Original Article

The effect of curcumin pre-treatment on morphine-induced inhibitory memory impairment and nitric oxide level in rat

Kharazmi K[1], Heydari A[2,3], Ardjmand A[2,3*]

1- Student Research Committee, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.
2- Physiology Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.
3- Department of Physiology, Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

Received: 2018/12/9 | Accepted: 2019/01/12

Abstract:

Background: Curcumin, as a polyphenolic compound in turmeric plant, has a neuroprotective effect in the improvement of learning and memory. Curcumin has interaction with diverse molecules, e.g., nitric oxide (NO). The present study dealt with the effect of curcumin pre-treatment on morphine-induced inhibitory memory impairment and nitric oxide metabolites (NOx) level in rat.

Materials and Methods: In this experimental study, rats (n=40) were divided into four groups (each group, 10 rats) and their memory was evaluated in an inhibitory memory apparatus: Control (saline gavage for 35 days+post-training saline (i.p.)); Curcumin (curcumin gavage (10 mg/kg for 35 days)+post-training saline (i.p.); Morphine (saline gavage for 35 days+post-training morphine (7.5 mg/kg/i.p.)); Curcumin+Morphine (curcumin gavage (35 days)+post-training morphine (i.p.)). In all groups, the memory of animals in the second day (test) was reported as the time delay (Sec.) to enter the dark chamber. The locomotor activity was evaluated using the open field. After behavioral tests, the brain of animals was removed under deep anesthesia for evaluating the NOx level using the Griess method.

Results: The time delay to enter the dark chamber in Morphine and Morphine+Curcumin groups were decreased ($P<0.001$) and increased ($P<0.01$), compared to Control and Morphine groups, respectively. Tissue NOx levels in Morphine and Morphine+Curcumin groups were decreased ($P<0.05$) and increased ($P<0.001$), compared to Control and Morphine groups, respectively. Locomotor activity in open field did not show a significant difference in four groups ($P>0.05$).

Conclusion: Curcumin improves the morphine-induced inhibitory memory impairment in rat, probably via the NO signaling pathway.

Keywords: Memory, Learning, Curcumin, Morphine, Nitric oxide

***Corresponding Author:**
Email: ardjmand_ab@kaums.ac.ir
Tel: 0098 315 554 0021-5(3514)
Fax: 0098 315 5621 157

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, April, 2019; Vol. 23, No 1, Pages 1-9

Please cite this article as: Kharazmi K, Heydari A, Ardjmand A. The effect of curcumin pre-treatment on morphine-induced inhibitory memory impairment and nitric oxide level in rat. ***Feyz*** 2019; 23(1): 1-9.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-06-04]

اثر پیش‌درمان با کورکومین بر اختلال حافظه اجتنابی ناشی از مورفین و بررسی سطح متابولیت‌های نیتریک اکساید در موش بزرگ آزمایشگاهی

خاطره خوارزمی[۱]، اژدر حیدری[۲و۳]، ابوالفضل ارجمند[۲و۳*]

خلاصه:

سابقه و هدف: کورکومین نوعی پلی‌فنول موجود در گیاه زردچوبه است که با اثر حفاظت عصبی و تعامل با ملکول‌های مختلف مثل نیتریک اکساید (NO)، در بهبود اختلالات شناختی نقش دارد. این مطالعه به بررسی اثر کورکومین بر اختلال حافظه اجتنابی ناشی از مورفین و بررسی سطح متابولیت‌های نیتریک اکساید (NOx) در موش بزرگ آزمایشگاهی می‌پردازد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش تجربی ۴۰ سر موش بزرگ آزمایشگاهی نر به ۴ گروه ۱۰ تایی تقسیم شده و یادگیری و حافظه آن‌ها طی دو روز در دستگاه حافظه اجتنابی بررسی شد: گروه کنترل ۳۵ روز گاواژ سالین (۱۰ ml/kg) و گروه کورکومین ۳۵ روز گاواژ کورکومین (۱۰ mg/kg) و سپس در روز آموزش سالین داخل صفاقی پس از آموزش دریافت کردند؛ گروه مورفین ۳۵ روز گاواژ سالین و گروه کورکومین+مورفین ۳۵ روز گاواژ کورکومین (۱۰ mg/kg) و سپس در روز آموزش مورفین داخل صفاقی (۷/۵ mg/kg) پس از آموزش دریافت کردند. حافظه حیوانات در روز پس از آموزش به‌صورت زمان تاخیر ورود به اتاقک تاریک (ثانیه) در دستگاه حافظه اجتنابی گزارش شد. سپس، فعالیت حرکتی در دستگاه open field بررسی شده و پس از خروج مغز تحت بیهوشی عمیق، سطح NOx به‌روش گریس اندازه‌گیری شد.

نتایج: حافظه اجتنابی در گروه مورفین نسبت به گروه کنترل کاهش ($P<۰/۰۰۱$) و در گروه مورفین+کورکومین نسبت به گروه مورفین افزایش ($P<۰/۰۱$) داشت. سطح NOx نیز در گروه مورفین نسبت به گروه کنترل کاهش ($P<۰/۰۵$) و در گروه مورفین+کورکومین نسبت به گروه مورفین افزایش ($P<۰/۰۰۱$) داشت. فعالیت حرکتی تغییر معناداری بین گروه‌ها نداشت ($P>۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: کورکومین احتمالا از طریق مسیر سیگنالی NO اختلال حافظه اجتنابی ناشی از مورفین را در موش بزرگ آزمایشگاهی بهبود می‌بخشد.

