

بررسی اثر کورکومین بر سطح پروتئین های AQP1 در سلول های اپیتلیالی شبکه کوروئیدی بطن های جانبی رت نژاد ویستار

محمد نبیونی^{۱،۲}، بهرام دلفان^۳، زهرا نظری^۴، عبدالحمید انگجی^۵

۱- مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران
۲- گروه علوم سلولی و مولکولی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران
۳- گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران
۴- گروه علوم سلولی و مولکولی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران
۵- گروه علوم سلولی و مولکولی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

یافته / دوره چهاردهم / شماره ۱ / بهار ۹۱ / مسلسل ۵۱

چکیده

دریافت مقاله: ۹۰/۹/۱۸، پذیرش مقاله: ۹۰/۱۰/۱۳

* مقدمه: کانال های پروتئینی آکوپورین ۱ (AQP1) موجود در سلول های شبکه کوروئیدی نقش مهمی در تولید مایع مغزی- نخاعی (CSF) ایفا می کنند. بیماری هایی نظیر افزایش فشار داخل جمجمه ای، هایپوناترمیای سیستمیک و هیدروسفالی با افزایش CSF همراه هستند. مطالعات نشان می دهند که کورکومین توانایی مهار کانال های یونی را دارد. لذا هدف این تحقیق، بررسی توانایی کورکومین برای کاهش بیان پروتئین های AQP1 در سلول های شبکه کوروئیدی می باشد.

* مواد و روش ها: در این مطالعه سلول های شبکه کوروئیدی از بطن های جانبی مغز رت استخراج شده و در محیط DMEM کشت داده شدند. پس از یک هفته کورکومین در دوزهای ۲۰μM و ۳۰μM طی ۲۴ ساعت و دوزهای ۱۰μM و ۱۵μM طی ۴۸ ساعت بر روی سلول ها تأثیر داده شد. تأثیر کورکومین بر میزان بقا این سلول ها با سنجش MTT و اثر آن بر تغییر سطح پروتئین AQP1 با روش فلوسیتومتری بررسی شد.

* یافته ها: نتایج حاصل از سنجش MTT میزان IC₅₀ کورکومین را بر روی این سلول ها پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت به ترتیب ۴۰μM و ۲۲μM نشان داد. نتایج حاصل از فلوسیتومتری نشان داد که کورکومین به طور وابسته به دوز و زمان تا حدود ۵۰٪ باعث کاهش بیان AQP1 در این سلول ها می شود.

* بحث و نتیجه گیری: با توجه به این بررسی کورکومین می تواند بیان AQP1 را در شبکه کوروئید کاهش دهد و به عنوان یک داروی گیاهی ممکن است بتواند با کاهش دادن میزان تولید CSF در درمان بیماری هایی نظیر افزایش فشار داخل جمجمه ای، هایپوناترمیای سیستمیک و هیدروسفالی مفید باشد.

* واژه های کلیدی: آکوپورین ۱، کورکومین، شبکه کوروئید، مایع مغزی- نخاعی

آدرس مکاتبه: تهران، گروه علوم سلولی و مولکولی، دانشگاه خوارزمی، صندوق پستی: ۳۷۵۵۱-۳۱۹۷۹

پست الکترونیک: Nabiuni@tmu.ac.ir

مقدمه

آکواپورین‌ها کانال‌های آبی پروتئینی موجود در غشاء هستند که از طریق این کانال‌ها آب در عرض غشای پلاسمایی بسیاری از سلول‌ها عبور می‌کند. آکواپورین ۱ (AQP1) به میزان فراوان در غشای رأسی سلول‌های اپیتلیالی شبکه کوروئید یافت می‌شود (۱). شبکه کوروئید یک ساختار اپیتلیالی پر عروق است که در داخل هر یک از چهار بطن مغزی قرار دارد. عمل اصلی این ساختار ترشح مایع مغزی - نخاعی است و حدود ۹۰-۸۰ درصد مایع مغزی - نخاعی توسط شبکه کوروئید ترشح می‌شود (۲).

تولید مایع مغزی - نخاعی در شبکه کوروئید به صورت فعال صورت می‌گیرد و مکانیسم آن شامل تراوش غیر مستقیم یون‌ها در عرض غشاء از طرف غشاء قاعده‌ای جانبی به طرف غشاء رأسی، ایجاد گرادیان اسمزی و به دنبال آن حرکت آب از طریق آکواپورین‌ها می‌باشد. حرکت آب در عرض غشای این سلول‌ها توسط ترنسپورترها و کانال‌های یونی میانجی‌گری می‌شود (۳). تغییر در میزان نفوذپذیری هر یک از این کانال‌ها و ترنسپورترها بر میزان بیان کانال‌های آبی و بنابراین ترشح مایع مغزی - نخاعی اثر می‌گذارد (۴).

