{\text{standard}} \times \text{C.STD} \times 2$$

اذ ان:

C.STD = قيمة المحلول القياسي وتقدر 50 mg/dl

(2) = عامل التخفيف بالمزج مع عامل الترسيب Precipitating reagent

3-5-5 تقدير تركيز البيروكسي نايترت في مصل الدم Peroxy Nitrate (ONOO-)

تم قياس تركيز البيروكسي نايترت حسب طريقة (Van Uffelen *et al.*, 1998) والتي تتضمن الاتي :

المحاليل المستخدمة

1- محلول الخلط Mixture solution :

حضر باذابة 5mM فينول في 50mM محلول منظم من فوسفات الصوديوم PH 7.4
(5 mM Phenol in 50 mM Sodium phosphate buffer PH 7.4)

2 -محلول هيدروكسيد الصوديوم Sodium hydroxide solution

حضر عند تركيز 0.1M هيدروكسيد الصوديوم (0.1M sodium hydroxide) .

طريقة العمل Procedure :

1- تم اضافة (10 µL) من العينة (Serum) الى (1990 µL) من Mixture solution ويوضع في الحمام المائي بدرجة 37°C لمدة ساعتين .

2- اضيف (15 µL) من محلول Sodium hydroxide .

3 - قرأت الامتصاصية بواسطة جهاز Spectrophotometric عند الطول الموجي 412nm بعد دقيقتين .

الحسابات :

$$\text{peroxynitrite concentration (Mole/Liter)} = (\Delta A/E0 \times L)$$

الفرق في الامتصاصية بين العينة (sample) والقياسي (blank) $\Delta A =$

$$E0 = 4400 \text{ m.cm}$$

$$L = 1 \text{ cm}$$

3-5-6 تقدير البروتين الكلي في مصل الدم Total Protein

استخدمت طريقة بايوريت Biuret Method لتقدير البروتين الكلي في مصل الدم حسب (Tietz, 1987). يتفاعل البروتين الموجود في مصل الدم مع محلول تترترات البوتاسيوم النحاسي القاعدي الذي يعرف بكاشف البايوريت Biuret Reagent ليكون معقداً معه ذا لون بنفسجي تعتمد شدته على أواصر الببتيد الموجودة في البروتين الذي يمكن قياسه لونياً على طول موجي 530 نانومتر باستخدام جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer.

المحاليل المستخدمة

1- محلول البايوريت Biuret Solution

يتكوّن من الكواشف الاتية:

1- الكاشف الاول الكاشف القاعدي المتكون من 3 عبوة محتوية 147ml حاوية على :
Sodium hydroxide ،(Potassium-Sodium tartrate 12mmol/l)
. (Potassium iodide 30mmol/l)،(0.6mmol/l)

2- الكاشف الثاني متكون من عبوة محتوية 11ml (Colouring Coopersulfate)
. (0.6mol/l)

3- الكاشف الثالث متكون من عبوة محتوية 4.5ml (Standard Bovine albumin)
. (5g/dl or 50g/l)

2- التحضير و الثبات:

يمزج 3مل من الكاشف الثاني مع واحدة من عبوات الكاشف الأول ويبقى هذا الكاشف ثابتاً لفترة
سنة أشهر بدرجة حرارة (2-8م°).

طريقة العمل:

اجريت طريقة العمل كما هو موضح بالجدول الاتي :

Tubes	Blank	Sample	Standard
sample		20µl	
Standard			20µl
Blank	20µl		
Working reagent	1ml	1ml	1ml

تم حساب تركيز البروتين الكلي في العينة وفق القانون الآتي:

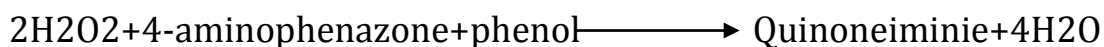
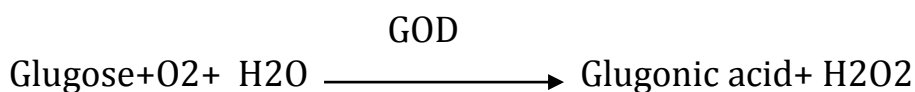
$$\frac{A \text{ Sample}}{A \text{ Standard}} \times 100 = \text{mg}/100 \text{ ml protein concentration}$$

$$\frac{\text{protein concentration(mg}/100\text{ml)}}{18} = \text{protein concentration mmole}$$

3-5-7 تقدير مستوى تركيز الكلوكوز في مصل الدم Serum Blood

Glucose

تم قياس تركيز السكر في المصل باستخدام عدة التحليل (Kit) من نوع (Rondox.Laboratorries Ltd.,Co.Antrim, United Kingdom) ، يتم تعيين الكلوكوز بعد الأكسدة الإنزيمية بوجود انزيم Glucose oxidase ، يتفاعل بيروكسيد الهيدروجين المتكون مع الـ 4,amino phenolphenazone و Phenol بوجود إنزيم بيروكسيداز Peroxidase، سوف يلاحظ ظهور لون وردي ، إذ يتناسب اللون بحسب تركيز الكلوكوز في مصل الدم وفق المعادلة الآتية:



Procedure طريقة العمل

اجريت طريقة العمل كما هو موضح بالجدول الاتي :

المحاليل	Blank	Sample	Standard
Sample		10 µl	
Standard			10 µl
Blank	10 µl		
Working reagent	1ml	1ml	1ml

تم المزج ثم الانتظار لمدة عشر دقائق تحت درجة حراره 20-25 م بعدها تم قياس

الامتصاصية باستخدام جهاز Spectrophotometer بطول موجي قيمته 520 نانومتر.

$$\frac{A_{\text{Sample}}}{A_{\text{Standard}}} \times 100 = \text{mg}/100 \text{ ml Glucose concentration}$$

$$\frac{\text{Glucose concentration}(\text{mg}/100\text{ml})}{18} = \text{Glucose concentration mmole}$$

3-5-8 قياس مستوى تركيز البروتين الكلي في عينة السائل المخي الشوكي

Total Protein In Cerebrospinal Fluid

استخدمت في تقدير تركيز البروتين الطريقة المعتمدة من قبل شركة Randox

Color (United Kingdom)- Laboratories Ltd) والمتكونة من محلول الكاشف اللوني

. Standard Solution Reagent والمحلل القياسي

الكاشف :

يتكون الكاشف اللوني المستخدم في تقدير تركيز البروتين للسائل الشوكي من المواد الآتية :

المحتويات	التركيز الأولي للمحاليل
Color Reagent	---
Pyrogallol Red	60 µl/L
Disodium Molybdate	40 µl/L
Succinic Acid	150 mmol/L
Sodium Oxalate	1 mmol/L
Sodium Benzoate	3 mmol/L
Solution Standard	---
Protein (Rabbit Serum Albumin)	1 gm/L

طريقة العمل

1. حضر محلول الـ Blank بإضافة 20 µl من الماء المقطر و أضيف إليه 1000 µl من

الكاشف في انبوبة اختبار معقمة.

2. حضر محلول الـ Standard بإضافة 20 µl من محلول الـ Standard اضيف إليه

1000µl من الكاشف في انبوبة اختبار معقمة.

3. وضع 20 µl من رائق CSF في انبوبة اختبار وأضيف إليه 1000 µl من الكاشف.
4. وضعت الانابيب لمدة 10 دقائق في درجة 25 م او 5 دقائق في درجة 37 م.
5. تم قياس الكثافة الضوئية للمحاليل بوساطة جهاز المطياف الضوئي بطول موجي 600 نانوميتر وتطبق المعادلة الآتية:

$$\frac{A \text{ Sample}}{A \text{ Standard}} \times \text{Standard Concentration} = \text{Protein Concentration (g/L)}$$

3-5-9 قياس مستوى تركيز الكلوكوز في عينة السائل المخي الشوكي

Glucose In Cerebrospinal Fluid

استخدمت الطريقة المعتمدة من قبل شركة Randox Laboratories Ltd. United Kingdom

و كما يأتي :-

الكاشف :

يتكون الكاشف اللوني المستخدم في تقدير تركيز الكلوكوز في عينة السائل الشوكي من المواد الآتية:

المحتويات	التركيز الاولي للمحاليل
Buffer	---
Phosphate Buffer	(PH=7) 0.1 mmol/L
Phenol	11 mmol/L
GOD-PAP-Reagent	---
4-Aminophenazone	0.77 mmol/L
Glucose Oxidase	> 1.5 ku/1
Peroxidase	> 1.5 ku /1
Solution Standard	---
Glucose	5.55 mmol/L (100 mg / dl)

طريقة العمل:

1. استخدم 20µl من العينة (Sample) و 20µl من المحلول القياسي (Standard) ، و اضيف اليه 2000µl من الكاشف في انبوية اختبار معقمة.
2. حضر محلول الكفىء Blank بإضافة 2000 µl من الكاشف في انبوية اختبار معقمة.
3. وضعت الانابيب لمدة 25 دقيقة بدرجة 15-25 م او 10 دقائق بدرجة 37 م .
4. تم قياس الكثافة الضوئية بطول موجي 540 نانوميتر .
5. تم قياس تركيز الكلوكوز في السائل الشوكي وفقا للمعادلة الاتية :

$$\frac{A_{\text{Sample}}}{A_{\text{Standard}}} \times \text{Standard Concentration} = \text{Sugar Concentration (g/L)}$$

3-6 قياس تركيز الايونات

3-6-1 تقدير تركيز الكالسيوم في مصل الدم Serum Calcium

استخدمت طريقة (Young , 2000) لتقدير تركيز الكالسيوم في المصل ، اذ يتفاعل محلول Cresolftatein comlexone (OCC) والكالسيوم في وسط قاعدي وينتج بنقل الطول الموجي للمعقد المتكون ، و يدل اللون المتكون على تركيز الكالسيوم في العينة الذي يمكن قياسه لونياً على طول موجي 570 نانومتر باستخدام جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer.

المحاليل والكواشف المستخدمة

- 1 الكاشف الاول (R1) : يتكون من o-Cresolphtalein complexone بتركيز 0.16 mmol/L ، HCL بتركيز 60 mmol/L و 8-quinolinol بتركيز 7 mmol/L .
- 2 الكاشف الثاني (R2) : يتكون من AMP بتركيز 0.35 mmol/L و PH=10.7
- 3 محلول الكالسيوم القياسي : يتكون من كالسيوم 10 mg/dL (2.5mmol /L) ويستخدم في تقدير النتائج .

التحضير والثبات

يحضر محلول Cresolftatein comlexone (OCC) بمزج عبوة الكاشف الاول (R1) وعبوة الكاشف الثاني (R2) ، ويبقى هذا الكاشف ثابتاً لفترة خمسة ايام عند درجة حرارة 2-8 C⁰ .

طريقة العمل

اجريت طريقة العمل كما هو موضح بالجدول الاتي :

Tubes	Blank	Sample	Standard
sample		10µl	
Standard			10µl
Working reagent	1ml	1ml	1ml

تم حساب تركيز الكالسيوم في العينة وفق القانون الآتي:

$$\frac{A \text{ Sample}}{A \text{ Standard}} \times C \text{ Standard} = \text{mg/dl total calcium}$$

2-6-3 قياس تركيز الحديد الحر في المصل

تم تقدير تركيز الحديد الحر في المصل باستعمال عدة قياس حديد المصل (Serum Iron Kit)، الحديد الموجود في عينة المصل التي يجب ان يكون خالي من التحلل الدموي Hemolysis ينفصل الحديد من معقد حديد- ترانسفيرين بواسطة محلول الكواندين استيت acetate Guanidine المضاف ثم يختزل بواسطة حامض الاسكوربيك Ascorbic acid ويتفاعل مع الـ Ferrozine ليعطي معقد وردي اللون.

الكواشف المستخدمة

- 1- الكاشف الاول R1 ويتكون من Guanidine و HCl و Actete buffer pH₅ بتركيز 4.5 ملي مول/ لتر.
- 2- الكاشف الثاني R2 وهو Ascorbic acid.
- 3- الكاشف الثالث R3 وهو Ferrozine بتركيز 40 ملي مول/ لتر.
- 4- الكاشف الرابع R4 وهو المحلول القياسي Standard Iron بتركيز 100 مايكروغرام/ديسيلتر.

طريقة العمل

تم تحضير الكواشف الآتية:

- 1- الكاشف A يحضر من اضافة 250 ملغم من الكاشف الثاني R2 مع 50 مل من الكاشف الاول R1.
 - 2- الكاشف B: يحضر من اضافة حجم واحد من الكاشف الثالث R3 مع 25 حجماً من الكاشف A.
- تم أخذ أربعة انابيب بلاستيكية وصنفت الى انبوبة تصفير الكاشف وانبوبة المحلول القياسي وانبوبة تصفير العينة وانبوبة الاختبار.

وضع في كل من انبوبة تصفير الكاشف وانبوبة المحلول القياسي وانبوبة الاختبار 1 مل من الكاشف B ثم اضيف 0.2 مل من الماء المقطر الى انبوبة تصفير الكاشف و 0.2 مل من المحلول القياسي R4 الى انبوبة المحلول القياسي و 0.2 مل من مصل العينة المراد حساب تركيز الحديد فيها الى انبوبة الاختبار، أما انبوبة تصفير العينة فوضع فيها 1 مل من الكاشف A و 0.2 مل من مصل العينة المراد حساب تركيز الحديد فيها.

مزجت تلك الانابيب جيداً وتركت لمدة 10 دقائق بدرجة حرارة الغرفة بعدها قيست الكثافة الضوئية للمحاليل السابقة بعد معايرة الجهاز بواسطة محلول تصفير الكاشف وعلى طول موجي 562 نانوميتر وتم حساب تركيز الحديد في المصل بتطبيق المعادلة الآتية:

$$\frac{\text{OD sample}-\text{OD sample blank}}{\text{OD standard}} \times \text{Con. Standard} = \mu\text{g/dl}$$

7-3 قياس تركيز الهرمونات

تم قياس تراكيز الهرمونات باستخدام عدة التحاليل (Kits) الخاصة بكل هرمون بالاعتماد على الطريقة المناعية المعروفة (ELISA) Enzyme-Linked Immunosorbent Assay باستخدام جهاز ELISA Reader من نوع Axiom Minireader الألماني المنشأ وأجريت الخطوات لقياس كل هرمون بالاعتماد على الخطوات المرفقة لكل طقم وكما يأتي :-

1-7-3 قياس تركيز هرمون Ghrelin/Obestatin ratio

تم قياس تركيز كل هرمون باتباع الخطوات الآتية:

- 1- وضع 50 µl من المادة القياسية في الأوعية المخصصة لها .
- 2- اضيف 40 µl من محلول التخفيف الى الاوعية الخاصة لقياس العينات ، بعدها تم اضافة 10 µl من العينة لكل وعاء .
- 3- تم اضافة 50 µl من الكاشف المرتبط (HRP) horseradish peroxidase الى كل وعاء ، ثم سدت الاوعية ورجت بلطف و تم حضانة الاوعية بدرجة حرارة 37 C⁰ لمدة 60 دقيقة .
- 4- تم إزالة الخليط عن طريق قلب محتويات الاوعية في سلة المهملات ، وتركت لتجف وبعدها ملئت الاوعية بمحلول الغسل ورجت لمدة 30 ثانية بواسطة جهاز Shaker .
- 5- غسلت الاوعية خمس مرات بالماء المقطر وجففت الأوعية بورق الامتصاص لإزالة جميع قطرات الماء .
- 6- اضيف 50 µl من المحلول مظهر اللون A ، ثم اضيف 50 µl من المحلول مظهر اللون B على جدران الاوعية ورج برفق وحضنت الاوعية بدرجة حرارة 37 C⁰ لمدة 10 دقائق .

- 7- تم إضافة $50 \mu\text{l}$ من محلول الايقاف على جدران الاوعية لايقاف التفاعل اذ تم تغير اللون الأزرق إلى اللون الأصفر وبصورة كاملة .
- 8- تم قراءة الكثافة البصرية باستخدام القاري الخاص بجهاز الاليزا وبطول موجي 450 نانوميتر .

2-7-3 قياس تركيز هرمون الكورتيكوستيرون Corticosteron

تم قياس تركيز هرمون الكورتيكوستيرون في المصل باتباع الخطوات الاتية:

- 1- وضع $100\mu\text{L}$ من المحلول القياسي ، ثابت بلانك والعينة في الأوعية المخصصة لها ، وغطيت الأوعية بأشرطة لاصقة ووضعت في الحاضنة بدرجة حرارة 37 C^0 لمدة ساعة واحدة .
- 2- تم قلب الأوعية لازالة محتوياتها بدون غسل الأوعية .
- 3- اضيف $100\mu\text{L}$ من المحلول الكاشف A لكل وعاء ومزج برفق ، بعدها تم حضن جميع الأوعية بدرجة حرارة 37 C^0 لمدة ساعة واحدة.
- 4- تم إزالة الخليط عن طريق قلب محتويات الأوعية في سلة المهملات.
- 5- اضيف $350\mu\text{L}$ من محلول الغسل الى الأوعية و جففت الأوعية بورق الامتصاص لإزالة جميع قطرات محلول الغسل و كررت العملية ثلاث مرات.
- 6- تم إضافة $100\mu\text{L}$ من المحلول الكاشف B لكل وعاء وغطيت جميع الأوعية بأشرطة لاصقة ، ووضعت جميع الأوعية في الحاضنة بدرجة حرارة 37 C^0 لمدة ساعة واحدة.
- 7- اضيف $350\mu\text{L}$ من محلول الغسل الى الأوعية وبعدها تم تجفيف الأوعية بورق الامتصاص و كررت العملية ثلاث مرات.
- 8- تم إضافة $90\mu\text{L}$ من محلول Substrate solution لكل وعاء ، وحضنت جميع الأوعية بدرجة حرارة 37 C^0 لمدة 30 دقيقة .
- 9- اضيف $50\mu\text{L}$ من محلول الايقاف لكل وعاء لإيقاف التفاعل .
- 10- تم قراءة الكثافة البصرية عند الطول الموجي 450 نانوميتر باستخدام القاري الخاص بجهاز الاليزا بعد 30 ثانية من إضافة محلول الايقاف .

8-3 التحضيرات النسجية Histological preparations

تم حفظ العينة (المخ ، المخيخ والسائل الشوكي) في البداية بعد استئصالها من الحيوان في محلول الفورمالين بتركيز 10 % وبعد 4-5 ايام استخرجت من الفورمالين وغسلت عدة مرات بالكحول الايثيلي بتركيز 70% بعدها اجريت عليها سلسلة من العمليات اعتماداً على الطريقة الموصوفة في (Presnell & Schreibman, 1997).

1-8-3 الانكاز والترويق Dehydration and Clearing

تم سحب الماء من النسيج وذلك بتمرير النماذج في سلسلة تراكيز تصاعديّة من الكحول الايثيلي (70% ، 80% ، 90% ، 95% ، 100%) ولمدة ساعتين في كل تركيز بعدها روقت النماذج بوضعها في الزيلين لمدة ساعتين.

2-8-3 التشريب Infiltration

بعد الانتهاء من عملية الترويق نقلت النماذج الى قناني حاوية على خليط من شمع البرافين Paraffin wax (ذي درجة انصهار 57-60 م) المنصهر والمرشح والزيلين بنسبة 1:1 لمدة نصف ساعة داخل فرن كهربائي درجة حرارته 60 م وذلك لابقاء الشمع منصهراً ولضمان تمام عملية التشريب الكامل للنماذج بالشمع نقلت الى قناني اخرى حاوية على شمع البرافين داخل الفرن ايضاً لمدة ساعة واحدة ثم نقل مرة اخرى الى قناني اخرى حاوية على شمع البرافين لمدة ساعة واحدة ايضاً.

3-8-3 الطمر Embedding

تم عمل قوالب من الشمع حاوية على نماذج العينات وذلك بصب الشمع في قوالب بلاستيكية خاصة طمرت فيها النماذج وتركت في درجة حرارة المختبر لتتصلب ثم فصلت عن القالب وحفظت حتى وقت تقطيعها.

4-8-3 التقطيع Sectioning

تم استخدام جهاز المشراح اليدوي Rotary Microtome لتقطيع النماذج وبسمك تراوح ما بين 5-6 مايكروميتر، ثم حملت اشربة المقاطع على شرائح زجاجية Slides نظيفة وممسوحة بآح

ماير بعد ان وضعت في حمام مائي درجة حرارته 45-50 م لمدة دقيقة- دقيقتين لضمان فرش المقاطع بعدها تركت على صفيحة ساخنة Hot Plate لتجف بدرجة حرارة 37 م.

5-8-3 التصبيغ والتحميل staining and Mounting

1-5-8-3 التصبيغ بصبغة هيماتوكسولين- ايوسين Haematoxylin-Eosin stain

صبغت جميع المقاطع النسجية باستخدام صبغة هيماتوكسولين- ايوسين اذ وضعت الشرائح في الزايلين لمدة 5 دقائق للتخلص من الشمع ثم مررت بسلسلة تراكيز تنازلية من الكحول الايثيلي (100%، 100%، 90%، 80%، 70%، 50%) لمدة دقيقتين في كل تركيز بعدها صبغت بصبغة الهيماتوكسولين لمدة دقيقة واحدة ثم غسلت بالماء المقطر لمدة دقيقتين بعدها غطت بالكحول الحامضي لمرتين او ثلاث مرات لازالة الصبغة الزائدة ثم صبغت بصبغة الايوسين لمدة ربع دقيقة ونقلت بعدها الى سلسلة تصاعديّة من الكحول الايثيلي (50%، 70%، 80%، 90%، 95%، 100%، 100%) ولمدة دقيقتين في كل تركيز ما عدا التركيز الاخير وضعت فيه لمدة 5 دقائق ثم روقت بالزايلين بمرحلتين في كل مرحلة لمدة 10 دقائق بعدها اجريت عليها عملية التحميل باستخدام بلسم كندا Canada Balsam لتثبيت غطاء الشريحة ثم تركت على صفيحة ساخنة لتجف لمدة 8 ساعات لتكون جاهزة للفحص المجهرى.

2-5-8-3 التصبيغ بصبغة السلفر Silver Stain

استخدمت طريقة (Mirra et al , 1993) في عملية التصبيغ بصبغة السلفر لتشخيص مرض الزهايمر .

الكواشف

1- محلول نترات الفضة 20% 20% Silver Nitrate

حضر باذابة 10 غم من نترات الفضة في 50 مل من الماء المقطر

2- محلول الفضة الامونياكي Ammoniacal Silver Solution

حضر باستخدام 50 مل من محلول نترات الفضة 20% مع اضافة قطرات من الامونيا لحين ظهور الراسب.

3- المحلول المظهر للون Developer

A- محلول Stock solution: حضر بإضافة 20 مل من الفورمالديهايد (37-40%) الى

0,5 غم من حامض الستريك citric acid و قطرتين من حامض النتريك nitric acid

مع 100 مل من الماء المقطر

B- محلول Working solution: حضر بإضافة 8 قطرات من هيدروكسيد الامونيا و 8

قطرات من محلول Stock solution الى 50 مل من الماء المقطر

4- ماء الامونيا : حضر بإضافة 8 قطرات من هيدروكسيد الامونيا الى 50 مل من الماء

المقطر

طريقة العمل

وضع محلول نترات الفضة 20% في جارة التصبيغ وتركت في المايكرووف بدرجة حرارة 37 C^0 لمدة 35 ثانية ، بعدها اضيفت السلايدات الزجاجية الى محلول نترات الفضة 20% في المايكرووف وتركت لمدة 15 دقيقة ، غسلت جميع السلايدات بالماء المقطر وكررت العملية 3 مرات ، وضعت السلايدات في محلول الفضة الامونياكي لمدة 10 دقائق في المايكرووف بدرجة 37 C^0 ، ثم وضعت في محلول Working solution لمدة 1-5 دقائق ، غسلت السلايدات بماء الامونيا ثم بالماء المقطر 3 مرات ، بعدها وضعت في محلول 5% Hypo لمدة دقيقتين وغسلت بالماء المقطر 3 مرات ثم جففت السلايدات و اجريت عليها عملية التحميل باستخدام بلسم كندا وثبت غطاء الشريحة و تركت على صفيحة ساخنة لتجف لمدة 8 ساعات لتكون جاهزة للفحص المجهرى .

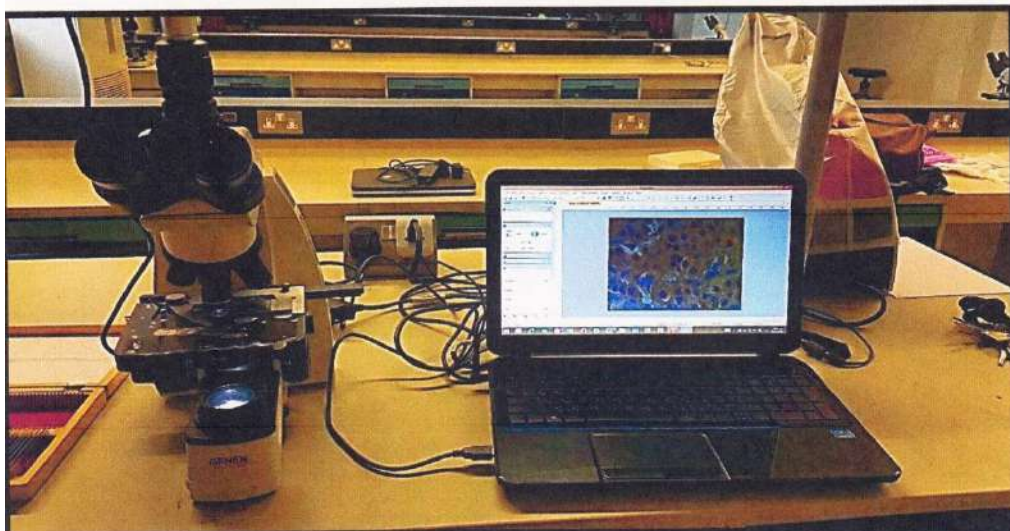
3-9 التصوير المجهرى Microphotography

تم تصوير المقاطع النسجية بأستخدام كاميرا رقمية Digital Camera نوع

PMPHD 60 f عالية الدقة.

4-10 التقدير الكمي للبيتا امليويد بصبغة السلفر

تم الحصول على مقاطع من عينات عشوائية من الصور المجهرية تبعا الى اتجاه المحور السيني والصادي لمسرح المجهر الضوئي لجميع اجزاء السلايد ، وتم تصوير المقاطع الصورية بأستخدام كاميرا مجهرية رقمية نوع عالية الدقة.



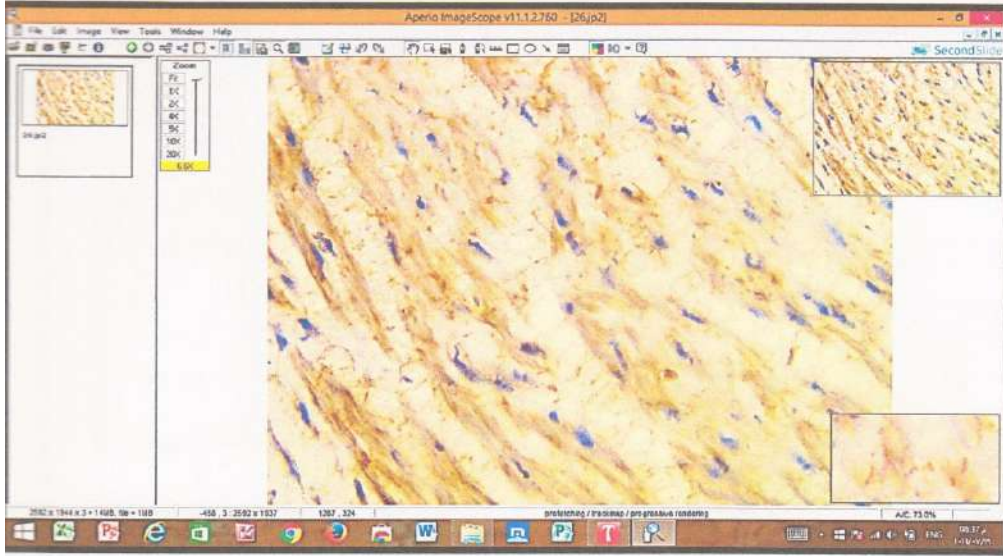
صورة (1-3) توضح مجهر (Genix) مع الكاميرا الرقمية التي تم استخدامها في تصوير المقاطع توضح ظهور شاشة البرنامج المستخدم في القياسات (Aperio image scope soft ware)

بعد اتمام عملية التصوير المجهرية تم تقدير كمية البيتا املويد في انسجة المخ ، المخيخ والحبل الشوكي عن طريق برنامج (Aperio image scope soft ware (Aperio technologies Inc.USA.) ، اذ يستطيع هذا البرنامج تقدير كمية الصبغات الخاصة الموجودة في الصورة المجهرية ، وتم تحديد اللون البني للبيتا املويد كمقياس لهذا البرنامج بثلاثة مستويات من الشدة (ايجابي ضعيف ، ايجابي و ايجابي قوي)

Parameter	Value
Nwp = Number of Weak Positive	23863
Np = Number of Positive	1637713
Nsp = Number of Strong Positive	187148
Iwp = Total Intensity of Weak Positive	6440274
Ip = Total Intensity of Positive	135750161
Isp = Total Intensity of Strong Positive	14269044
Iavg = (Iwp+Ip+Isp)/(Nwp+Np+Nsp)	126.311
Nnr = Nsp/(Nwp+Np+Nsp)	0.134933
IvsIavg = (Iwp+Ip)/(Nwp+Np)	132.688
Nni = Number of Negative	398267
ni = Total Intensity of Negative	36030041
NTotal = Total Number (Positive+Negative)	1627011
ATotal = Total Area (millimeter squared)	-1627011
Positivity = NPositive/NTotal	0.761362
Algorithm Inputs	
Algorithm	Positive Pixel Count v9
Version	9.1
View Width	1000

صورة (2-3) توضح نتائج المعلومات التي تم ادخالها الى البرنامج مع ظهور الاعداد والبيانات الخاصة بكل نوع من انواع القياسات وبحسب اللون

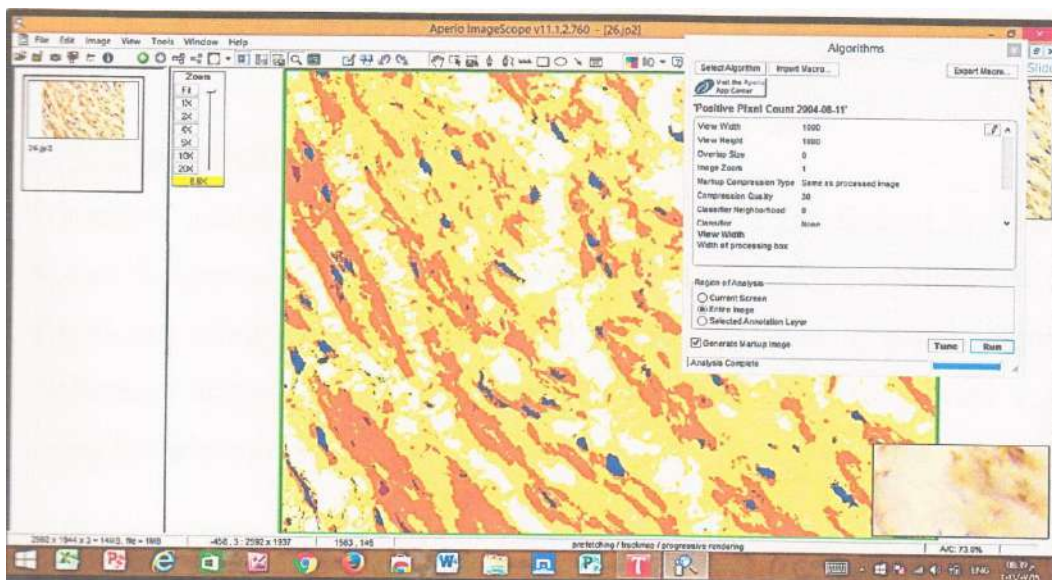
اذ يمثل الايجابي ضعيف المناطق الصفراء اللون من النسيج ، و الايجابي المناطق البرتقالية اللون ، في حين يمثل الايجابي القوي اللون البني (تم استخدام النتيجة ايجابي قوي والتي تمثل مناطق وجود البيتة املويد وتم حساب اعدادها من خلال هذا البرنامج لغرض التقدير الكمي لها في انسجة المخ ، المخيخ والحبل الشوكي) ، فيما تمثل المناطق الزرقاء النتيجة السلبية .



صورة (3-3) توضح صورة النسيج المستخدم والبيانات التي تم استخدامها في تحديد المناطق المتأثرة ومدى الايجابية في كل منطقة

طريقة العمل:

- 1- تم فتح برنامج Aperio image scope soft ware بالنقر مرتين على ايقونة image scope program .
- 2- تحويل الصورة الى البرنامج خلال الضغط على ملف الاوامر command file ، ثم فتح الصورة.
- 3- تحميل الصورة الى البرنامج عن طريق اختيار bar we ، بعدها اختيار view option ، ثم analysis option و اختيار algorithm option .
- 4- تم اختيار free- hand pen لتحديد النسيج من الحواف المحيطة بالنسيج الى حواف تحليل المناطق الخاصة في الصورة .
- 5- بعد ذلك تم تحديد منطقة النسيج واخيرا تحليل الصورة بالضغط على run analysis command في نافذة التحليل .
- 6- تم الكشف عن النتائج عن طريق اختيار annotations من نافذة option of view ، ان الخيار annotations سوف يعرض مناطق السلايد بثلاثة مستويات من الشدة (ايجابي ضعيف ، ايجابي و ايجابي قوي) اضافة الى المناطق السالبة.



صورة (3-4) تبين كيف تم تحديد المنطقة المراد قياسها بالبيانات الظاهرة في الشاشة الرقمية مع الاحداثيات التي تم ادخالها

11-3 التحليل الإحصائي Statistical Analysis

تم تحليل النتائج عن طريق الاستعانة بالبرنامج الجاهز SPSS حيث تم تقدير معامل الارتباط البسيط بين بعض المعايير الكيموحيوية (تركيز المالنوالديهايد MDA ، تركيز الكلوتاثيون المختزل GSH ، تركيز الكولسترول الكلي TC و تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL) والجرع التصاعدية لمادة الكركمين وايجاد معادلة الخط المستقيم للمعايير الكيموحيوية على الجرع التصاعدية لمادة الكركمين بهدف بيان تأثير الجرعة المؤثرة ED50 على هذه المعايير، معادلة الخط المستقيم هي:

$$y=a +bx$$

=y المتغير التابع (المعايير الكيموحيوية) .

=a نقطة تقاطع خط الانحدار مع المحور الصادي.

=b معامل انحدار المتغير التابع على المتغير المستقل .

=x قيمة المتغير المستقل (جرع مادة الكركمين) .