واژگان کلیدی: حافظه، یادگیری، کورکومین، مورفین، نیتریک اکساید

دو ماه‌نامه علمی- پژوهشی فیض، دوره بیست و سوم، شماره ۱، فروردین- اردیبهشت ۹۸، صفحات ۹-۱

مقدمه

کورکومین نوعی پلی‌فنول غیرفلاونوئیدی در گیاه زردچوبه بوده و آثار فارماکولوژیکی متعددی مثل اثر آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، حفاظت عصبی و افزایش حافظه دارد [۱]. مکانیسم اصلی اثر کورکومین در اعمال مذکور شامل تعامل آن با اهداف ملکولی مختلف و تنظیم مسیرهای پیام‌رسانی مربوط است [۲]. به‌علاوه، کورکومین با خاصیت قدرتمند حفاظت عصبی در درمان اختلالات شناختی موثر است [۳]. مصرف کورکومین در بهبود اختلالات شناختی، حافظه و یادگیری در حیوانات موثر است [۶-۴]. مطالعات شناختی در حیوانات نشان می‌دهد که کورکومین به‌تنهایی بر حافظه اثری نداشته، عملکردش زمانی آشکار می‌شود که حافظه با عامل یا داروی دیگری تخریب شده باشد [۷]. مورفین یک آگونیست اوپیوئیدی با تمایل زیاد به گیرنده مو (μ) است که عملکرد مهاری آن از طریق پروتئین-G وساطت می‌شود. در فرایند مذکور مورفین با تحریک فعالیت GTPase باعث مهار تولید cGMP و با مهار آنزیم آدنیلات سیکلاز مانع تولید cAMP شده، در نتیجه با ممانعت از ورود کلسیم به سلول حافظه را مختل می‌کند [۸]. گزارش شده است که تجویز حاد مورفین از تشکیل حافظه در حیوانات جلوگیری می‌کند [۹]. نیتریک اکساید (NO) نوعی میانجی عصبی گازی شکل است که هنگام فعالیت‌های شناختی و در پی تحریک گیرنده NMDA توسط آنزیم نیتریک اکسید سنتاز (NOS) تولید و آزاد شده [۱۰]، در سیستم عصبی به شکل پس‌نورد عمل می‌کند [۱۱]. NO با نیمه عمر کوتاهش به‌سرعت به متابولیت‌های آن یعنی نیتریت و نیترات تبدیل می‌شود [۱۲]. مطالعات نشان می‌دهد که کورکومین با افزایش تولید ایزوفرم عصبی آنزیم NOS و افزایش غلظت NO در مغز به

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

[۲] دانشیار، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

[۳] دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

* **نشانی نویسنده مسئول:**

کاشان، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، مرکز تحقیقات فیزیولوژی

تلفن: ۰۳۱ ۵۵۵۴۰۰۲۱ **دورنویس:** ۰۳۱ ۵۵۶۲۱۱۵۷

پست الکترونیک: ardjmand_ab@kaums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۹/۱۸ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۱۳۹۷/۱۰/۲۲

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-06-04]

افزایش تولید PKG و بهبود حافظه از طریق مسیر NO/cGMP/PKG کمک می‌کند [۱۴،۱۳]. به‌دلیل شیوع اختلالات شناختی در سال‌های اخیر [۱۵] و قابلیت بالای کورکومین به‌عنوان نوعی ماده طبیعی در بهبود و پیشگیری از اختلالات شناختی [۳]، هدف این مطالعه بررسی اثر کورکومین بر اختلال حافظه اجتنابی ناشی از مورفین و بررسی سطح متابولیت‌های NO در مغز موش بزرگ آزمایشگاهی است.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش تجربی تعداد ۴۰ سر موش بزرگ آزمایشگاهی نر نژاد ویستار با میانگین وزنی ۱۸۰-۲۲۰ گرم مورد مطالعه قرار گرفتند. حیوانات تحت شرایط دمایی ۲۲±۲°C و چرخه شبانه‌روزی تاریکی-روشنایی ۱۲ ساعته، با دسترسی آزاد به آب و غذا قرار گرفتند و در گروه‌های ۵ تایی در قفس‌های مخصوص در حیوانخانه بخش فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی کاشان نگهداری شدند. این طرح تحقیقاتی با شماره ۹۶۹۶ و کد اخلاق IR.KAUMS.MEDNT.REC.1393.26 در کمیته اخلاق معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کاشان ثبت و همه آزمایش‌های این مطالعه تحت نظارت کمیته مذکور انجام شد. پس از یک هفته سازش با محیط، حیوانات به روش تصادفی در ۴ گروه ۱۰ تایی (کنترل، کورکومین، مورفین، و کورکومین+مورفین) به آزمایش رفتاری حافظه وارد شدند. گروه کنترل، هم‌حجم دارو گاواژ سالین به‌مدت ۳۵ روز و سپس تزریق داخل صفاقی سالین پس از آموزش را دریافت کردند؛ گروه کورکومین به‌مدت ۳۵ روز گاواژ کورکومین (۱۰ mg/kg) [۱۶] و سپس تزریق داخل صفاقی سالین پس از آموزش را دریافت کردند؛ گروه مورفین گاواژ سالین به‌مدت ۳۵ روز و سپس تزریق داخل صفاقی مورفین پس از آموزش (۷/۵ mg/kg) را دریافت کردند؛ و گروه کورکومین+مورفین به‌مدت ۳۵ روز گاواژ کورکومین (۱۰ mg/kg) و سپس تزریق داخل صفاقی مورفین پس از آموزش (۷/۵ mg/kg) را دریافت کردند. مطالعات قبلی ما نشان داد که دوز مذکور مورفین در موش بزرگ آزمایشگاهی باعث تخریب حافظه می‌شود [۱۷]. حافظه حیوانات همه گروه‌ها در روز پس از آموزش (روز آزمون) به‌صورت زمان تاخیری ورود به اتاقک تاریک (ثانیه) در دستگاه حافظه اجتنابی گزارش شد.

داروها و مواد

مواد مورد استفاده شامل کورکومین (سیگما، امریکا)، مورفین (تماد، تهران) و سالین بود که به‌روش خوراکی (گاواژ) و تزریق داخل صفاقی مورد استفاده قرار گرفتند. داروها در دوز کاربردی روزانه قبل از انجام آزمایش به صورت تازه تهیه شده و مورد استفاده قرار گرفت.