مطالعات نشان می‌دهند که میزان مایع مغزی - نخاعی و فشار داخل جمجمه‌ای در بیماری‌هایی نظیر افزایش فشار داخل جمجمه‌ای (۵)، هایپوناترمیای سیستمیک (۶)، میگرن (۷) و هیدروسفالی (۸) افزایش می‌یابد. کانال‌های آبی AQP1 موجود در سلول‌های اپیتلیالی شبکه کوروئید نقش اصلی را در تولید مایع مغزی - نخاعی ایفا می‌کنند و در نتیجه با کاهش بیان ژن‌های AQP1 در شبکه کوروئید می‌توان میزان مایع مغزی - نخاعی را کاهش داد. زردچوبه^۱ از ریشه گیاه *Curcume longa* مشتق می‌شود (۹). کورکومین ماده اصلی زردچوبه

است که خواص درمانی زردچوبه از آن ناشی می‌شود. این ترکیب خاصیت ضدالتهابی، ضد ویروسی، ضد باکتریایی، ضد قارچی، ضد سرطانی دارد. اثرات Neuroprotective کورکومین اثبات شده است و نشان داده شده که این ماده موجب بهبود بیماری‌های آلزایمر، پارکینسون، صرع، ایسکمی مغزی و افسردگی شده و همچنین آسیب‌های مغزی ناشی از سکته مغزی را کاهش می‌دهد (۱۰).

کورکومین یکی از پر قدرت ترین آنتاگونیست‌های کانال‌های یونی به شمار می‌رود (۱۱). از آنجا که این ماده پتانسیل مهار ترنسپورترها و کانال‌های یونی را دارد و همچنین یک ترکیب طبیعی بوده و عوارض جانبی خاصی برای مصرف آن ذکر نشده است کاندید مناسبی برای کاهش بیان ژن‌های آکواپورین در سلول‌های اپیتلیالی شبکه کوروئید به شمار می‌رود. با توجه به این یافته‌ها و با در نظر گرفتن این نکته که تاکنون هیچ‌گونه گزارشی در مورد تأثیر کورکومین بر روی بیان پروتئین‌های سلول‌های شبکه کوروئید صورت نگرفته است، لذا هدف این پژوهش این است که بتوان با استفاده از کورکومین میزان بیان ژن‌های AQP1 را کاهش داده و در نتیجه بتوان از این ماده برای کاهش ترشح مایع مغزی - نخاعی در بیماری‌های مربوطه که افزایش تولید و یا کاهش بازجذب مایع مغزی - نخاعی موجب بروز علائم آن بیماری‌ها می‌شود استفاده کرد.

مواد و روش‌ها

کشت اولیه سلول‌های اپیتلیالی شبکه کوروئید: این

مطالعه از نوع مطالعات علوم پایه می‌باشد. در این بررسی تعداد ۴-۶ عدد رت نژاد ویستار ۴-۶ هفته‌ای (از هر دو جنس) با وزن تقریبی ۹۰-۸۰ گرم با استفاده از دوز بالای کلروفورم کشته شده و

1. Turmeric

زمان ۲۴ ساعت و غلظت‌های $10\ \mu\text{M}$ و $15\ \mu\text{M}$ در مدت زمان ۴۸ ساعت به سلول‌ها اضافه شد.

آزمون MTT جهت ارزیابی بقاء سلولی: جهت بررسی

تأثیر کورکومین بر میزان بقاء سلولی از روش رنگ سنجی که به اختصار (MTT) نامیده می‌شود استفاده شد. این روش بر پایه توانایی تبدیل محلول MTT به بلورهای فورمازان نامحلول توسط سلول‌های زنده استوار است. به منظور انجام این تست سلول‌ها در هر چاهک پلیت ۲۴ خانه ای با محیط DMEM کشت داده شدند. در ادامه سلول‌ها با غلظت‌های مختلف کورکومین در غلظت‌های $20\ \mu\text{M}$ و $30\ \mu\text{M}$ در مدت زمان ۲۴ ساعت و همچنین غلظت‌های $10\ \mu\text{M}$ و $15\ \mu\text{M}$ در مدت زمان ۴۸ ساعت تیمار شدند. پس از طی زمان‌های مورد نظر به هر چاهک $50\ \mu\text{M}$ محلول MTT اضافه کرده و سلول‌ها به مدت ۳-۴ ساعت در دمای 37°C درجه سانتیگراد انکوبه شدند. پس از گذشت این مدت زمان به هر چاهک ۱ ml ایزوپروپانول اسیدی اضافه کرده و به مدت ۱۰-۸ ساعت در دمای اتاق و در تاریکی نگهداری شدند. سپس دانسیته نوری محلول درون هر چاهک در طول موج ۵۷۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفوتومتر سنجیده شد و درصد بقای سلول‌های زنده از فرمول زیر محاسبه گردید (۱۳).