واختبرت معنوية معامل الارتباط عن طريق تحليل التباين لتجربة عاملية 15X4X6 وفق التصميم العشوائي الكامل (CRD) Compleat randomized design واستخدام تحليل التباين Anova table لتجربة عاملية 15X3X4 وفق التصميم العشوائي الكامل لتحليل بيانات التجربة الثالثة كما تم استخدام إختبار أقل فرق معنوي (L.S.D) Least Significant difference للإظهار معنوية النتائج. (Spss , 1999)

النتائج

Results

التجربة الاولى Experiment 1

1-4 التحليل الكمي للمستخلص الكحولي لنبات الكركم باستخدام طرق
 الكروماتوجرافي عالي الاداء High Performance Liquid
 Chromatography (HPLC)

بعد انتهاء عملية الاستخلاص الكحولي للكركم ، تمت عملية التحليل الكمي الكركمين باستخدام طرق الكروماتوجرافي عالي الاداء High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ، وباستخدام تقنية HPLC وجد ان نسبة مادة الكركمين كانت 88.685 % وكما مبين في الجداول التالية :

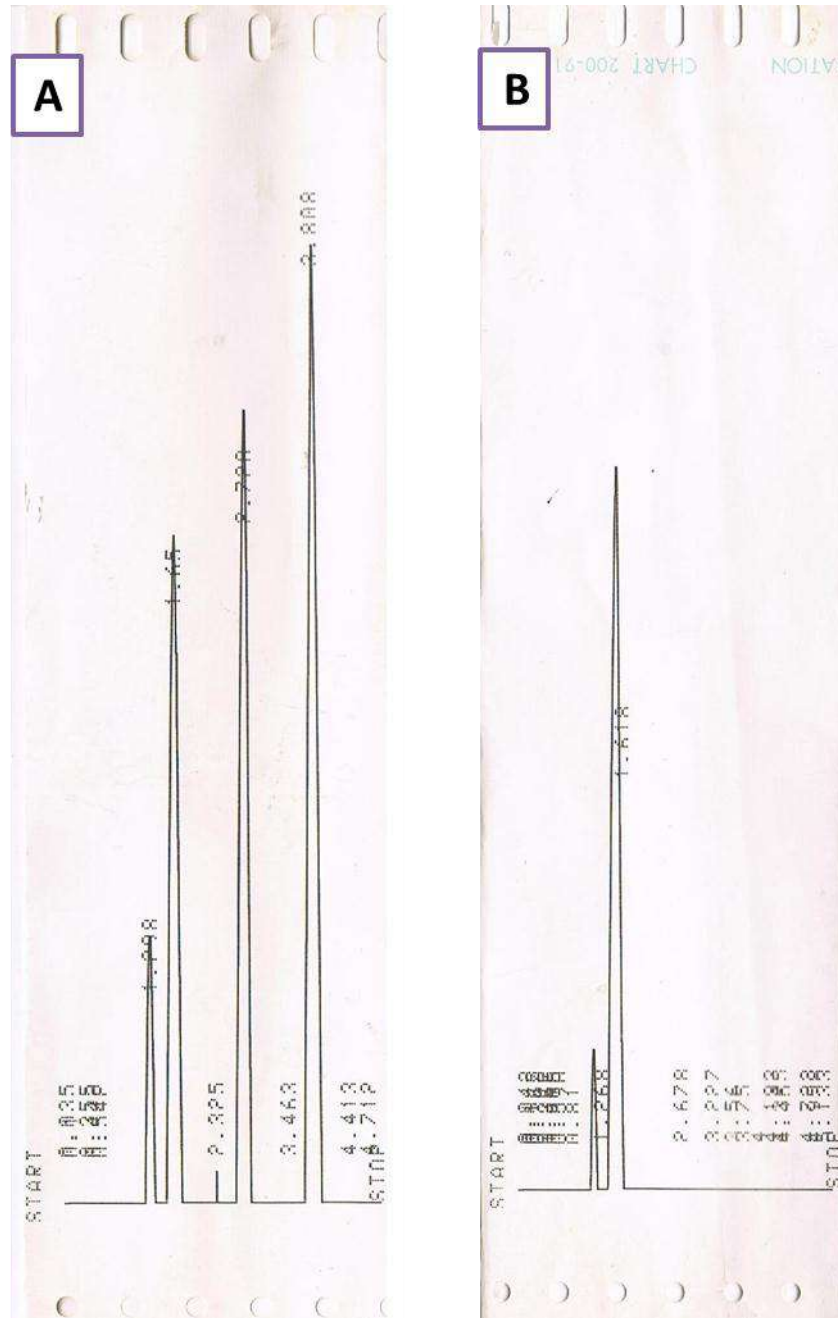
جدول (1-4) يبين قراءة المحاليل القياسية للكركم (الكركمين curcumine ، ديميثوكسي كركمين Demethoxycurcumin والبسديمثوكسي كركمين Bisdemethoxycurcumin)

المساحة area	زمن الاحتجاز Retention time	المواد	التسلسل
109210	1.65	Curcumine	1
123251	2.72	Demethoxycurcumin	2
144145	3.80	Bisdemethoxycurcumin	3

جدول (2-4) يبين قراءة محلول النموذج المفصول بتقنية ال HPLC

المساحة area	زمن الاحتجاز Retention time	المواد	التسلسل
96853	1.65	curcumine	1

ويوضح شكل (1-4) المكونات الكيميائية لنبات الكركم



شكل (1-4) يوضح منحنى المكونات الكيميائية لنبات الكركم بتقنية HPLC (A) المكونات الكيميائية القياسية لنبات الكركم (B) المكونات الكيميائية لمحلول النموذج المفصول بتقنية الـ HPLC

Mobile phase 0.05% acetic acid in De-ionized water Solvent A:Methanol solvent B, Detection UV-visnset at 425 , Flow rate 1.0 ml/min

التجربة الثانية Experiment 2

2-4 تحديد الجرعة المؤثرة للكرمين Determination of ED₅₀ of Curcumin

1-2-4 تأثير الجرعة المختلفة من الكركمين على بعض المعايير الكيموحيوية

تم قياس الجرعة المؤثرة ED₅₀ من خلال دراسة منحنى الاستجابة للجرع المختلفة Dose response curve ، وقد تم استخدام 5 جرع تصاعدية مختلفة من مادة الكركمين لتحديد الجرعة المؤثرة لهذه المادة لدراسة تأثيراتها على بعض المعايير الوظيفية مثل المالونالديهايد (MDA) ، الكلوتاثيون المختزل (GSH) ، الكولسترول الكلي (TC) و الشحوم البروتينية عالية الكثافة (HDL) ، كما مبين في الجداول (4-1) - (4-4). لقد بينت النتائج ان هناك تأثير معنوي للكرمين على المعايير السابقة وبمستويات معنوية مختلفة عند مستوى معنوية $p < 0.01$.

1-1-2-4 تأثير الجرعة المختلفة من الكركمين على تركيز المالونالديهايد MDA في مصل ذكور الارانب

يبين الجدول (3-4) حدوث تأثير معنوي ($P < 0.01$) في تركيز المالونولديهايد عند معاملة ذكور الارانب بجرع تصاعدية مختلفة (0،20،40،60،80 و 100 ملغم / كغم) من الكركمين ولمدة اربعة اسابيع ، فقد اظهرت النتائج حدوث انخفاض معنوي ($P < 0.01$) في تركيز المالونولديهايد في الاسبوع الثالث والرابع لكل تركيز مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) في حين ظهر انخفاض معنوي ($P < 0.01$) في تركيز المالونولديهايد بين الجرع المختلفة منذ الاسبوع الاول واستمر الانخفاض الى نهاية التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، ووجد اكثر انخفاض في تركيز المالونولديهايد في المجموعة G6 عند نهاية الاسبوع الرابع (0.33 ± 0.039) مقارنة مع مجموعة السيطرة (0.56 ± 0.056) لنفس الاسبوع .

جدول (3-4) يبين تأثير تراكيز مختلفة من الكركمين على تركيز المالونولديهيد (MDA) في مصل ذكور الارانب

LSD	G6 100ملغم/كغم	G5 80ملغم/كغم	G4 60ملغم/كغم	G3 40ملغم/كغم	G2 20ملغم/كغم	G1 السيطرة	المجاميع المدة
0.015	0.41 0.056± A f	0.43 0.018± A e	0.46 0.052± A d	0.47 0.033± A c	0.50 0.089± A b	0.57 0.051± A a	الاسبوع الاول
0.011	0.39 0.061± A f	0.42 0.042± A e	0.45 0.030± A d	0.46 0.041± A c	0.49 0.052± A b	0.56 0.050± A a	الاسبوع الثاني
0.013	0.37 0.038± B e	0.40 0.030± B d	0.42 0.049± B c	0.44 0.046± B b	0.46 0.035± B b	0.56 0.025± A a	الاسبوع الثالث
0.017	0.33 0.039± C e	0.36 0.040± C d	0.38 0.043± C c	0.43 0.051± C b	0.43 0.056± C b	0.56 0.056± A a	الاسبوع الرابع
	0.0137	0.0184	0.012	0.012	0.017	0.013	LSD

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

2-1-2-4 تأثير الجرعة المختلفة من الكركمين على تركيز الكلوتاثيون المختزل GSH في مصل ذكور الارانب

يلاحظ من الجدول (4-4) حدوث ارتفاع معنوي (P<0.01) في تركيز الكلوتاثيون المختزل (GSH) لجميع التراكيز المستخدمة من مادة الكركمين لمدة اربعة اسابيع ، اذ لوحظ الارتفاع المعنوي (P<0.01) في تركيز الكلوتاثيون المختزل عند نهاية الاسبوع الثاني لكل تركيز واستمر الارتفاع حتى نهاية الاسبوع الرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

جدول (4-4) يبين تأثير تراكيز مختلفة من الكركمين على تركيز الكلوتاثيون المختزل (GSH) $\mu\text{mol/L}$ في مصل ذكور الارانب

LSD	G6 100ملغم/كغم	G5 80ملغم/كغم	G4 60ملغم/كغم	G3 40ملغم/كغم	G2 20ملغم/كغم	G1 السيطرة	المجاميع المدة
0.67	29.88 $0.32 \pm$ A e	27.72 $0.25 \pm$ A d	24.79 $0.19 \pm$ A c	23.70 $0.21 \pm$ A b	22.18 $0.29 \pm$ A a	21.59 $0.16 \pm$ A a	الاسبوع الاول
0.76	31.74 $0.11 \pm$ B f	29.49 $0.13 \pm$ B e	26.07 $0.06 \pm$ B d	24.96 $0.16 \pm$ B c	23.83 $0.06 \pm$ B b	21.57 $0.08 \pm$ A a	الاسبوع الثاني
0.80	34.76 $0.22 \pm$ C e	32.70 $0.34 \pm$ C d	27.97 $0.24 \pm$ C c	26.03 $0.18 \pm$ C b	25.08 $0.36 \pm$ C b	21.69 $0.25 \pm$ A a	الاسبوع الثالث
0.73	40.27 $0.38 \pm$ D f	37.54 $0.29 \pm$ D e	34.49 $0.22 \pm$ D d	28.28 $0.37 \pm$ D c	27.83 $0.26 \pm$ D b	21.93 $0.15 \pm$ A a	الاسبوع الرابع
	0.76	0.72	0.53	0.69	0.74	0.48	LSD

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

3-1-2-4 تأثير الجرعة المختلفة من الكركمين على تركيز الكولسترول الكلي TC في مصل ذكور الارانب

يشير الجدول (4-5) حدوث انخفاض معنوي ($P < 0.01$) في تركيز الكولسترول الكلي TC عند معاملة ذكور الارانب بالتركيز التصاعدي المختلفة من الكركمين لمدة شهر ، فقد سجلت النتائج انخفاض معنوي ($P < 0.01$) في تركيز الكولسترول الكلي عند نهاية الاسبوع الثاني للمجاميع G4،G3 ، G5 و G6 في حين سجل الانخفاض المعنوي ($P < 0.01$) في تركيز الكولسترول الكلي للمجموعة G2 عند نهاية الاسبوع الثالث واستمر الانخفاض حتى نهاية الاسبوع الرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

جدول (4-5) يبين تأثير تراكيز مختلفة من الكركمين على تركيز الكولسترول الكلي (TC) في مصل ذكور الارانب

LSD	G6 100 ملغم/كغم	G5 80 ملغم/كغم	G4 60 ملغم/كغم	G3 40 ملغم/كغم	G2 20 ملغم/كغم	G1 السيطرة	المجاميع المدة
2.34	127.49 1.10±	129.85 0.85±	133.69 0.85±	135.36 0.64±	138.39 0.85±	139.27 0.70 ±	الاسبوع الاول
	A c	A c	A b	A b	A a	A a	
2.62	121.93 0.11±	123.78 0.14±	129.63 0.12±	131.46 0.13±	135.88 0.10±	138.65 0.16±	الاسبوع الثاني
	B e	B d	B c	B c	A b	A a	
2.68	112.47 0.94 ±	116.99 0.96 ±	123.99 0.72±	126.14 0.42 ±	130.39 1.49±	138.47 0.80±	الاسبوع الثالث
	C e	C d	C c	C c	B b	A a	
1.51	104.98 1.34 ±	109.30 0.91 ±	113.11 1.02 ±	115.65 0.85 ±	123.68 0.58 ±	138.28 0.94 ±	الاسبوع الرابع
	D f	D e	D d	D c	C b	A a	
	2.74	2.18	2.10	1.59	2.51	1.98	LSD

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

الحروف الكبيرة تدل على وجود فروق معنوية عمودياً تحت مستوى احتمال $P < 0.01$

4-1-2-4 تأثير الجرعة المختلفة من الكركمين على تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL-C في مصّل ذكور الارانب

يلاحظ من الجدول (4-6) حدوث ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL عند معاملة ذكور الارانب بتركيز مختلفة من الكركمين ، فقد لوحظ الارتفاع المعنوي ($P < 0.01$) في تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة للمجاميع G3، G4، G5 و G6 عند نهاية الاسبوع الثالث واستمر الارتفاع حتى نهاية التجربة في حين وجد الارتفاع المعنوي ($P < 0.01$) في تركيز HDL للمجموعة G2 عند نهاية الاسبوع الرابع مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

جدول (4-6) يبين تأثير تراكيز مختلفة من الكركمين على تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة (HDL) mg/dl في مصّل ذكور الارانب

LSD	G6 100ملغم/كغم	G5 80ملغم/كغم	G4 60ملغم/كغم	G3 40ملغم/كغم	G2 20ملغم/كغم	G1 السيطرة	المجاميع المدة
1.00	56.07 0.28 ±	52.25 0.40 ±	49.90 0.42 ±	48.06 0.29 ±	42.93 0.33 ±	37.55 0.42 ±	الاسبوع الاول
	A f	A e	A d	A c	A b	A a	
0.79	59.61 0.76 ±	54.37 0.97 ±	50.59 0.74 ±	48.51 0.11 ±	42.99 0.18 ±	38.16 0.35 ±	الاسبوع الثاني
	B f	B e	A d	A c	A b	A a	
0.90	62.44 0.34 ±	56.83 0.24 ±	52.23 0.26 ±	49.71 0.32 ±	43.07 0.31 ±	37.92 0.23 ±	الاسبوع الثالث
	C f	C e	B d	B c	A b	A a	
0.95	68.97 0.21 ±	61.32 0.29 ±	58.74 0.41 ±	56.45 0.33 ±	44.42 0.42 ±	38.02 0.22 ±	الاسبوع الرابع
	D f	D e	C d	C c	B b	A a	
	0.68	0.77	0.46	0.77	0.88	0.87	LSD

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

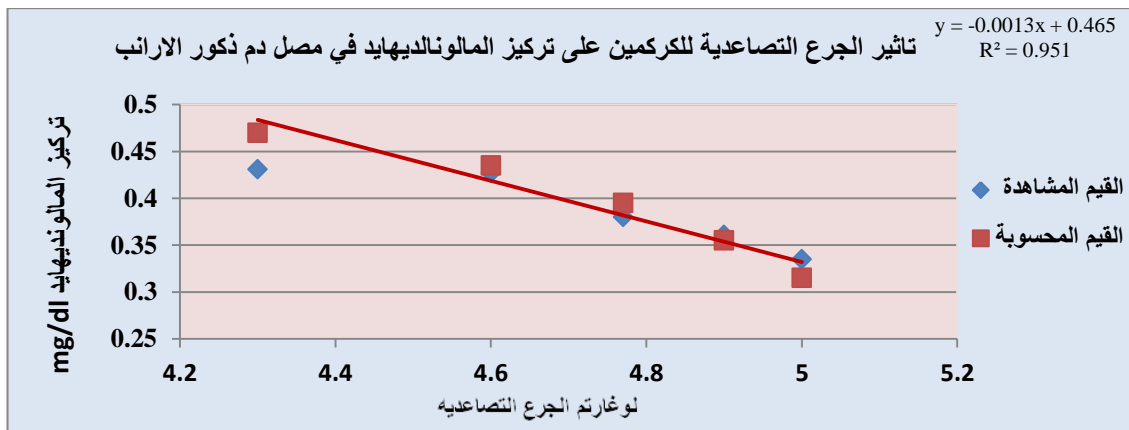
الحروف الكبيرة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال $P < 0.01$

2-4-2 العلاقة الخطية بين التراكيز المختلفة من الكركمين والمعايير الوظيفية لدم ذكور الارانب

اعتمادا على النتائج المبينة في الجداول (3-4 ، 4-4 ، 5-4 ، 6-4)، والتي سجلت تغييرات معنوية ($P < 0.01$) في المعايير السابقة بعد اربعة اسابيع من التجريع الفموي بجرع تصاعدية من الكركمين. وبناء على ذلك، تم استخدام النتائج التي تم الحصول عليها لتقدير الجرعة المؤثرة النصفية (ED_{50}) من الكركمين على النحو الآتي:

1-2-2-4 تأثير الجرع المختلفة من الكركمين على تركيز المالنوالديهايد MDA في مصّل ذكور الارانب

يبين الشكل (2-4) وجود علاقة خطية عكسية بين الكركمين وتركيز المالنوالديهايد MDA اذ وجد ان مقدار الجرعة المؤثرة بلغت 60.872 ملغم / كغم

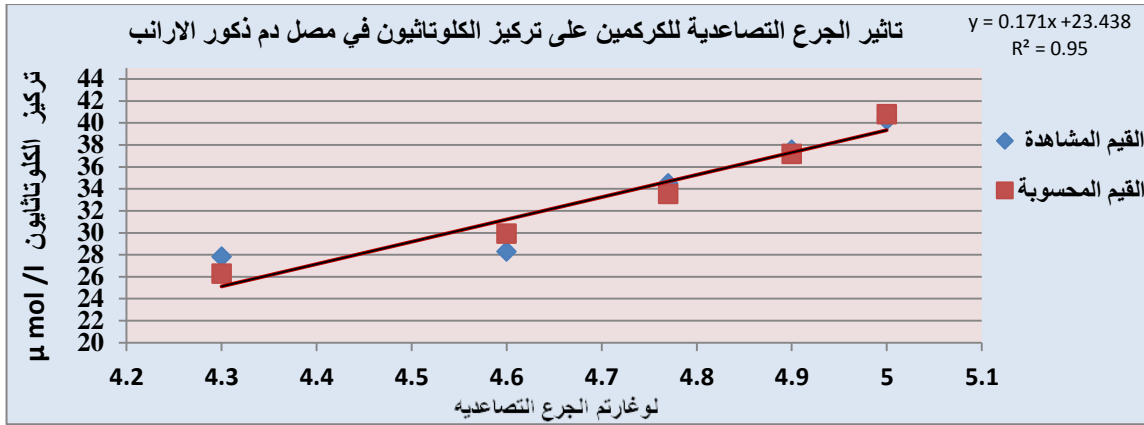


شكل (2-4) تأثير الجرع المختلفة من الكركمين على تركيز المالنوالديهايد MDA بعد اربعة اسابيع

$ED_{50}=60.872 \text{ mg/kg}$ ، $n= 15$

2-2-2-4 تأثير الجرع المختلفة من الكركمين على تركيز الكلوتاثيون المختزل GSH في مصّل ذكور الارانب

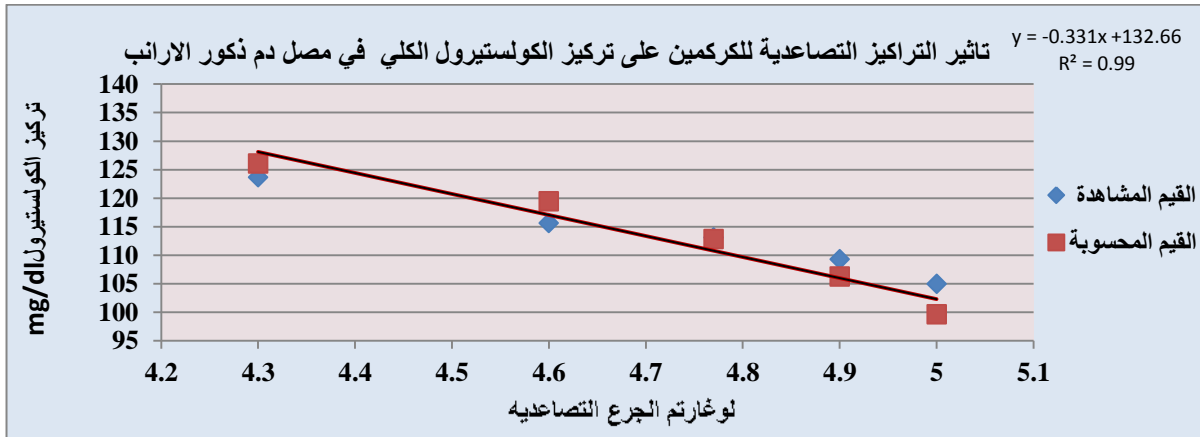
من الشكل (3-4) يلاحظ وجود علاقة خطية طردية بين الجرعة التصاعدية من الكركمين ومستوى تركيز الكلوتاثيون المختزل GSH في مصّل ذكور الارانب ، كما وجد من خلال هذا الشكل ان الجرعة المؤثرة ED_{50} بلغت 64.891 ملغم / كغم



شكل (3-4) تأثير الجرعة المختلفة من الركمين على تركيز الكلوتاثيون المختزل GSH بعد اربعة اسابيع ، n= 15
ED50=64.891 mg/kg

3-2-2-4 تأثير الجرعة المختلفة من الركمين على تركيز الكوليستيرول الكلي TC في مصل ذكور الارانب

يلاحظ من الشكل (4-4) وجود علاقة خطية عكسية بين الجرعة التصاعديّة المختلفة للركمين ومستوى تركيز الكوليستيرول الكلي TC ومن المعادلة الخطية وجد ان الجرعة المؤثرة ED50 بلغت 60.201 ملغم / كغم

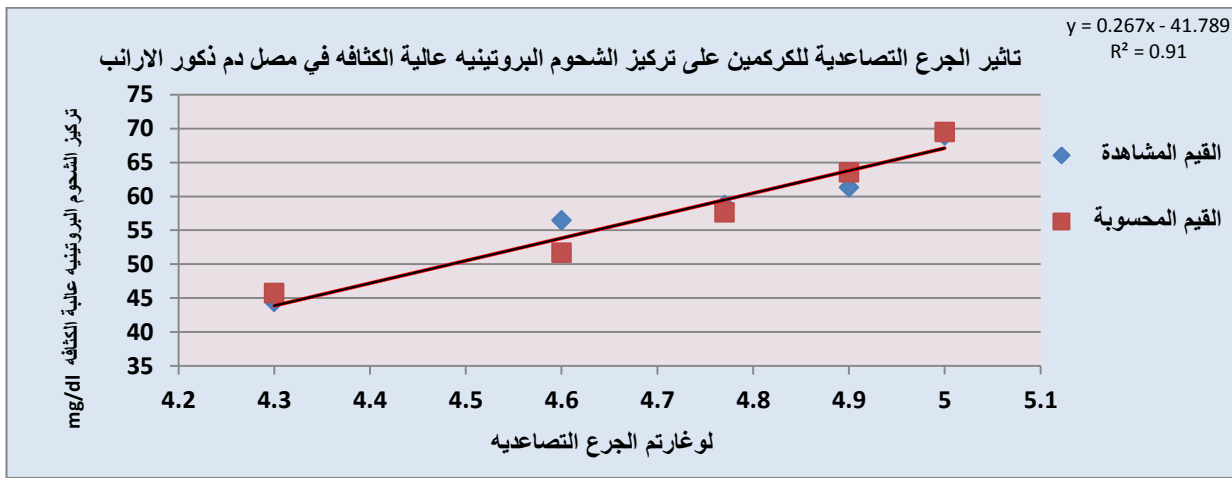


شكل (4-4) تأثير الجرعة المختلفة من الركمين على تركيز الكوليستيرول الكلي TC بعد اربعة اسابيع
ED50= 60.201 mg/kg ، n= 15

4-2-2-4 تأثير الجرعة المختلفة من مادة الكركمين على تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL-C في مصل ذكور الارانب

يبين الشكل (4-5) وجود علاقة خطية طردية بين الجرعة التصاعديّة المختلفة من مادة الكركمين ومستوى تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL ومن خلال استخدام المعادلة الخطية لوحظ ان مقدار ED50 بلغت 54.161 ملغم / كغم .

من خلال قيم الجرعة المؤثرة ED50 للمعايير الاربعه السابقة (TC,MDA , GSH , HDL) تم حساب معدل الجرعة المؤثرة الكلية لمادة الكركمين اذ بلغت 60 ملغم /كغم / و.ج.



شكل (4-5) تأثير الجرعة المختلفة من مادة الكركمين على تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة HDL بعد اربعة اسابيع ، n= 15 ، mg/kg ، ED50= 54.161 ملغم /كغم

3-4 التجربة الثالثة Experiment 3**1-3-4 تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على المعايير الانزيمية****1-1-3-4 التغيرات في معدل تركيز انزيم الاستيل كولين استريز الذائب****Soluble -AChE (G1) Unit/ml**

يشير الجدول (4- 7) الى وجود ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في معدل تركيز انزيم الاستيل كولين استريز الذائب في مصل ذكور الارانب المجرعة ب 3 ملغم /كغم (G2) MSG بعد مرور شهر ونصف من التجربة واستمر هذا الارتفاع حتى نهاية الشهر الثالث مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) .

يلاحظ من الجدول ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة من الكركمين (60ملغم /كغم) في المجموعة G3 ادى الى حدوث انخفاض معنوي ($P < 0.01$) في معدل تركيز انزيم AChE الذائب طول مدة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، كما ان المعاملة ب 3 ملغم / كغم من MSG في المجموعة G4 والمجرعة فمويا ب 60 ملغم/ كغم من الكركمين لم يؤدي الى وجود فروق معنوية في معدل تركيز انزيم الاستيل كولين استريز الذائب بعد منتصف التجربة لكن حدث ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) بعد نهاية المعاملة مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، كما يلاحظ وجود فرق معنوي ($P < 0.01$) بين المجموعتين G2 و G3 و بين المجموعتين G2 و G4 في منتصف ونهاية فترة المعاملة مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

جدول (4-7) تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على معدل تركيز انزيم (G1) AChE الذائب في Unit/ml في ذكور الارانب المعرضة لغلوتامات الصوديوم الاحادية

المدة	المجاميع	(G1) السيطرة	(G2) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية	(G3) 60 ملغم/كغم مادة الكرامين	(G4) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية + 60 ملغم/كغم مادة الكرامين	LSD
قبل المعاملة		13.08 0.29± a	12.79 0.34± a	12.84 0.31± a	12.99 0.29± a	0.85
بعد شهر ونصف		12.94 0.30± a	14.61 0.25± b	11.91 0.30± c	13.75 0.34± a	0.83
بعد ثلاثة اشهر		13.11 0.32± a	15.12 0.22± b	11.06 0.23± c	14.05 0.32± d	0.77
LSD		0.84	0.76	0.78	0.87	

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

2-1-3-4 التغيرات في معدل تركيز انزيم الاستيل كولين استريز المرتبط بالغشاء membrane-bound AChE (G4) Unit/ml

يشير الجدول (4-8) وجود انخفاض معنوي ($P < 0.01$) في معدل تركيز انزيم الاستيل كولين استريز المرتبط بالغشاء في المجموعة الجرعة فمويًا ب 3 ملغم / كغم من غلوتامات الصوديوم الاحادية (G2) في منتصف التجربة واستمر هذا الارتفاع حتى نهاية التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، كما يشير الجدول ان التجريب الفموي بالجرعة المؤثرة ED50 من الكركمين ادى الى انخفاض معنوي ($P < 0.01$) في معدل تركيز انزيم AChE (G4) في المجموعة G3 بعد انتهاء الشهر الثالث من التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) كما يلاحظ وجود فروق معنوية بين المجموعتين G2 و G4 في منتصف ونهاية التجربة.

اما المجموعة G4 التي جرعت فمويًا بالجرعة المؤثرة ED50 من الكركمين والتي جرعت فمويًا ب 3 ملغم / كغم من غلوتامات الصوديوم الاحادية ادت الى حدوث انخفاض معنوي ($P < 0.01$) في معدل تركيز انزيم AChE (G4) بعد نهاية الشهر الثالث من التجربة مقارنة مع فترة ما قبل المعاملة . كما لم يلاحظ وجود فروق معنوية بين المجموعتين G3 و G4 في منتصف ونهاية التجربة

جدول (8-4) تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على معدل تركيز انزيم (G4) AChE المرتبط بالغشاء Unit/ml في ذكور الارانب المعرضة لغلوتامات الصوديوم الاحادية

LSD	(G4) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية + 60 ملغم/كغم مادة الكرامين	(G3) 60 ملغم/كغم مادة الكرامين	(G2) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية	(G1) السيطرة	المجاميع المدة
0.84	12.25 0.37± A a	12.00 0.26± A a	12.05 0.31± A a	12.16 0.25± A a	قبل المعاملة
0.83	11.97 0.27± A a	11.82 0.29± A a	10.91 0.38± B b	11.83 0.24± A a	بعد شهر ونصف
0.70	10.69 0.26± B ac	11.04 0.21± B c	9.77 0.27± C b	12.12 0.26± A a	بعد ثلاثة اشهر
	0.85	0.72	0.89	0.70	LSD

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

الحروف الكبيرة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال P<0.01

3-1-3-4 التغيرات في معدل تركيز انزيم Nuroal mitochondrial ATPase (Nmit ATPase)ng/ml

يلاحظ من الجدول (4-9) وجود انخفاض معنوي (P<0.01) في معدل تركيز انزيم Nmit ATPase في المجموعة المعرضة لغلوتامات الصوديوم الاحادية (G2) في منتصف التجربة واستمر هذا الانخفاض حتى نهاية الشهر الثالث مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1)، كما يشير الجدول ان المعاملة بالجرعة المؤثرة ED50 من الكركمين في المجموعة (G3) ادى الى ارتفاع معنوي (P<0.01) بعد شهر ونصف حتى نهاية التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، كما يظهر ان هنالك فروق معنوية (P<0.01) للمدة الزمنية بين فترة بداية ونهاية التجربة في هذه المجموعة (G3) . كما يلاحظ وجود فروق معنوية (P<0.01) بين المجموعة G2 والمجموعة G3 و على طول فترة التجربة .

اما في المجموعة G4 التي جرعت فمويا بالجرعة المؤثرة (ED50) من الكركمين وجرعت فمويا ب 3 ملغم / كغم من MSG فيلاحظ وجود انخفاض معنوي (P<0.01) في معدل تركيز انزيم Nmit ATPase بعد منتصف التجربة وحتى نهاية

التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) . كما يشير الجدول الى وجود فروق معنوية (P<0.01) بين المجموعتين G2 و G4 بعد شهر ونصف وحتى انتهاء الشهر الثالث من التجربة .

جدول (9-4) تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على معدل تركيز انزيم Nmit ATPase في مصل ذكور الارانب المعرضة لغلوتامات الصوديوم الاحادية

LSD	المجاميع				المدة
	(G4) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية + 60 ملغم/كغم مادة الركمين	(G3) 60 ملغم/كغم مادة الركمين	(G2) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية	(G1) السيطرة	
0.16	22.39 0.98± A a	22.49 0.38± A a	22.57 0.41± A a	22.43 0.28± A a	قبل المعاملة
0.31	21.50 0.10± B d	24.81 0.15± B c	11.56 0.87± B b	22.59 0.87± A a	بعد شهر ونصف
0.27	20.69 0.12± C d	26.69 0.84± C c	7.41 0.55± C b	23.61 0.11± A a	بعد ثلاثة اشهر
	0.29	0.28	0.18	0.23	LSD

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

2-3-4 تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على المعايير الكيموحيوية

1-2-3-4 التغيرات في معدل تركيز الكلوتاثيون المختزل GSH

يلاحظ من الجدول (10-4) ان التجريع الفموي بمادة MSG بجرعة 3 ملغم / كغم (G2) ادى الى انخفاض معنوي ($P<0.01$) في معدل تركيز الكلوتاثيون المختزل GSH بعد مرور شهر ونصف مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، كما يلاحظ من هذا الجدول ان مجموعة ذكور الارانب التي جرعت فمويا بالجرعة المؤثرة (ED50) للركمين (G3) ادت الى حدوث ارتفاع معنوي ($P<0.01$) في معدل تركيز GSH مقارنة مع المجموعة (G2) ومجموعة السيطرة (G1) ، ان الانخفاض المعنوي ($P<0.01$) في معدل تركيز GSH استمر حتى نهاية الشهر الثالث من التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، كما استمر الارتفاع المعنوي ($P<0.01$) في معدل تركيز GSH في المجموعة G3 بعد انتهاء الشهر الثالث مقارنة مع المجموعة (G2) ومجموعة السيطرة (G1) .

كما يشير الجدول ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة (ED50) للركمين (60ملغم / كغم) لذكور الارانب المجرعة فمويا ب MSG في المجموعة G4 لم يؤدي الى وجود فروق معنوية في معدل تركيز الكلوتاثيون المختزل GSH بعد شهر ونصف وكذلك بعد مرور الشهر الثالث مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

جدول (10-4) تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على معدل تركيز الكلوتاثيون المختزل GSH في مصل ذكور الارانب المعرضة لغلوتامات الصوديوم الاحادية Mmol/dl

LSD	(G4) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية + 60 ملغم/كغم مادة الركمين	(G3) 60 ملغم/كغم مادة الركمين	(G2) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية	(G1) السيطرة	المجاميع المدة
0.62	20.82 0.27 ± A a	20.71 0.21 ± A a	20.85 0.17 ± A a	20.63 0.23 ± A a	قبل المعاملة
0.49	20.59 0.85 ± A a	31.14 0.24 ± B c	14.69 0.21 ± B b	20.44 0.13 ± A a	بعد شهر ونصف
0.47	20.36 0.83 ± A a	35.95 0.24 ± C c	10.30 0.16 ± C b	20.27 0.15 ± A a	بعد ثلاثة اشهر
	0.47	0.64	0.50	0.49	LSD

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

2-2-3-4 التغيرات في معدل تركيز المالنولديهايد (MDA) mg/dl

يشير الجدول (4-11) وجود ارتفاع معنوي ($P<0.01$) في معدل تركيز المالنولديهايد في المجموعة المجرعة فمويا ب 3 ملغم / كغم من غلوتامات الصوديوم الاحادية (G2) في منتصف التجربة واستمر هذا الارتفاع حتى نهاية التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1)، كما يشير الجدول ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة ED50 من الكركمين ادى الى حدوث انخفاض معنوي ($P<0.01$) في معدل تركيز المالنولديهايد في المجموعة G3 على طول مدة التجربة مقارنة في المجموعة (G2) و مجموعة السيطرة (G1).

اما المجموعة G4 التي جرعت فمويا بالجرعة المؤثرة ED50 من الكركمين والتي جرعت فمويا ب 3 ملغم / كغم من غلوتامات الصوديوم الاحادية لم يؤدي الى حدوث فرق معنوي في معدل تركيز المالنولديهايد حتى نهاية الشهر الثالث من التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1).

جدول (4-11) تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على معدل تركيز المالنولديهايد (MDA) mg/dl في مصل ذكور الارانب المعرضة لغلوتامات الصوديوم الاحادية

LSD	(G4) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية + 60 ملغم/كغم مادة الكركمين	(G3) 60 ملغم/كغم مادة الكركمين	(G2) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية	(G1) السيطرة	المجاميع المدة
0.013	0.514 0.043 ± A a	0.512 0.030± A a	0.521 0.042± A a	0.523 0.062± A a	قبل المعاملة
0.013	0.525 0.027± A d	0.414 0.034± B c	0.622 0.078± B b	0.498 0.036± A a	بعد شهر ونصف
0.015	0.523 0.062± A d	0.342 0.063± C c	0.710 0.058± C b	0.506 0.035± A a	بعد ثلاثة اشهر
	0.013	0.012	0.017	0.013	LSD

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

الحروف الكبيرة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال $P<0.01$

3-2-3-4 التغيرات في معدل تركيز البيروكسي نايترت ONOO^- (mol/L)

يلاحظ من الجدول (4-12) وجود ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في معدل تركيز ONOO^- للمجموعة المعاملة ب 3 ملغم /كغم من MSG (G2) في منتصف التجربة واستمر هذا الارتفاع حتى نهاية الشهر الثالث مقارنة مع مجموعة السيطرة G1.

كما يشير الجدول ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة من الكركمين ادى الى انخفاض معنوي ($P < 0.01$) في معدل تركيز ONOO^- في المجموعة G3 . كما لم يلاحظ وجود فروق معنوية بين المجموعتين G4 و G1 في منتصف ونهاية التجربة ، يشير الجدول وجود فروق معنوية ($P < 0.01$) في المجاميع G3 و G4 ، في الفترة الزمنية بين فترة بداية ونهاية التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) .

جدول (4-12) تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على معدل تركيز البيروكسي نايترت ONOO^- (mol/L) في مصّل ذكور الارانب المعرضة لغلوتامات الصوديوم الاحادية

LSD	(G4) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية + 60 ملغم/كغم مادة الكركمين	(G3) 60 ملغم/كغم مادة الكركمين	(G2) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية	(G1) السيطرة	المجاميع المدة
0.008	0.034 0.0030± A a	0.036 0.0035± A a	0.033 0.0033± A a	0.035 0.0024± A a	قبل المعاملة
0.008	0.040 0.0029± A a	0.025 0.0027± B c	0.092 0.0036± B b	0.033 0.0035± A a	بعد شهر ونصف
0.009	0.043 0.0026± A a	0.019 0.0021± B c	0.203 0.0049± C b	0.037 0.0023± A a	بعد ثلاثة أشهر
	0.008	0.008	0.011	0.008	LSD

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

الحروف الكبيرة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال $P < 0.01$

4-2-3-4 التغيرات في معدل تركيز البروتين الكلي Total protein في المصل Mmol/L (TP)

يشير الجدول (4-13) الى وجود انخفاض معنوي ($P < 0.01$) في معدل تركيز البروتين الكلي في مصل ذكور الارانب الجرعة ب 3 ملغم /كغم من مادة MSG (G2) بعد مرور شهر ونصف من التجربة واستمر هذا الانخفاض حتى نهاية الشهر الثالث مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1). كما يشير الجدول ان التجريب الفموي بالجرعة المؤثرة من الكركمين (60 ملغم /كغم) في المجموعة G3 ادى الى حدوث ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في معدل تركيز البروتين الكلي في المصل طول مدة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، في حين يلاحظ وجود فروق معنوية بين المجموعتين G2 و G3 في منتصف التجربة كذلك بعد انتهاء الشهر الثالث ، و ان المعاملة ب 3 ملغم / كغم من MSG في المجموعة G4 والمجرعة فمويا ب 60 ملغم/ كغم من الكركمين لم يؤدي الى وجود فروق معنوية في معدل تركيز البروتين الكلي للمصل بعد منتصف التجربة في حين ظهر هنالك انخفاض معنوي معدل تركيز البروتين الكلي في المصل بعد نهاية الشهر الثالث من التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) .