آزمون حافظه در دستگاه یادگیری اجتنابی

آزمون بررسی حافظه در دستگاه یادگیری اجتنابی (Step-through) ساخت شرکت Maze router (تبریز-ایران) طی دو روز (آموزش و آزمون) انجام شد. دستگاه مذکور ابزاری تحقیقاتی شامل دو اتاقک روشن و تاریک به ابعاد ۲۰×۲۰×۳۰ سانتی‌متر است که با درب گیوتینی از هم جدا می‌شوند. کف اتاقک تاریک دستگاه شبکه فولادی زنگ نزن با فواصل ۱ سانتی-متر ازهم، جهت ایجاد شوک الکتریکی متناوب قرار دارد. برای سازش حیوان با دستگاه، ابتدا حیوان دوبار با فاصله زمانی ۲ دقیقه، هربار به‌مدت ۳۰ ثانیه در هر اتاقک قرار گرفت و سپس به قفس خود بازگردانده شد. پس از ۲ دقیقه در روز آزمون (مرحله آموزش) حیوان پشت به درب، در اتاقک روشن قرار گرفت و پس از ۵ ثانیه درب باز شد. پس‌از ورود حیوان به اتاقک تاریک درب بسته شده، شوک الکتریکی با مشخصات (50 Hz, 3 s, 1 mA) به پای موش داده شد. پس از مرحله آموزش موفق، موش از اتاقک تاریک خارج شده و براساس گروه قرارگیری، مداخله دارویی پس از آموزش انجام شده و سپس حیوان به قفس اصلی خود بازگردانده شد. در روز دوم (۲۴ ساعت بعد) جهت ارزیابی حافظه، حیوان پشت به درب باز در اتاقک روشن قرار گرفت و تاخیر زمانی (ثانیه) ورود حیوان به اتاقک تاریک به‌عنوان معیاری برای حافظه ثبت گردید. سقف زمانی مرحله آزمون ۳۰۰ ثانیه بود [۱۸].

بررسی فعالیت حرکتی حیوان در دستگاه Open-field

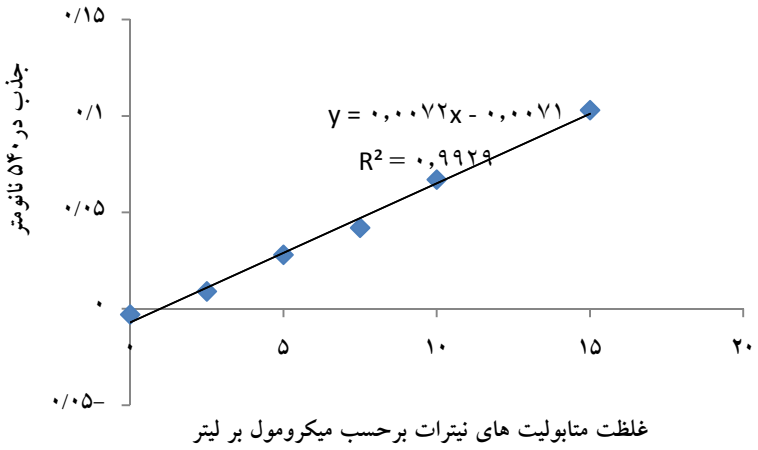
این دستگاه یک جعبه تاریک مربع شکل به ابعاد ۳۶×۷۲×۷۲ سانتی‌متر است. کف دستگاه توسط نرم‌افزار با خطوط آبی‌رنگ به ۱۶ قسمت ۱۸×۱۸ سانتی‌متر تقسیم‌بندی می‌شود. در ارتفاع بالاتری نسبت به دستگاه یک دوربین ویدیویی CCD متصل به نرم‌افزار مخصوص Maze router (تبریز-ایران) جهت ثبت حرکات حیوان قرار داشت. بررسی حرکتی در این دستگاه طی دو روز، ۵ دقیقه پس از مرحله آموزش (مرحله سازش) و ۵ دقیقه بعد از مرحله آزمون انجام شد. کل مسافت طی شده توسط حیوان با نرم‌افزار ثبت گردید [۱۹].

اندازه‌گیری سطح NOx

پس از اتمام مطالعات رفتاری، سر موش‌ها تحت بیهوشی عمیق جدا شد. کل مغز از جمجمه خارج شده و تحت شرایط

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-06-04]

مطلوب نگهداری شد [۱۶]. برای اندازه‌گیری سطح NOx از روش گریس استفاده شد. بدین‌ترتیب که پس از خروج نمونه‌ها از یخچال ۷۰- درجه سانتی‌گراد، یک گرم بافت مغز با ۱۰ میلی‌لیتر بافر PBS هموژن شد. احیاء نیترات به نیتریت با استفاده از وانادیم کلراید (VCl3) انجام شد. سپس، سنجش نیتریت تام به روش طیف‌سنجی انجام گردید. جذب نمونه‌ها در ۵۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه خوانش الایزا اندازه‌گیری شده و با استفاده از منحنی استاندارد نیتریت (شکل شماره ۱)، غلظت NOx بر حسب میکرومول بر گرم بافت مغز محاسبه شد [۲۰].



شکل شماره ۱- نمودار استاندارد جذب نوری غلظت‌های مختلف NOx در طول موج ۵۴۰ نانومتر

روش تجزیه‌وتحلیل آماری

قبل از تجزیه‌وتحلیل داده‌ها، ابتدا نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف بررسی گردید. جهت تجزیه‌وتحلیل داده‌های رفتاری مربوط به‌مدت زمان تاخیر ورود به محفظه تاریک (ثانیه) و بررسی سطح NOx از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه پارامتری و ناپارامتری (بسته به نتیجه آزمون نرمال بودن) و آزمون تعقیبی LSD استفاده شد. سطح $P<۰/۰۵$ به‌عنوان معیار اختلاف معنادار درنظر گرفته شد.