$$100 \times \text{ جذب نمونه کنترل} / \text{ جذب نمونه تیمار} = \text{درصد بقاء هر نمونه}$$

ارزیابی تأثیر کورکومین بر سطح AQP1 با استفاده

از آزمون فلوسیتومتری: به منظور مهیاسازی سلول‌ها جهت بررسی تأثیر کورکومین بر سطح AQP1 ناشی از تیمار با کورکومین در غلظت‌های زیر IC_{50} شامل $20\ \mu\text{M}$ و $30\ \mu\text{M}$ در ۲۴ ساعت، $10\ \mu\text{M}$ و $15\ \mu\text{M}$ در ۴۸ ساعت با روش فلوسیتومتری مراحل زیر انجام شد:

۱. پس از پایان زمان انکوباسیون سلولی (24 و 48 ساعت در غیاب و در حضور غلظت‌های ذکر شده از کورکومین) پس از جداسازی

پس از خارج کردن مغزها شبکه کوروئید بدن‌های جانبی مغز زیر استریو میکروسکوپ خارج شد. بافت‌های شبکه کوروئید به سرعت داخل HBSS (Gibco) منتقل شدند. ابتدا بافت‌های کوروئیدی به طور مکانیکی به قطعات $2\ \text{mm}$ تقسیم شده و سپس در دمای 37°C درجه به مدت ۱۰ دقیقه توسط تریپسین 0.25% درصد (Gibco) تحت هضم آنزیمی قرار داده شدند. سپس عمل هضم توسط PBS (Gibco) متوقف شده و سلول‌ها با دور $1500\ \text{rpm}$ به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ شدند. سپس سلول‌ها در پلیت ۲۴ خانه ای کوت شده با پلی-ال-لایزین (Sigma) کشت داده شدند. محیط کشت شامل DMEM (Gibco) همراه با $10\ \text{units/ml}$ FBS (Gibco)، $100\ \text{units/ml}$ پنی سیلین (Gibco)، $10\ \text{ng/ml}$ EGF (Gibco)، $100\ \text{units/ml}$ استرپتومیسین (Gibco) برای رشد سلول‌های اپیتلیالی و مایکرومولار 20 سیتوزین آرابینوزید (Sigma) جهت جلوگیری از رشد سلول‌های خونی و فیبروبلاستی می‌باشد (۱۲). پس از گذشت دو روز محیط با محیط کشت تازه بدون سیتوزین آرابینوزید تعویض شد.

ارزیابی مورفولوژی سلول‌ها توسط میکروسکوپ

معکوس: شکل سلول‌های اپیتلیالی شبکه کوروئید طی ۴۸ ساعت اول کشت تقریباً گرد می‌باشد. پس از گذشت ۴۸ ساعت این سلول‌ها شروع به چسبیدن به کف پلیت کرده و به شکل چند وجهی درمی‌آیند. سلول‌های اپیتلیالی شبکه کوروئید با توجه به داشتن ساختارهای چند وجهی و خاصیت چسبندگی قابل شناسایی می‌باشند.

تیمار سلول‌ها با کورکومین: از پودر کورکومین

(Sigma) محلول $10\ \text{mM}$ در الکل 96° درجه تهیه شده و به عنوان محلول ذخیره در دمای 40°C - نگهداری شد. سلول‌های کشت داده شده پس از گذشت یک هفته به دو گروه کنترل و تیمار تقسیم شدند. کورکومین با غلظت‌های $20\ \mu\text{M}$ و $30\ \mu\text{M}$ در مدت

۷. پلیت تشکیل شده مجدداً ۲ بار به مدت ۵ دقیقه با PBS شستشو داده شده و با دور ۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند.

۸. در پایان به سلول‌ها $300 \mu\text{l}$ فرمالین ۱٪ اضافه کرده و با دستگاه FACS Calibur (Beckton Dickinson, USA) آنالیز گردید (۱۴).

آنالیز آماری: جهت تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از آزمون INSTAT استفاده شده و نمودارها از طریق نرم‌افزار EXCEL رسم شدند و هر آزمایش حداقل ۳ مرتبه تکرار شد.