جدول (4-13) تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على معدل تركيز البروتين الكلي (TP) Mmol/L في مصل ذكور الارانب المعرضة لغلوتامات الصوديوم الاحادية

LSD	(G4) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية + 60 ملغم/كغم مادة الكركمين	(G3) 60 ملغم/كغم مادة الكركمين	(G2) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية	(G1) السيطرة	المجاميع المدة
0.11	4.53 0.04 ± A a	4.46 0.03 ± A a	4.58 0.04 ± A a	4.55 0.05 ± A a	قبل المعاملة
0.111	4.48 0.03 ± A a	4.57 0.03± B a	3.43 0.05 ± B b	4.49 0.04 ± A a	بعد شهر ونصف
0.12	4.27 0.045 ± B d	4.74 0.045 ± C c	2.93 0.043 ± C b	4.51 0.04 ± A a	بعد ثلاثة اشهر
	0.12	0.10	0.12	0.12	LSD

المعدل ± الخطأ القياسي ، n = 15/ مجموعة . الحروف الصغيرة تدل على وجود فروق معنوية أفقيا تحت مستوى احتمال $P < 0.01$

الحروف الكبيرة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال $P < 0.01$

4-3-2-5 التغيرات في معدل تركيز الكلوكوز (GLU) Mmol/L في المصل

يلاحظ من الجدول (4-14) وجود ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في معدل تركيز الكلوكوز في مصل حيوانات المجموعة المعرضة ل MSG (G2) واستمر هذا الارتفاع حتى نهاية التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، كما يشير الجدول ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة من الكركمين في المجموعة G3 لم يؤدي الى وجود فروق معنوية في تركيز كلوكوز المصل حتى نهاية الشهر الثالث من التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) و يلاحظ وجود فروق معنوية بين المجاميع G2 و G3 و G4 في منتصف التجربة كذلك بعد انتهاء الشهر الثالث. كذلك لم يلاحظ وجود اي فرق معنوي في المجموعة المعاملة ب3 ملغم / كغم من غلوتامات الصوديوم الاحادية و الجرعة فمويا ب 60 ملغم / كغم من الكركمين (G4) في منتصف التجربة في حين سجلت هذه المجموعة ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) بعد انتهاء مدة التجربة مقارنة مع فترة ما قبل المعاملة .

جدول (4-14) تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على معدل تركيز الكلوكوز (GLU) Mmol/L في مصل ذكور الارانب المعرضة لغلوتامات الصوديوم الاحادية

LSD	(G4) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية + 60 ملغم/كغم مادة الكركمين	(G3) 60 ملغم/كغم مادة الكركمين	(G2) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية	(G1) السيطرة	المجاميع المدة
0.09	6.22 0.026± A a	6.15 0.034± A a	6.21 0.041± A a	6.19 0.032± A a	قبل المعاملة
0.11	6.25 0.024± A c	6.16 0.036± A ac	8.75 0.051± B b	6.09 0.050± A a	بعد شهر ونصف
0.19	6.35 0.031± B c	6.19 0.022± A ac	8.23 0.125± C b	6.10 0.049± A a	بعد ثلاثة اشهر
	0.08	0.09	0.22	0.12	LSD

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

الحروف الكبيرة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال $P < 0.01$

6-2-3-4 التغيرات في معدل تركيز البروتين الكلي (TP) في السائل المخي الشوكي Mmol/L

يلاحظ من الجدول (4-15) وجود انخفاض معنوي ($P<0.01$) في معدل تركيز البروتين الكلي للسائل المخي الشوكي في المجموعة التي جرعت فمويا ب 3 ملغم / كغم من MSG (G2) بعد مرور شهر ونصف واستمر الانخفاض الى نهاية التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، كما يشير الجدول ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة (ED_{50}) من الكركمين في المجموعة G3 ادى الى ارتفاع معنوي ($P<0.01$) في معدل تركيز البروتين الكلي للسائل المخي الشوكي حتى نهاية التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1)، كما لم يلاحظ وجود فروق معنوية في مجموعة الحيوانات التي جرعت فمويا ب 3 ملغم / كغم من مادة غلوتامات الصوديوم الاحادية مع التجريع الفموي بال ED50 من الكركمين (G4) في منتصف التجربة ، بينما حدث انخفاض معنوي ($P<0.01$) في معدل تركيز البروتين الكلي للسائل المخي الشوكي بعد انتهاء الشهر الثالث مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) .

جدول (4-15) تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على معدل تركيز البروتين الكلي (TP) في السائل المخي الشوكي ذكور الارانب المعرضة لغلوتامات الصوديوم الاحادية

LSD	(G4) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية + 60 ملغم/كغم مادة الكركمين	(G3) 60 ملغم/كغم مادة الكركمين	(G2) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية	(G1) السيطرة	المجاميع المدة
0.13	2.56 $0.056 \pm$ A a	2.53 $0.035 \pm$ A a	2.60 $0.054 \pm$ A a	2.48 $0.043 \pm$ A a	قبل المعاملة
0.13	2.46 $0.038 \pm$ A a	2.69 $0.048 \pm$ B c	1.83 $0.049 \pm$ B b	2.55 $0.049 \pm$ A a	بعد شهر ونصف
0.10	2.26 $0.025 \pm$ B d	2.81 $0.031 \pm$ C c	1.02 $0.044 \pm$ C b	2.47 $0.042 \pm$ A a	بعد ثلاثة اشهر
	0.12	0.11	0.14	0.12	LSD

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

الحروف الكبيرة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال $P<0.01$

7-2-3-4 التغيرات في معدل تركيز الكلوكوز (GLU) Mmol/L في السائل المخي الشوكي

يشير الجدول (4-16) الى حدوث ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في معدل تركيز الكلوكوز للسائل المخي الشوكي في المجموعة التي جرعت ب 3 ملغم / كغم من MSG (G2) بعد مرور شهر ونصف واستمر هذا الانخفاض طول فترة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) .

كما يلاحظ ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة (60 ملغم / كغم) من الكركمين لم يؤدي الى حدوث اي تأثير معنوي في معدل الكلوكوز للسائل المخي الشوكي حتى نهاية التجربة ، في حين يلاحظ وجود فروق معنوية بين المجموعتين G2 و G3 في منتصف و نهاية التجربة ، اما المجموعة G4 المعاملة ب 3 ملغم / كغم من MSG اضافة الى 60 ملغم / كغم من الكركمين لم تظهر اي فرق معنوي بعد مرور شهر ونصف ، لكن سجلت النتائج ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في معدل تركيز كلوكوز السائل المخي الشوكي بعد نهاية التجربة مقارنة مع فترة ما قبل المعاملة .

جدول (4-16) تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على معدل تركيز الكلوكوز (GLU) Mmol/L في السائل المخي الشوكي في مصّل ذكور الارانب المعرضة لغلوتامات الصوديوم الاحادية

LSD	(G4) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية + 60 ملغم/كغم مادة الكركمين	(G3) 60 ملغم/كغم مادة الكركمين	(G2) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية	(G1) السيطرة	المجاميع المدة
0.93	4.34 0.035 ± A a	4.37 0.033 ± A a	4.33 0.040 ± A a	4.29 0.025 ± A a	قبل المعاملة
0.10	4.35 0.039 ± A a	4.34 0.034 ± A a	6.72 0.031± B b	4.32 0.043 ± A a	بعد شهر ونصف
0.16	4.49 0.051± B a	4.33 0.035 ± A a	8.98 0.094 ± C b	4.33 0.035 ± A a	بعد ثلاثة اشهر
	0.12	0.09	0.17	0.10	LSD

المعدل ± الخطأ القياسي ، n = 15/ مجموعة . الحروف الصغيرة تدل على وجود فروق معنوية افقيا تحت مستوى

احتمال $P < 0.01$

الحروف الكبيرة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال $P < 0.01$

4-3-3 تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على معدل تركيز بعض الايونات

4-3-3-1 التغيرات في معدل تركيز الكالسيوم mg/dl

يلاحظ من الجدول (4-17) وجود ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في معدل تركيز الكالسيوم في مصل حيوانات المجموعة المعرضة ل MSG (G2) واستمر هذا الارتفاع حتى نهاية التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، كما يشير الجدول ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة (ED50) من الكركمين في المجموعة G3 لم يؤدي الى وجود فروق معنوية في تركيز كالسيوم المصل حتى نهاية الشهر الثالث من التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) و يلاحظ وجود فروق معنوية بين المجموعتين G2 و G3 في منتصف التجربة كذلك بعد انتهاء التجربة. كذلك لم يلاحظ وجود اي فرق معنوي في المجموعة المعاملة ب3 ملغم / كغم من غلوتامات الصوديوم الاحادية و الجرعة فمويا ب 60 ملغم / كغم من الكركمين (G4) في منتصف التجربة في حين سجلت هذه المجموعة ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) بعد انتهاء مدة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، كما يلاحظ وجود فروق معنوية بين المجموعتين G2 و G4 بعد انتهاء الشهر الثالث مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1).

جدول (4-17) تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على معدل تركيز الكالسيوم mg/dl في مصل ذكور الارانب المعرضة لغلوتامات الصوديوم الاحادية

LSD	المجاميع				المدة
	(G4) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية + 60 ملغم/كغم مادة الكركمين	(G3) 60 ملغم/كغم مادة الكركمين	(G2) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية	(G1) السيطرة	
0.55	9.09 0.18± A a	9.10 0.22± A a	9.13 0.22± A a	9.03 0.16± A a	قبل المعاملة
0.41	9.21 0.16± A a	9.07 0.17± A a	9.69 0.10± B b	9.15 0.16± A a	بعد شهر ونصف
0.41	9.55 0.08± B c	9.02 0.15± A a	10.08 0.18± C b	9.09 0.15± A a	بعد ثلاثة اشهر
	0.41	0.51	0.49	0.44	LSD

المعدل ± الخطأ القياسي ، n = 15/ مجموعة . الحروف الصغيرة تدل على وجود فروق معنوية أفقيا تحت مستوى احتمال $P < 0.01$

الحروف الكبيرة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال $P < 0.01$

4-3-3-2 التغيرات في معدل تركيز الحديد الحر في المصل ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$)

توضح النتائج وجود ارتفاع معنوي ($P<0.01$) في معدل تركيز الحديد الحر في مصل حيوانات المجموعة المعرضة ل MSG (G2) في منتصف التجربة كذلك حتى نهاية الشهر الثالث مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1).

ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة ED50 من الكركمين في المجموعة G3 لم يؤدي الى وجود فروق معنوية في معدل تركيز الحديد الحر طول مدة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 . كما تشير النتائج الى وجود ارتفاع معنوي ($P<0.01$) في معدل تركيز الحديد الحر في المجموعة التي جرعت فمويا بالجرعة المؤثرة (60 ملغم /كغم) من الكركمين والمعرضة ل MSG (G4) بعد مرور شهر ونصف واستمر هذا الارتفاع حتى نهاية التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 ، كما يبين الجدول وجود فروق معنوية في معدل تركيز الحديد الحر بين المجموعتين G2 و G3 وبين المجموعتين G2 و G4 مقارنة مع مجموعة السيطرة G1 .

جدول (4- 18) تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على معدل تركيز الحديد الحر ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$) في مصل ذكور الارانب المعرضة لغلوتامات الصوديوم الاحادية

LSD	(G4) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية + 60 ملغم/كغم مادة الكركمين	(G3) 60 ملغم/كغم مادة الكركمين	(G2) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية	(G1) السيطرة	المجاميع المدة
1.75	115.87 0.10± A a	116.20 0.22± A a	116.37 0.13± A a	115.99 0.11± A a	قبل المعاملة
1.48	118.57 0.16± B c	116.03 0.16± A a	131.91 1.04± B b	114.74 0.11± A a	بعد شهر ونصف
1.75	121.27 0.43± C c	115.77 0.15± A a	176.80 1.17± C b	115.48 0.13± A a	بعد ثلاثة اشهر
	1.75	1.49	2.52	1.32	LSD

المعدل \pm الخطأ القياسي ، $n = 15$ /مجموعة . الحروف الصغيرة تدل على وجود فروق معنوية افقيا تحت مستوى

احتمال $P<0.01$

الحروف الكبيرة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى احتمال $P<0.01$

4-3-4 تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على معدل تركيز بعض الهرمونات

1-4-2-4 التغيرات في على معدل تركيز نسبة هرموني الكرلين والابوستاتين

(ng/ml) Ghrelin/Obestatin ratio

يلاحظ من الجدول (4-19) وجود انخفاض معنوي ($P<0.01$) في معدل تركيز هرمون الكرلين و الابوستاتين في المجموعة التي جرعت فمويا ب 3 ملغم / كغم من غلوتامات الصوديوم الاحادية (G2) بعد شهر ونصف من التجربة واستمر هذا الانخفاض حتى نهاية التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) ، كما يشير الجدول ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة (60 ملغم/ كغم) من مادة الكركمين (G3) لم يؤدي الى وجود فروق معنوية ($P<0.01$) في معدل مستويات هرمون الكرلين و الابوستاتين على مدى فترة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) .

ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة (ED50) من مادة الكركمين مع التجريع الفموي ب 3 ملغم / كغم من غلوتامات الصوديوم الاحادية (G4) لم يؤدي الى حدوث فرق معنوي ($P<0.01$) في معدل مستويات هرمون الكرلين والابوستاتين في منتصف التجربة ، في حين ادى الى حدوث ارتفاع معنوي ($P<0.01$) في نهاية التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) .

جدول (4-19) تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على معدل تركيز نسبة هرموني الكرلين والابوستاتين Ghrelin/Obestatin ratio (ng/ml) في مصل ذكور الارانب المعرضة لغلوتامات الصوديوم الاحادية

LSD	(G4) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية + 60 ملغم/كغم مادة الكركمين	(G3) 60 ملغم/كغم مادة الكركمين	(G2) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية	(G1) السيطرة	المجاميع المدة
0.26	16.66 0.114± A a	16.79 0.107± A a	16.92 0.086± A a	16.85 0.056± A a	قبل المعاملة
0.26	16.69 0.091± A a	16.88 0.058± A a	10.39 0.067± B b	16.67 0.140± A a	بعد شهر ونصف
0.25	16.24 0.152± B c	16.62 0.066± A a	6.10 0.045± C b	16.76 0.058± A a	بعد ثلاثة اشهر
	0.34	0.27	0.19	0.26	LSD

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

2-4-2-4 التغيرات في على معدل تركيز هرمون الكورتكوستيرون Corticosteron Mmol/dl

يلاحظ من الجدول (4-20) وجود ارتفاع معنوي ($P<0.01$) في معدل مستويات هرمون الكورتكوستيرون في المجموعة المعاملة ب 3 ملغم / كغم من MSG (G2) في منتصف التجربة واستمر هذا الارتفاع حتى نهاية الشهر الثالث مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1).

كما يلاحظ وجود انخفاض معنوي ($P<0.01$) في معدل تركيز هرمون الكورتكوستيرون في المجموعة التي جرعت فمويا بالجرعة المؤثرة (60 ملغم / كغم) من الكركمين (G3) طول مدة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1)، في حين لم يلاحظ وجود فروق معنوية في المجموعة G4 التي جرعت فمويا ب 3 ملغم / كغم من MSG و 60 ملغم / كغم من الكركمين حتى نهاية الشهر الثالث من التجربة مقارنة مع فترة ما قبل المعاملة، ويشير الجدول الى وجود فروق معنوية بين المجموعتين G2 و G4 وبينها وبين مجموعة السيطرة (G1) في منتصف ونهاية التجربة.

جدول (4-20) تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على معدل تركيز هرمون Corticosteron Mmol/dl في
مصل ذكور الارانب المعرضة لغلوتامات الصوديوم الاحادية

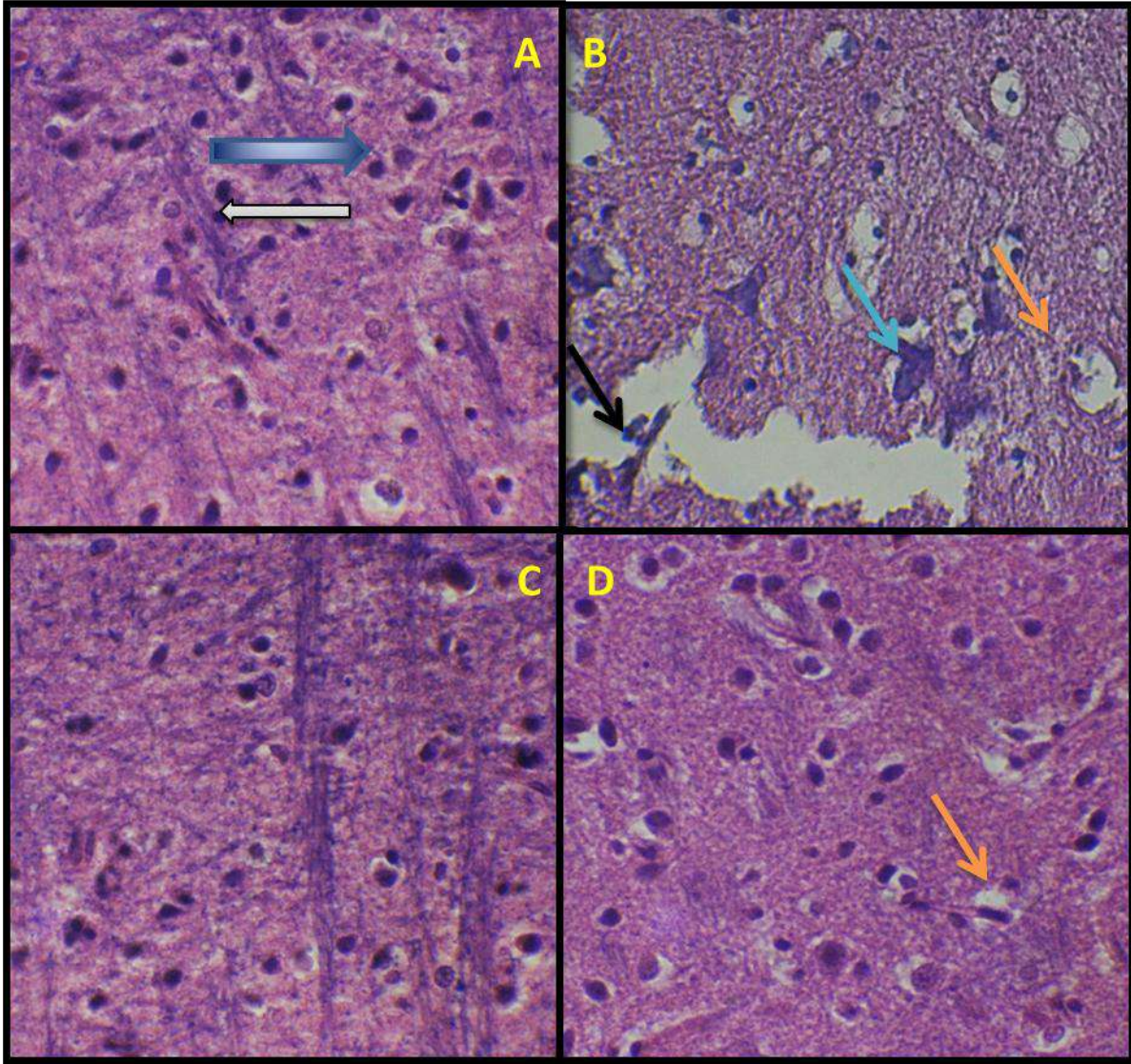
LSD	(G4) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية + 60 ملغم/كغم مادة الكركمين	(G3) 60 ملغم/كغم مادة الكركمين	(G2) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية	(G1) السيطرة	المجاميع المدة
0.26	26.76 0.061 ± A a	26.67 0.089 ± A a	25.80 0.125 ± A a	26.61 0.084 ± A a	قبل المعاملة
0.43	26.95 0.210 ± A c	26.37 0.097 ± B a	57.47 0.197 ± B b	26.44 0.076 ± A a	بعد شهر ونصف
0.49	27.29 0.241 ± A c	25.43 0.074 ± C c	70.36 0.223 ± C b	26.70 0.097 ± A a	بعد ثلاثة اشهر
	0.56	0.24	0.58	0.24	LSD

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

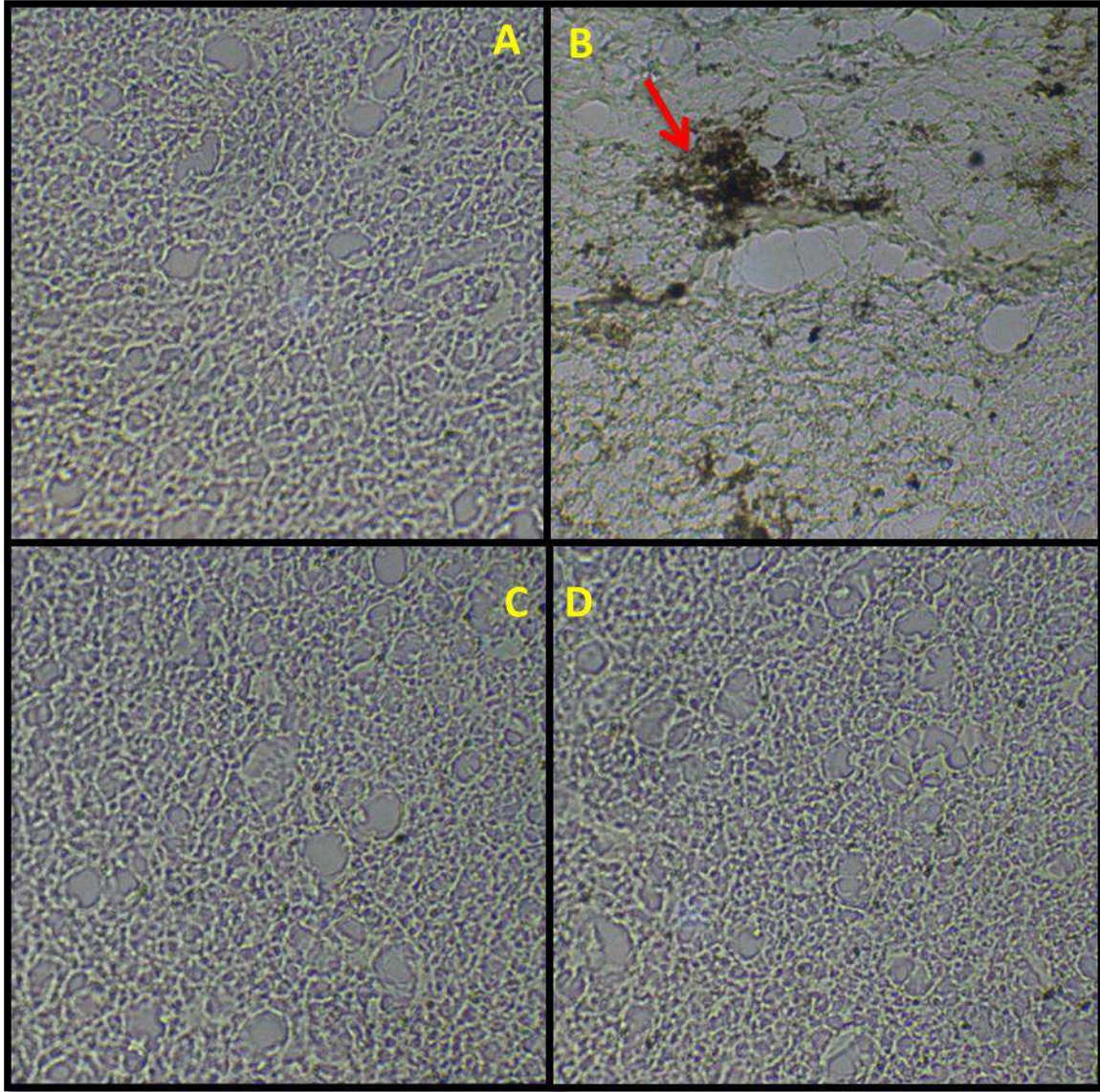
4-3-5 التغيرات النسجية

4-3-5-1 تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على نسيج المخ

يلاحظ من الصورة (B 1-4) تأثير التجريع الفموي ب 3 ملغم / كغم من MSG ولمدة ثلاثة اشهر ، بصبغة الهيماتوكسلين والايوسن (H&E) اذ يلاحظ حدوث تغيرات تنكسيه واضحة في نسيج المخ وظهور تشابك الالياف العصبية (NFTs) ، اضافة الى ظهور الفجوات في النسيج العصبي مقارنة مع مجموعة السيطرة (صورة 4 - 1 A) ، في حين يلاحظ من معاملة نسيج الدماغ بصبغة السلفر Silver stain صورة (صورة 4-4 B) ظهور واضح للويحات البيتا امليويد $A\beta$ منتشرة في نسيج المخ مقارنة مع مجموعة السيطرة (صورة 4 - 4 A) .



صورة (1-4) تبين مقطع نسجي لمخ حيوان في مجموعة ذكور الارانب بصيغة الهيماتوكسلين والايوسين (H&E 400X) ، (A) تمثل مجموعة السيطرة يلاحظ فيها التركيب الطبيعي لنسيج المخ اذ يلاحظ الالياف العصبية ← و الخلايا الدبقية ← ، (B) تمثل مجموعة ذكور الارانب التي جرعت فمويا ب 3 ملغم / كغم من MSG ولمدة ثلاثة اشهر ، اذ يلاحظ حدوث تغيرات تنكسيه واضحة في نسيج المخ → وظهور تشابك الالياف العصبية (NFTs) → اضافة الى ظهور الفجوات في النسيج العصبي → ، في حين يوضح المقطع (C) مجموعة ذكور الارانب التي جرعت فمويا ب 60 ملغم / كغم من مادة الكركمين ولمدة ثلاثة اشهر حيث يلاحظ التركيب الطبيعي لنسيج المخ ، المقطع (D) تمثل مجموعة ذكور الارانب التي جرعت فمويا ب 3 ملغم / كغم من MSG اضافة الى التجريع الفموي ب 60 ملغم / كغم من الكركمين ثلاثة اشهر و يلاحظ فيها ظهور قليل لبعض الفجوات في النسيج العصبي →



صورة (2-4) تبين مقطع نسجي لمخ حيوان في مجموعة ذكور الارانب بصبغة السلفر (Silver stain 400X) ،
 (A) تمثل مجموعة السيطرة اذ انعدام ظهور لويحات البيتا امليويد $A\beta$ ، (B) تمثل مجموعة ذكور الارانب التي
 جرعت فمويا ب 3 ملغم / كغم من MSG ولمدة ثلاثة اشهر ، اذ يلاحظ ظهور لويحات البيتا امليويد $A\beta$ منتشرة
 في نسيج المخ \rightarrow ، في حين يوضح المقطع (C) تمثل مجموعة ذكور الارانب التي جرعت فمويا
 ب 60 ملغم / كغم من الكركمين ولمدة ثلاثة اشهر حيث يلاحظ انعدام ظهور لويحات البيتا امليويد $A\beta$ في نسيج المخ
 ، المقطع (D) تمثل مجموعة ذكور الارانب التي جرعت فمويا ب 3 ملغم / كغم من MSG اضافة الى التجريع الفموي
 ب 60 ملغم / كغم من الكركمين ثلاثة اشهر و يلاحظ ايضا انعدام ظهور لويحات البيتا امليويد $A\beta$ في نسيج المخ .

4-3-5-1-1 التقدير الكمي للبيتا املويد بصبغة السلفر في نسيج المخ

يشير الجدول (4-21) الى حدوث ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في اعداد البيتتا املويد في نسيج المخ للمجموعة التي جرعت ب 3 ملغم / كغم من MSG (G2) في حين يلاحظ عدم وجود فرق معنوي للمجموعة التي جرعت ب 3 ملغم / كغم من MSG اضافة الى التجريع الفموي ب 60 ملغم/كغم من الكركمين (G3) مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) .

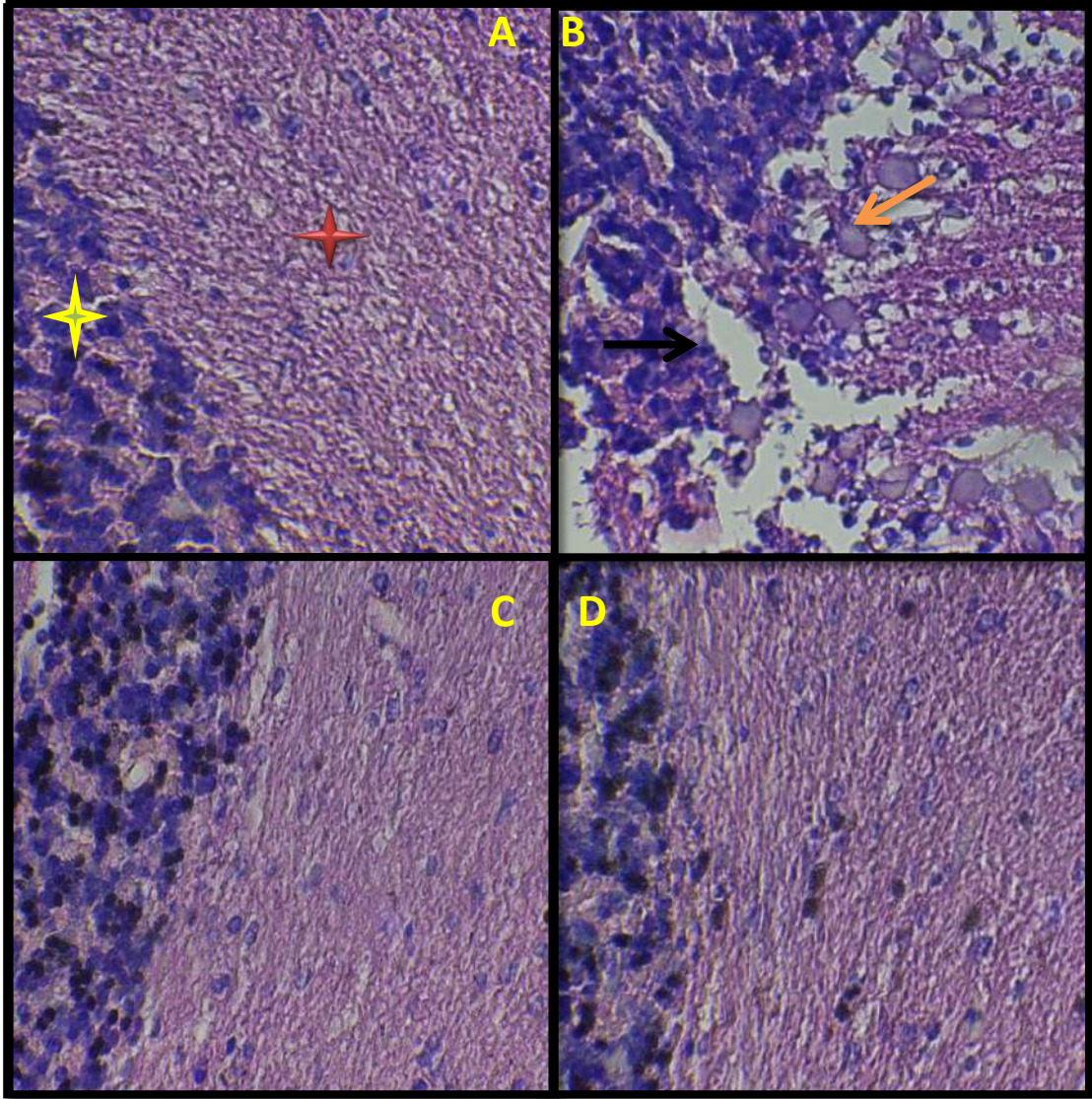
جدول (4-21) التقدير الكمي للبيتتا املويد بصبغة السلفر في نسيج المخ





المجاميع	(G1) السيطرة	(G2) 3ملغم/كغم غلو تامات الصوديوم الاحادية	(G3) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية + 60 ملغم/كغم مادة الكركمين	LSD
عدد البيتتا املويد	A 46.4 3.95±	B 128.6 12.7±	A 49.5 4.2±	3.71

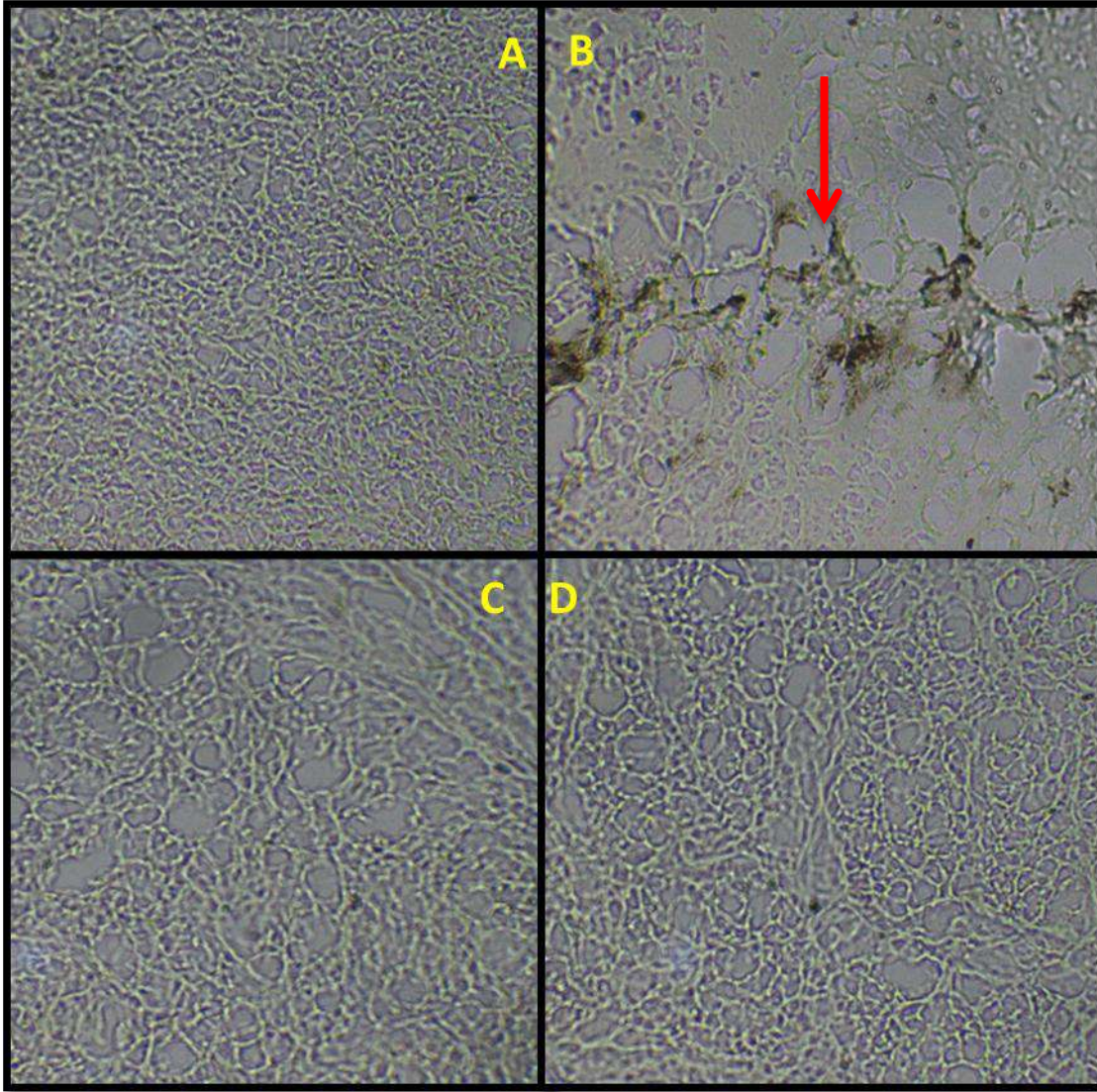
المعدل \pm الخطأ القياسي ، n = 15 / مجموعة ، الحروف المختلفة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى الاحتمال $P < 0.01$

4-3-5-2 تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على نسيج المخ

يلاحظ من الصورة (4-B3) تأثير التجريع الفموي ب 3 ملغم / كغم من MSG ولمدة ثلاثة اشهر بصبغة الهيماتوكسلين والايوسن (H&E)، اذ يلاحظ حدوث تغيرات تنكسيه واضحة في نسيج المخيخ وفقدان الارتباط بين الطبقتين الحبيبية و الجزيئية ، وانحلال و فقدان انوية خلايا بيركنجي العصبية مقارنة مع مجموعة السيطرة (صورة 4-3 A)، في حين يلاحظ ظهور واضح للويحات البيتتا املويد A β في نسيج المخيخ بصبغة السلفر (Silver stain) (صورة 4-4 B) مقارنة مع مجموعة السيطرة (صورة 4-4 A)



صورة (3-4) تبين مقطع نسجي لمخيخ حيوان في مجموعة ذكور الارانب المعاملة بصبغة الهيماتوكسيلين والايوسين (H&E 400X)، (A) تمثل مجموعة السيطرة اذ يلاحظ التركيب الطبيعي للطبقة الجزيئية  والطبقة الحبيبية  لنسيج المخيخ، (B) تمثل مجموعة ذكور الارانب التي جرعت فمويا ب 3 ملغم / كغم من MSG ولمدة ثلاثة اشهر، اذ يلاحظ حدوث تغيرات تنكسية واضحة في نسيج المخيخ وفقدان الارتباط بين الطبقتين الحبيبية و الجزيئية  وانحلال و فقدان انوية خلايا بيركنجي العصبية  (C) تمثل مجموعة ذكور الارانب التي جرعت فمويا ب 60 ملغم / كغم من الكركمين ولمدة ثلاثة اشهر اذ يلاحظ التركيب الطبيعي للطبقة الحبيبية والطبقة الجزيئية لنسيج المخيخ، (D) تمثل مجموعة ذكور الارانب التي جرعت فمويا ب 3 ملغم / كغم من MSG اضافة الى التجريب الفموي بالجرعة المؤثرة من الكركمين لمدة ثلاثة اشهر اذ يلاحظ التركيب الطبيعي لنسيج المخيخ



صورة (4-4) تبين مقطع نسجي لمخيخ حيوان في مجموعة ذكور الارانب معاملة بصيغة السلفر (Silver stain) (A) مجموعة السيطرة يلاحظ فيها انعدام ظهور لويحات البيتا امليويد $A\beta$ ، (B) تمثل مجموعة ذكور الارانب التي جرعت فمويا ب 3 ملغم / كغم من MSG ولمدة ثلاثة اشهر ، اذ يلاحظ ظهور لويحات البيتا امليويد $A\beta$ منتشرة في نسيج المخيخ \rightarrow ، (C) تمثل مجموعة ذكور الارانب التي جرعت فمويا ب 60 ملغم / كغم من الكركمين ولمدة ثلاثة اشهر حيث يلاحظ انعدام ظهور لويحات البيتا امليويد $A\beta$ في نسيج المخيخ ، المقطع (D) تمثل مجموعة ذكور الارانب التي جرعت فمويا ب 3 ملغم / كغم من MSG اضافة الى التجريع الفموي ب 60 ملغم / كغم من الكركمين ثلاثة اشهر و يلاحظ ايضا انعدام ظهور لويحات البيتا امليويد $A\beta$ في نسيج المخيخ .