نتایج

اثر کورکومین خوراکی بر اختلال حافظه ناشی از مورفین در مدل یادگیری اجتنابی در موش بزرگ آزمایشگاهی

شکل شماره ۲ اثر گاواژ کورکومین (۱۰ mg/kg) به‌مدت ۳۵ روز را بر اختلال حافظه اجتنابی ناشی از تزریق داخل صفاقی مورفین (۷/۵ mg/kg) در مدل یادگیری اجتنابی در موش بزرگ آزمایشگاهی نشان می‌دهد. انجام آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه تفاوت معناداری را در گاواژ کورکومین و تزریق مورفین بین گروه‌ها نشان داد ($F_{۳/۳۶}=۱۱/۴۴$، $P<۰/۰۰۱$). به‌علاوه، انجام آزمون تعقیبی LSD تفاوت معناداری را بین گروه‌های مورفین و کنترل ($P<۰/۰۰۱$) و گروه مورفین+ کورکومین در مقایسه با گروه مورفین ($P<۰/۰۱$) نشان داد.

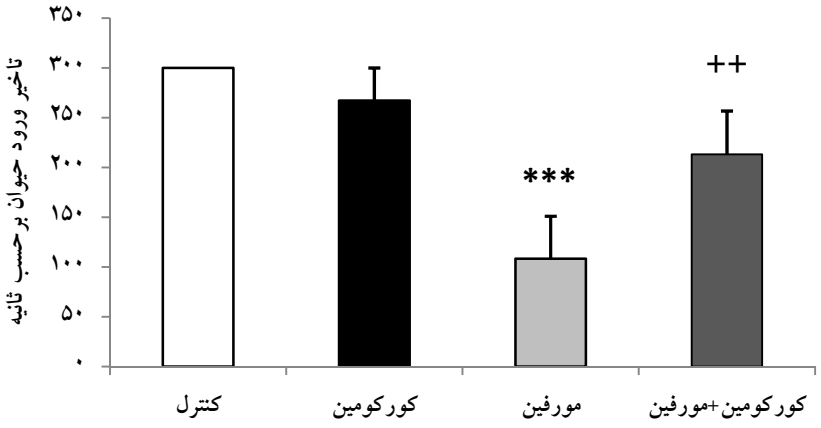
اثر کورکومین خوراکی و مورفین داخل صفاقی بر فعالیت حرکتی در موش بزرگ آزمایشگاهی

جدول شماره ۱ اثر گاواژ کورکومین و تزریق داخل صفاقی مورفین در موش بزرگ آزمایشگاهی را بر فعالیت حرکتی حیوان در دستگاه Open-field نشان می‌دهد. انجام آزمون آماری کروسکال-والیس تفاوت معناداری را بین گروه‌ها نشان نداد [$H(3)=۴/۶۰$، $P=۰/۲۰$، n=۸-۱۰].

اثر کورکومین خوراکی بر سطح NOx در اختلال حافظه ناشی از مورفین در مغز موش بزرگ آزمایشگاهی

شکل شماره ۳ اثر گاواژ کورکومین به‌مدت ۳۵ روز و تزریق داخل صفاقی مورفین بر مقدار به‌دست آمده از سطح NOx در بافت مغز موش بزرگ آزمایشگاهی را نشان می‌دهد. انجام آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه تفاوت معناداری را بین گروه‌ها، به‌دنبال گاواژ کورکومین و تزریق مورفین نشان داد ($F_{۳/۳۶}=۵/۵۶$، $P<۰/۰۰۱$). به‌علاوه، انجام آزمون تعقیبی LSD تفاوت معناداری را در مقایسه بین گروه مورفین با گروه کنترل ($P<۰/۰۵$) و گروه کورکومین+مورفین در مقایسه با گروه مورفین ($P<۰/۰۰۱$) نشان داد.

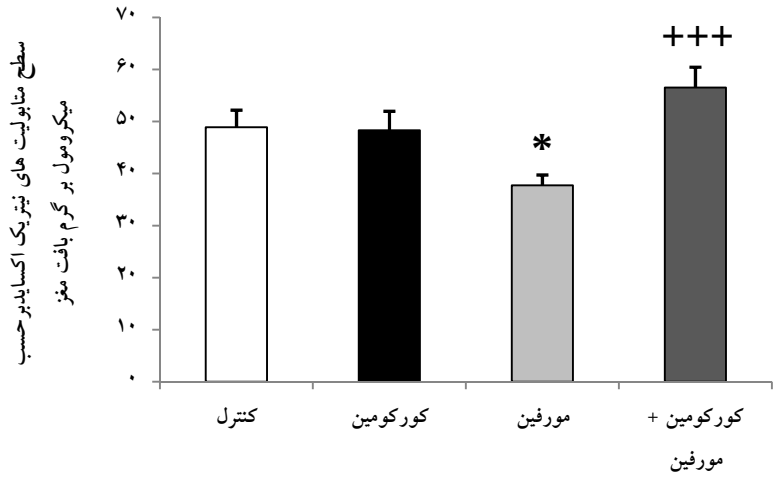
[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-06-04]



شکل شماره ۲- مدت زمان تاخیر ورود حیوان به اتاقک تاریک در دستگاه حافظه اجتنابی. گروه کنترل: دریافت‌کننده سالین تزریقی و خوراکی (۱،۱۰ mg/kg)؛ گروه کورکومین: دریافت‌کننده کورکومین خوراکی به‌صورت گاواژ (۱۰ mg/kg)؛ گروه مورفین: دریافت‌کننده مورفین (۷/۵ mg/kg.ip) و گروه کوکومین+مورفین: دریافت‌کننده گاواژ کورکومین و مورفین داخل صفاقی است. داده‌ها به‌صورت Mean±SEM گزارش شده است (n= ۸-۱۰). $^{***}P$<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه کنترل، و ^{++}P<۰/۰۱ در مقایسه با گروه مورفین می‌باشد.

جدول شماره ۱- میانگین کل مسافت طی شده توسط حیوانات در دستگاه open-field [(P=۰/۲۰، H(3)=۴/۶۰، n=۸-۱۰)].