یافته‌ها

ارزیابی مورفولوژی سلول‌ها توسط میکروسکوپ

معکوس: کشت اولیه سلول‌های اپیتلیالی شبکه کورویید طی روزهای اول محتوی سلول‌های اپیتلیالی کوروییدی تقریباً مدور و سلول‌های خونی می‌باشد (شکل ۱ قسمت a)، در حالی که پس از گذشت ۵-۴ روز سلول‌های اپیتلیالی به کف پلیت چسبیده و به شکل چند وجهی در می‌آیند. پس از گذشت یک هفته الی ۱۰ روز سلول‌ها تکثیر یافته و کف پلیت را پر خواهند کرد (تصویر ۱ قسمت b).

سلول‌ها از کف پلیت به هر خانه میزان 1 ml فسفات بافر نمکی (PBS) اضافه شد. هر کدام از نمونه‌ها به طور مجزا به میکرو ویال‌های 1 ml منتقل شده و با 2000 rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شده و محیط رویی دور ریخته شد.

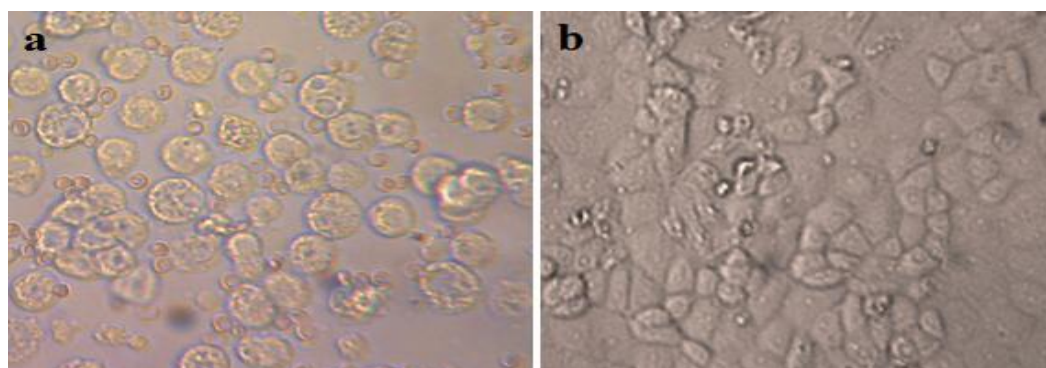
۲. سپس تمامی نمونه‌ها به مدت ۵ ساعت در دمای $+4^\circ \text{C}$ درجه با $50 \mu\text{l}$ میکرولیتر از Anti-AQP1 (Abcam) رقیق شده با ۳٪ سرم آلبومین گاوی حل شده در PBS (با نسبت ۱ به ۱۰۰) انکوبه شدند.

۳. پس از طی زمان انکوباسیون، حجم سلول‌ها را با PBS به $100 \mu\text{l}$ رسانده و در 2000 rpm سانتریفیوژ شدند. پس از سانتریفیوژ، محیط رویی دور ریخته شد.

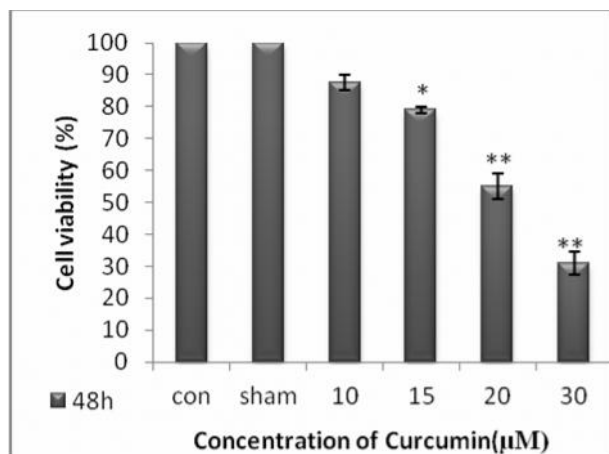
۴. در مرحله بعد پلیت‌های تشکیل شده ۲ بار به مدت ۵ دقیقه با PBS شستشو داده شده مجدداً با دور ۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند.

۵. $20 \mu\text{l}$ از آنتی‌بادی ثانویه anti-rabbit IgG کونژوگه با رنگ FITC (Razi biotech) رقیق شده با ۳٪ سرم آلبومین گاوی حل شده در PBS به سلول‌ها افزوده و به مدت ۳۰ تا ۴۵ دقیقه در تاریکی و دمای 4°C درجه قرار داده شد.

۶. سپس حجم محلول را با PBS به $100 \mu\text{l}$ رسانده به مدت ۱۲ دقیقه در 2200 rpm سانتریفیوژ شد.