4-3-5-2-1 التقدير الكمي للبيتا امليود بصبغة السلفر في نسيج المخيخ

يلاحظ من الجدول (4-22) حدوث ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في اعداد البيتا امليود في نسيج المخيخ للمجموعة التي جرعت ب 3 ملغم / كغم من MSG (G2) ، كما يلاحظ عدم وجود فرق معنوي في اعداد البيتا امليود للمجموعة التي جرعت ب 3 ملغم / كغم من MSG مع التجريع الفموي ب 60 ملغم/كغم من الكركمين (G3) مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) .

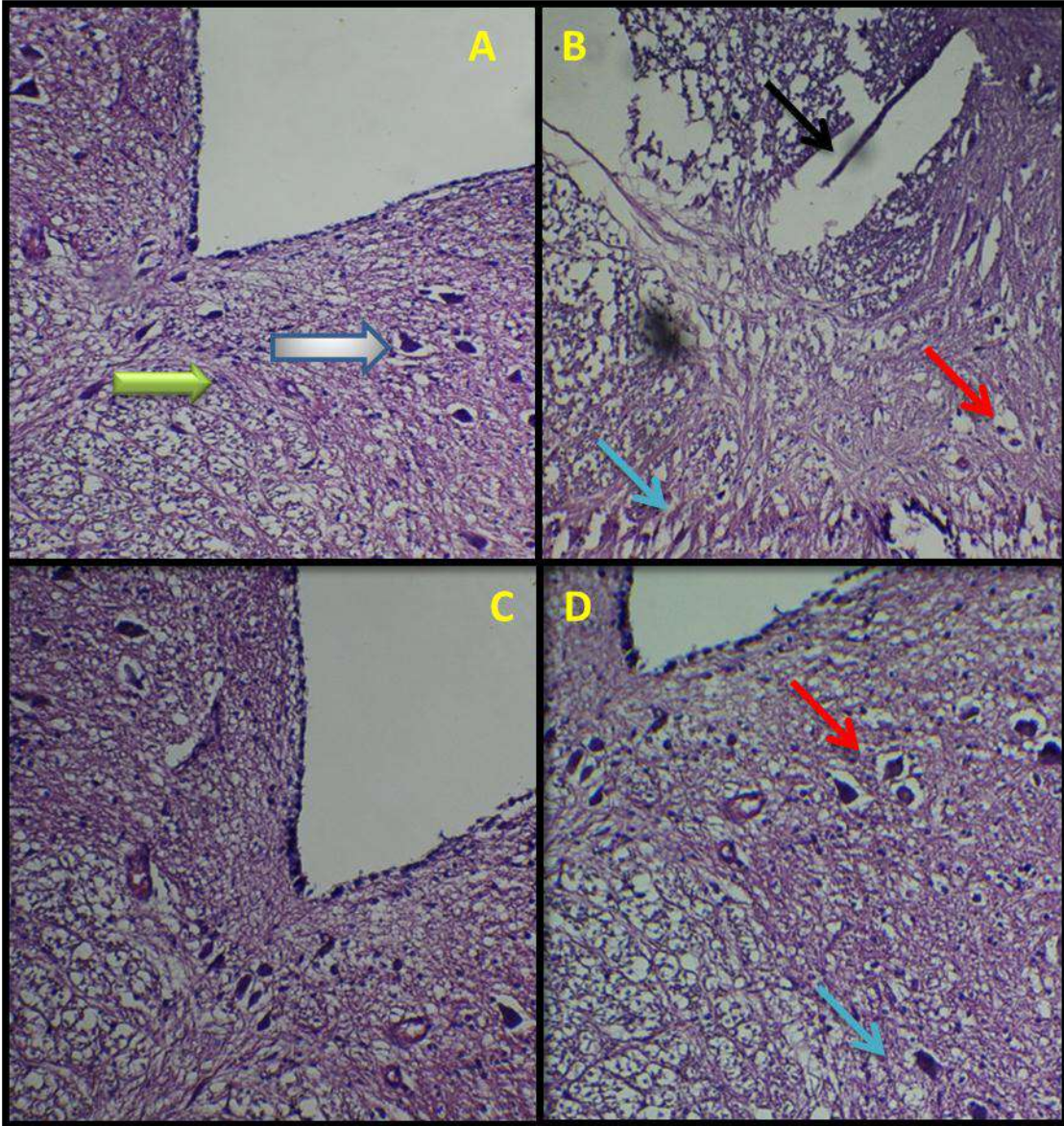
جدول (4-22) التقدير الكمي للبيتا امليود بصبغة السلفر في نسيج المخيخ

المجاميع	(G1) السيطرة	(G2) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية	(G3) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية + 60 ملغم/كغم مادة الكركمين	LSD
عدد البيتا امليود	A 24.4 1.8±	B 98.2 6.3±	A 27.1 2.3±	3.22

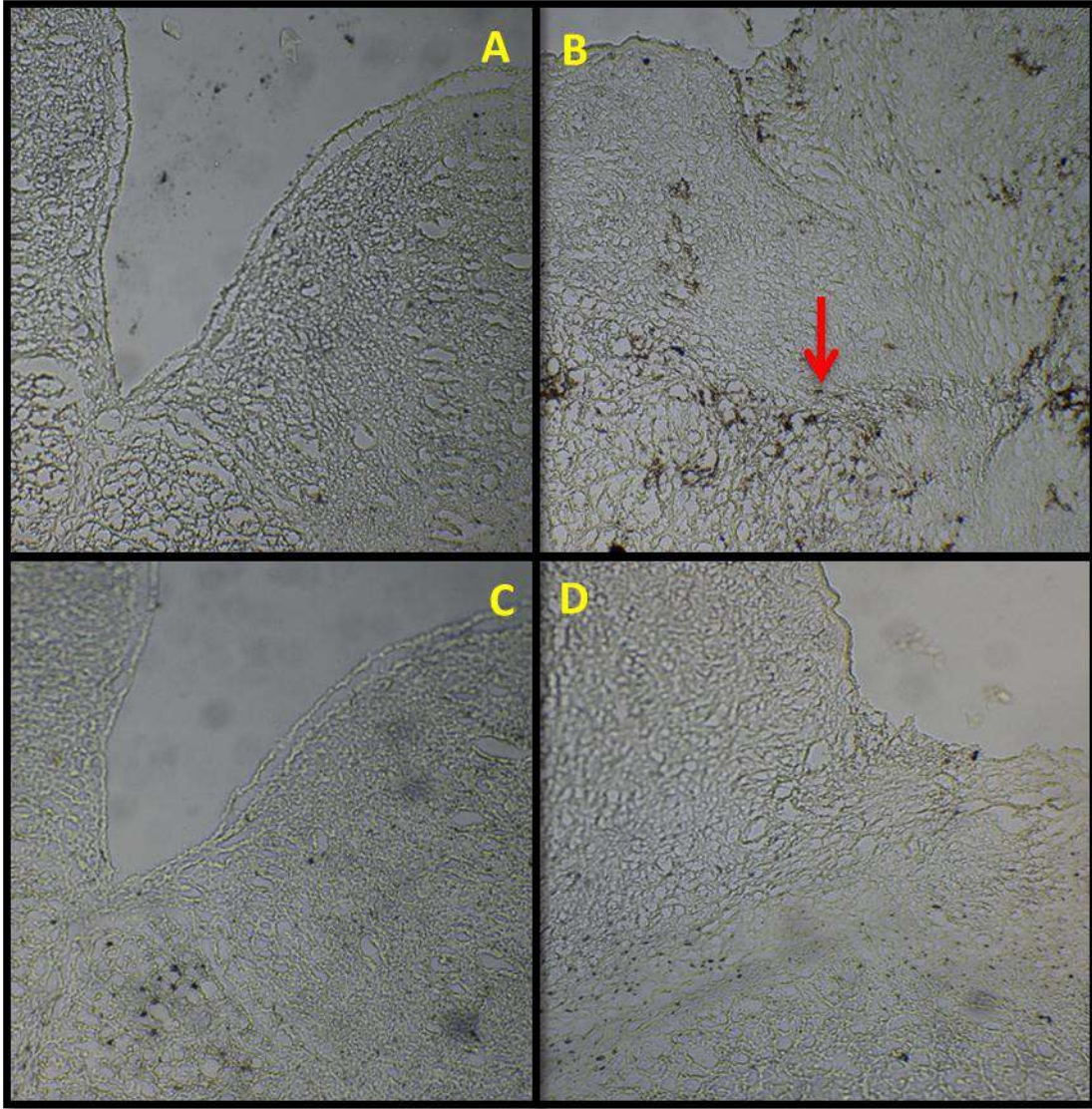
المعدل \pm الخطأ القياسي ، $n = 15$ /مجموعة ، الحروف المختلفة تدل على وجود فروق معنوية عموديا تحت مستوى الاحتمال $P < 0.01$

4-3-5-3 تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على نسيج الحبل الشوكي

يلاحظ من الصورة (4-5 B) تأثير التجريع الفموي ب 3 ملغم / كغم من MSG ولمدة ثلاثة اشهر بصبغة الهيماتوكسلين والايوسن (H&E) ، اذ يلاحظ حدوث تغيرات تنكسيه واضحة في نسيج الحبل الشوكي وانحلال الخلايا العصبية ، اضافة الى ظهور فجوات في نسيج الحبل الشوكي مقارنة مع مجموعة السيطرة (صورة 4-65 A) ، في حين يظهر من معاملة نسيج الحبل الشوكي بصبغة السلفر Silver stain صورة (4-6 B) ظهور واضح للويحات البيتا امليود $A\beta$ منتشرة على القرنين الخلفيين للحبل الشوكي مقارنة مع مجموعة السيطرة (صورة 4-6 B) .



صورة (4-5) تبين مقطع نسجي للحبل الشوكي لحيوان في مجموعة ذكور الارانب بصبغة الهيماتوكسيلين والايوسين (H&E 100X) ، (A) تمثل مجموعة السيطرة يلاحظ فيها التركيب الطبيعي للحبل الشوكي اذ يلاحظ الخلايا العصبية الحركية و الالياف العصبية (B) تمثل مجموعة ذكور الارانب التي جرعت فمويا ب 3 ملغم / كغم من MSG ولمدة ثلاثة اشهر، اذ يلاحظ حدوث تغيرات تنكسيه واضحة في نسيج الحبل الشوكي و انحلال الخلايا العصبية و اضافة الى ظهور فجوات في نسيج الحبل الشوكي ، في حين يوضح المقطع (C) تمثل مجموعة ذكور الارانب التي جرعت فمويا ب 60 ملغم/كغم من الكركمين ولمدة ثلاثة اشهر حيث يلاحظ التركيب الطبيعي لنسيج الحبل الشوكي ، المقطع (D) تمثل مجموعة ذكور الارانب التي جرعت فمويا ب 3 ملغم / كغم من MSG اضافة الى التجريع الفموي ب 60 ملغم/كغم من الكركمين لمدة ثلاثة اشهر و يلاحظ فيها اذ يلاحظ ظهور بعض الفجوات في نسيج الحبل الشوكي و انحلال بعض الخلايا العصبية



صورة (4-6) تبين مقطع نسجي للحبل الشوكي لحيوان في مجموعة ذكور الارانب معاملة بصبغة السلفر (Silver stain 100X) ، (A) مجموعة السيطرة يلاحظ فيها انعدام ظهور لويحات املويد $A\beta$ ، (B) تمثل مجموعة ذكور الارانب التي جرعت فمويا ب 3 ملغم / كغم من MSG ولمدة ثلاثة اشهر ، اذ يلاحظ ظهور لويحات املويد $A\beta$ منتشرة على القرنين الخلفيين للحبل الشوكي ، (C) تمثل مجموعة ذكور الارانب التي جرعت فمويا ب 60 ملغم / كغم من الكركمين ولمدة ثلاثة اشهر حيث يلاحظ انعدام ظهور لويحات املويد $A\beta$ في نسيج الحبل الشوكي ، المقطع (D) تمثل مجموعة ذكور الارانب التي جرعت فمويا ب 3 ملغم / كغم من MSG اضافة الى التجريع الفموي ب 60 ملغم / كغم من الكركمين لمدة ثلاثة اشهر و يلاحظ ايضا انعدام ظهور لويحات املويد $A\beta$ في نسيج الحبل الشوكي .

4-3-5-3-1 التقدير الكمي للبيتا املويد بصبغة السلفر في نسيج الحبل الشوكي

يبين الجدول (4-23) حدوث ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في اعداد البيتا املويد في نسيج الحبل الشوكي للمجموعة التي جرعت بغلوتامات الصوديوم الاحادية (G2) ، و يلاحظ عدم وجود فرق معنوي في اعداد البيتا املويد للمجموعة التي جرعت ب3 ملغم / كغم من MSG مع التجريع الفموي ب 60 ملغم/كغم من الكركمين (G3) مقارنة مع مجموعة السيطرة (G1) .

جدول (4-23) التقدير الكمي للبيتا املويد بصبغة السلفر في نسيج الحبل الشوكي

المجاميع	(G1) السيطرة	(G2) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية	(G3) 3ملغم/كغم غلوتامات الصوديوم الاحادية + 60 ملغم/كغم مادة الكركمين	LSD
عدد البيتا املويد	A 18.6 1.1±	B 54.6 6.9±	A 21.2 2.7±	2.86

المعدل ± الخطأ القياسي ، n = 15 / مجموعة . مستوى الاحتمال $P < 0.01$

المناقشة

Discussion

1-5 تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على بعض المعايير الانزيمية

(AChE(G1)، AChE (G4) و Neuronal mitochondrial ATPase)

اظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في معدل تركيز انزيم AChE(G1) وانخفاض معنوي ($P < 0.01$) في معدل تركيز انزيم AChE(G4) بعد التجريع الفموي بمادة MSG مقارنة مع مجموعة السيطرة وهذه النتائج تتفق مع (Sadek *et al*, 2015; Madhavadas *et al*, 2014; Sagae *et al*, 2011; Garcia-Ayllon *et al*, 2011;).

اكدت العديد من الدراسات ان الاشكال الجزيئية لانزيم AChE تتأثر بشكل غير متساوي في الحالات المرضية ، ان مثل هذه التغيرات في الاشكال الجزيئية لانزيم AChE تعكس التغيرات التي تحدث في الدماغ (Garcia-Ayllon *et al*, 2011; Saez-Valero *et al*, 2000a)، تشكل الاشكال الاحادية AChE(G1) النوع الاكثر وفرة في الدماغ ويلعب ادواراً مختلفة من عملية glycosylation ، اذ تعمل العديد من انواع الخلايا على اضافة انصاف كاربوهيدراتية مختلفة الى AChE من انسجة مختلفة و من نفس النسيج بعملية glycosylation ، وان انخفاض هذه العملية يعكس الاعتلالات التي تحدث في الدماغ ، وبالتالي تسبب تغيرات في الاشكال الجزيئية لانزيم AChE (Darreh-Shori, 2006 ;) ، فقد يكون الارتفاع المعنوي ($P < 0.01$) في معدل تركيز انزيم AChE(G1) والتي اشارت اليها الدراسة الحالية بسبب التجريع الفموي ب MSG والذي ادى الى تحطم الخلايا الدماغية عن طريق توليد عدد من الجذور الحرة بفعل الاجهاد التاكسدي مسبباً حدوث الضرر الخلوي Cell injury وتسرب الانزيم (Sagae *et al*, 2006; Onyema *et al*, 2011) ، كما ان انخفاض معدل تركيز انزيم AChE(G4) قد يعود الى فقدان الخلايا العصبية الكولينية cholinergic neurons (Fishman *et al*,)

(1986) ، بالإضافة الى ان زيادة التعرض لمادة MSG تسبب زيادة تحرر الغلوتامات الحر free glutamate اذ تسبب زيادة الغلوتامات الى زيادة تهيج overexcitation الخلايا العصبية مسببة حدوث خلل في التوازن الايوني عند النهايات العصبية ، كما ان زيادة الغلوتامات في الشق المشبكي تؤدي زيادة في تنشيط مستقبلات الغلوتامات (EAATs) الامر الذي يؤدي الى تحطم الخلايا العصبية وبالتالي موتها وانخفاض AchE(G4) (Rajagopal *et al* , 2013; Hynd *et al* ;2004; Fishman *et al* , 1986) . كما وجد ان زيادة الغلوتامات تسبب زيادة في تركيز ايون الامونيا الذي يساهم ايضا في حدوث الضرر الخلوي للخلايا الدماغية مؤديا الى حدوث ارتفاع معنوي ($P<0.01$) في معدل تركيز انزيم AchE (Cooper & Jeitner , 2016;Tawfik & Al-Badr , 2012) ، في حين وجد (Silveyra *et al* 2011; Ulrich *et al* , 1990) ان الزيادة في تركيز انزيم AchE يرتبط مع ظهور لويحات البيتا اميلويد $A\beta$ و NFT في النسيج العصبي والتي تعد من العلامات التشخيصية لمرض الزهايمر ، فقد وجد ان لويحات $A\beta$ ربما تكون مسؤولة عن زيادة تركيز انزيم AchE حول اللويحات كما وجد ان الزيادة في انزيم AchE حول NFT ترتبط مع زيادة فسفرة بروتين التايو P-tau لها دور كبير في زيادة التعبير الجيني للانزيم (Silveyra *et al* 2011) . وفي الحالات المتقدمة من الاعتلال العصبي كما هو الحال في مرض الزهايمر يكون هنالك انخفاض معدل تركيز انزيم AchE(G4) والذي يعزى الى تحطم الخلايا العصبية الكولينية بينما تبقى الاشكال الاحادية AchE(G1) بدون تغيير او تزداد في الحالات المرضية المتقدمة (Garcia-Ayllon *et al* , 2011 ;Garcia-Ayllon *et al* , 2010) .

بينت النتائج وجود انخفاض معنوي ($P<0.01$) معدل تركيز انزيم Nmit ATPase بعد التجريب الفموي بمادة MSG مقارنة مع مجموعة السيطرة وهذه النتائج تتفق مع (Jackson *et al* , 2014 ; Nicholls & Budd , 1998; Castilho *et al* , 1988) التي بينت ان زيادة الغلوتامات تسبب تغيرات تحطمية والتي تنتهي بموت الخلية العصبية ، فقد وجد ان الخلية العصبية تتحسس للزيادة في مستوى الغلوتامات بعد 5 دقائق من التعرض المفرط له مما يسبب خلل في قطبية الخلية العصبية مسبب دخول العديد من ايونات الكالسيوم Ca^{+} خلال مستقبلات الغلوتامات (NMDA, AMPA) و التي تسمح بتدفق الكالسيوم الخارج خلوي الى داخل الخلية العصبية مما يؤدي الى زيادة تركيز الكالسيوم الداخل خلوي وهذا بدوره

يحفز فتح قنوات الكالسيوم التي تساهم أيضا بزيادة نسبة الكالسيوم الداخل خلوي (Mark *et al*, 1998; Nicholls & Budd, 2001; *al*), بالإضافة الى ان زيادة الغلوتامات يسبب زوال استقطاب المايتوكوندريا (MD) mitochondrial depolarization مما يسبب خلل في توازن العديد من الايونات الخلوية بضمنها الكالسيوم Ca^{+} ، الصوديوم Na^{+} ، الهيدروجين H^{+} وتقليل محتوى ال ATP للخلية العصبية (Khodorov *et al*, 1996)، ان زيادة تركيز Ca^{+} الداخل خلوي يحث على توليد كميات كبيرة من الجذور الحرة مما يسبب حدوث خلل في السلسلة التنفسية للمايتوكوندريا الذي ينتهي بانخفاض نسبة طاقة ال ATP الناتجة منها والذي بدوره يؤثر على تجهيز الطاقة للخلايا العصبية و يقود بالتالي الى خلل في DNA للمايتوكوندريا، كل هذه التغيرات تسبب تغيرات كبيرة في السلسلة التنفسية وتؤدي الى استنفاد الطاقة وتقليل مستوى الايض الخلوي للخلية العصبية، ان زيادة انواع الاوكسجين التفاعلية (ROS) تعمل على تنشيط مسارات موت الخلية المبرمج من خلال تحرير بروتينات Cytochrome c و apoptosis inducing factor الذي ينتهي بموت الخلية العصبية (Guo *et al*, 2011; Niizuma *et al*, 2010). كما ان تجمع لويحات ال $A\beta$ في المايتوكوندريا يعمل على تثبيط المعقدات الانزيمية للسلسلة التنفسية Mitochondrial Respiratory enzyme complex (I,II,III,IV) مؤديا الى انخفاض انتاج ال ATP وزيادة انتاج ROS (Singh & Kumar, 2016; Swerdlow *et al*, 2010)، اضافة الى تقليل فعالية العديد من انزيمات دورة حامض الستريك بضمنها Ketoglutarate α -dehydrogenase، Pyruvate dehydrogenase و Isocitrate dehydrogenase (Huang *et al*, 2003; Bubber *et al*, 2005)، اذ تتفاعل لويحات ال $A\beta$ مع مواقع الربط الخاصة بها والتي تعرف بال $A\beta$ binding alcohol dehydrogenase (ABAD) على اغشية المايتوكوندريا مسببة خلل في الية عمل المايتوكوندريا مؤدية الى تحطم المشبك العصبي (Lustbader *et al*, 2004; Reddy & Reddy, 2011)، اضافة الى ذلك تجمع لويحات $A\beta$ يسبب خلل في الية عمل قنوات الكالسيوم للمايتوكوندريا ويعمل على فتح ثقب المايتوكوندريا (mPTP) مما يزيد من تحرير انزيم Cytochrome C (Cyt C) (Calkins *et al*, 2011) ويثبط نشاط بروتينات رئيسية داخل المايتوكوندريا مما يزيد من نسبة حوث الطفرات في DNA المايتوكوندريا mtDNA (Lakatos *et al*, 2010)، علاوة على ذلك تعمل لويحات $A\beta$ على زيادة فسفرة بروتين ال Tau وزيادة Tau nitrosylation التي تسبب انفلاق مفاجئ

للمايتوكوندريا مما يؤدي الى موت الخلية العصبية (Manczak *et al* , 2011) ، كما وجد (Kumar & Singh , 2015) ان تراكم لويحات ال $A\beta$ يقلل من تعبير (PGC-1 α) مما يؤدي الى انخفاض البناء الحيوي للمايتوكوندريا ، قلة محتوى ال DNA في المايتوكوندريا (mt DNA) وزيادة تحطم الخلايا العصبية ، اذ ان تنشيط ال PGC-1 α ينشط المسار الثاني لتحلل ال APP (non - amyloidogenic) و انخفاض مستويات ال $A\beta$ التي تؤدي الى زيادة فرصة بقاء الخلية العصبية .

2-5 الدور الوقائي للكرمين على بعض المعايير الانزيمية

(AChE(G1) ، AChE (G4) و Neuronal mitochondrial ATPase)

اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة من الكركمين ادى الى انخفاض معنوي ($P < 0.01$) في فعالية انزيم AChE(G1) و AChE(G4) وهذه النتائج تتفق مع (Goozee *et al* , 2016 ; Peeyush *et al* , 2011 ; Yadav *et al* , 2009 ; Jun *et al* , 2009 ; Ahmed & Gilani , 2009 ; et al , 2011) . والتي اكدت ان الكركمين يمتلك فعالية كبيرة على الجهاز الكولينري Cholinergic system الذي له اهمية كبيرة في ادامة الوظائف المعرفية ، من خلال دوره في تنشيط مستقبلات muscarinic acetylcholine receptor التي تحسن من انتقال المعلومات بين الخلايا العصبية من خلال دوره في زيادة فعالية الناقل العصبي الاستيل كولين ACh وتقليل فعالية انزيم AChE (Zhong *et al* , 2003 ; Constantinidis *et al* , 2002) ، كما اكدت العديد من الدراسات ان الكركمين يمتلك القدرة على عبور الحاجز الدماغي الدموي BBB ويعمل على اكتساح الجذور الحرة نتيجة لوجود المجاميع الفينولية phenol و مجاميع methoxy على حلقة الفينيل و 1,3-diketone في تركيبها وبذلك يقلل الضرر التاكسدي على الخلايا العصبية (Goozee *et al* , 2016; Kapoor & Priyadarsini, 2001) ، علاوة على ذلك تمتلك مادة الكركمين القدرة على تقليل انتاج لويحات $A\beta$ من خلال تحويل مسار بروتين APP وبذلك تحمي الخلايا العصبية من سمية هذه اللويحات التي تسبب خلل في وظائف المشبك العصبي

(Haass & Selkoe, 2007) ،تقلل من نمو الخلايا العصبية (Manczak *et al* , 2010) ، تسبب الضمور الدماغي (Cash *et al* , 2013) وتدهور القدرات المعرفية خصوصا عندما تتجمع بكميات كبيرة (Villemagne *et al* , 2013) ، بالإضافة الى ان الكميات الكبيرة من $A\beta$ تؤدي الى تحطم الغشاء الخلوي ، تسرب Ca^{+} ، الضرر التاكسدي ، عرقلة وظائف المشبك العصبي وتحطم المايتوكوندريا (Goozee *et al* , 2016; Zhao *et al* , 2012) .

كما بينت نتائج الدراسة الحالية ان التجريع الفموي بالكرميين ادى الى ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في مستوى تركيز انزيم Nmit ATPase وهذه النتائج تتفق مع (Banji *et al* , 2014; Hagl *et al* , 2014 ; Grabacka *et al* , 2014 ; Zheng & Ramirez , 2000) ، فقد بينت الدراسات ان الكرميين يلعب دوراً فعالاً في دعم وظائف المايتوكوندريا عن طريق دورها في الحماية ضد التغيرات في الفسفرة التاكسدية و زيادة mitochondrial membrane potential (MMP) والتي تؤدي الى زيادة مستوى انتاج ال ATP اضافة الى دوره في تنشيط معقدات سلسلة نقل الالكترونات منها NADH و cytochrome c reductase ، cytochrome c oxidase وتحافظ على توازن الكالسيوم الداخل خلوي (Garcia-Nino & Pedraza-Chaverri , 2014) ، علاوة على ذلك فقد وجد ان الكرميين له القدرة على تغليف جزيئات الصغيرة من الدهون الصلبة التي تعمل على اضعاف وظائف المايتوكوندريا بضمنها 3-nitro propionic acid (3- NP) التي تساهم بشكل كبير في الاعتلالات العصبية منها مرض Huntington's disease خلال تنشيط مسار Nrf2 (Hagl *et al* , 2014 ; Sandhir *et al* , 2014 ; Kaur *et al* , 2014) ، بالإضافة الى دور الكرميين كمادة مضادة للاكسدة وله تأثيرات وقائية لمختلف انواع الخلايا بضمنها الخلايا العصبية والخلايا النجمية (Hirzel *et al* , 2013 ; Woo *et al* , 2012) فهو يعمل على حماية المايتوكوندريا من خلال التقاطه العديد من الجذور الحرة بضمنها جذر الهيدروكسيل (OH^{\cdot}) ، السوبر اوكسيد ($O_2^{\cdot-}$) ، اوكسيد النترريك (NO) ، بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) و البيروكسي نايتريت ($ONOO^-$) (Derochette *et al* , Barzegar & Moosavi- , 2011; Movahedi , 2013) ، كما يمتلك الكرميين القدرة على تنظيم الاستجابة الخلوية عن طريق تحويل التعبير الجيني للبروتينات الخلوية المضادة للاكسدة منها superoxide dismutase (SOD) ، Catalase (CAT) ، heme oxygenase-1 (HO-1) او

البروتينات التي تزيد محتوى الكلوتاثيون الخلوي منها (glutathione GR) ، و-glutathione peroxidase (GPx) ، و-glutathione reductase (S-GST) ، و-glutathione transferase (GST) . (Gibellini *et al* , 2015 ;Reyes-Fermin *et al* , 2012 ;)

3-5 تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على بعض المعايير الكيموحيوية (الكلوتاثيون المختزل GSH ، المالونولديهيد MDA ، البيروكسي نايتريت -ONOO ، البروتين الكلي TP ، الكلوكوز GLU)

اظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود انخفاض معنوي ($P < 0.01$) في معدل تركيز GSH و ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في معدل تركيز MDA بعد التجريع الفموي بمادة MSG وهذا يتفق مع (Sadek *et al* , 2015 ; Umukoro *et al* , 2015 ; Hassan *et al* , 2014 ; Ashry *et al* , 2012 ; Adebayo *et al* , 2011 ; Farombi & Onyema , 2006)

ان التجريع الفموي ب MSG ادى الى انخفاض المعنوي ($P < 0.01$) في معدل تركيز GSH وارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في معدل تركيز MDA وقد عزى ذلك الى الكميات المتزايدة من الغلوتامات الناتجة من MSG والتي لها دور كبير في السمية الخلوية من خلال مسارين :يتضمن المسار الاول التحفيز المفرط لمستقبلات الغلوتامات hyper-activation of glutamate receptors ، بينما يتضمن المسار الثاني سمية الغلوتامات بدون وساطة المستقبل non-receptor mediated oxidative glutamate toxicity فقد اشارت الدراسات الى وجود علاقة وثيقة بين زيادة تنشيط مستقبلات الغلوتامات والاجهاد التاكسدي ، اذ ارتبط تنشيط هذه المستقبلات الى تثبيط نقل السستين Cysteine (CySS) (المادة البادئة الاساسية لل GSH) ، نفاذ GSH و بيروكسيديهيد الدهون (LPO) lipid peroxidation ، فقد وجد ان الكميات المتزايدة من الغلوتامات الخارج خلوية تمنع دخول ال CySS الى داخل الخلية العصبية عن طريق جهاز glutamate-cysteine antiporter system والذي ينتج بنفاذ ال CySS و GSH الداخل خلوي وتقليل قدرته على حماية الخلية من الضرر التاكسدي oxidative injury وبالنهاية موت الخلية نتيجة لتحطم جهاز glutamate-cysteine antiporter system (Rajagopal *et al* , 2013; El-Nahrawy *et al* ,)

(2000 , Dringen ; 2012) فيما يشمل المسار الثاني تأثير زيادة الغلوتامات على توليد انواع الاوكسجين التفاعلية (ROS) منها O_2^- ، OH^- و H_2O_2 ، اذ ان الكميات المتزايدة من الغلوتامات تساهم بشكل كبير في نفاذ GSH من الانسجة العصبية نتيجة لتفاعله المباشر مع الجذور الحرة المتولدة بفعل MSG ، وبذلك يقل تركيز GSH والذي له دور كبير في النقاط الجذور الحرة من خلال دوره في زيادة فعالية nicotine amide dinucleated phosphate (NADPH) او المساهمة في ازالة المركبات التي لها دور كبير في زيادة بيروكسيدية peroxidation الاغشية الخلوية اضافة الى ذلك فان زيادة بيروكسيدية تعمل على ازالة مجموعة sulfhydryl الفعالة لجزيئة GSH وانزيمات مهمة اخرى (Swamy et al , 2013 ; El-Nahrawy et al , 2012) .

ان الارتفاع المعنوي ($P < 0.01$) في معدل تركيز MDA والذي يعد مقياس لبيروكسيدية الدهون (LPO) قد يحصل نتيجة لزيادة مستويات الجذور الحرة المتولدة بفعل ال MSG والتي تتفاعل مع الاحماض الدهنية غير المشبعة polyunsaturated fatty acids للاغشية الخلوية وتسبب LPO وتحطم الاغشية الخلوية مسببة زيادة في تركيز ال MDA ، اذ يحصل الاجهاد التاكسدي نتيجة لتراكم ROS اما نتيجة للإنتاج المتزايد منها ، او عدم القدرة على التخلص منها نتيجة التحطم الخلوي (Umukoro et al , 2015 ; El-Nahrawy et al , 2012 ; Eweka et al , 2011) .

اشارت النتائج ان زيادة الغلوتامات ادت الى حدوث ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في معدل تركيز $ONOO^-$ للمجموعة المعاملة ب MSG وهذه النتائج تتفق مع (Kritis et al , 2007 ; Scott et al , 2010 ; Zhou et al , 2010 ; Wang et al , 2010 ; 2015) .

ان اوكسيد النترريك (NO) يساهم بشكل كبير في الاستجابة المرضية Pathological response للجهاز العصبي ، فقد بينت العديد من الدراسات ان السمية العصبية neurotoxicity الناتجة من زيادة مستوى الغلوتامات تكون مترافقة مع توليد NO ، خلل ايض الطاقة للمايتوكوندرريا و انخفاض مستوى مضادات الاكسدة في الجهاز العصبي (Brown , 2010) ، ان زيادة الغلوتامات تسبب زيادة انتاج كلا من O_2^- و NO والتي تؤدي الى تكوين $ONOO^-$ والذي يمكن ان ينتج العديد من المؤكسدات القوية والسامة خلويًا بضمنها دايوكسيدات الهيدروكسيل والنتروجين hydroxyl and nitrogen dioxide والتي يمكنها المرور بسهولة عبر BBB لتمارس تأثيراتها الضارة على نسيج الدماغ

(Van der *et al* , 1994) ، كما وجد ان NO يمكن ان يؤثر على توازن استهلاك الكلوكوز خلال مسار glycolytic pathway و pentose phosphate pathway في الخلية العصبية الذي يؤدي فيما بعد الى التحطم العصبي وتنشيط مسار موت الخلية المبرمج (Bolanos *et al* , 2007) ، فضلا عن ذلك فقد اكدت الدراسات ان تنشيط NO/NOS signalling system يحفز انتاج لويحات $A\beta$ خلال مسار beta-site APP-cleaving enzyme1 (BACE1) pathway والتي بدورها تحفز انتاج ROS لتمارس تأثيرات مختلفة على الخلية العصبية (Li *et al* , 2010) وزيادة مستويات MDA التي ارتبطت مع زيادة تركيز NO (Kumar *et al* , 2008) ، كما يمتلك ONOO- القدرة على تقليل انتاج GSH نتيجة لاستهدافه مجاميع sulf-hydroxyl لل CySS (Radi *et al* , 1991) ، اضافة الى ذلك فان جذر ONOO- بإمكانه ان يحدث تغيرات تركيبية في البروتينات الناقلة للغلوتامات ، اذ ان زيادة الغلوتامات تسبب تحفيزاً مفرطاً لمستقبلات NMDA للخلية العصبية التي بدورها تزيد من دخول Ca^{+} التي تنظم endothelial nitric oxide synthase (eNOS) لتسبب تكوين NO ولاحقا توليد جذر ONOO- (Trotti *et al* , 1996; Scott *et al* , 2007) .

اظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود انخفاض معنوي ($P < 0.01$) في معدل تركيز البروتين الكلي في المصل والسائل الشوكي ، وارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في معدل تركيز كلوكوز المصل والسائل الشوكي بعد التجريع الفموي ب MSG وهذه النتائج تتفق مع (Ateya *et al* , 2016; Okediran *et al* , 2015; Oladipo *et al* , 2015 ; Tawfik & Al-Badr , 2012; .

ان الانخفاض في معدل تركيز البروتين الكلي قد تكون بسبب الكميات المتزايدة من الغلوتامات الناتجة من MSG والتي تعمل على توليد انواع الاوكسجين التفاعلية (ROS) التي تؤثر على الانظمة الحيوية في الجسم بالإضافة الى قدرتها على التفاعل مع DNA ، البروتينات والدهون وتؤدي بالنهاية الى التحطم الخلوي (Singh & Ahluwalia, 2003) ، كما وجد ان زيادة الغلوتامات تسبب زيادة في تركيز ايون الامونيا الذي يساهم ايضا في حدوث الجرح الخلوي للخلايا الدماغية (Singh *et al* , 2014 ; Cooper & Jeitner , 2016) ، كما ارتبطت زيادة الامونيا مع زيادة حدوث الفشل الكبدي واحتمالية تطور hepatic

encephalopathy (HE) (Singh *et al* , 2014) ، اذ يعد الكبد الموقع الرئيسي لتصنيع البروتينات بالجسم ، وان اي خلل في بناء البروتينات يحدث نتيجة ضعف في الوظائف الكبدية ، فقد وجد ان الانخفاض في تركيز البروتين في الحيوانات المعاملة ب MSG يشير الى نقصان الوظائف التصنيعية في الكبد ، او زيادة معدل تحطم البروتين (Okediran *et al* , 2015) ، فضلا عن ذلك فقد اجريت العديد من الدراسات حول علاقة نوافل الغلوتامات بالفشل الكبدي فقد ارتبط نقصان التعبير الجيني لناقل الغلوتامات EAATs مع نقصان كلاً من مستويات البروتين و mRNA ومع الفشل الكبدي الحاد acute liver failure (ALF) (Vaquero & Butterworth , 2006 ; Desjardins *et al*) 2001 .