گروه‌ها	مورفین	کورکومین	کنترل	کوکومین+مورفین
میانگین	۵۷۵/۱۳	۵۷۸/۳۸	۵۵۳/۶۳	۵۹۶/۸۸
انحراف استاندارد	۲۲/۴۳	۱۵/۸۸	۱۱/۹۳	۶/۲۹



شکل شماره ۳- سطح NOx به ازای میکرومول برگرم بافت مغز. گروه کنترل: دریافت‌کننده سالین (1 ml/kg)؛ گروه کورکومین: دریافت کننده کورکومین خوراکی به صورت گاواژ (۱۰ mg/kg)؛ گروه مورفین: دریافت کننده مورفین (۷/۵ mg/kg . ip)؛ و گروه کورکومین+مورفین: دریافت کننده گاواژ کورکومین و مورفین داخل صفاقی است. داده ها به صورت Mean±SEM گزارش شده است (n= ۸-۱۰). $^{*}P$<۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل و ^{+++}P< ۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه مورفین می باشد.

بحث

هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر کورکومین بر اختلال حافظه اجتنابی ناشی از مورفین و بررسی سطح متابولیت‌های نیتریک اکساید در موش بزرگ آزمایشگاهی بود. مطالعات شناختی در حیوانات نشان می‌دهد که کورکومین به‌تنهایی بر حافظه اثری نداشته، عملکردش زمانی آشکار می‌شود که عملکرد حافظه با عامل یا داروی دیگری تخریب شده باشد [۷]. ما در این مطالعه جهت تخریب حافظه از مورفین استفاده کردیم. طبق گزارش Mehmet و همکاران (۲۰۱۵) اختلال حافظه و یادگیری ناشی از سیس‌پلاتین [۲۱] و طبق گزارش Nam و همکاران (۲۰۱۴)

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-06-04]

اختلال شناختی ناشی از پیری، با مصرف کورکومین تا حد زیادی بهبود یافته است [۶]. مطالعه ما نیز این نتایج را تایید می‌کند، ولی ویژگی و نوآوری مطالعه حاضر این بود که کورکومین می‌تواند حافظه تخریب‌شده به‌وسیله مورفین را بهبود بخشد. از اثرات مورفین بر حافظه و یادگیری نتایج مختلفی به شرح زیر گزارش شده است؛ گرچه طبق اکثر گزارش‌ها تجویز حاد مورفین حافظه را مختل می‌کند [۲۲]. Motamedi و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کرده‌اند که تجویز مورفین یادگیری اجتنابی فعال را در موش‌های نر تسهیل می‌کند و بر حافظه اجتنابی فعال و غیرفعال بی‌اثر است [۲۳]. به‌نظر می‌رسد اثرات مورفین بر حافظه و یادگیری بر اساس نحوه مصرف متفاوت است. زیرا در مطالعه ما مورفین به‌شکل تزریقی و در مطالعه ایشان، به‌شکل خوراکی تجویز شده بود. اخیرا Pan و همکاران (۲۰۱۷) نیز گزارش کرده‌اند که تجویز مورفین حافظه را مختل نمی‌کند [۲۴]. ممکن است دوز و روش تجویز هم بر حافظه موثر باشد؛ هرچند روش تزریق مورفین در مطالعه ایشان نیز مانند مطالعه ما به‌صورت داخل صفاقی بود، اما دوز آن دو برابر دوز تجویزی ما (۱۵ mg/kg) و به‌صورت مزمن بود. مطالعه Sharifi و همکاران (۲۰۱۷) هم‌سو با مطالعه ما نشان داد که تزریق داخل صفاقی مورفین، بلافاصله پس‌از آموزش، حافظه را مختل می‌کند [۲۵]. تحقیقات متعددی نشان می‌دهند که کورکومین با اثر حفاظت سیستم عصبی دارای قابلیت قدرتمندی برای درمان اختلالات شناختی است [۶-۴،۲۶]. در سال‌های اخیر مکمل‌های غذایی تهیه شده از کورکومین از بُعد خاصیت حفاظت عصبی‌شان در بهبود بیماری‌های شناختی استفاده می‌شوند [۲۷]. اخیرا Soukhaklari و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کرده‌اند مصرف کورکومین در موش‌های سوری جوان به افزایش حافظه اجتنابی مهاری کمک می‌کند [۲۸]. Dong و همکاران (۲۰۱۲) نیز نشان داده‌اند که کورکومین به بهبود یادگیری در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی کمک می‌کند [۵]. Bassani و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کرده‌اند که تجویز خوراکی مزمن کورکومین در موش بزرگ آزمایشگاهی حافظه کوتاه‌مدت شناسایی اشیاء را بهبود بخشیده، اما بر حافظه کوتاه‌مدت فضایی بی‌تاثیر بوده است [۲۶]. در مطالعه ما از مدل اجتنابی مهاری استفاده شد که نوعی حافظه غیرفضایی است. همه شواهد فوق دلیل بر این است که احتمالا روش آزمون حافظه می‌تواند به‌عنوان عامل موثری در نتیجه مطالعه حاصل نقش داشته باشد. بر خلاف مطالعه ما، Sarlak و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کرده‌اند که تجویز داخل صفاقی کورکومین در دوزهای پایین و متوسط (۱۵ mg/kg و ۵) بر حافظه اجتنابی مهاری بی‌تاثیر است [۲۹]. احتمالا طول دوره مصرف و نیز تفاوت روش تجویز بر نتیجه آزمون حافظه موثر باشد. در مطالعه مذکور، کورکومین به‌شکل حاد و داخل صفاقی، و در مطالعه ما به‌صورت مزمن و از طریق گاواژ تجویز شده بود. هم‌راستا با نتایج ما، طبق نتایج مطالعه Liu و همکاران (۲۰۱۴) گاواژ ۱۰mg/kg کورکومین به‌مدت ۳۵ روز حافظه را افزایش می‌دهد [۱۶]. کورکومین با اتصال به اهداف مولکولی مختلف و تنظیم مسیر پیام‌رسانی مربوط آثار خود را بروز می‌دهد [۳۰]. برای مثال، اثر کورکومین بر شناخت با وساطت گیرنده گلوتامات و با افزایش کلسیم داخل سلولی و فعال کردن آنزیم آدنیلات سیکلاز که به افزایش بیان cAMP و درنتیجه فعال‌سازی کینازهای پروتئینی (مانند پروتئین کینازهای A و یا C) منجر می‌شود، بروز می‌نماید [۳۱]. از طرف دیگر، مورفین با عملکرد مهاری از طریق پروتئین-G و تحریک فعالیت GTPase مانع تولید cGMP و با مهار آنزیم آدنیلات سیکلاز مانع تولید cAMP شده، در نتیجه با ممانعت از ورود کلسیم به سلول حافظه را مختل می‌کند [۸]. باتوجه به نقش پروتئین کیناز وابسته به cGMP در فرآیند حافظه و یادگیری [۳۲]، احتمالا مورفین از طریق این مکانیسم هم می‌تواند حافظه را مختل کند. در مطالعه ما ضمن بررسی سطح NOx اختلاف معناداری بین گروه کورکومین و گروه کورکومین+مورفین با گروه کنترل مشاهده نشد. درحالی‌که در گروه مورفین نسبت به گروه کنترل کاهش معنادار و در گروه کورکومین+مورفین نسبت به گروه مورفین افزایش معناداری دیده شد. مورفین با اثر بر NO در مغز در فرآیند حافظه و یادگیری مداخله می‌کند [۳۳]. هم‌راستا با مطالعه ما، مطالعه Khavandgar و همکاران نشان داد که اختلال یادگیری و حافظه ناشی از مورفین با کاهش تولید NO همراه بوده و تجویز ال-آرژنین این اختلالات را بهبود می‌بخشد [۳۴]. مورفین با کاهش تولید cAMP و cGMP و ممانعت از ورود کلسیم به سلول، CAMKII را کاهش داده [۳۵،۳۲،۸]، درنتیجه کاهش غلظت nNOS و سطح NO را سبب می‌گردد [۳۶]. در مطالعه دیگری فرهمندفر و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کرده‌اند که تجویز ال-آرژنین به‌عنوان پیش‌ساز NO هم‌زمان با مورفین، سبب بهبود اختلال حافظه ناشی از مورفین می‌شود [۳۳]. مطالعه اخیر نشان می‌دهد مورفین با کاهش NO حافظه را مختل می‌کند. گزارش شده ترکیبات مشابه ال-آرژنین، مانند متیل ال-آرژنین، دی متیل ال-آرژنین و آگمانتین که به شکل درون‌زاد در بافت عصبی وجود دارند، با مهار فعالیت nNOS و eNOS تولید NO و در-نتیجه cGMP را در نواحی مختلف مغز موش کاهش داده، به اختلالات شناختی منجر می‌گردند [۳۷]. افزایش سطوح این ترکیبات در شرایط پاتولوژیک، تولید NO را در مغز کاهش می-