شکل ۱. فتومیکروگراف از تغییر مورفولوژی سلول‌های اپیتلیالی شبکه کورویید رت نژاد ویستار در کشت اولیه. (a) کشت سلول‌ها در روز اول که محتوی سلول‌های اپیتلیالی کوروییدی تقریباً گرد و سلول‌های خونی می‌باشد. (b) کشت سلول پس از هفت روز که پس از گذشت این مدت سلول‌های اپیتلیالی به کف پلیت چسبیده و به شکل چند وجهی در آمده‌اند.



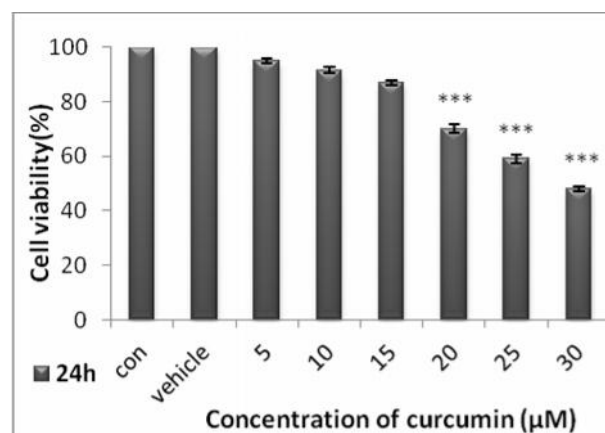
نمودار ۲- مقایسه اثر غلظت‌های مختلف کورکومین بر درصد بقاء سلول‌های اپیتلیالی شبکه کورویید بطن‌های جانبی رت نژاد ویستار پس از طی ۴۸ ساعت تیمار بر اساس سنجش MTT. $P < 0.05$ ، $P < 0.01$ ، $P < 0.001$ ، $Mean \pm S.E$ ***

ارزیابی تغییرات سطح AQP1 به روش

فلوسیتومتری: پس از تیمار سلول‌ها با غلظت‌های $20 \mu M$ و $30 \mu M$ در مدت زمان ۲۴ ساعت و غلظت‌های $10 \mu M$ و $15 \mu M$ در مدت زمان ۴۸ ساعت، سلول‌های تیمار شده با کورکومین و گروه کنترل با آنتی بادی اولیه AQP1 و آنتی بادی ثانویه نشاندار به رنگ فلورسنت انکوبه شدند. نتایج حاصل از تأثیر کورکومین در غلظت‌های $20 \mu M$ و $30 \mu M$ بر سطح AQP1 سلول‌های شبکه کورویید طی ۲۴ ساعت در شکل ۲ نشان داده شده است. نتایج به دست آمده از این آزمون نشان می‌دهد که پس از طی ۲۴ ساعت دوز $20 \mu M$ کورکومین به میزان ۲۲٪ باعث کاهش میزان پروتئین AQP1 در این سلول‌ها شده است. در حالی که دوز $30 \mu M$ در این مدت زمان ۳۲٪ میزان این پروتئین را کاهش داده است. همچنین نتایج حاصل از تأثیر کورکومین در غلظت‌های $10 \mu M$ و $15 \mu M$ بر سطح AQP1 در این سلول‌ها طی ۴۸ ساعت در شکل ۳ نشان داده شده است. نتایج به دست آمده از این آزمون نشان می‌دهد که پس از طی ۴۸ ساعت دوز $15 \mu M$ کورکومین به میزان ۳۱٪ باعث کاهش میزان پروتئین AQP1 شده است. در

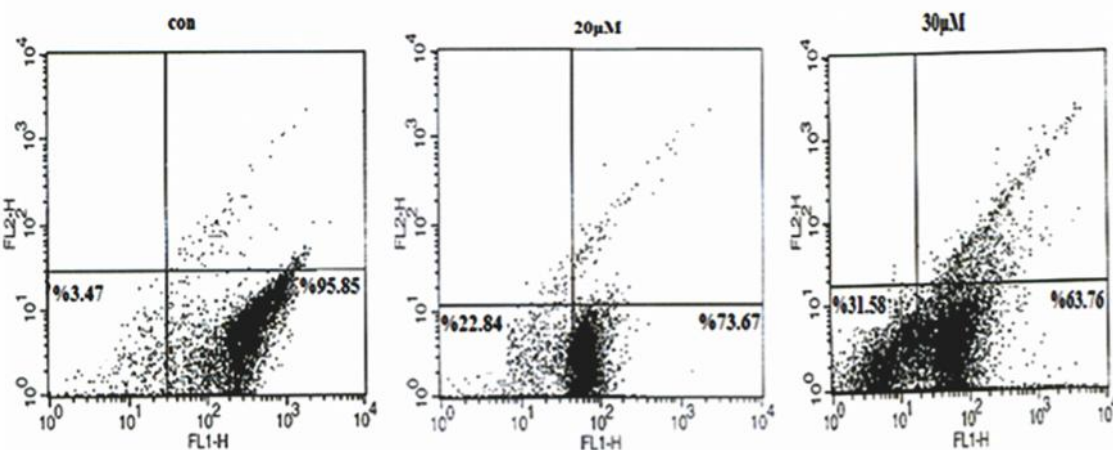
سنجش MTT: نتایج حاصل از بررسی تأثیر کورکومین بر