ان الارتفاع المعنوي ($P < 0.01$) في معدل تركيز الكلوكوز ربما يكون بسبب حدوث خلل في المسارات الايضية للكلوكوز ، والتي تتضمن انخفاض في معدل استهلاك الكلوكوز وايض الطاقة (Hoyer , 2000 ; Basco *et al* , 2011) ، ان هذا الخلل في مسارات تحلل الكلوكوز ربما يعود الى تراكم العديد من الانزيمات المحللة للسكر منها α - and γ -enolase و glycerinaldehyde 3-phosphate dehydrogenase (Schonberger *et al* , 2001) ، بالإضافة الى النقصان في تعبير - voltage dependent anion-selective channel protein 1 (VDAC-1) المسؤول عن تنظيم ايض الماييتوكوندريا عن طريق التحكم في تدفق الايونات للمواد الايضية مثل ال ATP (Yoo *et al* , 2001) ، كما ارتبط النقصان في ايض الكلوكوز بنقصان NADH ubiquinone oxidoreductase : (المعقد الاول لسلسلة نقل الالكترونات) والمسؤول عن تدفق الالكترونات من NADH الى ubiquinone في الخطوات الاولى للفسفرة التاكسدية لانتاج ال ATP وبالتالي انخفاض انتاج ال ATP ونقصان فعالية سلسلة نقل الالكترونات ، وهذا بدوره يؤدي الى انتقال الالكترونات من الجزيئات الحاملة لها لتوليد انواع الاوكسجين التفاعلية (ROS) (Kim *et al* , 2001; Butterfield & Lauderback , 2002) ، فضلا عن ذلك فقد وجدت العديد من الدراسات ان الزيادة في معدل تركيز الكلوكوز ارتبط مع الزيادة في تركيز الانسولين (Basco *et al* , 2011) ، ان الزيادة في تركيز الانسولين يمتلك العديد من التأثيرات على الجهاز العصبي فقد وجد ان الانسولين يزيد من التعبير لمستقبلات NMDA التي بدورها تحفز زيادة تدفق ايونات Ca^{+} الى داخل الخلايا

العصبية (Skeberdis *et al* , 2001) ، فيما وجدت دراسات اخرى ان الزيادة في معدل تركيز الانسولين يحفز تجمع لويحات $A\beta$ في الانسجة العصبية ولاحقا زيادة نسبة احتمال الاصابة بمرض الزهايمر نتيجة حدوث خلل في ايض المايتوكوندريا وتوليد العديد من ROS و RNS (Han & Li , 2010; Basco *et al* , 2011) .

4-5 الدور الوقائي للركمين على بعض المعايير الكيموحيوية (الكلوتاثيون المختزل GSH ، المالنولديهايد MDA ، البيروكسي نايترت -ONOO ، البروتين الكلي ، الكلوكوز)

اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان التجريع الفموي بالركمين ادى الى حدوث ارتفاع معنوي ($P<0.01$) في معدل تركيز GSH و انخفاض معنوي ($P<0.01$) في معدل تركيز MDA وهذه النتائج تتفق مع (Saha *et al* , 2016 ;Kadasa *et al* , 2015 ; Attia *et al* , 2014 ;Hussein *et al* , 2014; Zaky *et al* , 2014; Savcun *et al* , 2011 ; Nabiuni *et al* , 2013) . والتي اكدت ان الركمين تعمل كمادة مضادة للاكسدة و تمتلك قدرة كبيرة على التقاط الجذور الحرة والتقليل من تأثير ROS وبشكل خاص O_2^- ، OH^- و H_2O_2 على الانسجة (Nibiuni *et al* , 2011) ، كما تعمل مادة الركمين على حماية المايتوكوندريا من فعل الجذور الحرة التي ممكن ان تؤدي الى الموت الخلوي من خلال ايجاد حالة توازن بين انتاج واستهلاك ROS (Sims *et al* , 2000) ، اذ تتكون ال ROS من مؤكسدات الجذور الحرة Free radical oxidants ومؤكسدات الجزيئات الحيوية molecular oxidants ، تشارك مؤكسدات الجذور الحرة في احتجاز الهيدروجين وفي سلسلة نقل الالكترونات وعند استخدام الركمين تتأكسد كل ثلاث مواقع فعالة للركمين مع نقل الكترون او احتجاز ايون H^+ وقد اكدت دراسات مفصلة ان كل ايون H^+ يتم احتجازه بواسطة مجاميع phenol-OH group للركمين ينتج بتكوين phenoxyl radicals والذي يكون اقل تاثير من peroxy radicals وبذلك يحمي الخلية من ROS (Priyadarsini , 2014 ; Borsari *et al* , 2002; Jovanovic *et al* , 2001) ،فضلاً عن ذلك يمتلك الركمين القدرة على زيادة التعبير الجيني لل GSH-synthesizing genes (Nrf2 ، GSS ، GCLM ، GCLC ، 4F2،Xct) والتي تؤدي الى ارتفاع في معدل تركيز GSH

(Lavoie *et al* , 2009) بالإضافة الى دور الكركمين في زيادة فعالية الانزيمات المضادة للأكسدة superoxide dismutase(SOD) و catalase(CAT) التي تعمل على تحويل O_2^- الى H_2O_2 ومن ثم تحويله الى O_2 و H_2O (Venkatanarayana *et al* , 2000 ; Reiter *et al* , 2012)، كما يعمل الكركمين على زيادة التعبير الجيني لانزيم glutamatecysteine ligase الذي يعد انزيم رئيسي لبناء GSH (Zheng *et al* , 2007)، و يمتلك الكركمين القدرة على تثبيط تحويل xanthine dehydrogenase/ xanthine oxidase (XD/XO) (اذ ان انزيم xanthine dehydrogenase يشترك في ايض البيورين Purine يتحول الى xanthine oxidase عن طريق تحطم مجموعة (sulfhydryl) مؤديا الى تقليل انتاج ROS الناتجة من XD/XO وبشكل خاص O_2^- . (Nibiuni *et al* , 2011; Ghoneim , 2002) ، وهذا بدوره يؤدي الى انخفاض في معدل تركيز MDA من خلال تقليله لتأثيرات ROS ، كما اثبتت الدراسات ان الكركمين يمنع LPO التي تحصل نتيجة لزيادة مستويات الجذور الحرة المتولدة والتي تسبب تحطم الاغشية الخلوية مسببة انخفاض في تركيز ال MDA ، بفعل الخاصية المضادة للاكسدة للكركمين (Parsaeyan , 2015; He *et al* , 2015; Amani *et al* , 2010 ;)

كما بينت نتائج الدراسة الحالية انخفاض معنوي ($P < 0.01$) في معدل تركيز ONOO- بعد التجريع الفموي بالكركمين وهذه النتائج تتفق مع (He *et al* , 2015 ; Kim *et al* , 2012) فقد وجد ان الكركمين يمتلك القدرة على تثبيط انزيم nitric oxide synthase (iNOS) الذي له القدرة على انتاج كميات كبيرة من NO الذي يتفاعل فيما بعد مع O_2^- لانتاج ONOO- وبالتالي انخفاض في معدل تركيز ONOO- (Nimse & Palb) (2012 ; Kim *et al* , 2015) ، كما اكدت الدراسات ان الكركمين يمتلك القدرة على تثبيط NO/NOS signalling system ، والتي بدورها تقلل انتاج ROS و NOS وتحمي الخلية من تأثيراتها التحطمية (Belyaev *et al* , 2015) ، فضلا عن ذلك فقد وجد ان الكركمين يمتلك القدرة على حماية الخلايا العصبية من الموت المبرمج بفعل ONOO- عن طريق دوره في تثبيط cytochrome C ، Caspase-3 و Caspase-9 التي تتحرر من مايتوكوندريا العصبية بفعل ONOO- (Liu & Colleagues , 2011; Sumbul *et al* , 2010) .

اشارت النتائج الى حدوث ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في معدل تركيز البروتين الكلي بعد التجريع الفموي بالكرمين وهذه النتائج تتفق مع (Hashish & Elgaml , 2016; Abdou *et al* , 2015; Khedr & Khedr , 2014; Venkatanarayana *et al* , 2011; El-Wakf *et al* , 2012) .

ان هذا الارتفاع في معدل تركيز البروتين ربما يعود الى قدرة الكركمين على تحفيز بناء البروتين والذي يرتبط بقدرته على زيادة محتوى DNA و RNA في الخلايا ، من خلال قدرة الكركمين الكبيرة في اكتساح الجذور الحرة والتي تمنع ROS و RNS ان تسبب اي ضرر لل DNA ، البروتينات و الدهون وتؤدي بالنهاية تمنع التحطم الخلوي (El-Wakf *et al* , 1999; Masuda *et al* , 2011; *et al*) ، كما يعمل الكركمين على زيادة فعالية Nrf2 الذي يلعب دوراً كبيراً في زيادة التعبير الجيني للانزيمات المضادة للأكسدة منها Heme oxygenase-1 (HO-1) الذي له دوراً كبيراً في حماية الخلايا الكبدية ، وان زيادة HO-1 يلعب دور كبير في حماية الخلايا من الاجهاد التاكسدي خلال عمل antioxidant response element (ARE) (Farombi *et al* , 2008) ، بالإضافة الى ذلك يعمل الكركمين على تقليل تركيز ايون الامونيا من خلال تنشيط مسارات ازالة السمية الكبدية و دورة اليوريا detoxification and urea cycle (Huang *et al* , 2015) وبذلك تحمي الخلايا من التأثير السام لأيونات الامونيا والحفاظ على الايض الطبيعي للبروتينات والدهون (Khedr & Khedr , 2014)

بينت نتائج الدراسة الحالية عدم وجود فروق معنوية ($P < 0.01$) في معدل تركيز الكلوكوز بعد التجريع الفموي بالكرمين وهذه النتائج تتفق مع (Dhianawaty *et al* , 2010; Hussein & Abu-Zinadah , 2014) الذي بين ان الكركمين له دور كبير في الحفاظ على توازن الكلوكوز في الجسم ، بالإضافة الى ذلك وجد ان معاملة الحيوانات التي تعاني من ارتفاع في مستوى الكلوكوز ، او المصابة بداء السكري بالكرمين ادى الى انخفاض في معدل تركيز الكلوكوز وهذه النتائج تتفق مع (He *et al* , 2015; Parsaeyan *et al* , 2005; Al-Faleh *et al* , 2013; Suryanarayana *et al* , 2015) والتي اكدت ان الكركمين يمتلك قدرة عالية على تقليل ومنع اي زيادة في مستوى الكلوكوز بالدم hyperglycemia وذلك من خلال قدرته على تثبيط بعض الانزيمات التي ارتبطت مع ارتفاع مستوى الكلوكوز بضمنها a-glucosidase و aldose reductase

(Ramana & Srivastava , 2010) ، كما بينت العديد من الدراسات دور الكركمين في تنشيط AMP-activated protein kinase (AMPK) الذي يعد من منظمات الطاقة الرئيسية في الجسم والذي له دور كبير في تنظيم توازن الكلوكوز بالجسم من خلال دوره في تحفيز استخدام الكلوكوز و تثبيط تخليق الكلوكوز الكبدي hepatic gluconeogenesis (Schultze *et al* , 2012) ، بالإضافة الى ذلك فقد وجد ان الكركمين له القدرة على تثبيط الانزيمات phosphoenol pyruvate carboxy kinase (PEPCK) و -6- glucose phosphate (G6Pase) التي تعد من الانزيمات الرئيسية في عملية تخليق الكلوكوز وبذلك تؤدي الى انخفاض معدل تركيز الكلوكوز (Zhang *et al* , 2013; Franckhauser *et al* , 2006) ووجدت دراسة اخرى ان الكركمين فعال في تقليل تأثير داء السكري المسبب للاعتلال العصبي عن طريق تنظيم مستقبلات GLUT3 ، dopamine (D1, D2) ، phospholipase C (Kumar *et al* , 2010) و مستقبلات الانسولين insulin receptors (Kumar *et al* , 2013) بالإضافة الى دوره في تقليل فرط التحفيز الناتج من الغلوتامات والتي تقلل من التأثيرات الضارة على مستقبلات AMPA و NMDA (Jayanarayanan *et al* , 2013) ، فضلا عن ذلك وجد ان الكركمين له القدرة على تثبيط تكوين لويحات A β وفسفرة بروتين Tau التي تسبب تحطم مستقبلات الانسولين الدماغية مما يؤدي الى المحافظة على مستويات الانسولين الطبيعية وبالتالي تنظيم مستوى الكلوكوز بالجسم (Zhang *et al* , 2013 ; Ma *et al* , 2009) .

5-5 تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على معدل تركيز بعض الايونات

(الكالسيوم Ca⁺ والحديد الحر Fe⁺)

بينت نتائج الدراسة الحالية وجود ارتفاع معنوي (P<0.01) في معدل تركيز Ca⁺ بعد التجريع الفموي ب MSG وهذه النتائج تتفق مع (Ateya *et al* , 2016 ; Sharma , 2015 ; Bojanić *et al* , 2009 ; Pavlovic *et al* , 2007 ; Beyreuther *et al* , 2006 ;

ان الارتفاع المعنوي (P<0.01) في معدل تركيز Ca⁺ قد يعود الى الكميات المتزايدة من الغلوتامات الناتجة من MSG ، فقد وجد ان الكميات المتزايدة من الغلوتامات تسبب العديد

من التغيرات التحطمية للخلايا العصبية نتيجة قدرته على تغيير وظائف مستقبلات NMDA و AMPA ، اذ ان ارتباط الغلوتامات بمستقبلاته المختلفة يؤدي الى فتح قنوات الايونات وزوال استقطاب depolarization اغشية الخلايا العصبية مما يؤدي الى زيادة تركيز Ca^{+} و Na^{+} الداخل خلوي (Jackson *et al* , 2014 ; Whitelaw & Robinson , 2013) ، كما ان زيادة تدفق ايونات Ca^{+} نتيجة تحفيز مستقبلات الغلوتامات يعمل على تنشيط قنوات الكالسيوم للخلايا العصبية مسببة زيادة في كميات ال Ca^{+} الداخل خلوي (Halliwell & Gutteridge , 2007; Mark *et al* , 2001) ، فقد ارتبطت زيادة تحفيز الغلوتامات بخلل توازن الكالسيوم الخلوي و زيادة توليد ROS (O_2^{-} , H_2O_2 , OH^{-}) و NOS (NO , $ONOO^{-}$) والتي بدورها تؤثر على العديد من العضيات الخلوية بضمنها المايتوكوندريا والشبكة الاندوبلازمية والتي تعد ايضا مصدر مهم للكالسيوم الداخل خلوي (Prentice *et al* , 2015; Mark *et al* , 2001) ، اذ ان زيادة ايونات Ca^{+} تؤدي الى حدوث خلل في الية عمل قنوات الكالسيوم للمايتوكوندريا و زيادة مستويات العديد من المؤكسدات بضمنها NADPH oxidase و xanthine oxidase وتنشيط المعقدات الانزيمية للسلسلة التنفسية مؤديا الى زيادة مستويات Ca^{+} ، نفاذ ال ATP و فتح mPTP مما يزيد من تحرير انزيم Cytochrome C ، وبالتالي تحطم المايتوكوندريا (Alleyne *et al* , 2011; Calkins *et al* , 2011; Lam *et al* , 2013) ، كما وجد ان فرط تحفيز مستقبلات NMDA و AMPA يحفز تحرير inositol triphosphate (IP3) والذي ينشط قنوات Ca^{+} للشبكة الاندوبلازمية ويعطل Ca^{+}/Na^{+} exchanger مؤديا الى زيادة تركيز Ca^{+} الداخل خلوية وزيادة احتمال تحطم الخلية العصبية (Mattson , 2007) ، فضلاً عن ذلك فان زيادة Ca^{+} الداخل خلوي ممكن ان يثير استجابات خلوية مختلفة بضمنها تنشيط nitric oxide synthase و protein kinase C وانزيمات تحطمية اخرى ، كما انه يسبب زيادة تحرير الغلوتامات الموجود في الحويصلات العصبية وينشط مسارات انزيم protein kinase التي تحرر مخزون الكالسيوم الداخل خلوي والتي بدورها تحفز توليد الجذور الحرة و بيروكسيدية الدهون مؤدية الى حدوث الموت الخلوي (Sharma , 2015 ; Sundaram *et al* , 2012) .

اشارت نتائج الدراسة الحالية ان زيادة الغلوتامات ادت الى حدوث ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في معدل تركيز ايون الحديد الحر وهذه النتائج تتفق مع

(Yu et al , 2015 ; Ateya et al , 2016) ، وان زيادة الغلوتامات تؤدي الى زيادة معدل تركيز الحديد في الدماغ عن طريق حدوث خلل في مستقبلات DMT1 و transferrin receptor 1(TfR1) والتي تعد من المستقبلات المهمة في تنظيم مستويات الحديد الحر في الخلية العصبية وهذا بدوره يؤدي حدوث تغيرات تحطمية للخلايا العصبية من خلال دوره في حث تفاعلات الفنتون Fenton reaction ، التي ينتج عنها العديد من الجذور الحرة منها O_2^- و H_2O_2 مؤديا الى حدوث الاجهاد التاكسدي وتحطم الخلية العصبية (Yu et al , 2015). فضلا عن التأثيرات الضارة لجذور الاوكسجين الفعالة ROS مثل جذر الهيدروكسيل (OH^-) ، اذ يمتلك جذر الهيدروكسيل الفعال القدرة للحث على موت الخلايا من خلال بدء سلسلة من التفاعلات الكيميائية التي تشترك فيها العديد من الجزيئات الحيوية المهمة مما يؤدي الى اكسدة الحامض النووي منقوص الاوكسجين DNA ، تحطم المايتوكوندريا ، و اكسدة الدهون (Bergeron et al 2003 ; Barham et al , 2004). كما ان زيادة أيونات الحديد الحرة لها القدرة على التفاعل مع الدهون غير المشبعة مكونة جذر البيروكسيل Peroxyl والكوكسيل alkoxy ، وإن مثل هذه التفاعلات المؤكسدة تؤدي الى ضعف في الوظائف الخلوية وتحطم الخلايا والأنسجة والأعضاء (Lieu et al , 2001) فيما اكدت دراسة اخرى ان زيادة معدل تركيز الحديد في الدماغ يسبب تحطم BBB وهذا بدوره ينعكس على الوظائف العصبية والمعرفية (Han & Kim , 2015) ، كما وجد ان زيادة تركيز الحديد ارتبط مع حدوث خلل تجهيز الطاقة في المشبك العصبي نتيجة تحطم مايتوكوندريا الخلية العصبية ، زيادة مستويات البروتينات المشتركة في انقسام المايتوكوندريا (Diamine like GTPase(DNM1L) و (Optic atrophy 1(OPA1) ، caspase3، بالإضافة الى تحطم العديد من بروتينات الغشائية للمشبك العصبي (synaptophysin) (da Silva et al , 2014) .

6-5 الدور الوقائي للركمين على معدل تركيز بعض الايونات (الكالسيوم

Ca⁺ والحديد الحر Fe⁺)

اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان التجريع الفموي بالجرعة المؤثرة من الركمين قلل وبشكل كبير من تاثيرات MSG على معدل تركيز Ca⁺ و Fe⁺ والذي قد يعود

السبب في ذلك الى دور مادة الكركمين في التقاط الجذور الحرة والتقليل من تأثير ROS و NOS (Elsayed *et al* , 2016 ; Nibiuni *et al* , 2011) ، بالإضافة الى دور مادة الكركمين على حماية النواة من خلال دورها في تنظيم عوامل الاستنساخ ، الساييتوكاينينات والانزيمات التي ارتبطت مع فعالية Nuclear factor kappa beta (NF-Kb) (معقد بروتيني يسيطر على استنساخ ال DNA) (Yu *et al* , 2015 ; Lee *et al* , 2013) كذلك حماية الماييتوكونديريا من تأثير الموت الخلوي بفعل الجذور الحرة ومنع تحطم الغشاء الخلوي ، تسرب Ca^{+} احداث اضطراب وظائف المشبك العصبي (Goozee *et al* , 2016) ، اذ يلعب الكركمين دوراً فعالاً في دعم وظائف الماييتوكونديريا عن طريق دورها في الحماية ضد التغيرات في الفسفرة التأكسدية و تنشيط معقدات سلسلة نقل الالكترونات منها NADH و cytochrome c reductase ، cytochrome c oxidase وبذلك تعمل على المحافظة على توازن الكالسيوم الداخل خلوي (Garcia-Nino & Pedraza-Chaverri , 2014; Vitadello *et al* , 2014) ، كما اكدت العديد من الدراسات ان الكركمين له دور فعال في المحافظة على توازن الايونات المعدنية بضمنها Ca^{+} و Fe^{+} فقد وجد ان Fe^{+} له دور كبير في احداث السمية العصبية من خلال ارتباطه بتكوين لويحات $A\beta$ و NTF ، و ان زيادة ايونات Fe^{+} تسبب تحفيز تجمع $A\beta$ من خلال دوره في احداث تغيرات في بروتين APP ، ووجدت دراسات عديدة ان الكركمين يمتلك القدرة على عبور الحاجز الدماغي الدموي BBB ويعمل على اكتساح الجذور الحرة والايونات بضمنها Ca^{+} و Fe^{+} وبذلك يقلل فسفرة بروتين Tau ، فضلا عن ذلك تمتلك مادة الكركمين القدرة على تقليل انتاج لويحات $A\beta$ من خلال تحويل مسار بروتين APP ، ووجدت دراسة اخرى ان الكركمين يعمل على تقليل فعالية انزيم γ -secretase وبذلك يقلل من تجمع لويحات $A\beta$ مما يعمل على حماية الخلايا العصبية من تأثيراتها الضارة (Goozee *et al* , 2016; Lee *et al* , 2013 ; Narlawar *et al* , 2008) .

7-5 تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية بعض المعايير الهرمونية (Ghrelin/obestatin ratio و Corticosteron)

اظهرت نتائج الدراسة الحالية انخفاض معنوي ($P < 0.01$) في معدل تركيز هرمون Ghrelin/obestatin ratio بعد التجريع الفمي ب MSG ، وقد يرجع السبب في ذلك الى دور MSG في احداث ضرر لمنطقة تحت المهاد والتي تشمل المناطق المنظمة للشهية في الدماغ بضمنها Hypothalamic Arcuate Nucleus (ARC) ، Hypothalamic Arcuate Nucleus (ARC) ، agouti - related peptide (AgRP) ، Y (NPY) ، ودوره في عرقلة سريان الاشارات لهرمون اللبتين والانسولين مؤديا الى انخفاض الشهية ، و زيادة تركيز الانسولين hyperinsulinemia واللبتين hyperleptinemia ، بالإضافة الى دورها في انخفاض افراز هرمون النمو مؤدياً الى قصر القامة وضمور الغدة النخامية (He *et al* , 2008; Matyskova *et al* , 2011;) ، فقد اكدت العديد من الدراسات الى وجود علاقة عكسية بين Ghrelin/obestatin ratio و hyperinsulinemia ، اذ ان الزيادة في تركيز الانسولين يزيد من التعبير لمستقبلات NMDA التي بدورها تسبب زيادة تدفق ايونات Ca^{+2} الى داخل الخلايا العصبية مسبب التحطم الخلوي ، (Marquard *et al* , 2015;) (Skeberdis *et al* , 2001) ، كما ان تحطم ARC يؤثر بدوره على العديد من الهرمونات التي تنشأ من هذه الخلايا بضمنها هرموني الكرلين و الاوبستاتين مسببا خلل في افراز هذين الهرمونين ، كما وجد ان الانخفاض في معدل تركيز Ghrelin/obestatin ratio ارتبط مع انخفاض الشهية وانخفاض تركيز هرمون الكرلين وزيادة تركيز هرمون الاوبستاتين ، كما ان انخفاض تركيز Ghrelin/obestatin ratio قد يعود الى عدم التوازن في ايض هرموني الكرلين نتيجة للاضرار التي تحدث بفعل MSG ، فقد بينت العديد من الدراسات دور الغلوتامات في تنظيم نقل الاشارات العصبية بين الجهاز العصبي والجهاز الهضمي بينما يسبب استهلاك كميات كبيرة من MSG خلل في نقل الاشارات العصبية ، و زيادة الوزن ، نتيجة تأثير فرط الغلوتامات على تغيير وظائف مستقبلات NMDA و AMPA ، مما يؤدي الى فتح قنوات الايونات وزوال استقطاب اغشية الخلايا العصبية (Jackson *et al* , 2014 ; Whitelaw & Robinson , 2013) ، وان الارتباط المحتمل بين مادة ال MSG و السمنة يتضمن تأثيرات هذه المادة على توازن الطاقة عن طريق استساعة الطعام وعرقلة سريان الاشارات لهرمون اللبتين في منطقة تحت المهاد (He *et al* ,)

(2011)، فضلاً عن ذلك ووجد زيادة استهلاك MSG تسبب زيادة التعبير الجيني للعديد من الجينات المشتركة في تمايز الخلايا الدهنية وتزيد من مستويات الاحماض الدهنية الحرة و الدهون الثلاثية في المصل وبذلك تسبب زيادة في الوزن، (Collison *et al*, 2010)، فقد اكدت العديد من الدراسات وجود علاقة عكسية بين Ghrelin/obestatin ratio وبين مؤشر كتلة الجسم (Body mass index (BMI) (Vicennati *et al*, 2007) بالاضافة الى ذلك فقد تؤثر زيادة الغلوتامات على AMP-activated protein kinase (AMPK) الذي يشترك مع هرمون الكارلين في تنظيم الشهية والطاقة مؤدياً لتنشيط مسارات استهلاك الـ ATP وبذلك خفض معدلات الطاقة بالجسم، اذ وجد ان زيادة الغلوتامات تسبب خلل في مستويات AMPK في خلايا القشرة الدماغية والذي بدوره يعمل على تنشيط و زيادة التعبير الجيني لبروتين pro-apoptotic protein Bim (عضو لعائلة Bcl-2) محفزاً بذلك الموت الخلوي بعملية تدعى excitotoxic apoptosis (Ramamurthy & Ronnett, 2012).

كما اشارت نتائج الدراسة الحالية الى وجود ارتفاع معنوي ($P < 0.01$) في معدل تركيز هرمون الكورتكوستيرون بعد معاملة الحيوانات بـ MSG وهذه النتائج تتفق مع (Abu-Taweel, 2016; Castrogiovanni *et al*, 2015; Seo *et al*, 2010) (Macho *et al*, 1999).

ان الارتفاع المعنوي في معدل تركيز هرمون الكورتكوستيرون قد يكون بسبب التغيرات التحطمية التي تحدث للعديد من اجزاء الجهاز العصبي بضمنها ARC بفعل MSG والتي تترافق مع التغيرات في النواقل والبيبتيدات العصبية المنتجة من تحت المهاد مثل metenkephaline و neurotensin، Somatoliberin، ACTH، β -endorphin، وان هذه التغيرات التي تحدث لمنطقة تحت المهاد ربما تؤدي الى تغيرات في انتاج وتحرير الهرمونات المنتجة من الغدة النخامية كذلك الى تغيرات في وزن و وظائف هذه الغدة (Abu-Taweel, 2016; Macho *et al*, 1999)، كما وجدت دراسات عديدة ان معاملة الحيوانات بـ MSG يؤدي الى تغيرات في وظيفه - hypothalamic-pituitary - adrenocortical axis كذلك انخفاض وزن الغدة النخامية والادريينالية وهذا بدوره يؤثر على تركيز ACTH و الكورتكوستيرون (Seo *et al*, 2010)، او ان الزيادة في معدل

تركيز هرمون الكورتكوستيرون يعود الى انخفاض معدل ايض هذا الهرمون في الكبد نتيجة التأثيرات الضارة التي تمارسها مادة MSG على الكبد وهذا بدوره يؤدي الى ارتفاع تركيز هذا الهرمون في المصل ، ان هذه النتائج الخاصة بتقدير معدل انتاج وايض هرمون الكورتكوستيرون تتفق مع انخفاض معدل تصفية هذا الهرمون الملاحظة من قبل (Villagarcía *et al* , 2016 ;Macho *et al* , 1999 ; Skultetyova *et al* , 1998) الذي يؤكد ان زيادة انتاج الكورتكوستيرون من الغدة الادرينالية وانخفاض تأييضه في الكبد هو المسؤول عن ارتفاع تركيز هذا الهرمون في المصل للحيوانات المعاملة ب MSG .

8-5 الدور الوقائي للكرميين على بعض المعايير الهرمونية (Ghrelin/obestatin ratio و Corticosteron)

اظهرت نتائج الدراسة الحالية عدم وجود فروق معنوية ($P < 0.01$) في معدل تركيز هرمون Ghrelin/obestatin ratio بعد التجريع الفموي بالكرميين ،وقد يكون السبب في ذلك الى التأثيرات الوقائية للكرميين على منطقة تحت المهاد والغدة النخامية وفي تعزيز وضائف الخلايا الدماغية ، (Moghaddam *et al* , 2015 ; Sakr & Badawy , 2013) ،بالإضافة الى دوره في تنظيم مستوى السكر في الدم والذي يعمل على زيادة التعبير الجيني لل AGRP mRNA لخلايا ARC مما يعزز من ادامة هذه الخلايا وبالتالي تحسين مستوى الهرمونات المفترزة منها (Hidaka *et al* , 2001 ; Sergeyev *et al* , 2000) ، بالإضافة الى دور الكرميين في تحسين مستوى هرمون الانسولين من خلال تنظيمه لمستوى السكر بالدم (Ghorbani *et al* , 2014 ; Kim *et al* , 2016) ، فقد اشارت العديد من الدراسات ان مستويات الانسولين الطبيعية تعمل على تحفيز الخلايا العصبية الغنية بالبيبتيدات العصبية NPY/AgRP ليعمل على زيادة الشهية (Vogt & Bruning , 2013; Ren *et al* , 2012) ، كما وجدت العديد من الدراسات ان الكرميين يعمل على زيادة فعالية AMPK وتقليل فسفرته مؤدياً لتنشيط مسارات توليد ال ATP وبالتالي زيادة معدلات الطاقة بالجسم (Kim *et al* , 2016) ، فضلاً عن ذلك اكدت العديد من الدراسات دور الكرميين المضاد للسمنة عن طريق دوره في تثبيط تمايز preadipocyte ،تنظيم التعبير الجيني

للعديد من الانزيمات المشتركة في عملية تصنيع الدهون lipogenesis بضمنها Peroxisome proliferator- activated receptor (PPAR γ) و C-terminal enhancing binding protein α (C/EBP α) وبالتالي خفض معدل هذه العملية ، فضلاً عن تعزيز عملية اكسدة الدهون وتقليل الاستجابة الالتهابية للخلايا الدهنية ، وبالتالي تقليل وزن الجسم (González-Castejón & Rodriguez-Casado, 2011) (Bradford, 2013; Ghrelin/obestatin ratio نتيجة للعلاقة العكسية بينها وبين BMI ، وكذلك بينها وبين تركيز الانسولين بعد التجريع الفموي بالكرميين .

كما اظهرت نتائج الدراسة الحالية حدوث انخفاض معنوي ($P < 0.01$) في معدل تركيز هرمون الكورتكوستيرون بعد التجريع الفموي بالكرميين وهذه النتائج تتفق مع (Lopresti *et al* , 2014 ; Rinwa *et al* , 2013 ; Xu *et al* , 2011) ان الانخفاض في معدل تركيز هرمون الكورتكوستيرون قد يرجع الى التأثيرات الوقائية للكرميين ضد الزيادة الحاصلة في مستوى هذا الهرمون فقد اشارت العديد من الدراسات ان الكرميين يعمل على حماية (HPA) hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis من التغيرات التي تحدث بفعل الزيادة في تركيز هرمون الكورتكوستيرون عن طريق دوره في تثبيط فسفرة Mitogen-activated protein kinases (MAPKs) الذي يشترك في نقل الاشارة من سطح الخلية العصبية الى النواة ، بالإضافة الى دوره في ادامة وظائف الخلية العصبية من خلال المحافظة على مرونة المشبك العصبي وبالتالي حماية الخلية العصبية (Gao *et al* , 2009) ، بالإضافة الى دور الكرميين في تنشيط مستقبلات 5-hydroxy tryptamine (5-HT) ، فقد وجد ان الكرميين يعمل على زيادة التعبير الجيني mRNA لمستقبلات السيروتونين (5-HT_{1A} و 5-HT₄) بالإضافة الى دوره في حماية الخلايا العصبية من التغيرات التحطمية التي تسببها زيادة هرمون الكورتكوستيرون ودوره في زيادة حجم وعدد تفرعات الخلايا العصبية ، زياد التعبير الجيني لبروتين synaptophysin (بروتين سكري موجود في المشبك العصبي ، يشارك في الانتقال المشبكي في خلايا القشرة الدماغية (Xu *et al* , 2011 ; Wang & Xu , 2012) ، كما اكدت العديد من الدراسات على دور الكرميين في تخفيف الاجهاد على الخلايا العصبية من خلال تنشيط مسارات adeny cyclase/cyclic adenosine monophosphate وزيادة فعالية protein kinase A و مستويات cyclic adenosine monophosphate

(cAMP) ، كذلك المحافظة على الوزن الطبيعي للغدة الادرينالية وبالتالي المحافظة على مستويات الطبيعية لهرمون الكورتكوستيرون (Xu *et al* , 2011; Kulkarni *et al* , 2009; Li *et al* , 2009)

5-9 تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على النسيج العصبي

اظهرت نتائج الدراسة الحالية ظهور واضح للويحات البيتا املويد $A\beta$ منتشرة في نسيج المخ ، المخيخ والحبل الشوكي وظهور تشابك الالياف العصبية (NFTs) مع حدوث تغيرات تنكسيه واضحة في الخلايا العصبية في انسجة الحيوانات المعاملة ب 3 ملغم / كغم من MSG ولمدة ثلاثة اشهر مقارنة مع مجموعة السيطرة وهي نتائج متفقة مع (Diefa *et al* , 2014; Madhavadas *et al* , 2014) ، ان سبب ظهور لويحات $A\beta$ قد يكون نتيجة زيادة تحفيز مستقبلات NMDA ، mGluRs و AMPA بفعل الكميات المتزايدة من الغلوتامات الناتجة من مادة MSG ، التي بدورها تحفز زيادة تدفق ايونات Ca^{+} الى داخل الخلايا العصبية مسببة خلل في توازن Ca^{+} الداخل خلوي ، كما انها تسبب زوال استقطاب المايتوكوندريا مؤديا الى زيادة توليد ROS ($O_2^{\cdot -}$, H_2O_2 , OH^{\cdot}) والتي بدورها تقلل من فعالية Cytochrome oxidase و تقلل انتاج طاقة ATP ، كذلك تسبب زيادة تنشيط مسارات تحلل وانسطار APP (Amyloidogenic and nonamyloidogenic) عن طريق تنشيط انزيمات α -secretase ، γ -secretases و β -secretase التي تؤثر على بروتين APP وتسبب توليد كميات متزايدة من $A\beta$ Kumar (2011; Itkin *et al* 2011 ; Revett *et al* , 2013 ; Singh & , 2015) ، كما وجد ان زيادة الغلوتامات في الشق المشبكي تسبب خلل في التوازن الايوني وتؤثر على الجهاز الكوليني مسببة انخفاض تركيز Ach وزيادة تركيز AchE مؤديا الى زيادة تكوين لويحات $A\beta$ وزيادة فسفرة بروتين التايو P-tau مسببة زيادة ظهور NFT في النسيج العصبي (Revett *et al* , 2013; Silveyra *et al* 2011)، فيما اكدت دراسة اخرى ان $A\beta$ تسبب زيادة فسفرة P-tau عن طريق تنشيط Extracellular signal regulated kinase عن طريق تنشيط Protein kinase (PKC) ، 1/2(ERK1/2) ، Fyn kinase ، Glycogen synthase kinase (GSK-3 β) و cyclin-dependent kinases(CDK) ، وان تثبيط

فسفرة P-tau ممكن ان تمنع تكوين $A\beta$ وبالتالي تقليل تأثيرها على الجهاز العصبي (Alvarez *et al* , 2002)، فضلا عن ذلك فقد وجد ان $A\beta$ تسبب تغيرات تحطمية في الخلايا العصبية من خلال دورها في زيادة انتاج ROS في الخلية العصبية ، خلل توازن Ca^{+} الخلوي كما انها تؤثر على العديد من الانزيمات بضمنها flavoprotein-linked enzyme و NADPH oxidase مسببة زيادة توليد الجذور الحرة وتخریب السلسلة التنفسية للمايتوكوندریا وانخفاض ال GSH وبالتالي الموت الخلوي (Sadigh-Eteghad *et al* , 2015; Abramova *et al* , 2004) .