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-06-04]

دهند [۱۰]. کورکومین با ملکول‌های مختلفی از جمله NO در مغز تعامل دارد. Zhu و همکاران (۲۰۱۵) گزارش داده‌اند که کورکومین با افزایش nNOS و NO در هیپوکامپ، از مسیر NO/CGMP/PKG به افزایش PKG و بهبود روند حافظه کمک می‌کند [۱۳]. در مطالعه حاضر احتمالا کورکومین با مکانیسم مشابهی به بهبودی حافظه کمک کرده است. مطالعه دیگری هم‌سو با یافته ما نشان داد که تجویز کورکومین در موش‌های پیر سطح nNOS و NO را در هیپوکامپ به‌طور معناداری افزایش می‌دهد. ایشان گزارش کرده‌اند که پیش‌درمان با NI-7 به‌عنوان آنتا-گونیست انتخابی مهاری nNOS اثرات کورکومین را به‌طور معناداری معکوس کرده و به اختلال حافظه منجر می‌گردد که این امر نشان می‌دهد کورکومین از مسیر پیام‌رسانی nNOS/NO عمل می‌کند [۴]. فعالیت انواع رسپتورهای گلوتاماتی NMDA آغازگر تولید نیتریک اکساید در مغز است [۳۸] مهارکننده‌های NOS بسیاری از اثرات مرکزی NMDA را مهار می‌کنند [۳۹]. همان-طور که قبلا اشاره شد کورکومین با افزایش بیان گیرنده NMDA [۴۰] کلسیم داخل سلولی در نورون‌های پس‌سیناپسی را افزایش داده به افزایش غلظت nNOS درحضور کمپلکس کلسیم-کالمو-دولین و درنتیجه افزایش ملکول NO کمک می‌کند [۳۶]. پس از آن NO از مسیر NO-cGMP به رفع اختلالات شناختی کمک می‌کند؛ این مسیر برای القای LTP در هیپوکامپ و فرآیند یادگیری و حافظه کاملا شناخته شده است [۴۱]. تشکیل حافظه تحت غلظت فیزیولوژیک NO امکان‌پذیر بوده [۴۲]، در چند مورد افزایش تجویز ال-آرژنین به افزایش NO در مغز و اختلال در مرحله اکتساب حافظه در یادگیری فضایی و اجتنابی در موش‌ها منجر شده است [۴۳،۱۰]. در مطالعه ما کورکومین به‌تنهایی افزایش معناداری در سطح NOx در مغز موش های گروه کنترل نداد که احتمال دارد به نقش حفاظتی کورکومین بر سیستم عصبی مربوط باشد.