میزان بقاء سلول‌های اپیتلیالی شبکه کورویید رت نژاد ویستار نشان داد که کورکومین در یک الگوی وابسته به دوز و زمان بقاء سلولی را در این سلول‌ها کاهش می‌دهد. همانطور که در نمودار ۱ نیز نشان داده شده است درصد بقاء سلول‌های اپیتلیالی شبکه کورویید تحت تیمار با کورکومین در غلظت‌های $20 \mu M$ و $30 \mu M$ در مدت زمان ۲۴ ساعت نسبت به گروه کنترل به ترتیب ۸۲٪ و ۷۱٫۵٪ می‌باشد. همچنین با توجه به نمودار ۲ درصد بقاء سلول‌های این سلول‌ها تحت تیمار با کورکومین در غلظت‌های $10 \mu M$ و $15 \mu M$ در مدت زمان ۴۸ ساعت نسبت به گروه کنترل به ترتیب ۸۷٫۵٪ و ۷۹٪ بود و غلظتی از این ترکیب که منجر به القاء پنجاه درصد مرگ سلولی پس از گذشت مدت زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت می‌گردد به ترتیب $40 \mu M$ و $22 \mu M$ می‌باشد.

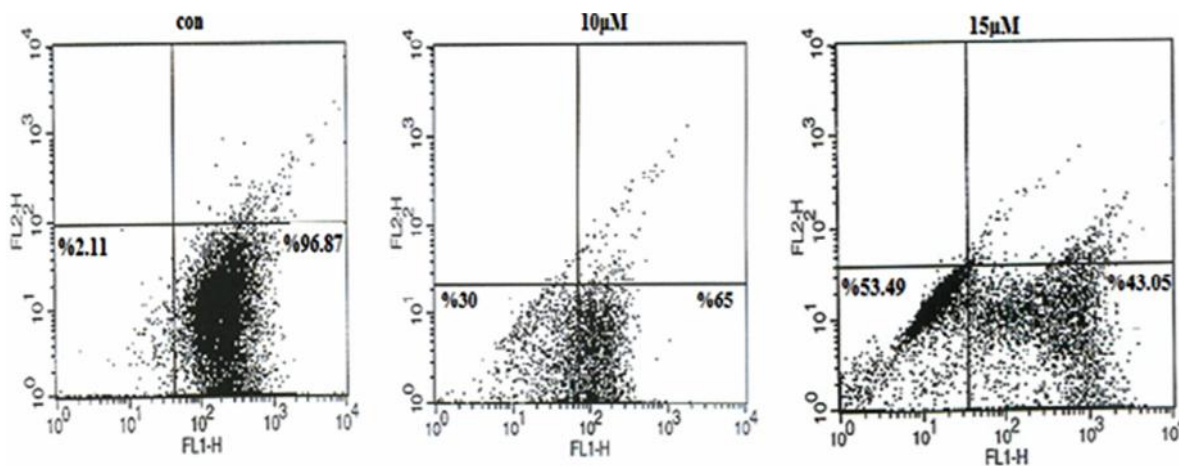


نمودار ۱- مقایسه اثر غلظت‌های مختلف کورکومین بر درصد بقاء سلول‌های اپیتلیالی شبکه کورویید بطن‌های جانبی رت نژاد ویستار پس از طی ۲۴ ساعت تیمار بر اساس سنجش MTT. $P < 0.05$ ، $P < 0.01$ ، $P < 0.001$ ، $Mean \pm S.E$ ***

حالی که دوز $15\mu\text{M}$ کورکومین در این مدت زمان ۵۳٪ میزان داده های منحنی فلوسیتومتری نشان داد که دوز $15\mu\text{M}$ AQP1 را کاهش داده است. کورکومین در مدت زمان ۴۸ ساعت موجب بیشترین کاهش در سطح پروتئین AQP1 در سلول های اپیتلیالی شبکه کورونید می‌شود.



شکل ۲- آنالیز فلوسیتومتری اثر کورکومین بر روی سلول‌های اپیتلیالی شبکه کورونید در مدت زمان ۲۴ ساعت. در منحنی، جمعیت سلول‌هایی که دارای پروتئین AQP1 می‌باشند در سمت راست پایین، سلول‌هایی که پروتئین AQP1 را بیان نکرده‌اند در سمت چپ پایین قرار دارند.