كما ان تلف الخلايا العصبية قد يكون نتيجة لتأثير ROS في زيادة عملية اكسدة الدهون Lipid peroxidation لاغشية الخلايا العصبية وقدرتها على التفاعل مع الدهون غير المشبعة poly unsaturated fatty acids ، التي تؤدي الى تضرر الانسجة والاعضاء (Sadigh-Eteghad *et al* , 2015; Barbagallo *et al* , 2015) . ودور ROS في تنشيط مسارات موت الخلية المبرمج من خلال تحرير بروتينات Cytochrome c و apoptosis inducing factor الذي ينتهي بموت الخلية العصبية (Niizuma *et al* , 2010) . بالإضافة الى تحطم المايتوكوندریا عن طريق تثبيط المعقدات الانزيمية للسلسلة التنفسية Mitochondrial Respiratory enzyme complex مؤدياً الى انخفاض انتاج ال ATP وزيادة انتاج ROS (Swerdlow *et al* , 2010) ، كذلك دور $A\beta$ في التفاعل لويحات ال ABAD على اغشية المايتوكوندریا مسببة خلل في الية عمل المايتوكوندریا مؤدية الى تحطم المشبك العصبي (Lustbader *et al* , 2004 ; Reddy & Reddy , 2011)

10-5 الدور الوقائي للركمين على النسيج العصبي

اظهرت نتائج التقطيع النسيجي لأنسجة الحيوانات المعاملة ب3 ملغم من MSG والمجرعة يوميا ب 2 ملغم / كغم من الكركمين انعدام ترسب لويحات $A\beta$ في نسيج المخ ،المخيخ والحبل الشوكي والمظهر الطبيعي للخلايا العصبية مقارنة مع مجموعة السيطرة

ويرجع السبب في ذلك الى دور مادة الكركمين في منع تكوين لويحات $A\beta$ ، فقد اكدت العديد من الدراسات ان الكركمين يثبط انتاج لويحات $A\beta$ عن طريق تغيير مسار بروتين APP خلال المسارات الافرازية (Zhang *et al* , 2010) ، كما وجد ان الكركمين يمتلك القدرة على موازنة الشكل غير الناضج من APP وتقليل الكمية الواصلة منه الى سطح الخلية والتخلص منه بعملية endocytosis (liu *et al* , 2010) ، بالإضافة الى ذلك فقد اكدت دراسات عديدة فعالية الكركمين في تقليل السمية الناتجة من $A\beta$ (Goozee *et al* , 2016) ، اذ يمتلك القدرة على تقليل الاجهاد التاكسدي والجذور الحرة الناتجة منه ، تقليل تدفق ايونات Ca^{+} وبالتالي الحماية من تحطم DNA الخلية والموت الخلوي (Shimmyo *et al* , 2008) ، ويثبط المسارات الالتهابية inflammatory pathways الناتجة من $A\beta$ التي تعزز التحطم العصبي ، عن طريق تثبيط $IL-1\beta$ ، $IL-6$ و $TNF-\alpha$ بالإضافة الى قدرته على تقليل فسفرة بروتين ERK1/2 و P38 وبالتالي تقليل انتاج cytokine عن طريق microglia (Shi *et al* , 2015) ، فضلاً عن ذلك وجد ان الكركمين يمتلك القدرة على تصفية و ازالة لويحات $A\beta$ المتكونة في النسيج العصبي وبالتالي التخلص من تأثيرها الضار ، اذ يظهر الكركمين فعالية شديدة ضد لويحات البيتا امليويد $A\beta$ حيث تتفاعل مجموعة الهيدروكسيل القطبية للكركمين المرتبطة بالحلقة الاورماتية مع الجيوب القطبية لبروتين $A\beta$ مما يجعله يعيق تكوين لويحات البيتا امليويد (Reinke & Gestwicki , 2007) ، كذلك تحسين التخلص منها عن طريق BBB ، اثاره الاستجابية المناعية ضد $A\beta$ و تحلل الياف الامليويد amyloid fibrils و تنشيط خلايا microglia وبالتالي التخلص من $A\beta$ (Bates *et al* , 2009) ، كما يظهر الكركمين تأثير تحفيزي ل proteasomal activity (قدرة الخلايا على ازالة البروتينات المتأثرة بالاجهاد التاكسدي) وبالتالي تحطم لويحات $A\beta$ وتقليل تأثيرها على النسيج العصبي (Goozee *et al* , 2016; Cole *et al* , 2007) ،

بالإضافة الى دور الكركمين في المحافظة على المظهر الطبيعي للانسجة ، وذلك نتيجة الخاصية المضادة للأكسدة التي يمتلكها الكركمين التي تمكنها من التقاط نسبة عالية من الجذور الحرة ، وقدرته على عبور BBB ، واكتساح الجذور الحرة نتيجة لوجود المجاميع الفينولية phenol و مجاميع methoxy مما ادى الى تقليل تأثيرها على الانسجة (Goozee *et al* , 2016; Kapoor & Priyadarsini, 2001) بالإضافة الى دور الكركمين في زيادة فعالية الانزيمات المضادة للأكسدة (SOD) و (CAT)

(Venkatanarayana *et al* , 2012 ; Reiter *et al* , 2000) ، و زيادة التعبير الجيني لانزيم glutamatecysteine ligas الذي يعتبر انزيم رئيسي لبناء GSH مؤدياً الى تقليل انتاج ROS (Zheng *et al* , 2007) ، ودوره في منع LPO التي تحصل نتيجة لزيادة مستويات الجذور الحرة المتولدة والتي تسبب تحطم الاغشية بفعل الخاصية المضادة للاكسدة للكركمين (Parsaeyan , 2015; He *et al* , 2015; Amani *et al* , 2010)

الاستنتاجات

استنتج من الدراسة الحالية:

- 1- بعد استخلاص وتنقية الكركمين وجد ان الجرعة المؤثرة للكركمين بلغت 60 ملغم / كغم في ذكور الارانب.
- 2- ان التجريع الفموي ب 3 ملغم / كغم من غلوتامات الصوديوم الاحادية ادى الى :
 - a- تغير في معدل تركيز الاشكال الجزيئية لانزيم الاستيل كولين استريز (AChE (G1)، (AChE(G2) والذي يعد مؤشر لحدوث تحطم المشبك العصبي .
 - b- انخفاض معنوي ($P<0.01$) في معدل تركيزانزيم Neuronal Mitochondrial ATPase والذي يدل على حدوث خلل في العمليات الحيوية لميتوكوندريا الخلايا العصبية .
 - c- تغير في معدل تركيز الكلوكوز و البروتين في المصل والسائل المخي الشوكي والذي قد يعود لتاثير هذه المادة (MSG) على اعضاء اخرى بالجسم بضمنها الكبد وتاثيره على العمليات التصنيعية للبروتين والكلوكوز .
 - d- حدوث الاجهاد التاكسدي وزيادة مستوى الجذور الحرة نتيجة للارتفاع المعنوي ($P<0.01$) في تركيز MDA ، Ca^{+} ، Fe^{+} والانخفاض المعنوي ($P<0.01$) في معدل تركيز GSH.
 - e- حدوث تغيرات تنكسيه واضحة في النسيج العصبي ، وظهور لويحات البيتا املويد $A\beta$ و تشابك الالياف العصبية (NFTs) ، ظهور الفجوات في نسيج المخ المخيخ و الحبل الشوكي مما يدل ان هذه المادة سببت الاصابة بمرض الزهايمر .
- 3- ان المعاملة بالجرعة المؤثرة للكركمين قلل و بشكل كبير من التلف الحاصل في نسيج المخ ، المخيخ والحبل الشوكي و ساهم بشكل فعال في اعادة المعايير الكيموحيوية الى معدلاتها الطبيعية .

التوصيات

- 1- تقليل استخدام الاغذية التي تحتوي على المواد الحافظة والمضافات الغذائية.
- 2- التوصية بإعطاء مادة الكركمين كمادة وقائية للتقليل من احتمالية الاصابة بمرض الزهايمر كذلك لزيادة القدرات المعرفية .
- 3- اجراء دراسة نسجية ووظيفية على تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على الجهاز البولي للحيوانات المختبرية .
- 4- اجراء دراسة نسيجية باستخدام المجهر الاعتيادي والالكتروني لبيان تأثير غلوتامات الصوديوم الاحادية على الجهاز الوعائي القلبي للحيوانات المختبرية .
- 5- اجراء دراسة مناعية وجزئية لتاثير MSG على الحيوانات المختبرية .
- 6- اجراء دراسات فسيولوجية ونسجية لبيان تأثير انواع اخرى من المضافات الغذائية على العديد من اعضاء الجسم .

المصادر

Reference

- Abdou, S. E. ; Taha, N.M. ; Mandour, A. A. ; Lebda, M.A. ; El Hofi , H.R. & El-Morshedy, A.M. (2015) . Antifibrotic Effect of Curcumin on Thioacetamide Induced Liver Fibrosis . *Alex. J.Vet.Sci.* , 45(1) : 43-50.
- Abramova, A.Y.; Canevari, L. & Duchena, M.R. (2004). Calcium signals induced by amyloid h peptide and their consequences in neurons and astrocytes in culture . *Biochimica et Biophysica Acta* , 1742 (1): 81-87.
- Abu-Taweel, G.M. (2016). Effect of monosodium glutamate and aspartame on behavioral and biochemical parameters of male albino mice . *Afr. J. Biotechnol.* , 15(150): 601-612.
- Adebayo, O.L. ; Shallie, P.D. & Adenuga, G.A. (2011) . Lipid Peroxidation And Antioxidant Status Of Cerebrum , Cerebellum And Brain Stem Following Dietary Monosodium Glutamate Administration In Mice . *Asian J. Of Clin. Nutr.* , 3(2) :71-77 .
- Ahmed, O.M. ; EL-Abd, S.F.; El Mahdi, E.A. & Abdou, E. A. (2015) . Curcumin Ameliorative Efficacy on Type 1 Diabetes Mellitus Coexisted with Rheumatoid Arthritis in Wistar Rats . *Merit Res. J. Med. Med. Sci.*, 3(7) : 256-270 .
- Ahmed, T. & Gilani, A. (2009) . Inhibitory effect of curcuminoids on acetylcholinesterase activity and attenuation of scopolamine-

- induced amnesia may explain medicinal use of turmeric in Alzheimer's disease . *Pharmacol. Biochem. Behav.* , 91 (1) 554-559.
- Ajibade, A.J. & Fakunle, P. (2015). Neuroprotective effect of aqueous extract of *Garcinia kola* on monosodium glutamate - induced cerebral cortical damage in adult wistar rats . *Eur. J. med. Pla.*, 5(1):13-22.
- Ak, T. & Gülçin, İ. (2008) Antioxidant and Radical Scavenging Properties of Curcumin. *Chem. Biol. Interac.* , 174, 27-37.
- Alexander, N.C. ; Channa, N.J. & Waljit, S.D. (2014) . The relationship between gut and adipose hormones, and reproduction. *Hum. Reprod. Update* ;20(2) : 153-174.
- Al-Faleh, A. A. (2013). The Effect of Ginger, Curcumin and Their Mixture on Blood Glucose, Lipids in Diabetic Rats .(thesis), Saudi Arabia , King Abdulaziz University .
- Allani. (1974).Measurement of cholesterol. *Clin. Chem.* ,20:470-475.
- Alleyne, T. ; Mohan, N. ; Joseph, J. & Adogwa, A. (2011). Unraveling the role of metal ions and low catalytic activity of cytochrome C oxidase in Alzheimer's disease . *J. Mol. Neurosci.* , 43(3): 284-289 .
- Alloatti, G. ; Arnoletti, E.; Bassino, E.; Penna, C. ; Perrelli, M. G. ; Ghé, C. & Muccioli, G (2010) . Obestatin affords cardioprotection to the ischemic-reperfused isolated rat heart and inhibits apoptosis in cultures of similarly stressed cardiomyocytes . *Am. J. Physiol.* , 299(2): 470-481.

- Alvarez, G.; Munoz-Montano, J. R. ; Satrustegui, J. ; Avila, J. ; Bogónez, E. & Díaz-Nido, J. (2002). Regulation of tau phosphorylation and protection against β -amyloid-induced neuro degeneration by lithium. Possible implications for Alzheimer's disease. *Bipolar. Disord.* ,4:153-65.
- AL-Zamely, O. M. Y. (2001). Ischemic Heart Disease Via Oxidative Hypothesis . (Thesis), PH.D. ,Iraq ,University of AL-Mustansiriya.
- Amani , A. R. ; Somchit, M. N. ; Konting, M. M. & Kok, L.Y. (2010). Vitamin E and Curcumin Intervention on Lipid-Peroxidation and Antioxidant Defense System .*J. Am. Sci.* , 6(3):52-62 .
- Ammon, H. P. & Wahl, M. A. (1991) .Pharmacology of Curcuma longa. *Planta. Med.* , 57(1):1-7.
- Andrews, Z. B.; Liu, Z. W.; Wallingford, N.; Erion, D. M.; Borok, E. ;Friedman, J.M.; Tschöp, M.H. ; Shanabrough, M.; Cline, G.; Shulman, G.I. ; Coppola, A. ; Gao, X.B. ; Horvath, T.L. & Diano, S. (2008) . UCP2 mediates ghrelin's action on NPY/AgRP neurons by lowering free radicals. *Nature.* ; 454: 846–851.
- Anggono, V . ; Tsai, L. & Götz, J. (2016). Glutamate Receptors in Alzheimer's Disease: Mechanisms and Therapies . *Neural Plast.* , 2016 :1-3.
- Anstey, K.J. ; Cherbuin, N.; Herath, P.M.; Qiu, C. ; Kuller, L. H. ; Lopez, O. L. ; Wilson, R. S. & Fratiglioni, L. (2014) . A self-report risk index to predict occurrence of dementia in three

- independent cohorts of older adults: the ANU-ADRI . *PLoS One* , 9: 86141.
- Ashaolu, J.O. ; Ukwenya, V.O. & Okonoboh, A.B. (2011) . Effect of monosodium glutamate on hematological parameters in Wistar rats . *Int. J. Med. Med. Sci.* , 3(6):219-222.
- Ashry, M. A. ; Abd.Ellah, H. F. & Gheth, E.M. (2012). The Possible Ameliorative Effect of Propolis in Rat's Liver Treated with Monosodium Glutamate (MSG) . *Natu. Sci.* , 10(12):209 – 219.
- Ateya, R. H.; Taha, N.M.; Mandour, A.; da M.L. & El- Morshedy, A.M. (2016). Effect of Monosodium Glutamate and Sodium Nitrite on Some Biochemical Parameters in Japanese Quails . *Alex. J Vet. Sci.* , 48 (1): 107-114.
- Attia, A.M.; Ibrahim, F.A. ; Abd EL-Latif, N.A. & Aziz, S. W. (2014) . Antioxidant effects of curcumin against cadmium chloride-induced oxidative stress in the blood of rats . *J. Pharmacognosy Phytother.* , 6(3) : 33-40.
- Azevedo, F.A.C.; Carvalho, L.R.B.; Grinberg, L.T.; Farfel, J.M.; Ferretti, R.E.L.; Leite, R.E.P.; Filho, W.J.; Lent, R. & Herculano-Houzel, S. (2009). Equal numbers of neuronal and nonneuronal cells make the human brain an isometrically scaled-up primate brain. *J. Comp. Neurol.* , 513 (5): 532–541.
- Bak, D.; Kim, H. D. ; Kim, Y. ; Park, C. G. ; Han, S. & Kim, J. (2016) . Neuroprotective effects of 20(S)-protopanaxadiol

- against glutamate-induced mitochondrial dysfunction in PC12 cells . *Int. J. Mol. Med.* , 37(1) : 378-386.
- Banji, O. J. ; Banji, D. & Ch, K. (2014). Curcumin and hesperidin improve cognition by suppressing mitochondrial dysfunction and apoptosis induced by D-galactose in rat brain. *Food Chem. Toxicol.*, 74: 51–59.
- Banks, W. A. ; Tschop, M .S. ; Robinson, S. M. & Heiman, M. L. (2002) . Extent and direction of ghrelin transport across the blood – brain barrier is determined by its unique primary structure . *J. Pharmacol. Exp. Ther.* ; 302(2) : 822-827.
- Barbagallo, M.; Marotta, F. & Dominguez, L. J.(2015). Oxidative Stress in Patients with Alzheimer’s Disease: Effect of Extracts of Fermented Papaya Powder . *Mediators Inflamm.* , 624(80) :1-7 .
- Barham, K. j. ; Masters, C. L. & Bush, A. L. (2004). Neurodegenerative diseases and oxidative stress. *Nat-Rev. Drug. Discov.* , 3:205-214.
- Barzegar, A. & Moosavi-Movahedi, A. A .(2011) . Intracellular ROS protection efficiency and free radical-scavenging activity of curcumin . *PLoS ONE*, 6(10): 1-7.
- Basco, D.; Plastino, M.; Spanò, A. ; Ermio, C. & Fava, A. (2011). Glucose Metabolism and Insulin Action in Alzheimer’s Disease Pathogenesis . *Neuroscience* , 6(8):437-458.
- Bates, K.A. ; Verdile, G. ; Li, Q. X. ; Ames, D. ; Hudson, P. ; Masters, C. L. and Martins R. N. (2009) .Clearance mechanisms of

- Alzheimer's amyloid-beta peptide: implications for therapeutic design and diagnostic tests. *Mol. Psychiatry* ,14: 469-486.
- Beart, P.M. & O'Shea, R. D. (2007) . Transporters for L-glutamate: an update on their molecular pharmacology and pathological involvement. *Br. J. Pharmacol.* ,150 (1) :5-17.
- Beberashvili, I.; Sinuani, I.; Azar, A. ; Kadoshi , H. ; Shapiro, G. ; Feldman, L. ; Sandbank, J. & Averbukh, I.Z. (2013). Low Serum Concentration of Obestatin as a Predictor of Mortality in Maintenance Hemodialysis Patients . *Biomed. Res. Int.* , 13: 1-9.
- Bednarek, M. A. ; Feighner , S. D. ; Pong, S.S. ; McKee, K. K. ; Hreniuk, D. L. ; Silva, M. V. ; Warren, V. A. ; Howard, A. D.; Van Der Ploeg, L. H. & Heck, J.V. (2000). Structure- function studies on new growth hormone-releasing peptide , ghrelin :minimal sequence of ghrelin necessary for activation of growth hormone secretagogue receptor 1a . *J. Med. Chem.* , 43(23)4370-4376.
- Begum, A.N.; Jones, M.R.; Lim, G.P.; Morihara, T. ; Kim, P. ; Heath, D.D. ; Rock, C. L. ; Pruitt, M. A. ; Yang, F. ; Hudspeth, B. ; Hu, S. ; Faull, K. F. ; Teter, B. ; Cole, G. M. & Frautschy, S. A. (2008). Curcumin Structure-Function, Bioavailability, and Efficacy in Models of Neuroinflammation and Alzheimer's Disease. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* , 326(1): 196-208.
- Bello, I. & Salerno, M. (2015). Evidence against a role of P-glycoprotein in the clearance of the Alzheimer 's disease A β ₁₋₄₂ Peptides. *Cell Stress Chaperones* , 20(1):421-430.

- Belyaev, I .; Dean, A.; Eger, H. ; Hubmann, G. ; Jandrisovits, R. Johansson, O.; Kern, M.; Kundi, M.; Lercher, P. ; Mosgöller. W.; Moshhammer, H. ; Müller, K . ; Oberfeld, G .; Ohnsorge, P.; Pelzmann, P.; Scheingraber, C. & Thill, R. (2015). Europaem EMF Guideline 2015 for the prevention, diagnosis and treatment of EMF-related health problems and illnesses . *Rev. Environ Health* , 30(4): 337-371.
- Bergeron, R.J. ;Wiegand, J. ; Weimar, W. R. ; McManis, J. S.; Smith, R. E. & Abboud, K. A. (2003). Iron chelation promoted by desazades ferrithiocin analog. *Chirality* , 15 : 593-599.
- Beyreuther, K.; Biesalski, H.K.; Fernstrom, J.D.; Grimm, P.; Hammes, W.P.; Heinemann, U.; Kempfski, O.; Stehle, P.; Steinhart, H. & Walker , R. (2006). Consensus meeting: monosodium glutamate – an update . *Eur. J. Clin. Nutr.* , 2(6): 1-10. .
- Bojanić ,V. ; Bojanić , Z.; Najman, S.; Savić , T.; Jakovljević, V . Najman, S. & Jančić, S. (2009). Diltiazem prevention of toxic effects of monosodium glutamate on ovaries in rats . *Gen. Physiol. Biophys.* , 28 (1):149-154.
- Bolanos, J.P.; Herrero-Mendez, A.; Fernandez-Fernandez, S. & Almeida, A. (2007). Linking glycolysis with oxidative stress in neural cells: a regulatory role for nitric oxide. *Biochem. Soc. Trans.* , 35 (5): 1224-1227.
- Borsari, M .; Ferrari, E .; Grandi, R. & Saladini, M. (2002) . Curucminoids as potential new iron-chelating agents: Spectroscopic, polarographic and potentiometric study on

- their Fe(III) complexing ability. *Inorg. Chim. Acta* , 328(1):61–68.
- Bradford, P.G.(2013). Curcumin and Obesity . *International Union of Biochem. Mol. Biol.* , 39(1): 78–87.
- Bresciani, E .; Rapetti, D.; Donà, F.; Bulgarelli, I. ; Tamiazzo, L. ; Locatelli, V. & Torsello A. (2006). Obestatin inhibits feeding but does not modulate GH and corticosterone secretion in the rat. *J. Endocrinol. Invest.* , 29(8): 16–18 .
- Brown, G.C. (2010) . Nitric oxide and neuronal death. *Nitric Oxide* , 23: 153-165.
- Bubber, P.; Haroutunian, V. ; Fisch, G.; Blass, J. P. & Gibson, G. E. (2005) . Mitochondrial abnormalities in Alzheimer brain : mechanistic implications . *Ann. Neurol.* , 57: 695–703.
- Burrin, D. G. & Stoll, B. (2016). Metabolic fate and function of dietary glutamate in the gut. *Am. J. Clin. Nutr.* , 90(1):850–856 .
- Burstein, M. J. (1970). Measurement of HDL. *Lipid Res.* , 11:583.
- Bush, A. & Tanzi, R. (2008) Therapeutics for Alzheimer’s Disease Based on the Metal Hypothesis. *Neurotherapeutics* , 5, 421-432.
- Butterfield & Lauderback (2002).lipid peroxidation and protein oxidation in Alzheimer’s disease brain :potential causes and sequences involving amyloid -beta peptide associated free radicals oxidative stress . *Free Radic . Biol . Med .* , 32(1):1050-1060.

- Caesar, I.; Jonson, M. ; Nilsson, K.P.R. ; Thor, S. & Hammarström, P. (2012) Curcumin Promotes A-Beta Fibrillation and Reduces Neurotoxicity in Transgenic Drosophila. *PLoS ONE*, 7(1) : 1-16.
- Calkins, M. J.; Manczak, M.; Mao, P. ; Shirendeb, U. & Reddy, P.H. (2011) . Impaired mitochondrial biogenesis , defective axonal transport of mitochondria , abnormal mitochondrial dynamics and synaptic degeneration in a mouse model of Alzheimer's disease. *Hum . Mol . Genet. , 20: 4515–4529.*
- Cárdenas-Aguayo ; Silva-Lucero ; Cortes-Ortiz ; Jiménez-Ramos ; Gómez-Virgilio ; Ramírez-Rodríguez; Vera-Arroyo ; Fiorentino-Pérez ; García ; Luna-Muñoz & Meraz-Ríos (2014) . Physiological role of Amyloid Beta in Neural Cells: The Cellular Trophic Activity . *J. Neurochem. , 1: 1-25.*
- Carlo, M.D. (2012) . Simple model systems: a challenge for Alzheimer's disease. *Immun. Ageing , 9 (3):1-8 .*
- Cash, D.M.; Liang, Y.; Ryan, N.S.; Kinnunen, K. M.; Yeatman, T.; Malone, I.B.; Benzinger, T. L.; Jack, C.R. ; Thompson, P.M.; Ghetti, B.F.; Saykin, A. J.; Masters, C.L. ; Ringman, J.M. ; Salloway, S.P.; Schofield, P.R. ; Sperling, R.A. ; Cairns, N.J. ; Marcus, D.S. ; Xiong, C. ; Bateman, R.J. ; Morris, J.C. ; Rossor, M.N. ; Ourselin, S. & Fox, N.C. (2013). The pattern of atrophy in familial alzheimer disease: volumetric MRI results from the DIAN study. *Neurology , 81: 1425–1433.*
- Castilho, R.F.; Hansson, O.; Ward, M.W. ; Budd, S.L. & Nicholls, D.G. (1988). Mitochondrial Control of Acute Glutamate

- Excitotoxicity in Cultured Cerebellar Granule Cells . *J. Neurosci.* ,18 (24):10277–10286.
- Castrogiovanni, D.; Ongaro, L.; Zuburía, G.; Giovambattista, A. & Spinedi, E. (2015). Oral Metformin Treatment Counteracts Adipoinular Axis Dysfunction in Hypothalamic Obese Rats . *Int. Sch. Res. Notices* , 2(5):1-9.
- Changeux , J.P.(2010). Allosteric receptors: from electric organ to cognition. *Ann Rev Pharmacol Toxicol.* , 50:1–38
- Chaturvedi, R. K. & Beal, M. F. (2008). Mitochondrial approaches for neuroprotection . *Ann . N. Y. Acad . Sci.* , 1147: 395–412.
- Cirrito, J.R.; Deane, Rl.; Fagan, A.M.; Spinner, M. L.; Parsadanian, M. ; Finn, M.B. ; Jiang, H. ; Prior, J.L. ; Sagare, A. ; Bales, K. R.; Paul, S. M.; Zlokovic, B. V.; Pivnicka-Worms, D. & Holtzman, D. M (2005). P-glycoprotein deficiency at the blood-brain barrier increases amyloid-beta deposition in an Alzheimer disease mouse model. *J. Clin. Invest.* , 115:3285-3290.
- Clark, C. M. & Trojanowski, J. Q. (2000) . Neurodegeneration dementia. The McGraw-Hill Company . USA :117-123.
- Cole, G. M.; Teter, B. & Frautschy, S.A. (2007) . Neuroprotective effects of curcumin. *Adv. Exp. Med. Biol.* ,595 : 197–212.
- Collison, K.S.; Makhoul, N.J.; Inglis, A.; Al-Johi, M.; Zaidi , M. Z.; Maqbool, Z.; Saleh, S.M.; Bakheet, R.; Mondreal, R.; Al-Rabiah, R.; Shoukri, M.; Milgram, N. W. & Al-Mohanna, F. A. (2010). Dietary trans-fat combined with monosodium glutamate

- induces dyslipidemia and impairs spatial memor. *Physiol. Behav.*, 99:334-342.
- Constantinidis, C.; Williams, G. V. & Goldman-Rakic, P. S. (2002). A role for inhibition in shaping the temporal flow of information in prefrontal cortex. *Nat. Neurosci.*, 5:175–180.
- Cooper, J. L. & Jeitner, T. M. (2016) . Central Role of Glutamate Metabolism in the Maintenance of Nitrogen Homeostasis in Normal and Hyperammonemic Brain . *Biomolecules* , 6(16) : 1-33 .
- Coulter, D. A. & Eid, T. (2012). Astrocytic Regulation of Glutamate Homeostasis in Epilepsy . *Glia* , 60:1215–1226 .
- Cowley, M. A.; Smith, R. G.; Diano, S. ; Tschop, M.; Pronchuk, N.; Grove, K. L.; Strasburger, C. J.; Bidlingmaier, M .; Esterman, M.; Eiman, M. L. ; Garcia-Segura, L. M. ; Nillni, E. A. ; Mendez, P. Low, M. J.; Sotonyi, P.; Friedman, J. M.; Liu, H.; Pinto, S.; Colmers, W. F.; Cone, R. D. & Horvath, T. L. (2003). The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron* , 37(2):649–661.
- Cummings, D. E. (2006) . Ghrelin and the short and the long-term regulation of appetite and body weight . *Physiol. Behav.* , 89(1):71-84.
- Curr probl cancer .(2007) . Role of curcumin in cancer therapy . *Elsevier* , 31(4) :243-305.

- da Silva, V.K. ; de Freitas, B.S.; da Silva, D. A.; Nery, L. R. ; Falavigna, L.; Ferreira, R. D.; Bogo, M. R.; Hallak, J. E.; Zuardi , A. W.; Crippa, J. A. & Schröder, N.(2014) . Cannabidiol normalizes caspase 3, synaptophysin, and mitochondrial fission protein DNMT1L expression levels in rats with brain iron overload: implications for neuroprotection . *Mol. Neurobiol.* , 49(1):222-33.
- Daniels, D.; Joe, F.; & Diachenko, G. (1995). Determination of free glutamic acid in a variety of foods by high-performance liquid chromatography. *Food Addit. Contam.* , 12(1): 21–29.
- Darreh-Shori,T. ; Meurling,L. ; Petters- son,T.; Hugosson,K.; Hellström- Lindahl, E. ; Andreassen, N. ; Minthon, L. ; & Nordberg , A. (2006). Changes in the activity and protein levels of CSF acetylcholinesterases in relation to cognitive function of patients with mild Alzheimer’s disease following chronic donepezil treatment. *J. Neural. Transm.* ,113: 1791–1801.
- Date, Y.; Kojima, M.; Hosoda, H.; Sawaguchi, A.; Mondal, M.S.; Suganuma, T.; Matsukura, S. ; Kangawa, K. & Nakazato, M. (2000). Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tractsof rats and humans. *J. Endocrinol.* , 141:4255–4261.
- Davenport, A.P.; Bonner, T.I. ; Foord, S. M.; Harmar, A. J.; Neubig, R. R. , Pin, J. P.; Spedding, M.; Kojima, M. & Kangawa, K. (2005). International Union of Pharmacology. LVI. Ghrelin

- receptor nomenclature, distribution, and function. *Pharmacol. Rev.*, 57:541–546.
- Derochette, S.; Franck, T.; Mouithys-Mickalad, A. ; Ceusters, J. ; Deby-Dupont, G. ; Lejeune, J. P. ; Neven, P. & Serteyn, D. (2013). Curcumin and resveratrol act by different ways on NADPH oxidase activity and reactive oxygen species produced by equine neutrophils . *Chem. Biol. Interact.* , 206(2): 186–193.
- Desjardins, P. ; Belanger, M. & Butterworth, R. F. (2001). Alterations in expression of genes coding for key astrocytic proteins in acute liver failure. *J. Neurosci. Res.* , 66: 967–971.
- Dhianawaty, D.; Martiana, A. & Surialaga, S. (2014). Effect of curcuma longa l. rhizome decoct on glucose absorption level in intestine of male rat of wistar strain. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* , 6(4):1-4.
- Diefa, A. E.; Kamhab, E. S.; Barakac, A. M. & Elshorbagya , A. K. (2014). Monosodium glutamate neurotoxicity increases beta amyloid in the rat hippocampus: A potential role for cyclic AMP protein kinase. *Neuro. Toxicol.* , 42: 76–82.
- Dringen, R. (2000). Glutathione metabolism and oxidative stress in neurodegeneration. *Eur. J. Biochem.* 267(16) :4903
- Du, H. & Yan, S. S (2010) . Mitochondrial medicine for neurodegenerative diseases. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* , 42: 560–572.

-
- Eckert, G. P. & Muller, W. E. (2014) . Mitochondrial dysfunction: cause and consequence of Alzheimer's. *Mitochondrion Aging Dis.* ; 127: 183-210.
- Edward, C. & Lei, X. (2014) . Therapeutic Effects of Curcumin on Alzheimer's Disease . *Alzheimers Dis.* , 3: 145-159.
- El- Mestikawy, S.; Wallén-Mackenzie, A.; Fortin, G.M.; Descarries, L. & Trudeau, L.E. (2011) . From glutamate co-release to vesicular synergy: Vesicular glutamate transporters. *Nat. Rev. Neurosci.* , 12: 204-216.
- El-Nahrawy, W. A.; Wahba, S. M. & Eldurssi, I. S. (2012). The Potential Effects of Propolis against Monosodium Glutamate (MSG) Toxic Effects on Some Biochemical Aspects of Kidney . *Life Sci. J.* , 9(4): 4044 - 4054.
- Elsayed, A. S. (2016). The curcumin as an antioxidant natural herb, with emphasize on its effects against some diseases . *Int. J. Appl. Biol. Pharm. Technol.* , 7(1):26-40.
- El-Wakf, A. M.; Elhabiby, E. M. ; El-kholy, W. M. & El-Ghany, E. A. (2011). Use of Tumeric and Curcumin to Alleviate Adverse Reproductive Outcomes of Water Nitrate Pollution in Male Rats . *Nat. Sci.* , 9(7):229-239.
- Elyazji, N.; Abdel -Aziz , I .; Shahwa, O. & Lubbad, A . (2015) . Effects of Monosodium Glutamate on Some Biochemical and Hematological Parameters in Adult Rabbits and Potential Protective Effect of Soybean Oil . *J. Biol. Chem. Research.* , 32 (1): 131 -141.
-

- European food safety Authority (2015) . Scientific Opinion on the safety of the change in the production method of L-glutamic acid (E620), monosodium L-glutamate (E621), monopotassium L-glutamate (E622), calcium di-L-glutamate (E623), monoammonium L-glutamate (E624) and magnesium di-L-glutamate (E625) . *EFSA J.* , 13(1):3981.
- Eweka, A. O.; Igbigbi, P. S. & Ucheya, R. E. (2011). Histochemical Studies of the Effects of Monosodium Glutamate on the Liver of Adult Wistar Rats. *Ann. Med. Health Sci. Res.* , 1(1): 21-29.
- Fabian, H. ; Szendrei, G. I. ; Mantsch, H. H. & Otvos, L. (1993). Comparative analysis of human and Dutch -type Alzheimer b-amyloid peptides by infrared spectroscopy and circular dichroism . *Bil. Chem. Biophys. Res. Commun.* , 191(2) :232-239.
- Farombi, E. O.; Shrotriya, S.; Na, H. ; Kim, S. & Surh, Y. (2008). Curcumin attenuates dimethylnitrosamine-induced liver injury in rats through Nrf2-mediated induction of heme oxygenase-1 . *Food Chem. Toxicol.* , 46 (1) 1279–1287.
- Farombi, E. O. & Onyema, O. O. (2006) . damage and genotoxicity in the rat: modulatory role of vitamin C, vitamin E and quercetin. *Hum. Exp. Toxicol.* , 25 (5):251-259.
- Ferri , C. P.; Prince, M.; Brayne, C.; Brodaty, H.; Fratiglioni, L.; Ganguli, M.; Hall, K.; Hasegawa, K.; Hendrie, H.; Huang, Y.; Jorm, A. ; Mathers, C.; Menezes, P.R.; Rimmer, E. &

- Scazufca, M . (2005). Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. *Lancet* , 366(9503):2112-2117.
- Fishman, E.B. ; Siek, G. C. ; Mac Callum, R. D. ; Bird ,E.D. ; Volicer,L. & Marquis, J.K.(1986).Distribution of the molecular forms of acetyl- cholinesterase in human brain ,alterations in dementia of the Alzheimer type. *Ann. Neurol.* , 19, 246–252.
- Fox, P. J. ; Kelly, S.E. & Tobin, S.L. (1999). Defining dementia : social and historical background of AD. *Genet . Test.* , 3: 13-19.
- Franckhauser, S.; Muñoz, S.; Elias, I.; Ferre, T. & Bosch, F. (2006). Adipose overexpression of phosphoenolpyruvate carboxykinase leads to high susceptibility to diet-induced insulin resistance and obesity. *Diabetes* , 55(2) : 273–280.
- Ganguli, M.; Chandra, V.; Kamboh, M.I.; Johnston, J.M.; Dodge, H.H.; Thelma, B.K. ; Juyal, R.C. ; Pandav, R. ; Belle, S.H. & DeKosky, S. T. (2000) Apolipoprotein E Polymorphism and Alzheimer Disease: The Indo-US Cross-National Dementia Study. *Arch. Neurol.* , 57, 824- 830.
- Gao, M.; Zhou, H. & Li, X. (2009). Curcumin Protects PC12 Cells from Corticosterone-Induced Cytotoxicity: Possible Involvement of the ERK1/2 Pathway . *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* , 104 : 236–240 .
- Garcia-Alloza, M. ; Borrelli, L.A. ; Rozkalne, A.; Hyman, B.T. & Bacskai, B.J. (2007) .Curcumin Labels Amyloid Pathology in Vivo, Disrupts Existing Plaques, and Partially Restores Distorted

- Neurites in an Alzheimer Mouse Model. *J. Neurochem.* , 102, 1095-1104
- García-Ayllón, M. S. ; Riba-Llena, I.; Serra-Basante, C.; Alom, J. ; Boopathy, R. & Sáez-Valero, J. (2010) . Altered levels of acetyl-cholinesterase in Alzheimer plasma. *PLoS ONE*, 5: 8701.
- García-Ayllón, M. S.; Small, D. H.; Avila, J. & Sáez-Valero, J. (2011) . Revisiting the role of acetylcholinesterase in Alzheimer's disease: cross-talk with P-tau and β -amyloid. *J. Mol. Neurosci.* , 4(22):1-9.
- Garcia-Nino, W. R. & Pedraza-Chaverri, J. (2014). Protective effect of curcumin against heavy metals induced liver damage. *Food Chem. Toxicol.* , 69 :182–201.
- Ghoneim, A. I.; Abdel-Naim, A. B.; Khalifa, A. E. & El-Denshary, E. S. (2002) . Protective effects of curcumin against ischaemia/reperfusion insult in rat forebrain. *Pharmacol. Res.* , 46: 273–279.
- Ghorbani, Z.; Hekmatdoost, A. & Mirmiran, P. (2014). Anti-Hyperglycemic and Insulin Sensitizer Effects of Turmeric and Its Principle Constituent Curcumin . *Int. J. Endocrinol. Metab.* , 12(4):1-9.
- Gibellini, L.; Bianchini, E.; Biasi, S.D. ; Nasi, M. ; Cossarizza, A. & Pinti, M. (2015) . Natural Compounds Modulating Mitochondrial Functions. *J. Evid. Based Complementary Altern. Med.* , 2(15) : 1-13.