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر نشان داد که پیش‌درمان با کورکومین اختلال حافظه اجتنابی ناشی از مورفین را احتمالا از طریق مسیر سیگنالی NO در موش بزرگ آزمایشگاهی بهبود می‌بخشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله بخشی از طرح تحقیقاتی پایان‌نامه کارشناسی ارشد تحت عنوان «بررسی اثر کورکومین بر اختلال حافظه و یادگیری احترازی ناشی از مورفین، بیان پروتئین CREB و سطح متابولیت‌های NO در هیپوکامپ موش بزرگ آزمایشگاهی» مصوب دانشگاه علوم پزشکی کاشان با شماره ۹۶۹۶ می‌باشد که با حمایت دانشگاه مذکور اجرا شده است. بدین‌وسیله نویسندگان، از کلیه کسانی که در گردآوری این پژوهش همکاری و مساعدت نموده‌اند، کمال تشکر را دارند.

References:

[1] Ullah F, Liang A, Rangel A, Gyengesi E, Niedermayer G, Münch G. High bioavailability curcumin: an anti-inflammatory and neurosupportive bioactive nutrient for neurodegenerative diseases characterized by chronic neuroinflammation. ***Archives Toxicol*** 2017; 91(4): 1623-34.

[2] Kumar TP, Antony S, Gireesh G, George N, Paulose CS. Curcumin modulates dopaminergic receptor, CREB and phospholipase C gene expression in the cerebral cortex and cerebellum of streptozotocin induced diabetic rats. ***J Biomed Sci*** 2010; 17(1): 43.

[3] Yue YK, Mo B, Zhao J, Yu YJ, Liu L, Yue CL, Liu W. Neuroprotective effect of curcumin against oxidative damage in BV-2 microglia and high intraocular pressure animal model. ***J Ocular Pharmacol Ther*** 2014; 30(8): 657-64.

[4] Yu SY, Zhang M, Luo J, Zhang L, Shao Y, Li G. Curcumin ameliorates memory deficits via neuronal nitric oxide synthase in aged mice. ***Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry*** 2013; 45: 47-53.

[5] Dong S, Zeng Q, Mitchell ES, Xiu J, Duan Y, Li C, et al. Curcumin enhances neurogenesis and cognition in aged rats: implications for transcriptional interactions related to growth and synaptic plasticity. ***PloS One*** 2012; 7(2): e31211.

[6] Nam SM, Choi JH, Yoo DY, Kim W, Jung HY, Kim JW, et al. Effects of curcumin (Curcuma longa) on learning and spatial memory as well as cell proliferation and neuroblast differentiation in adult and aged mice by upregulating brain-derived neurotrophic factor and CREB signaling. ***J Med Food*** 2014; 17(6): 641-9.

[7] Ataie A, Sabetkasaei M, Haghparast A, Moghaddam AH, Ataie R, Moghaddam SN. An investigation of the neuroprotective effects of Curcumin in a model of Homocysteine-induced oxidative stress in the rat's brain. ***DARU*** 2010; 18(2): 128.

[8] Al-Hasani R. Bruchas M.R. Molecular mechanisms of opioid receptor-dependent signaling and behavior. ***Anesthesiology*** 2011; 115(6): 1363-81.

[9] Jafarinejad-Farsangi S. Farazmand A. Rezayof A. Darbandi N. Proteome Analysis of Rat Hippocampus Following Morphine-induced Amnesia and

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-06-04]