شکل ۳) آنالیز فلوسیتومتری اثر کورکومین بر روی سلول‌های اپیتلیالی شبکه کورونید در مدت زمان ۴۸ ساعت. در منحنی، جمعیت سلول‌هایی که دارای پروتئین AQP1 می‌باشند در سمت راست پایین، سلول‌هایی که پروتئین AQP1 را بیان نکرده‌اند در سمت چپ پایین قرار دارند.

بحث و نتیجه گیری

زردچوبه (ریشه گیاه *Curcuma longa*) برای هزاران سال در درمان بیماری‌های مختلفی مانند سرماخوردگی، تب، بیماری‌های پوستی، بیماری‌های کبدی و دل درد کاربرد داشته است و استفاده از آن حتی در دوزهای بالا سمی نیست. اخیراً این ماده به عنوان ترکیب موثری برای درمان سرطان مورد توجه قرار گرفته است. کورکومین ماده اصلی زردچوبه است که ترکیبی زرد رنگ می‌باشد و خواص درمانی زردچوبه از آن ناشی می‌شود (۱۰،۱۴).

در تحقیق حاضر اثر کورکومین بر تغییر بیان پروتئین‌های AQP1 موجود در شبکه کوروئید بطن‌های جانبی رت نژاد ویستار بررسی شد. مطالعات نشان می‌دهند که در بیماری‌هایی نظیر افزایش فشار داخل جمجمه ای، هایپرناترمیای سیستمیک، میگرن و هیدروسفالی میزان مایع مغزی - نخاعی و فشار داخل جمجمه‌ای افزایش می‌یابد (۵-۸). در سال ۲۰۰۶، یانگ سوک مون^۱ و همکارانش برای پی بردن به نقش AQP1 در پاتوفیزیولوژی هایپوناترمیای سیستمیک بیان ژن AQP1 را در شبکه کوروئید رت مورد بررسی قرار دادند و مشاهده کردند که بعد از هایپوناترمیای سیستمیک بیان ژن AQP1 افزایش یافت. همچنین این محققین پی بردند که در موش‌های فاقد AQP1 نفوذ پذیری اسمزی شبکه کوروئید و همچنین ترشح مایع مغزی- نخاعی کاهش می‌یابد (۶).

همچنین تحقیقات نشان داده‌اند که AQP1 به مهاجرت سلول‌های توموری کمک می‌کنند و در موش‌های فاقد AQP1 رشد تومور آهسته تر است (۱۵). در سال ۲۰۰۷، جان جیانگ^۲ و همکارانش اثرات Neuroprotective کورکومین را بر روی ایسکمی مغزی رت بررسی نموده و نشان دادند که این ماده با جلوگیری از آسیب سد خونی- مغزی محتوای آب مغز را

کاهش داده و از مرگ و میر جلوگیری می‌کند (۱۶). در سال ۲۰۰۴، هایان لیو^۳ و همکارانش کورکومین را بر سلول‌های غدد فوق کلیوی گاوی اثر دادند و نشان دادند که کورکومین به طور برگشت پذیر جریان یونی کانال‌های پتاسیمی KV1.4 را مهار می‌کند (۱۱).

در سال ۲۰۰۵، یاسر آل محمود^۴ اثر کورکومین را بر سلول‌های غدد روده‌ای کوسه ماهی بررسی کرد و مشاهده نمود که کورکومین به شیوه وابسته به دوز میل ترکیبی پمپ K^+ Na^+ -ATPase را به یون پتاسیم کاهش می‌دهد و با بلوکه کردن جایگاه یون پتاسیم فعالیت این پمپ را مهار می‌کند (۱۷). در سال ۲۰۰۸، چاو جی^۵ و همکارانش اثر کورکومین را بر بیان ژن AQP3 در رده سلولی سرطانی CaOV3 تخمدان مورد مطالعه قرار دادند و نشان دادند که کورکومین به شیوه وابسته به دوز و همچنین وابسته به زمان سطح پروتئین AQP3 را در این سلول‌ها کاهش می‌دهد (۱۸).