- Gonzalez, B.; Perez, V. & Zarate, C. (2001). Neonatal exposure of monosodium glutamate Induced Cell Death and Dendritic hypotrophy in rat prefrontocortical pyramidal neurons . *Neurosci. Lett.* , 297(2):69-72.
- González-Castejón, M. & Rodríguez-Casado, A. (2011). Dietary phytochemicals and their potential effects on obesity: A review. *Pharmacol. Res.*, 64 (1): 438– 455.
- Goozee, K. G.; Shah, T. M .; Sohrabi, H. R.; Rainey-Smith, S. R.; Brown, B. ; Verdile, G. & Martins, R. N. (2016). Examining the potential clinical value of curcumin in the prevention and diagnosis of Alzheimer's disease. *Br. J. Nutr.*, 115 : 449– 465.
- Grabacka, M. M. ; Gawin, M. & Pierzchalska, M . (2014). Phytochemical Modulators of Mitochondria: The Search for Chemopreventive Agents and Supportive Therapeutics . *Pharmaceuticals*, 7(1): 913-942 .
- Graham, D. I. & Lantos, P.L. (2002). Greenfield's Neuropathology . 7th.(ed.) Vol.2. Oxford University Press. london:203-226.
- Grienberger, C.; Rochefort, N. L.; Adelsberger, H.; Henning, H. A.; Hill D.N. ; Reichwald, J. ; Staufenbiel, M. & Konnerth A. (2012) . Staged decline of neuronal function in vivo in an animal model of Alzheimer's disease. *Nat. Commun .* , 774:1-10.
- Guan, J. L.; Wang, Q. P.; Kageyama, H.; Takenoya, F.; Kita, T.; Matsuoka, T.; Funahashi, H. & Shioda, S. (2003). Synaptic interactions between ghrelin- and neuropeptide Y-

- containing neurons in the rat arcuate nucleus. *Peptides* ;24: 1921-1928.
- Guddarangavanahelly, K. & jaypiakarha (2002). Improve HPLC method for determination of curcumonoids . *J. Agrcultur. Food chem.* , 50(3): 3668 -3672.
- Guo, C. ; Sun, L. ; Chen, X. & Zhang, D. (2013). Oxidative stress, mitochondrial damage and neurodegenerative diseases . *Neural. Regen. Res.* , 8(21):2003-2014.
- Guo, M.; Yu, J. & Ma, C. (2011). Mechanisms related to neuron injury and death in cerebral hypoxic ischaemia . *Folia Neuropathol.* , 49 (2): 79-87.
- Haass, C. & Selkoe, D. J. (2007). Soluble protein oligomers in neurodegeneration: lessons from the Alzheimer's amyloid beta-peptide. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* , 8(1): 101-112.
- Hagl, S.; Heinrich, M. ; Kocher, A.; Schiborr, C.; Frank, J. & Eckert, G. P. (2014). Curcumin Micelles Improve Mitochondrial Function in a Mouse Model of Alzheimer's Disease . *J. Prev. Alz. Dis.* , 1(2) :80-83 .
- Halliwell, B. & Gutteridge, J. (2007). Free Radicals in Biology and Medicine . Oxford Press, Oxford
- Han, M. & Kim, J. (2015). Effect of Dietary Iron Loading on Recognition Memory in Growing Rats . *PLoS ONE* , 10(3):1-20.
- Han, W. & Li, C. (2010) . Linking type 2 diabetes and Alzheimer's disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* , 107:6557-8.

-
- Hartman, T.; Kuchenbecker, J. & Grimm, M. O. (2007). Alzheimer's disease: the lipid connection. *J. Neurochem.* ,103:159-170.
- Hashish, E. A. & Elgaml, S. A. (2016). Hepatoprotective and Nephroprotective Effect of Curcumin Against Copper Toxicity in Rats .*Indian J. Clin. Biochem.* , 31(3): 270–277.
- Hassan, Z. A. ; Arafa, M. H.; Soliman, W. I.; Atteia, H. H. & Al-Saeed, H. F. (2014) . The Effects of Monosodium Glutamate on Thymic and Splenic Immune Functions and Role of Recovery (Biochemical and Histological study) .*J. Cytol. Histol.* , 5(6): 1-9.
- Hawkins, R. A. (2009) . The blood-brain barrier and glutamate. *Am. J. Clin. Nutr.* , 90(1):867 –74 .
- He, K. & Liancheng, Z . (2008). Association of Monosodium Glutamate Intake With Overweight in Chinese Adults: The Intermap Study. *Obesity* , 16:1875 - 1880.
- He, Y.; Yue, Y.; Zheng, X.; Zhang, K.; Chen, S. & Du, Z. (2015). Curcumin, Inflammation, and Chronic Diseases: How Are They Linked? .*Molecules* , 20(1): 9183-9213.
- He, K.; Du, S. ; Xun, P. ; Sharma, S. ; Wang, H. ; Zhai , F. & Popkin, B. (2011) .Consumption of Monosodium Glutamate in Relation to Incidence of Overweight in Chinese Adults: China Health and Nutrition Survey (CHNS) . *Am. J. Clin. Nutr.* , 93(6):1328-1336.

- Heckers, S.; Geula, C. & Mesulam, M. M. (1992). Acetylcholinesterase -rich pyramidal neurons in Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* ; 13:455-460.
- Helisalmi, S. (1998). Molecular Genetics of Al-Zheimer Disease with Special Emphasis on Presenilin , Amyloid Beta Precursor Protein and Apolipoprotein E Gene .Ph.D. Thesis/Department of Neurology/ university of Kuopio.
- Herbst, E. A. & Holloway, G.P. (2016) . Exercise increases mitochondrial glutamate oxidation in the mouse cerebral cortex . *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* , 41: 799-801.
- Hidaka, S.; Yoshimatsu, H.; Kondou, S.; Oka, K.; Tsuruta, Y.; Sakino, H.; Itateyama, E.; Noguchi, H.; Himeno, K.; Okamoto, K. ; Teshima, Y. ; Okeda, T. & Sakata, T. (2001). Hypoleptinemia, but not hypoinsulinemia, induces hyperphagia in streptozotocin-induced diabetic rats . *J. Neurochem.*, 77:993-1000.
- Hirzel, E.; Lindinger, P.W.; Maseneni, S. ; Giese, M. ; Rhein, V. V. ; Eckert, A. ; Hoch, M. ; Krähenbühl, S. & Eberle, A. N. (2013) . Differential modulation of ROS signals and other mitochondrial parameters by the antioxidants Mito Q, resveratrol and curcumin in human adipocytes. *J. Recept. Signal Transduct.* , 33(5) :304-312.
- Holst, B. & Schwartz (2004). Constitutive ghrelin receptor activity as a signaling set -point-in appetite regulation. *Trends Pharmacol. Sci* ; 25 (3): 113-117.

- Hoyer, S. (2000). Brain glucose and energy metabolism abnormalities in sporadic Alzheimer's disease. Causes and consequences: *An. update. Exp. Gerontol.* , 35: 1363-1372.
- Hu, S.; Wang, D.; Zhang, J.; Du, M.; Cheng, Y.; Liu, Y.; Zhang, N. & Wu, Y. (2016) . Mitochondria Related Pathway Is Essential for Polysaccharides Purified from *Sparassis crispa* Mediated Neuro-Protection against Glutamate-Induced Toxicity in Differentiated PC12 Cells . *Int. J. Mol. Sci* , 17(33):1-13.
- Huang, H. M. ; Zhang, H. ; Xu, H. & Gibson, G. E. (2003) .Inhibition of the α - ketoglutarate dehydrogenase complex alters mitochondrial function and cellular calcium regulation. *Biochim .Biophys .Acta* ;1637: 119–126.
- Huang, W. ; Chiu, W. & Chuang, H. (2015). Effect of Curcumin Supplementation on Physiological Fatigue and Physical Performance in Mice . *Nutrients* , 7: 905-921.
- Huberfeld, G. & Vecht, C. V. (2016). Seizures and gliomas towards a single therapeutic approach. *Nat. Rev. Neurol.*, 12 : 204–216.
- Husarova, V. & Ostatnikova (2013) . monosodium glutamate toxic effects and there implications for human intake . *JMED Res* , 2:1-12.
- Hussein, H. K. & Abu-Zinadah, O. A. (2010) . Antioxidant effect of curcumin extracts in induced diabetic wister rats . *Int. J. Zool. Res.* , 6(4):266-276 .

- Hussein, S. A. ; Azab, M. E. & El- Shall, S. K. (2014). Protective effect of curcumin on oxidant defense system and oxidative stress in liver tissue of iron overload rats. *Asian J. Clin. Nutr.* , 6(1):1-17 .
- Hynd, M. R. ; Scott, H. L. & Dodd, P. R. (2004). Glutamate -mediated excitotoxicity and neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Neurochem. Int.* , 45(1) :583 - 595.
- Hyndaman, A. & Adler, R. (1981). Analysis of glutamate uptake and monosodium toxicity in neural retine monolayer culteres . *Dev. Brain Res.* , 254(2):303-314.
- Itkin, A. ; Dupres, V. ; Dufre[^]ne, Y. F. ; Bechinger, B. ; Ruyschaert, J. & Raussens, V. (2011). Calcium Ions Promote Formation of Amyloid b-Peptide (1-40) Oligomers Causally Implicated in Neuronal Toxicity of Alzheimer's Disease . *PLoS ONE* , 6(3):1-10.
- Iwanaga, T. ; Goto, M. & Watanabe, M. (2005) . Cellular distribution of glutamate transporters in the gastrointestinal tract of mice: an immunohistochemical and in situ hybridization approach. *Biomed. Res.* , 26 (1) :271-278.
- Iwata, Y. ; Nakajima, S. ; Suzuki, T. ; Keefe, R. S. ; Plitman, E. ; Chung, J. K. ; Caravaggio, F. ; Mimura, M . ; Graff-Guerrero, A. & Uchida, H. (2015). Effects of glutamate positive modulators on cognitive deficits in schizophrenia: a systematic review and meta-analysis of double-blind randomized controlled trials. *Mol. Psychiatry* , 20(1): 1151-1160.

- Jackson, J. G ; O'Donnell, J. C. ; Takano, H. ; Coulter, D. A. & Robinson, M. B. (2014). Neuronal Activity and Glutamate Uptake Decrease Mitochondrial Mobility in Astrocytes and Position Mitochondria Near Glutamate Transporters . *J. Neurosci.* , 34(5):1613–1624 .
- Jaina, A. & Mathura, P. (2015) . Estimation of Food Additive Intake— Overview of the Methodology . *Food Rev. Int.* , 31:355–384.
- Jayanarayanan, S. ; Smijin, S. ; Peeyush, K. T. ; Anju, T. R. & Paulose, C. S. (2013) . NMDA and AMPA receptor mediated excitotoxicity in cerebral cortex of streptozotocin induced diabetic rat: ameliorating effects of curcumin . *Chem. Biol. Interact.* , 201(1–3): 39–48 .
- Jiang, J.; Wang, W.; Sun, Y.J. ; Hu, M. ; Li, F. & Zhu, D.Y. (2007) Neuroprotective Effect of Curcumin on Focal Cerebral Ischemic Rats by Preventing Blood-Brain Barrier Damage. *Eur. J. Pharm.* , 561, 54-62.
- Jovanovic, S.V. ; Boone, C. W. ; Steenken, S. ; Trinoga, M. & Kaskey, R. B. (2001). How curcumin works preferentially with water soluble antioxidants . *J. Am. Chem. Soc.*, 12(1) : 3064–3068.
- Jun, D. ; Sheng, Q. ; Da-xing , L. & Liang, Y. (2009) . effect of curcumine on scopolamine – induced memory impairment in mice . *Chin. J. Pathophysiol.* , 25(1): 112-117 .
- June . (2003). Food standards Australia new Zealand . *Copyright Act.* , 20:1-36.

- Kadasa, N. M. ; Abdallah, H. ; Afifi, M.; Gowayed, S. (2015). Hepatoprotective effects of curcumin against diethyl nitrosamine induced hepatotoxicity in albino rats. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* , 16(1):103-8.
- Kamegai, J. ; Tamura, H. ; Shimizu, T. ; Ishii, S. ; Sugihara, H. & Wakabayashi, I. (2001). Chronic central infusion of ghrelin increases hypothalamic neuropeptide Y and agouti related protein mRNA levels and body weight in rats. *Diabetes* , 50: 2438–2443.
- Kanekiyo, T. ; Cirrito, J. R.; Liu, C. C. ; Shinohara, M. ; Li, J. ; Schuler, D.R. ; Shinohara, M. ; Holtzman, D. M. & Bu, G. (2013) . Neuronal clearance of amyloid-beta by endocytic receptor LRP1. *J. Neurosci.* , 33 : 19276-19283.
- Kapakos, G. ; Youreva, V. & Srivastava, A. K. (2012). Cardiovascular Protection by Curcumin: Molecular Aspects . *Indian J. Biochem. Biophys.* , 49: 306-315.
- Kapoor, S. & Priyadarsini, K. I. (2001). Protection of radiation-induced protein damage by curcumin. *Biophys. Chemist.* , 92 (2): 119–126.
- Katzung, B. G. (2001). Basic and clinical pharmacology :Introduction to autonomic pharmacology (8 ed.). *The McGraw Hill Companies.* pp. 75–91.
- Kaur, H. ; Bal, A. & Sandhir, R. (2014) . Curcumin supplementation improves mitochondrial and behavioral deficits in experimental model of chronic epilepsy . *Pharmacol. Biochem. Behav.* , 125 (1) :55–64 .

- Khedr, N. F. & Khedr, E. G. (2014) . Antioxidant and Anti-inflammatory Effects of Curcumin on CCl₄ – induced Liver Fibrosis in Rats . *Am. J. Biomed. Sci.* , 6(3), 191-200.
- Khodorov, B. ; Pinelis, V. ; Vergun, O. ; Storozhevykh, T. ; Vinskaya, N. (1996). Mitochondrial deenergization underlies neuronal calcium overload following a prolonged glutamate challenge. *FEBS J.* , 397(2-3) :230-234.
- Khorrami, A. ; Ghanbarzadeh, S. ; Mahmoudi, J. ; Nayebi, A. M. ; Maleki-Dizaji, N. & Garjani, A. (2014) . Investigation of the memory impairment in rats fed with oxidized-cholesterol-rich diet employing passive avoidance test. *Drug Res.* , 64:1-7.
- Kierszenbaum , A. L. (2016). Histology and cell biology An introduction to pathology . fourth Edition.
- Kim, B. H. ; Lee, E. S. ; Choi, R. ; Nawaboot, J. ; Lee, M. Y. ; Lee , E. Y. ; Kim, H. S. & Chung, C. H. (2016) . Protective Effects of Curcumin on Renal Oxidative Stress and Lipid Metabolism in a Rat Model of Type 2 Diabetic Nephropathy . *Yonsei. Med. J.* , 57(3):664-673.
- Kim, D. S. ; Kim, J. Y. & Han, Y. (2012) Curcuminoids in neurodegenerative diseases. *Recent Pat. CNS. Drug Discov.* , 7(1) :184–204.
- Kim, S. H. ; Vlkolinsky, R. ; Cairns, N. ; Fountoulakis, M. ; Lubec, G. (2001) The reduction of NADH ubiquinone oxidoreductase

- 24- and 75-kDa subunits in brains of patients with Down syndrome and Alzheimer's disease. *Life Sci.* , 68:2741–2750.
- Kitamura, A. ; Tsurugizawa, T. & Torii, K. (2011). Biological Significance of Glutamate Signaling during Digestion of Food through the Gut-Brain Axis . *Digestion* , 83(1):37–43.
- Kiuchi, F.; Goto, Y.; Sugimoto, N. ; Akao, N. ; Kondo, K. ; Tsuda, Y. (1993). Nematocidal activity of turmeric: synergistic action of curcuminoids. *Chem. Pharm. Bull.* , 41(9):1640-1643.
- Kohli, K. ; Ali, J. ; Ansari, M. J. & Raheman, Z. (2005). Curcumin: A natural antiinflammatory agent . *Indian J. Pharmacol.* , 37(3): 141-147.
- Kojima, M. & Kangawa, K. (2005). Ghrelin : structure and function . *Physiol. Rev.* , 85:495-522.
- Korbonits, M. & Grossman, A. B. (2004) . Ghreline : update on a novel hormonal system . *Eur. J. Endocrinol.* , 151 (1): 67-70.
- Kristin, L. ; Bigos ; Ahmad, R.; Hariri ; Daniel, R. & Weinberger (2015). Neuroimaging Genetics: Principles and Practices. Oxford University Press. p. 157 .
- Kritis, A. A. ; Stamoula, E. G. ; Paniskaki, K. A. & Vavilis, T. D. (2015). Researching glutamate-induced cytotoxicity indifferent cell lines :a comparative /collective analysis/study . *Front. Cell Neurosci.* , 9(91):1-18 .
- Kulkarni, S. J. ; Maske, K. N. ; Budre, M. P. & Mahajan, R. P. (2012) . Extraction and purification of curcuminoids from Turmeric

- (curcuma longa L.). *Int. J. Pharmacol Pharmaceut. Tech.* , 1(2): 2277 – 3436.
- Kulkarni, S.K. ; Dhir, A. & Akula, K. K. (2009). Potentials of Curcumin as an Antidepressant . *The Scientific World Journal* , 9(1):1233-1241.
- Kumar, A. ; Mittal, R. ; Khanna, H. D. & Basu, S. (2008). Free radical injury and blood-brain barrier permeability in hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatrics* , 122(1): 722-727.
- Kumar, T. P. ; Antony, S. ; Gireesh, G. ; George, N. & Paulose, C.S. (2010) . Curcumin modulates dopaminergic receptor, CREB and phospholipase C gene expression in the cerebral cortex and cerebellum of streptozotocin induced diabetic rats . *J. Biomed. Sci.* , 17(1): 43 .
- Kumar, A. & Singh, A . (2015) . A review on mitochondrial restorative mechanism of antioxidants in Alzheimer's disease and other neurological conditions . *Front. Pharmacol.* , 6(206):1-13.
- Kumar, P. T. ; George, N. ; Antony, S. & Paulose, C. S. (2013) . Curcumin restores diabetes induced neurochemical changes in the brain stem of Wistar rats . *Eur. J. Pharmacol.* , 702(1-3) : 323-331 .
- Kurihara, K. (2009) . Glutamate from discovery as a food flavor to role as a basic taste (umami). *AJCN* , 90(3):719-722.

- Lai, T. W. ; Zhang, S. & Wang, Y.T. (2014). Excitotoxicity and stroke: Identifying novel targets for neuroprotection. *Prog. Neurobiol.* , 115:157–188.
- Lakatos, A . ; Derbeneva, O. ; Younes, D. ; Keator, D. ; Bakken, T. ; Lvova, M. ; Brandon, M. ; Guffanti, G. ; Reglodi, D. ; Saykin, A. ; Weiner, M. ; Macciardi, F. ; Schork, N. ; Wallace, D. C. & Potkin, S. G. (2010) .Association between mitochondrial DNA variations and Alzheimer’s disease in the ANDI cohort. *Neurobiol .Aging*; 31: 1355–1363.
- Lam, T. I. ; Brennan-Minnella, A. M. ; Won, S. J. ; Shen, Y. ; Hefner, C. ; Shi, Y. ; Sun, D. & Swanson, R. A (2013) .Intracellular pH reduction prevents excitotoxic and ischemic neuronal death by inhibiting NADPH oxidase . *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* , 110(46) : 4362– 4368 .
- Lambracht-Washington, D. & Rosenberg, R.N. (2013) Anti-Amyloid-Beta to Tau-Based Immunization: Developments in Immunotherapy for Alzheimer’s Disease. *Immunotargets Ther.* , 2, 105-114.
- Lavoie , S. ; Chen , Y. ;Dalton , T. P. ;Gysin, R. ; Guenod , M. ;Steullet, P. & Do, K. Q. (2009). Curcumin , quercetin, and Tbhq modulate glutathione levels in astrocytes and neurons :importance of the glutamate cysteine ligase modifier subunit . *J. Neurochem.* , 108(1) : 1410–1422
- Lee, W. ; Loo, C. ; Bebawy, M. ; Luk, F. ; Mason, R. S. & Rohanizadeh, R. (2013). Curcumin and its Derivatives: Their

- Application in Neuropharmacology and Neuroscience in the 21st Century. *Curr. Neuropharmacol.* , 11(1):338-378.
- Lestari, M. L. & Indrayanto, G. (2014). Curcumin. *Profiles Drug Subst. Excip. Relat. Methodol.* , 39: 113–204.
- Li, S. ; Wang, W. ; Wang, C. & Tang, Y. Y. (2010). Possible involvement of NO/NOS signaling in hippocampal amyloid-beta production induced by transient focal cerebral ischemia in aged rats. *Neurosci. Lett.* , 470: 106-110.
- Li, X. ; Lu, Y. ; Sun, Y. & Zhang, Q. (2015). Effect of curcumin on permeability of coronary artery and expression of related proteins in rat coronary atherosclerosis heart disease model. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* , 8(6) :7247-7253 .
- Li, Y.C. ; Wang, F.M. ; Pan, Y. ; Qiang, L.Q. ; Cheng, G. ; Zhang, W.Y. & Kong, L.D. (2009) Antidepressant-like effects of curcumin on serotonergic receptor-coupled AC-cAMP pathway in chronic unpredictable mild stress of rats. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* , 33(3): 435–449.
- Lieu, P. T.; Heiskala, M.; Peterson, P. A. & Yang, Y. (2001). The roles of iron in Health and disease. *Mol. Aspect Med.* , 22(1) : 1-87.
- Lim, C. B. ; Soares, G. S. ; Vitor, S. M. ; Castellano, B. ; da Costa A.B. & Guedes, R. C. (2013). Neonatal treatment with monosodium glutamate lastingly facilitates spreading depression in the rat cortex. *Life Sci.* , 93:388-392 .
- Lim, G.P. ; Chu, T. ; Yang, F. ; Beech, W. ; Frautschy, S.A. & Cole, G.M. (2001) The Curry Spice Curcumin Reduces Oxidative

- Damage and Amyloid Pathology in an Alzheimer Transgenic Mouse. *J. Neurosci.* , 21: 8370-8377.
- Lin, L.C. & Tsai, T.H. (2011) Curcumin and Its Nano-Formulation: The Kinetics of Tissue Distribution and Blood- Brain Barrier Penetration. *Int. J. Pharmaceut.* , 416, 331-338.
- Lindemann ; Ajinomoto & Ninomiya (2002) . The discovery of umami . *Chem. Senses* , 27 (9): 843–844.
- Liu & Colleagues (2011). Curcumin attenuates peroxynitrite – induced neurotoxicity in spinal ganglion neurons . *Neurotoxicol.* , 32(1):150-157.
- Liu, H. ; Li, Z. ; Qiu, D. ; Gu, Q. ; Lei, Q. & Mao, L. (2010) .The inhibitory effects of different curcuminoids on β -amyloid protein, β -amyloid precursor protein and β -site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1 in swAPP HEK293 cells. *Neurosci. Lett.* , 485: 83–88.
- Lopez, M. ; Lage, R. ; Saha, A. K. ; Perez-Tilve, D., ; Vazquez, M. J. ; Varela, L. ; Sangiao-Alvarellos , S. ; Tovar, S. ; Raghay, K. ; Rodríguez-Cuenca, S. ; Deoliveira, R. M. ; Castañeda, T. ; Datta, R. ; Dong, J. Z. ; Culler, M. ; Sleeman, M. W. ; Alvarez, C. V. ; Gallego, R. ; Lelliott, C. J. ; Carling, D. ; Tschöp, M. H. ; Diéguez, C. & Vidal-Puig, A. (2008) . Hypothalamic fatty acid metabolism mediates the orexigenic action of ghrelin. *Cell. Metab.* , 7: 389–399.
- Lopresti, A. ; Maes, M. ; Maker, G. ; Hood, S. D. & Drummond, P. D. (2014). curcumin for the treatment of major depression: A

- randomised, double-blind, placebo controlled study . *J. Affect. Disord.* , 167(1)368–375.
- Lustbader, J. W. ; Cirilli, M. ; Lin, C. ; Xu, H. W. ; Takuma, K. ; Wang, N. ; Caspersen, C. ; Chen, X. ; Pollak, S. ; Chaney, M. ; Trinchese, F. ; Liu, S. ; Gunn-Moore, F. ; Lue, L. F. ; Walker, D. G. ; Kuppusamy, P.; Zewier, Z. L. ; Arancio, O. ; Stern, D. ; Yan, S. S. & Wu, H. (2004). ABAD directly links A β to mitochondrial toxicity in Alzheimer's Disease. *Science* , 304: 448–452.
- Ma, Q. L. ; Yang, F. ; Rosario, E. R.; Ubeda, O. J. ; Beech, W. ; Gant, D.J. ; Chen, P. P. ; Hudspeth, B. ; Chen, C. ; Zhao, Y. ; Vinters, H. V. ; Frautschy, S. A. & Cole, G. M. (2009). β -Amyloid oligomers induce phosphorylation of tau and inactivation of insulin receptor substrate via c-Jun N-terminal kinase signaling: suppression by omega-3 fatty acids and curcumin . *J. Neurosci.* , 29(28) : 9078–9089 .
- Macho, L. ; Jezova, D. ; Zorad, S. & Fickova, M.(1999). Postnatal monosodium glutamate treatment results in attenuation of corticosterone metabolic rate in adult rats . *Endocr. Regul.*, 33(1): 61- 67.
- Madhavadas, S. ; Kutty, B. M. & Subramanian, S . (2014). Amyloid β lowering and cognition enhancing effects of ghrelin receptor analog [D-Lys (3)] GHRP-6 in rat model of obesity . *Indian J. Biochem. Biophys.* , 51(1): 257-262 .
- Magistretti, J. (2009). Role of glutamate in neuron-glia metabolic coupling. *Am. J. Clin. Nutr.* , 90 :875–880.

- Maheswaraiah, A. ; Jagannoh, L. & Naidu, A. (2015) . Anti-Platelet Activity of Water Dispersible Curcuminoids in Rat Platelets . *Phytother. Res.* , 29(3) : 1-9.
- Manczak, M. ; Calkins, M. J. & Reddy, P. H. (2011) . Impaired mitochondrial dynamics and abnormal interaction of amyloid β with mitochondrial protein Drp1 in neurons from patients with Alzheimer's disease :implications for neuronal damage. *Hum. Mol. Genet.* , 20: 2495–2509.
- Manczak, M. ; Mao, P. ; Calkins, M. J. ; Cornea, A.; Reddy, A.P. ; Murphy, M.P. ; Szeto, H. H. ; Park, B. & Reddy, P. H. (2010). Mitochondria targeted antioxidants protect against amyloid-beta toxicity in Alzheimer's disease neurons. *J. Alzheimers Dis.* , 20(2): 609–631.
- Maragakis, N. J. & Rothstein, J. D. (2001). Glutamate Transporters in Neurologic Disease. *Arch. Neurol.* , 58 : 365-370.
- Mark, L. P. ; Prosta, R. W. ; Ulmera, J. L. ; Smitha, M. M. ; Danielsa, D. L. ; Strottmanna, J. M. ; Brown, W. D. & Hacin-Bey, L. (2001). Pictorial Review of Glutamate Excitotoxicity: Fundamental Concepts for Neuroimaging , *AJNR Am. J. Neuroradiol.* , 22(1) :1813–182 .
- Marquard, J. ; Otter, S. ; Welters, A. ; Stirban, A. ; Fischer, A. ; Eglinger, J. ; Herebian, D. ; Kletke, O. ; Klemen, M. S. ; Stožer, A. ; Wnendt, S. ; Piemonti, L. ; Köhler, M. ; Ferrer, J. ; Thorens, B. ; Schliess, F. ; Rupnik, S. M. ; Heise, T. ; Berggren, P. ; Klöcker, N. ; Meissner, T. ; Mayatepek, E. ; Eberhard, D. ; Kragl, M. & Lammert, E. (2015). Characterization of

- pancreatic NMDA receptors as possible drug targets for diabetes treatment . *Nat. Med.* , 21:363–372.
- Maruszak, A. & Żekanowski, C. (2011) .Mitochondrial dysfunction and Alzheimer's disease. *Prog . Neuro. Psycho. pharmacol . Biol . Psychiatry* , 35: 320–330.
- Massoulie, J. ; Pezzementi, L. ; Bon, S. ; Krejci, E. & Vallette, F. M. (1993) . Molecular and cellular biology of cholinesterases. *Prog. Neurobiol.* , 41:31–91.
- Masuda, T. ; Hidaka, K. ; Shinohara, A. ; Maekawa, T. ; Takeda, Y. & Yamaguchi, H. (1999). Chemical studies on antioxidant mechanism of curcuminoid: analysis of radical reaction products from curcumin. *J. Agric. Food. Chem.* , 47(1): 71-77.
- Mattson, M. P. (2007). Calcium and neurodegeneration . *Aging Cell* , 6(1) : pp337–350.
- Matyskova, R. ; Maletinska, L. ; Maixnerová, J. ; Pirník, Z. ; Kiss, A. & Zelezná, B. (2008) . Comparison of the Obesity Phenotypes Related to Monosodium Glutamate Effect on Arcuate Nucleus and/or the High Fat Diet Feeding in C57BL/6 and NMRI Mice. *Physiol. Res.* , 57(5):727-34.
- McGill, J. K. & Beal, M. F. (2006) .PGC-1a, a new therapeutic target in Huntington's disease. *Cell* , 127: 465–468.
- Mehan, S. ; Arora, R. ; Sehgal, V. ; Sharma, D. & Sharma, G. (2012) . Inflammatory diseases - immunopathology, clinical and pharmacological bases; in Khatami M (ed): Dementia: A Complete Literature Review on Various Mechanisms

- Involved in Pathogenesis and an Intracerebroventricular Streptozotocin - Induced Alzheimer's Disease. *Rijeka, In Tech*, 3(19):1-25.
- Mepham, B. (2011). Food additives: an ethical evaluation . *Br. Med. Bull.* , 99: 7-23
- Mescher , A. L. (2016). Junqueira's Basic Histology Text and Atlas . India . Fourteenth Edition .
- Metzler, M. ; Pfeiffer, E. ; Schulz, S.I. & Dempe, J.S. (2013) Curcumin Uptake and Metabolism. *Bio. Factors*, 39(2): 14-20 .
- Michael, H.; Lynn, J. & Gordon, I. (1995). Histology Text and Atlas 4thed. P256 – 258.
- Mirra, S. S . ; Hart, M. N. & Terry, R. D. (1993). Making the Diagnosis of Alzheimer's Disease . *Arch. Pathol. Lab. Med.* ,117:132-144.
- Mirzabeigi, P. ; Mohammadpour, A. H. ; Salarifar, M. ; Gholami, K. ; Mojtahedzadeh, M. & Javadi, M. R. (2015). The Effect of Curcumin on some of Traditional and Non-traditional Cardiovascular Risk Factors: A Pilot Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Trial . *Iranian J. Pharmaceut. Res.* , 14 (2): 479-486 .
- Mishra, S. & Palanivelu, K. (2008) .The Effect of Curcumin (Turmeric) on Alzheimer's Disease: An Overview. *Ann. Indian Acad. Neurol.* , 11: 13-19.
- Miskowiak, B. & Partyka, M. (2000). neonatal treatment with monosodium glutamate : structure of TSH -

- immunoreactive pituitary cells . *Histol. Histopathol.* , 15(2):415-419.
- Moghaddam, S. N. ; Qujeq, D. & Efahani, A. A. (2015) . Effect of Curcumin on the Hypothalamus Levels of the Potent Inhibitory Neurotransmitter, Gamma Aminobutyric Acid . *Res. Mol. Med.*, 3 (1): 22-25 .
- Muslih, B. ; Mizil, Y. O. & Al-Nimer, M. S. (2001). Detection The level of peroxynitrite, and related with antioxidant status in the serum of patients with acute myocardial infraction. *Nat. J. Chem.* , (4):625-637.
- Nabiuni, M. ; Nazari, Z. ; Angaji, S. A. ; Nejad, Z. S. (2011) . Neuroprotective Effects Of Curcumin . *Aust. j. basic appl. sci.* , 5(9): 2224-2240.
- Nakamura, H. ; Kawamata, Y. ; Kuwahara, T. ; Torii, K. ; Sakai, R. (2013). Nitrogen in dietary glutamate is utilized exclusively for the synthesis of amino acids in the rat intestine. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* , 304: 100-108.
- Narlawar, R. ; Pickhardt, M. ; Leuchtenberger, S.; Baumann, K. ; Krause, S. ; Dyrks, T. ; Weggen, S. ; Mandelkow, E. & Schmidt, B. (2008) . Curcumin-derived pyrazoles and isoxazoles: Swiss army knives or blunt tools' for Alzheimer's disease? . *ChemMedChem* , 3: 165- 172.
- Ng, T.P. ; Chiam, P.C. ; Lee, T. ; Chua, H.C. ; Lim, L. & Kua, E.H. (2006) . Curry Consumption and Cognitive Function in the Elderly. *Am. J. Epidemiol.* , 164: 898-906.

- Nicholls, D. G. & Budd, S. L. (1998). Mitochondria and neuronal glutamate excitotoxicity. *Biochim. Biophys. Acta.* , 1366:97-112.
- Niizuma, K. ; Yoshioka, H. ; Chen, H. ; Kim, G. S. ; Jung, J. E. ; Katsu, M. ; Okami, N. & Chan, P.H. (2010). Mitochondrial and apoptotic neuronal death signaling pathways in cerebral ischemia. *Biochim. Biophys. Acta.* , 1802: 92-99.
- Nimse, S. B. & Palb, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms . *Chem Sci* , 5(1) : 27986-28006.
- Nogueiras, R. ; Pfluger, P. ; Tovar, S. ; Arnold, M. ; Mitchell, S. ; Morris, A. ; Perez-Tilve, D. ; Vázquez, M. J. ; Wiedmer, P. ; Castañeda, T.R. ; DiMarchi, R. ; Tschöp, M. ; Schurmann, A. ; Joost, H. ; Williams, L. M. ; Langhans, W. & Diéguez, C. (2007) . Effects of Obestatin on Energy Balance and Growth Hormone Secretion in Rodents . *Endocrinology* , 148 (1): 21-26.
- Okediran, B. S. ; Olurotimi, A. E. ; Rahman, S. A. ; Michael, O. G. & Olukunle, J. O. (2015). Alterations in the lipid profile and liver enzymes of rats treated with monosodium glutamate . *Sokoto J. Vet. Sci.* , 12(3).42-46.
- Oladipo, I. C. ; Adebayo, E. A. & Kuye, O. M.(2015) . Effects of Monosodium Glutamate in Ovaries of Female Sprague-Dawley Rats . *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* , 4(5):737-745.

- Oltmanns, T. F. & Emery, R. E. (2004) . Abnormal psychology. 4th.(ed). Printice –Hall. Nwe Jersey. 494_497.
- Onaolapo, O. J. & Onaolapo , A .Y. (2013). Acute low dose monosodium glutamate retards novelty induced behaviours in male swiss albino mice . *GJNN .* , 1(1): 1-6 .
- Onyema, O. O. ; Farombi, E. O. ; Emerole, G. O. ; Ukoha, A. I. & Onyeze, G. O. (2006). Effect of vitamin E on monosodium glutamate induced hepatotoxicity and oxidative stress in rats. *Indian J. Biochem. Biophys.* , 43(1): 20–24.
- Ozgen, S. C. ; Dokmeci, D. ; Akpolat, M. ; Karadag, C. H. ; Gunduz, O. ; Erbas, H. ; Benian, O. ; Uzal, C. & Turan, F. N. (2012) . The Protective Effect of Curcumin on Ionizing Radiation-induced Cataractogenesis in Rats . *Balkan Med. J.* , 29: 358-63.
- Pakaski, M. & Kalman, J. (2008) . Interactions between the amyloid and cholinergic mechanisms in Alzheimer’s disease. *Neurochem. Int.* , 53:103-111.
- Park, E. ; Yu, K. H. ; Kim , D. K. ; Kim , S. ; Sapkota, K. ; Kim , S. J. ; Kim , C. S. & Chun, H. S. (2014) . Protective effects of N-acetylcysteine against monosodium glutamate -Induced astrocytic cell death. *Food Chem. Toxol.* , 67: 1-9.
- Park, H. ; Han, K. ; Seo, J. ; Lee, J. ; Dravid, S. M. ; Woo, J. ; Chun, H. ; Cho, S. ; Bae, J.Y. ; An, H. ; Koh, W. ; Yoon, B. ; Berlinguer-Palmi, R. ; Mannaioni, G. ; Traynelis, S.F. ; Bae, Y.C. ; Email, S. C. & Lee, C. J. (2015). Channel-mediated astrocytic

- glutamate modulates hippocampal synaptic plasticity by activating postsynaptic NMDA receptors . *Mol. Brain* , 8(7):1-16.
- Parsaeyan, N. (2015) . Effect of Curcumin Supplementation on Fructosamine Level, Blood Lipids, Lipid Peroxidation and Hepatic Enzymes in Type 2 Diabetics . *Iranian J. Diabetes Obes.* , 7(1): 55-61.
- Pavlovic, V. ; Pavlovic, D. ; Kocic, G. ; Sokolovic, D. ; Jevtovic-Stoimenov, T. ; Cekic, S. & Velickovic, D. (2007). Effect of monosodium glutamate on oxidative stress and apoptosis in rat thymus . *Mol. Cell Biochem.* ,303(7):161–166.
- Peeyush, K. T. ; Antony, S. ; Sonan, S. ; Kuruvilla, K. P. ; George, N. & Paulose, C. S. (2011). Role of curcumin in the prevention of cholinergic mediated cortical dysfunctions in streptozotocin-induced diabetic rats. *Mol. Cell Endocrinol.* , 331(1): 1–10.
- Pelaez, B. & Blazquez, J. (1999). Lectin histochemistry and Ultrastructure of Microbial Response to monosodium glutamate –Mediated Neurotoxicity in the Arcuate Nucleus . *Histol. Histopathol.* , 14 (1):165-174.
- Pepino, M. Y. ; Finkbeiner, S. ; Beauchamp, G. K. & Mennella, J. A. (2010) . Obese Women Have Lower Monosodium Glutamate Taste Sensitivity and Prefer Higher Concentrations Than Do Normal- weight Women. *Obesity* , 18: 959-965.
- Pham, V. D. ; Somasundaram, S. ; Lee, S.H. ; Park, S. & Hong, S. H. (2016). Efficient production of gamma-aminobutyric acid

- using *Escherichia coli* by co-localization of glutamate synthase, glutamate decarboxylase, and GABA transporter. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* , 43(1):79-86.
- Picciotto, M. R. ; Higley, M. J. & Mineur, Y. S. (2012). Acetylcholine as a neuromodulator: cholinergic signaling shapes nervous system function and behavior . *Neuron* , 76(1): 116–129
- Pohanka, M. (2011) . Cholinesterases, a target of pharmacology and toxicology. *Biomed. Pap. Olomouc* , 155 (3): 219–229.
- Pohanka, M. (2012). Alpha7 Nicotinic Acetylcholine Receptor Is a Target in Pharmacology and Toxicology . *Int. J. Mol. Sci.* , 13 (12): 2219–2238.
- Prentice, H. ; Modi, J. P. & Wu, J. (2015). Mechanisms of Neuronal Protection against Excitotoxicity , Endoplasmic Reticulum Stress, and Mitochondrial Dysfunction in Stroke and Neurodegenerative Diseases . *Oxid. Med. Cell Longev.* , 6(18): 1-8.
- Presnell, J.K. & Schreibman, M.P. (1997). Humason's animal tissue techniques, 5th edn., John Hopkins Univ. Press, Baltimore, 546.
- Priyadarsini, K. I. (2013). Chemical and Structural Features Influencing the Biological Activity of Curcumin. *Curr. Pharmaceut. Des.* , 19(11): 2093-2100.
- Priyadarsini, K. I. (2014). The Chemistry of Curcumin: From Extraction to Therapeutic Agent . *Molecules* , 19(1): 20091-20112.