State-dependent Learning. ***Iran J Pharm Res*** 2015; 14(2): 591-602.
[10] Paul V, Ekambaram P. Involvement of nitric oxide in learning & memory processes. ***Indian J Med Res*** 2011; 133(5): 471.
[11] Jafari-Sabet M. Khodadadnejad MA, Ghoraba S, Ataee R. Nitric oxide in the dorsal hippocampal area is involved on muscimol state-dependent memory in the step-down passive avoidance test. ***Pharm Biochem Behav*** 2014; 117: 137-43.
[12] Tonin AA, Da Silva AS, Thomé GR, Sangoi MB, Oliveira LS, Flores MM, et al. Influence of toxoplasmosis on acetylcholinesterase activity, nitric oxide levels and cellular lesion on the brain of mice. ***Pathology Res Practice*** 2014; 210(8): 526-32.
[13] Zhu W, Su J, Liu J, Jiang C. The involvement of neuronal nitric oxide synthase in the anti-epileptic action of curcumin on pentylenetetrazol-kindled rats. ***Bio-Medical Materials engineering*** 2015; 26(s1): S841-S50.
[14] Yu SY, Zhang M, Luo J, Zhang L, Shao Y, Li G. Curcumin ameliorates memory deficits via neuronal nitric oxide synthase in aged mice. ***Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*** 2013; 45: 47-53.
[15] Aboul-Enein F. Comment on the article entitled'Frequency of cognitive impairment dramatically increases during the first 5 years of multiple sclerosis' by Reuter F, Zaaraoui W, Crespy L, Faivre A, Rico A, Malikova I, Soulier E, Viout P, Ranjeva JP, Pelletier J, Audo. 2018.
[16] Liu D, Wang Z, Gao Z, Xie K, Zhang Q, Jiang H, et al. Effects of curcumin on learning and memory deficits, BDNF, and ERK protein expression in rats exposed to chronic unpredictable stress. ***Behav Brain Res*** 2014; 271: 116-21.
[17] Ardjmand A, Rezayof A, Zarrindast MR. Involvement of central amygdala NMDA receptor mechanism in morphine state-dependent memory retrieval. ***Neurosci Res*** 2011; 69(1): 25-31.
[18] Torkaman-Boutorabi A, Sheidadoust H, Hashemi-Hezaveh SM. Zarrindast M.-R. Influence of morphine on medial prefrontal cortex alpha2 adrenergic system in passive avoidance learning in rats. ***Pharmacol Biochem Behav*** 2015; 133: 92-8.
[19] Wang M, Li D, Yun D, Zhuang Y. Repunte-Canonigo V, Sanna PP, et al. Translation of BDNF-gene transcripts with short 3' UTR in hippocampal CA1 neurons improves memory formation and enhances synaptic plasticity-relevant signaling pathways. ***Neurobiol Learn Mem*** 2017; 138: 121-34.
[20] Heydari A. Davoudi S. The effect of sertraline and 8-OH-DPAT on the PTZ_induced seizure threshold: Role of the nitrergic system. ***Seizure*** 2017; 45: 119-24.
[21] Oz M, Nurullahoglu Atalik KE,Yerlikaya FH, Demir EA. Curcumin alleviates cisplatin-induced learning and memory impairments. ***Neurobiol Learn Mem*** 2015; 123: 43-9.
[22] Kitanaka J, Kitanaka N, Hall FS, Fujii M, Goto A, Kanda Y, et al. Memory impairment and reduced exploratory behavior in mice after administration of systemic morphine. ***J Experimental Neurosci*** 2015; 9: JEN. S25057.
[23] Motamedi F, Ghasemi M, Davoodi F, Naghdi N. Comparison of learning and memory in morphine dependent rats using different behavioral models. ***Iran J Pharmaceutical Res*** 2003; 2(4): 225-30.
[24] Pan J, He L, Li X, Li M, Zhang X, Venesky J, et al. Activating autophagy in hippocampal cells alleviates the morphine-induced memory impairment. ***Molecul Neurobiol*** 2017; 54(3): 1710-24.
[25] Sharifi KA, Rezayof A,Torkaman-Boutorabi A, Zarrindast MR. The major neurotransmitter systems in the basolateral amygdala and the ventral tegmental area mediate morphine-induced memory consolidation impairment. ***Neuroscience*** 2017; 353: 7-16.
[26] Bassani TB, Turnes JM, Moura EL, Bonato JM, Cóppola-Segovia V, Zanata SM, et al. Effects of curcumin on short-term spatial and recognition memory, adult neurogenesis and neuroinflammation in a streptozotocin-induced rat model of dementia of Alzheimer's type. ***Behav Brain Res*** 2017; 335: 41-54.
[27] Hemachandra Reddy P, Manczak M, Yin X, Grady MC, Mitchell A, Tonk S, et al. Protective Effects of Indian Spice Curcumin Against Amyloid-β in Alzheimer's Disease. ***J Alzheimer's Disease*** 2018; 61(3): 843-6.
[28] SoukhakLari R, Moezi L, Pirsalami F, Ashjazadeh N, Moosavi M. The passive avoidance memory improving effect of curcumin in young adult mice: Considering hippocampal MMP-2, MMP-9 and Akt/GSK3β. ***PharmaNutrition*** 2018; 6(3): 95-9.
[29] Sarlak Z, Oryan S, Moghaddasi M. Interaction between the antioxidant activity of curcumin and cholinergic system on memory retention in adult male Wistar rats. ***Iran J Basic Med Sci*** 2015; 18(4): 398.
[30] Zhou H, S Beevers C, Huang S. The targets of curcumin. ***Current Drug Targets*** 2011; 12(3): 332-47.
[31] Wang H, Peng RY. Basic roles of key molecules connected with NMDAR signaling pathway on regulating learning and memory and synaptic plasticity. ***Military Med Res*** 2016; 3(1): 26.
[32] Paul C, Schöberl F, Weinmeister P, Micale V, Wotjak C, Hofmann F, et al. Role of cGMP-dependent protein kinases for fear memory formation in the lateral amygdala. ***BMC Pharmacol*** 2009; 9(1): S21.
[33] Farahmandfar M, Kadivar M, Naghdi N. Possible interaction of hippocampal nitric oxide and calcium/calmodulin-dependent protein kinase II on reversal of spatial memory impairment induced by

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-06-04]

morphine. ***European J Pharmacol*** 2015; 751: 99-111.
[34] Khavandgar S, Homayoun H, Zarrindast MR. The effect of L-NAME and L-arginine on impairment of memory formation and state-dependent learning induced by morphine in mice. ***Psychopharmacol (Berl)*** 2003; 167(3): 291-6.
[35] Guerra GP, Mello CF, Bochi GV, Pazini AM, Fachinetto R, Dutra RC, et al. Hippocampal PKA/CREB pathway is involved in the improvement of memory induced by spermidine in rats. ***Neurobiol Learn Mem*** 2011; 96(2): 324-32.
[36] Pigott BM, Garthwaite J. Nitric oxide is required for L-type Ca2+ channel-dependent long-term potentiation in the hippocampus. ***Front Synaptic Neurosci*** 2016; 8: 17.
[37] Garthwaite J, Boulton CL. Nitric oxide signaling in the central nervous system. ***Annu Rev Physiol*** 1995; 57: 683-706.
[38] Mohseni G, Ostadhadi S, Akbarian R, Chamanara M, Norouzi-Javidan A, Dehpour AR. Anticonvulsant effect of dextrometrophan on pentylenetetrazole-induced seizures in mice: Involvement of nitric oxide and N-methyl-d-aspartate receptors. ***Epilepsy Behav*** 2016; 65: 49-55.
[39] Bergstrom HC, Darvesh AS, Berger S. Inducible Nitric Oxide Inhibitors Block NMDA Antagonist-Stimulated Motoric Behaviors and Medial Prefrontal Cortical Glutamate Efflux. ***Frontiers Pharmacol*** 2015; 6: 292.
[40] Sweatt JD. Neural plasticity and behavior–sixty years of conceptual advances. ***J Neurochem*** 2016; 139(S2): 179-99.
[41] Zhuo M, Hawkins RD. Long-term depression: a learning-related type of synaptic plasticity in the mammalian central nervous system. ***Reviews Neurosciences*** 1995; 6(3): 259-78.
[42] Hall CN, Garthwaite J. What is the real physiological NO concentration in vivo? ***Nitric oxide*** 2009; 21(2): 92-103.
[43] dos Reis EA, de Oliveira LS, Lamers ML, Netto CA, Wyse AT. Arginine administration inhibits hippocampal Na(+),K(+)-ATPase activity and impairs retention of an inhibitory avoidance task in rats. ***Brain Res*** 2002; 951(2): 151-7.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-06-04]