این یافته‌ها نشان می‌دهند که کورکومین ماده‌ای مناسب جهت کاهش فعالیت کانال‌های یونی می‌باشد. بر اساس مطالعه حاضر میزان IC_{50} برای سلول‌های اپیتلیالی شبکه کوروئید در مدت زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت به ترتیب $40\mu M$ و $22\mu M$ می‌باشد. این بررسی همچنین نشان داد که کورکومین به شیوه وابسته به دوز و وابسته به زمان می‌تواند میزان پروتئین‌های AQP1 را در سلول‌های اپیتلیالی شبکه کوروئید کاهش دهد. نتایج نشان داد که کورکومین با دوز ۱۵ و مدت زمان ۴۸ ساعت باعث بیشترین کاهش (۵۷٪) در میزان این پروتئین می‌شود. به‌طور کلی به نظر می‌رسد کورکومین یک ماده موثر برای

1. Yongsuk Moon
2. Jun Jiang
3. Haiyan Liu
4. Yasser A. Mahmoud
5. Chao Ji

محترم دانشکده علوم زیستی که امکانات اجرایی این طرح تحقیقاتی را فراهم نمودند، و همچنین از مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی وابسته به دانشگاه علوم پزشکی لرستان که هزینه‌های این طرح تحقیقاتی را فراهم نمودند صمیمانه سپاسگزاریم.

کاهش میزان CSF بوده و می‌توان از آن برای کاهش میزان CSF در بیماری‌هایی نظیر افزایش فشار داخل جمجمه‌ای، هایپوناترمیای سیستمیک، میگرن و هیدروسفالی استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

این تحقیق در آزمایشگاه تحقیقاتی سلولی-تکوینی گروه سلولی مولکولی دانشگاه خوارزمی انجام گرفته است لذا از ریاست

References

- Venero JL, Mari'a LV, Machado A, Cano J. Aquaporins in the central nervous system. *GProg in Neurobio* 2001; 63: 321–33
- Boassa D, Andrea JY. Physiological Roles of Aquaporins in the Choroid Plexus. *Curr Top Dev Biol* 2005; 67:181-206
- Brown PD, Davies SL, Speake T, Miler I.D. molecular mechanisms of cerebrospinal fluid production. *Neuroscience* 2004;129: 957–970
- Redzic Z.B, Segal M.B. The structure of the choroid plexus and the physiology of the choroid plexus epithelium. *Adv Drug Deliv Rev* 2004; 56: 1695-1716
- Faraci FM, Kinzenbaw D, Heistad D.D. Effect of endogenous vasopressin on blood flow to choroid plexus during hypoxia and intracranial hypertension. *Am J Physiol* 1994; 393-8
- Moon Y., Sungwon J.H., Shin D., Jung Y. Increased aquaporin-1 expression in choroid plexus epithelium after systemic hyponatremia. *Neurosc. Lett* 2006; 395: 1-6
- August H., van Alphen M.M. a result of increased CSF pressure: A new pathophysiological concept (preliminary report). *Neuro Rev* 1986; 9: 121-124
- Parker JN, Parker P.M. Hydrocephalus. *ICON Group International* 2004; 3-67
- Rahman A. *Studies in Natural Products Chemistry*. Elsevier 2006; 33:141-193
- Aggarwal BB, Surh Y.J, Shishir Sh. *The Molecular Targets and Therapeutic Uses of Curcumin in Health and Disease*. Spring. Sci.+Busi. Media 2007; 587:197-213.
- Liu H , Danthi SJ, Enyeart JJ. Curcumin potently blocks Kv1.4 potassium channels . *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* 2006; 344 : 1161–1165
- Boassa D, W. Stamer WD, Yool A.J. Ion Channel Function of Aquaporin-1 Natively Expressed in Choroid Plexus. *Neurosc* 2006; 26 (30):7811–7819
- Van EM, Nieland LJW, Ramaekerss FCS, Schutte B, Reutelingsperger CPM. Annexin V affinity assay: a review on an apoptosis detection system based on phosphatidyl serine exposure. *Cytometry* 1998; 31: 1-3
- Rahman A. *Studies in Natural Products Chemistry*. Elsevier 2006; 33:141-193
- Beitz E. *Aquaporins Hand. of Exp.Pharmac.* Springer 2009;. ISSN 0171-2004, 190:16-40
- Jiang J, Wang W, Sun YJ, Hu M., Li F., Zhu D.Y. Neuroprotective effect of curcumin on focal cerebral ischemic rats by preventing blood–brain barrier damage. *Europ Pharmac* 2007; 561: 54–62
- Mahmmoud Y.A. Curcumin modulation of Na-K-ATPase: phosphoenzyme accumulation, decreased K occlusion, and inhibition of hydrolytic activity. *Brit. Pharmac*, 2005; 145: 236–245.
- Ji Ch, Cao C, Lu Sh, Kivlin R, Amaral A, Kouttab N. Curcumin attenuates EGF-induced AQP3 up-regulation and cell migration in human ovarian cancer cells . *Cancer Chemo. Pharmacol* 2008; 62:857–8.