- Purves, D. ; Augustine, G. J. ; Fitzpatrick, D. ; Hall, W. C. ; LaMantia, A. S. ; McNamara, J. O. & White, L. E. (2008) . Neuroscience (4th ed.). Sinauer Associates. pp. 121-2.
- Radi, R. ; Beckmann, J. S. ; Bush, K. M. & Freeman, M. A. (1991). Peroxynitrite oxidation of sulfhydryls. The cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *J. Biol. Chem.* , 266: 4244-4250.
- Rajagopal, S. S. ; Lakshminarayanan, G. ; Rajesh, R. ; Dharmalingam, S. R. ; Ramamurthy, S. ; Chidambaram, K. & Shanmugham, S. (2013) . Neuroprotective potential of *Ocimum sanctum* (Linn)leaf extract in monosodium glutamate induced excitotoxicity .*Afr. J. Pharm. Pharmacol.*, 7(27) :1894-1906 .
- Rakonczay, Z.(2003). potencies and selectivities of inhibitors of acetylcholinesterase and its molecular forms in normal and alzheimer's disease brain. *Acta. Biologica. Hungarica.* ,54 (2) 183-189.
- Ramamurthy, S. & Ronnett, G. (2012). AMP-Activated Protein Kinase (AMPK) and Energy-Sensing in the Brain. *Exp. Neurobiol.* ,21(2):52-60.
- Ramana, K. V. & Srivastava, S. K. (2010). Aldose reductase, a novel therapeutic target for inflammatory pathologies. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 42: 17-20.
- Rao, V. K. ; Carlson, E. A. & Yan, S.S. (2014). Mitochondrial permeability transition pore is a potential drug target for

- neurodegeneration . *Biochimica. Biophysica. Acta.* ,1842 (2): 1267-1272.
- Reddy, P. H. & Reddy T. P. (2011) .Mitochondria as a therapeutic target for aging and neurodegenerative diseases. *Curr. Alzheimer Res.* ; 8: 393–409.
- Regan, J. ; Roeske, W. ; Ruth, W. H. ; Deshmukh, P. & Yamamura, H. I. (1981). Reductin in Retinal Gamma – Aminobutyric Acid (GABA) Contentandin [3H] Flunitrazepam Binding after postnatal monosodium glutamate injections in Rats . *J. Pharmacol Exp Ther.* , 218(3):791-796.
- Reinke, A.A. & Gestwicki, J.E. (2007) Structure-Activity Relationships of Amyloid Beta-Aggregation Inhibitors Based on Curcumin: Influence of Linker Length and Flexibility. *Chem. Biol. Drug. Des.* , 70, 206-215.
- Reiter, R.J. ; Tan, D. ; Osuna, C. & Gitto, E. (2000) . Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. *J. Biomed. Sci.* , 7:444-58.
- Ren , H. ; Orozco, I. J. ; Su, Y. ; Suyama, S. ; Gutiérrez-Juárez, R. ; Horvath, T.L. ; Wardlaw, S.L. ; Plum, L. ; Arancio, O. & Accili, D. (2012) . FoxO1 target Gpr17 activates AgRP neurons to regulate food intake. *Cell* , 149:1314–1326.
- Revathy , S. ; Elumalai , S.; Benny M. & Antony B. (2011). Isolation, Purification and Identification of Curcuminoids from Turmeric (*Curcuma longa* L.) by Column Chromatography . *J Exp Sci* , 2(7) :21-25

- Revett, T.J. ; Baker, G. B. ; Jhamandas, J. ; & Kar, S. (2013). Glutamate system, amyloid β peptides and tau protein: functional interrelationships and relevance to Alzheimer disease pathology . *Psychiatry Neurosci.* ,38(1):6-23 .
- Reyes-Fermin, L. M. ; Gonz ´ alez-Reyes, S. ; Tarco- ´ Alvarez, N. G. ; Hern ´ andez-Nava, M. ; Orozco-Ibarra, M. & Pedraza-Chaverri , J. (2012) .Neuroprotective effect of α -mangostin and curcuminagainst iodoacetate-induced cell death . *Nutr. Neurosci.*, 15(5): 34–41.
- Rhodes, J. ; Titherley, A. C. ; Norman, J. A. ; Wood, R. & Lord D. W. (1991) . A survey of monosodium glutamate content of food and estimation of dietary intake of monosodium glutamate . *Food. Addit. Contam.* , 8 (5): 663-672.
- Rinwa, P. ; Kumar, A. & Garg, S. (2013). Suppression of Neuroinflammatory and Apoptotic Signaling Cascade by Curcumin Alone and in Combination with Piperine in Rat Model of Olfactory Bulbectomy Induced Depression . *PLOS ONE* , 8(4):1-11.
- Roman, R. ; Almaza, P. ; Garcia-Macedo, R. ; Blancas-Flores, G. ; Fortis-Barrera, A. ; Jasso, E. I. ; Garcia-Lorenzana, M. ; Campos-Sepulveda, A. E. ; Cruz, M. & Alarcon-Aguilar, FJ. (2011). Monosodium glutamate neonatal intoxication associated with obesity in adult stage is characterized by chronic inflammation and increased mRNA expression of peroxisome proliferator- activated receptors in mice. *Clin. Pharmacol.* , 108(6):406-413.

- Rouse, M. ; Younes, A. & Egan, J. M. (2014) . Resveratrol and curcumin enhance pancreatic β -cell function by inhibiting phosphodiesterase activity . *J. Endocrinol.* , 223: 107-117.
- Sadek, K. ; Abouzed, T. & Nasr, S . (2015) . Lycopene modulates cholinergic dysfunction, Bcl-2/Bax balance, and antioxidant enzymes gene transcripts in monosodium glutamate (E621) induced neurotoxicity in a rat model . *Can. J. Physiol. Pharmacol.* , 94(4): 394-401 .
- Sadigh-Eteghad, S. ; Sabermarouf, B. ; Majdi, A. ; Talebi, M. ; Farhoudi, M. & Mahmoudi, J. (2014a) . Amyloid-Beta: A Crucial Factor in Alzheimer's Disease . *Med. Princ. Pract.* , 24(1) :1-10
- Sadigh-Eteghad, S. ; Majdi, A. ; Farhoudi, M. ; Talebi, M. & Mahmoudi, J. (2014b) . Different patterns of brain activation in normal aging and Alzheimer's disease from cognitive sight: meta-analysis using activation likelihood estimation. *J. Neurol. Sci.* , 343:159-166.
- Sadigh-Eteghad, S. ; Sabermarouf, B. ; Majdi, A. ; Talebi, M. ; Farhoudi, M. ; Mahmoudi, J. (2015). Amyloid-beta: a crucial factor in Alzheimer's disease. *Med. Princ. Pract.* , 24:1-10.
- Sáez-Valero, J. ; Barquero, M. S. ; Marcos, A. ; McLean, C. A. & Small, D. H. (2000 a). Altered glycosylation of acetylcholinesterase in lumbar cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease . *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr.* , 69: 664-667

- Sáez-Valero, J. ; Mok, S. S. & Small, D. H. (2000b).An unusually glycosylated form of acetylcholinesterase is a CSF biomarker forAlzheimer's disease. *Acta. Neurol. Scand. Suppl.* ,176: 49-52.
- Sagae, S. C. ; Grassioli, S. ; Raineki, C. ; Balbo, S. L. ; da Silva, A. C. (2011) . Sex differences in brain cholinergic activity in MSG-obese rats submitted to exercise . *Can. J. Physiol. Pharmacol.* , 89(11): 845-853.
- Saha, L. ; Chakrabarti, A. ; Kumari, S. ; Bhatia, A. & Bangerjee, D. (2016) . Antiapoptotic and neuroprotective role of curcumin in pentylenetetrazole (PTZ) induced kindling model in rat . *Indian J. Exp. Biol.*, 54(1) :133-141 .
- Sakr, S. A. & Badawy, G.M.(2013). Protective Effect of Curcumin on Monosodium Glutamate-Induced Reproductive Toxicity in Male Albino Rats . *Global J. Pharmacol.* , 7 (4): 416-422 .
- Sandhir, R. ; Yadav, A. ; Mehrotra, A. ; Sunkaria, A. ; Singh, A. & Sharma, S.(2014) . Curcumin nanoparticles attenuate neurochemical and neurobehavioral deficits in experimental model of Huntington's disease. *Neuromolecular Med.* , 16:106-18.
- Sano & Chiaki (2009) . History f glutamate production . *AJCN* , 90(3): 728-732 .
- Savcun, G.Y. ; Özkan, E. ; Dulundu, E. ; Topaloğlu, Ü. ; Şehirli, A. Ö. ; Tok, O. E. ; Ercan, F. & Şener, G. (2013). Antioxidant and anti-inflammatory effects of curcumin against hepatorenal

- oxidative injury in an experimental sepsis model in rats . *Ulus. Travma. Acil. Cerr. Derg.* , 19(6):507-515.
- Schapira, A. H. (2012) .Mitochondrial diseases. *Lancet* , 379: 1825–1834.
- Schonberger, S. J. ; Edgar, P. F. ; Kydd, R. ; Faull, R. L. & Cooper, G. J. (2001). Proteomic analysis of the brain in Alzheimer’s disease:molecular phenotype of a complex disease process. *Proteomics* ,1:1519–1528.
- Schultze, S. M. ; Hemmings, B. A. ; Niessen, M. & Tschopp, O. (2012) . PI3K/AKT, MAPK and AMPK signalling: protein kinases in glucose homeostasis . *Expert Rev. Mol. Med.* , 14(1): 1-12.
- Scott, G. S. ; Bowman, S. R. ; Smith, T. ; Flower, R. J. & Bolton, C. (2007). Glutamate-stimulated peroxynitrite production in a brain-derived endothelial cell line is dependent on N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor activation . *Biochem. Pharmacol.* , 73 (1): 228 – 236.
- Seifan, A. ; Schelke, M. ; Obeng-Aduasare, Y. & Isaacson, R. (2015). Early Life Epidemiology of Alzheimer’s Disease – A Critical Review . *Neuroepidemiol.* , 45(1) :237–254.
- Seo, H. J. ; Ham, H. ; Jin, H.Y. ; Lee, W. H. ; Hwang, H. S. ; Park, S. ; Kim, Y. S. ; Choi, S. C. ; Lee, S. ; Oh, K. J. ; Kim, B. S. ; Park, B. R. & Lee, M. Y. (2010). Chronic Administration of Monosodium Glutamate under Chronic Variable Stress Impaired Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis Function in Rats . *Korean J. Physiol. Pharmacol.* , 14: 213–221.

- Sergeyev, V. ; Broberger, C.; Gorbatyuk, O. & Hokfelt, T. (2000) Effect of 2-mercaptoacetate and 2-deoxy-d-glucose administration on the expression of NPY, AGRP, POMC, MCH and hypocretin/orexin in the rat hypothalamus. *Neuroreport* , 11:117-121.
- Setiadi, J. ; Heinzelmann, G. & Kuyucak, S. (2015). Computational studies of glutamate transporters . *Biomolecules* , 5(1):3067-3086.
- Shanmuga, S. ; Gowtham, L. ; Rajesh, R. & Ramamurthy, S. (2013). Neuroprotective potential of *Ocimum sanctum* (Linn) leaf extract in monosodium glutamate induced excitotoxicity . *Afr. J. Pharm. Pharmacol.* , 7(27): 1894-1906.
- Shanmugam, M. K. ; Rane, G. & Mitha, M. (2015) . The Multifaceted Role of Curcumin in Cancer Prevention and Treatment . *Molecules* , 20(2):2728-2769.
- Sharma, A. (2015). Monosodium glutamate-induced oxidative kidney damage and possible mechanisms: a mini-review . *J. Biomed. Sci.* , 22(93):1-6 .
- Sharma, V. & Deshmukh, R. (2015) . Ajinomoto (MSG): A Fifth Taste Or a bio Bomb . *Eipmr* , 2 (2):381-400 .
- Shi, X. ; Zheng, Z. ; Li, J. ; Xiao, Z. ; Qi, W. ; Zhang, A. ; Wu, Q. & Fang, Y. (2015) . Curcumin inhibits A β -induced microglial inflammatory responses in vitro: involvement of ERK1/2 and p38 signaling pathways. *Neurosci. Lett.* , 594:105–110.

- Shimmyo, Y. ; Kihara, T. ; Akaike, A. ; Niidome, T. & Sugimoto, H. (2008). Epigallocatechin-3-gallate and curcumin suppress amyloid beta-induced beta-site APP cleaving enzyme-1 upregulation. *Neuroreport.* , 19:1329–1333.
- Shuster, L. ; Gostout, B. ; Grossardt, B. & Rocca, W. (2008) . Prophylactic oophorectomy in premenopausal women and long-term health. *Menopause .Int.* , 14(3):111-16.
- Silveyra, M. X. ; García-Ayllón, M. S. ; de Barreda, E. G. ; Small, D. H. ; Martínez, S. ; Avila, J. ; Sáez-Valero, J. (2011). Altered expression of brain acetylcholinesterase in FTDP-17 human tau transgenic mice. *Neurobiol. Aging.* 33(3): 23-34.
- Sims, N. R. ; Anderson, M. F. ; Hobbs, L. M. ; Kong, J. Y. ; Phillips, S. ; Powell, J. A. & Zaidan, E. (2000). Impairment of brain mitochondrial function by hydrogen peroxide. *Mol. Brain Res.*, 77(2): 176– 184.
- Singh, A. & Kumar, A. (2016). Comparative Analysis of Intra hippocampal Amyloid Beta (1-42) and It is Intracerebroventricular Streptozotocin Models of Alzheimer's Disease: Possible Behavioral, Biochemical, Mitochondrial, Cellular and Histopathological Evidences . *J Alzheimers Dis Parkinsonism* , 6(1):1-7.
- Singh, K. & Ahluwalia, P. (2003). Studies on the effect of monosodium glutamate (MSG) administration on some antioxidant enzymes in the artresial tissue of adult male mice. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* , (Tokyo) 49: 145-148.

- Singh, S. ; Mondal, P. & Trigun, S. K. (2014). Acute Liver Failure in Rats Activates Glutamine-Glutamate Cycle but Declines Antioxidant Enzymes to Induce Oxidative Stress in Cerebral Cortex and Cerebellum . *PLOS ONE* , 9(4):1-9.
- Singh, S. ; Mondal, P. & Trigun S. K. (2014). Acute Liver Failure in Rats Activates Glutamine-Glutamate Cycle but Declines Antioxidant Enzymes to Induce Oxidative Stress in Cerebral Cortex and Cerebellum . *PLOS ONE* , 9(4):1-9.
- Siviero, A. ; Gallo, E. ; Maggini, V. ; Gori, L. ; Mugelli, A. ; Firenzuoli, F. & Vannacci, A. (2015). Curcumin, a golden spice with a low bioavailability . *J. Herbal Med.* , 14 :1-15.
- Skeberdis, V. A. ; Lan, J. Y. ; Zheng, X. ; Zukin, R. S. & Bennett, M. V. (2001). Insulin promotes rapid delivery of N-methyl-D-aspartate receptors to the cell surface by exocytosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 98 : 3561–3566.
- Skultetyova, I. ; Kiss, A. & Jezova, D. (1998). Neurotoxic lesions induced by monosodium glutamate result in increased adenopituitary proopiomelanocortin gene expression and decreased corticosterone clearance in rats. *Neuroendocrinol.* , 67:412-420.
- Smith, Q. R. (2000) . Transport of glutamate and other amino acids at the blood-brain barrier . *J. Nutr.* , 130 (4): 1016–22.
- Soreq, H. & Seidman, S. (2001) .Acetylcholinesterase – new roles for an old actor. *Nat. Rev. Neurosci.* , 2:294–302.
- Spss.(1999). Statistical packages social sciences , Verion 10 .USA

- Stengel, A. ; Wang, L. ; & Taché, Y. (2011) . Stress-related alterations of acyl and desacyl ghrelin circulating levels: mechanisms and functional implications. *Peptides* , 32: 2208–2217.
- Sumbul, S. ; Khan, M. S. & Bano, B. (2010). Effect of curcumin on nitric oxide induced structural and functional modifications of high molecular weight cystatin from the goat brain . *Biomed. Khim.* , 56(2):209-219.
- Sundaram, R. ; Gowtham, L. & Nayak, B. (2012) . The Role of Excitatory Neurotransmitter Glutamate in Brain Physiology and Pathology. *Asian J. Pharm. Clin. Res.* , 5(2):1-5
- Suryanarayana, P. ; Saraswat, M. ; Mrudula, T. ; Krishna, T. P. ; Krishnaswamy, K. & Reddy, G. B. (2005). Curcumin and Turmeric Delay Streptozotocin-Induced Diabetic Cataract in Rats . *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 46(6):2092-2099.
- Sussman, J. L. ; Harel, M. ; Frolow, F. ; Oefner, C. ; Goldman, A. ; Toker, L. & Silman, I. (1991). Atomic structure of acetylcholinesterase from *Torpedo californica*: a prototypic acetylcholine-binding protein. *Science* , 253 (5022): 872–9.
- Sussman, J. L. ; Harel, M. ; Silman, I. (1993). Three-dimensional structure of acetylcholinesterase and of its complexes with anticholinesterase drugs. *Chem. Biol. Interact.* , 87 (1–3): 187–97.
- Swamy, A. H. ; Patel, N. L. ; Gadad, P. C. ; Koti, B. C. ; Patel, U. M. ; Thippeswamy, A. H. & Manjula, D.V. (2013). Neuroprotective Activity of *Pongamia pinnata* in Monosodium Glutamate-

- induced Neurotoxicity in Rats . *Indian J. Pharmaceut. Sci.* , 75(6):657-663.
- Swerdlow, R. H. (2011) .Brain aging , Alzheimer's disease and mitochondria . *Biochim . Biophys. Acta* ,1812: 1630–1639.
- Swerdlow, R. H. ; Burns, J. M. & Khan, S. M. (2010) .The Alzheimer's disease mitochondrial cascade hypothesis. *J. Alzheimers Dis.* ; 20: 265–279.
- Takahashi, K. ; Kong, Q. ; Lin, Y. ; Stouffer, N. ; Schulte, D. A. ; Lai, L. ; Liu, Q. ; Chang, L. ; Dominguez, S. ; Xing, X. ; Cuny, G. D. ; Hodgetts, K. J. ; Glicksman, M. A. & Lin, C.G. (2015). Restored glial glutamate transporter EAAT2 function as a potential therapeutic approach for Alzheimer's disease . *J. Exp. Med.* , 212 (3): 319–332.
- Tawfik, M. S. & Al -Badr, N. (2012) Adverse Effects of Monosodium Glutamate on Liver and Kidney Functions in Adult Rats and Potential Protective Effect of Vitamins C and E. *Food Nutr. Sci.*, 3 , 651 -659.
- Taylor, P. & Radić, Z. (1994) . The cholinesterases: from genes to proteins. *Pharmacol. Toxicol.* , 34: 281–320.
- Tietz, N. W. (1987) .Fundamentals of Clinical Chemistry . W.B. Saunders. Philadelphia. third Edition .
- Trotti, D. ; Rossi, D. ; Gjesdal, O. ; Levy, L. M. ; Racagni, G. ; Danbolt, N. C. & Volterra, A. (1996). Peroxynitrite Inhibits Glutamate Transporter Subtypes .*J. Biol. Chem.* , 271(11) : 5976–5979.

- Tsurugizawa, T. ; Uneyama, H. & Torii, K. (2014) . Brain amino acid sensing . *Diabetes. Obes. Metab.* ,16 (1): 41 – 48.
- Tupa, D . (2014) . Cytotoxic potential of prolonged exposures to organochlorine compounds and effects on glutamate receptor functionality in cortical neurons. Master's Program Supervisor University of Basel , Switzerland .
- Ukkola, O. (2011). Ghrelin in Type 2 diabetes mellitus and metabolic syndrome. *Mol. Cell. Endocrinol.* ; 340,26–28.
- Ulrich, J. ; Meier-Ruge, W. ; Probst, A. ; Meier, E. & Ipsen, S. (1990). Senile plaques: staining for acetylcholinesterase and A4 protein: a comparative study in the hippocampus and entorhinal cortex. *Acta. Neuropathol.* , 80(6):624-628.
- Umukoro, S. ; Oluwole, G. O. ; Olamijowon, H. E. ; Omogbiya, A. I. & Eduviere, A. T. (2015). Effect of Monosodium Glutamate on Behavioral Phenotypes, Biomarkers of Oxidative Stress in Brain Tissues and Liver Enzymes in Mice . *World J. Neurosci.* , 5: 339-349.
- Van der, V. A. ; Smith, D. ; O'Neill, C. A. ; Kaur, H. ; Darley-USmar, V. ; Cross, C. E. & Halliwell, B. (1994) . Interactions of peroxynitrite with human plasma and its constituents: oxidative damage and antioxidant depletion. *Biochem. J.* , 303: 295-301.
- Van Uffelen, B.E. ; Van der Zee, J. ; deKoster, B.M. ; VanStereninck, J. & Elferink, J.G. (1998). Intracellular but not extracellular conversion of nitroxyl anion into nitric oxide leads to

- stimulation of human neutrophil migration. *Biochem. J.* , 330: 719-722.
- Vaquero, J. & Butterworth, R. F. (2006). The brain glutamate system in liver failure .*J. Neurochem.* , 98: 661–669.
- Venkatanarayana, G. ; Sudhakara, G. ; Sivajyothi, P. & Indira, P. (2012) . Protective effects of curcumin and vitamin E on carbon tetrachloride-induced nephrotoxicity in rats . *EXCLI J.* , 11:641-650 .
- Vicennati, V. ; Genghini, S. ; Iasio, R.D. ; Pasqui, F. ; Pagotto, U. & Pasquali, R. (2007). Circulating obestatin levels and the ghrelin/obestatin ratio in obese women . *Eur. J. Endocrinol.* , 157 :295–301
- Villagarcía, H. G. ; Sabugo, V . ; Castro, M. C. ; Schinella, G.; Castrogiovanni, D. ; Spinedi, E. ; Massa, M. L. & Francini, F. (2016). Chronic Glucocorticoid-Rich Milieu and Liver Dysfunction. *Inter. Schol. Res. Not.* ,20 (5):1-9.
- Villemagne, V. L. ; Burnham, S. ; Bourgeat, P. ; Brown, B.; Ellis, K. A. ; Salvado, O. ; Szoeki, C. ; Macaulay, S. L. ; Martins, R. ; Maruff , P.; Ames, D. ; Rowe, C.C. & Masters, C. L. (2013).Amyloid beta deposition, neurodegeneration, and cognitive decline in sporadic Alzheimer’s disease: a prospective cohort study. *Lancet Neurol.* , 12(1): 357–367.
- Vitadello, M. ; Germinario, E. ; Ravara, B. ; Libera, L. D. ; Danieli-Betto, D. & Gorza, L. (2014). Curcumin counteracts loss of force and atrophy of hindlimb unloaded rat soleus by

- hampering neuronal nitric oxide synthase untethering from sarcolemma .*J. Physiol.* , 592(12) : 2637-2652.
- Vogt, M. C. & Bruning, J. C. (2013). CNS insulin signaling in the control of energy homeostasis and glucose metabolism – from embryo to old age .*Trends Endocrinol. Metabo.*, 24 (2): 76-84.
- Vyklicky, V. ; Korinek, M. ; Smejkalova, T. ; Balik, A. ; Krausova, B. ; Kaniakova, M. ; Lichnerova, K. ; Cerny, J. ; Krusek, J. ; Dittert, I. ; Horak, M. & Vyklicky, L. (2014). Structure, Function, and Pharmacology of NMDA Receptor Channels .*Physiol. Res.* , 63 (1): 191- 203.
- Walker, R. & Lupien, J. R. (2000) . The safety evaluation of monosodium glutamate .*J. nutr.* , 130 :1049-1052 .
- Wang, R. & Xu, Y. (2012) . Phytochemicals as Antidepressants: The Involvement of Serotonin Receptor Function, Stress Resistance and Neurogenesis .*INTECH* , 65(1): 474-492.
- Wang, L. ; Saint-Pierre, D. H. & Taché, Y. (2002) . Peripheral ghrelin selectively increases Fos expression in neuropeptide Y – synthesizing neurons in mouse hypothalamic arcuate nucleus.*Neurosci. Lett.* ; 325: 47-51.
- Wang, L. ; Yisong, I. ; Yao, H. ; Yin, L. ; Shang, J. (2015) . Curcumin prevents the non-alcoholic fatty hepatitis via mitochondria protection and apoptosis reduction .*Int. J. Clin. Exp. Pathol.* , 8(9):11503-11509.

- Wang, W. W. ; Hu, S. Q. ; Li, C. ; Zhou, C. ; Qi, S. H. & Zhang, G. Y. (2010). Transduced PDZ1 domain of PSD-95 decreases Src phosphorylation and increases nNOS (Ser847) phosphorylation contributing to neuroprotection after cerebral ischemia. *Brain Res.* , 1328: 162-170.
- Wang, X. ; Kim, J.R. ; Lee, S.B. ; Kim, Y.J. ; Jung, M.Y. ; Kwon, H.W. & Ahn, Y.J. (2014) Effects of Curcuminoids Identified in Rhizomes of *Curcuma longa* on BACE-1 Inhibitory and Behavioral Activity and Lifespan of Alzheimer's Disease *Drosophila* Models. *BMC Complement Altern. Med.* , 14, 88.
- Wang, Y. J. ; Zhou, H. D. & Zhou, X. F. (2006). Clearance of amyloid-beta in Alzheimer's disease: progress, problems and perspectives. *Drug. Discov. Today* , 11:931-938.
- Watford, M.(2015). Glutamine and glutamate :Nonessential or essential amino acids?. *Animal Nutr.* , 1(1):119-122.
- White, J.; Highland, M.; Kasier, M. & Clagett - Dame, M. (2000) . Vitamin A deficiency result in the dose - dependent acquisition of anterior character and shortening of the caudal hind brain of the rat embryo. *Dev. Biol.*, 15, 220 (2) : 263 - 284.
- Whitelaw, B. S. & Robinson, M. B. (2013) Inhibitors of glutamate dehydrogenase block sodium-dependent glutamate uptake in rat brain membranes. *Front Endocrinol. (Lausanne)* ,17(4) :123.

- Willard, S.S. & Koochekpour, S.(2013). Glutamate, Glutamate Receptors, and Downstream Signaling Pathways. *Int. J.of Biol. Sci.* , 9(9):948-959.
- Wiseman, F.K. (2015). A genetic cause of Alzheimer disease: mechanistic insights from Down syndrome . *Nat. Rev. Neurosci.* , 16(9): 564–574.
- Woo, J. M. ; Shin, D. Y. ; Lee, S. J. ; Joe, Y. ; Zheng, M. ; Yim, J.H. ; Callaway, Z. & Chung, H. T. (2012).Curcumin protects retinal pigment epithelial cells against oxidative stress via induction of heme oxygenase-1 expression and reduction of reactive oxygen . *Mol. Vis.* , 18: 901–908 .
- Xiang, Y. ; Bu, X. ; Liu, Y. ; Zhu, C. ; Shen, L. ; Jiao, S. ; Zhu, X. ; Giunta, B. ; Tan, J. ; Song, W. ; Zhou, H. ; Zhou, X. & Wang, Y. (2015). Physiological amyloid-beta clearance in the periphery and its therapeutic potential for Alzheimer's disease . *Acta. Neuropathol.* , 130(1):487–499.
- Xu, Y. ; Li, S. ; Vernon, M. M. ; Pan, J. ; Chen, L. ; Barish, P. A. ; Zhang, Y. ; Acharya, A. P.; Yu, J. ; Govindarajan, S. S. ; Boykin, E. ; Pan, X. ; O'Donnell, J. M. & Ogle, W. O. (2011). Curcumin prevent corticosteron-induced neurotoxicity and abnormalities of neuroplasticity via 5-HT receptor pathway . *J. Neurochem.* , 118 (1): 784–795.
- Yadav, R. S. ; Chandravanshi, L. P. ; Shukla, R. K. ; Sankhwar, M. L. ; Ansari, R. W. ; Shukla, P. K. ; Pant, A. B. & Khanna, V. K. .(2011) . Neuroprotective efficacy of curcumin in arsenic

- induced cholinergic dysfunctions in rats . *Neurotoxicol.* 32(6):760-768 .
- Yamaguchi & Shizuko (1998) . What is umami . *food rev. int.* , 14 (2-3):123-138.
- Yamaguchi, S. & Ninomiya, K. (1998). What is unami?. *Food Rev. Int.* 14: 123 – 138.
- Yang, F. ; Lim, G.P. ; Begum, A.N. ; Ubeda, O.J. ; Simmons, M.R. ; Ambegaokar, S.S., Chen, P.P. ; Kaye, R. ; Glabe, C. G.; Frautschy, S. A . & Cole, G. M. (2005) . Curcumin Inhibits Formation of Amyloid β Oligomers and Fibrils, Binds Plaques, and Reduces Amyloid in Vivo. *J. Biol. Chem.* , 280, 5892-5901.
- Yoo, B. C. ; Kim, S. H. ; Cairns, N. ; Fountoulakis, M. & Lubec, G. (2001). Deranged expression of molecular chaperones in brains of patients with Alzheimer's disease. *Electrophoresis* ,280 : 249–250.
- Young, D.S., (2000).Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, AACC, 5th Edition, AACC Press .
- Yu, P. ; Zhang, M. ; Ding, H. ; Di, X. ; Guan, P. ; Wang, S. ; Shi, Z. ; Jiang, D. ; Duan, X. & Chang, Y. (2015). Effect of Glutamate on Brain Iron Metabolism and the Regulation Mechanism. *J. Drug. Metab. Toxicol.* , 6(4):1-10.
- Zaky, A. ; Mahmoud, M. ; Awad, D. ; El -Sabaa, B. M. ; Kandeel, K. M. & Bassiouny, A. R. (2014) . Valproic acid potentiates

- curcumin-mediated neuroprotection in lipopolysaccharide induced rats . *Front. Cell Neurosci.* , 8(337):1-12.
- Zeviani, M. ; Taroni, F. ; Gellera, C. & Didonato, S. (2012) . Molecular pathogenesis of mitochondrial diseases . *Prog . Mitochondrial Bioenerg . Mol.Biol.* , 5: 223–224.
- Zhang, D. ; Fu, M. ; Gao, S. & Liu, J. (2013). Curcumin and Diabetes: A Systematic Review . *Evid. Based Complement Alternat. Med .* , 2013 :1-16.
- Zhang, C. ; Browne, A. ; Child, D. & Tanzi, R. E. (2010). Curcumin decreases amyloid-beta peptide levels by attenuating the maturation of amyloid-beta precursor protein. *J. Biol. Chem .* , 285:28472–28480.
- Zhang, J. V. ; Ren, P. G. ; Avsian-Kretchmer, O. ; Luo, C. W. ; Rauch, R. ; Klein, C. & Hsueh, A. J. (2005). Obestatin, a peptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake. *Science* ;310:996–999.
- Zhao, L. ; Long, H. ; Mu, Y. & Chew, L. Y . (2012) . The Toxicity of Amyloid _ Oligomers . *Int. J. Mol. Sci.*, 13(1) : 7303-7327.
- Zheng, S. ; Yumei, F. & Chen, A. (2007) . De novo synthesis of glutathione is a prerequisite for curcumin to inhibit hepatic stellate cell (HSC) activation. *Free Radic. Biol. Med.* , 43:444 – 453.
- Zheng, J. & Ramirez, V. D .(2000) . Inhibition of mitochondrial proton F0F1-ATPase/ATP synthase by polyphenolic phytochemicals . *Br. J. Pharmacol.*, 130:1115 – 1123.

-
- Zhong, P. ; Gu, Z. ; Wang, X. ; Jiang, H. ; Feng, J. & Yan, Z. (2003) .Impaired modulation of GABAergic transmission by muscarinic receptors in a mouse transgenic model of Alzheimer's disease. *J. Biol. Chem.* , 278:26888-96.
- Zhou, L. ; Li, F. ; Xu, H. B. ; Luo, C. X. ; Wu, H. Y. ; Zhu, M. M. ; Lu, W. ; Ji, X. ; Zhou, Q. G. & Zhu, D.Y. (2010) . Treatment of cerebral ischemia by disrupting ischemia-induced interaction of nNOS with PSD-95. *Nat. Med.* , 16: 1439-1443.
- Zhou, Y. & Danbolt, N.C. (2014) .Glutamate as a neurotransmitter in the healthy brain. *J. Neural. Transm.* , 121: 799-817.

Summary

This study aims to know the protective role of Curcumin against damage happening in the nervous system and induced by monounsaturated sodium glutamate (MSG) in male rabbits.

The Experiment 1 was aimed to extract and purify the curcumin from Raizumat plant turmeric employing Alsxlat Sexhlet apparatus ,the quantitative analysis of curcumin done by using the HPLC, The effective dose (ED50) of curcumin was determined in the second experiment by studying the dose response curve . ninety of the adult male rabbits, which were randomly divided into six equal groups (15 / group) and were intubated orally for four weeks with four successive increasing daily doses of curcumin (0,20,40, 60, 80 and 100 mg/kg/BW) . Fasting blood samples were collected in the end of each weak to study the following parameters : a serum Manoldehyde (MDA), Reduced glutathione(GSH) ,Total cholestrol (TC) and High density lipoprotein (HDL)concentration . The ED50 of curcumin was found to be equal to to 60 mg / kg / bw .

The third experiment was aimed to study the protective role of curcumin aganist the deleterious effect of monosodium glutamate, sixty of adult male rabbits were randomly divided into four equal groups (15 animals / group), the first group (G1) intubated with 1 ml / kg of corn oil and served as a control group (G1) . Rabbits in the second group were intubated orally and daily with 3mg /kg of MSG for three months , while the third group (G3) has intubated orally and daily with ED50 of curcumin (60 mg / kg) , the fourth group intubated orally and daily with 3mg /kg of MSG and 60 mg / kg of curcumin for three months .

Fasting blood samples were collected from fasted rabbits at pretreated period , Mid-experiment and at the end of experiment to study the following parameters : concentration of soluble-AchE enzyme (G1) , membrane-associated AchE (G4), Neuronal Mitochondrial ATPase enzyme (Nmit ATPase) , MDA, GSH, ONOO- , total protein concentration (TP) in serum and CSF , glucose concentration (GLU) in serum and CSF , measurement of Ca⁺ and Fe⁺

ions . in addition to measurement the ghrelin/obestatin ratio and corticosterone hormone .

The results revealed that oral dosing with MSG caused a significant decrease ($P < 0.01$) in membrane-associated AchE (G4) , the concentration of Nmit ATPase , GSH, TP in serum and CSF, ghrelin/obestatin ratio and significant increase ($P < 0.01$) AchE(G1) , MDA , ONOO⁻ , GLU in the serum and CSF , Ca⁺ , Fe⁺ and corticosterone hormone compared with the control group.

The group that treated with ED₅₀ of curcumin revealed a significant increase ($P < 0.01$) in Nmit ATPase, GSH, TP in serum and CSF , GLU in the serum and CSF and a significant decrease ($P < 0.01$) in the concentration of AchE (G4) , AchE (G1) , MDA , ONOO⁻ , Ca⁺ , Fe⁺ and corticosterone hormone , while no significant difference was observed in the concentration of GLU in serum and CSF , ghrelin/obestatin ratio compared with the control group.

Experience also shows that oral dosing with MSG and curcumin caused significant increase ($P < 0.01$) in AchE (G4) , and a significant decrease ($P < 0.01$) in AchE (G1), the TP in serum and CSF , Ca⁺ and ghrelin/obestatin ratio ,while no significant difference was observed in the concentration Nmit ATPase , GSH, MDA, ONOO⁻ , Fe⁺ and corticosterone hormone.

Histological results from rabbits treated with MSG have showed degenerative changes in nervous tissue by H&E , the treatment of nervous tissue with Silver stain showed deposit of beta Amleod plaques in cerebrum , cerebellum and spinal cord, compared with the control group , while the results showed the natural structure of the nervous tissue by H & E in group that treated with MSG and curcumin with lack of deposition of A β in the nervous tissue by Silver stain compared with the control group.

In conclusion , results of this study that monosodium glutamate (MSG) causes clearly pathological changes in nervous tissue and confirm that treated animals for three months with ED50

Summary.....

of curcumin(60 mg/kg/BW) have protective role against the damage of the nervous tissue and some of physiological parameters in male rabbits .

Ministry of Higher Education

And scientific Research

University of Kerbala- Collage of Education for pure sciences



Protective Role Of Curcumin On Physiological And Histological Damage Of Nervous Tissue Resulting From Monosodium Glutamate In Male Rabbits

A thesis submitted to the council college of Education for pure
science -Kerbala University as a partial fulfillment of the
requirements for the degree of the Philosophy Doctora degree of
science in Zoology / physiology

BY

Heba Alwan Abd-alsalam Alsalame

Supervised by

**Professor Dr.
Wefak G. Mohammad Al-Bazii**

September/2016 A.D

**Professor Dr .
May F. Magid Al-Habeb**

Dhul Hijjah / 1437 A.H.