مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۲۷، شماره ۴، زمستان ۹۶، صفحات ۲۴۴ تا ۲۵۱

Original Article

تغییر بیان ژن‌های Bad و Bcl-xl متعاقب اثر کلستاز و تاثیر داروی کورکومین در ناحیه استریاتوم موش‌های بزرگ آزمایشگاهی

ایمان هاشمی[۱]، ملیحه انتظاری[۲]، محمدرضا زرین دست[۲]

[۱]کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم نوین پزشکی، واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[۲]استادیار، گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم نوین پزشکی، واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[۳]استاد، گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم نوین پزشکی، و احد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاداسلامی، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: *کلستاز، به دلیل عدم ورود ترشحات صفراوی به داخل روده کوچک رخ می‌دهد. در صورت درمان نشدن، کلستاز قادر است آسیب‌های جدی را به اندام‌های مختلف بدن وارد کند. همچنین این اختلال می‌تواند بر بیان ژن‌های دخیل در آپوپتوز اثرگذار باشد. در این پژوهش، اثرات کلستاز بر تغییرات بیان دو ژن دخیل در آپوپتوز Bad و Bcl-xl در ناحیه استریاتوم مغز رت‌های نر و نیز تاثیر کورکومین بر بیان ژن‌ها در این ناحیه از مغز رت‌ها بررسی شد.*

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، *تعداد ۱۶ سر رت به ۴ گروه BDL، BDL-کورکومین، شم-کورکومین و کنترل تقسیم شدند. رت‌های گروه BDL تحت جراحی BDL (انسداد مجاری صفراوی) و گروه BDL-کورکومین، علاوه‌بر جراحی، تحت تیمار با کورکومین قرار گرفتند؛ درحالی که گروه شم-کورکومین فقط استرس جراحی را دریافت کرده و با دارو تیمار شدند وگروه کنترل هیچ‌گونه جراحی و تیمار دارویی نداشتند. سپس استریاتوم از مغز رت‌ها خارج شد و پس از طی مراحل استخراج RNA و سنتز cDNA، سنجش بیان ژن‌ها مورد بررسی قرار گرفت.*

یافته‌ها: *با توجه به بررسی‌های به عمل آمده در میزان بیان ژن‌های پروآپوپتوتیک به آنتی‌آپوپتوتیک (Bad/Bcl-xl) تفاوت معنی‌داری بین BDL و BDL-curcumin دیده شد ($p<0/05$)، اما تفاوت معنی‌داری بین گروه شم-کورکومین و BDL-کورکومین در سلول‌های ناحیه استریاتوم مغز رت‌ها دیده نشد.*

نتیجه‌گیری: *کورکومین باعث کاهش بیان ژن پروآپوتوتیک نسبت به آنتی‌آپوپتوتیک و باعث کاهش آپوپتوز ناشی از BDL می‌شود؛ لذا از کورکومین می‌توان برای کاهش زیان‌بخش کلستاز استفاده کرد.*

واژگان کلیدی: *کلستاز، آپوپتوز، تغییرات بیان ژن، کورکومین، استریاتوم، رت.*

مقدمه

کلستاز، یا همان اختلال در دفع صفرا، به علت وجود اختلال در ترشح توسط سلول‌های کبدی و یا انسداد جریان صفرا از طریق مجاری داخل و یا خارج کبدی صفراوی به وجود می‌آید (۱). بیماری کلستاز علاوه‌بر تظاهرات بالینی نظیر زردی، خارش، خستگی، اختلالات استخوانی، برادی کاردی، تغییر در عملکرد تنفسی و نارسایی کلیه، همراه با بسیاری از اختلالات کبدی و صفراوی نیزدیده می‌شود و به دلیل آنکه قادر است منجر به افزایش پروستاگلاندین‌ها، کلسترول، بیلی‌روبین، آلکالین فسفاتاز و افزایش سطح نمک‌های صفراوی در خون شود، می‌تواند بر بسیاری از سیستم‌های بدن همچون قلب و عروق، کلیه و سیتم ایمنی تاثیر گذاشته و همچنین از طریق ایجاد اندوتوکسمی، افزایش تولید نیتریک اکساید، ایجاد

آدرس نویسنده مسئول: دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم پزشکی، دانشکده علوم نوین، گروه زیست شناسی سلولی و تکوینی، ملیحه انتظاری (**email**: entezarimali@yahoo.com)
تاریخ دریافت مقاله: ۹۵/۱۲/۲۲
تاریخ پذیرش مقاله: ۹۶/۵/۳

تغییرات عروقی و افزایش سطح اپیوئیدهای درون زاد، باعث کاهش حافظه شود و به این ترتیب عملکرد مغز را نیز تحت تاثیر قرار دهد (۵-۲). بروز این بیماری محدود به رده سنی خاصی نمی‌شود و رخداد آن در هر گروه سنی از مردم مشاهده می شود؛ با این حال، نوزادان و شیرخواران به علت عدم بلوغ کامل کبد، نسبت به این بیماری حساس تر و بیش‌تر در معرض ابتلاء به کلستاز هستند. لازم به ذکر است که میزان بروز این بیماری صفراوی در بین زنان و مردان یکسان است، ولی با این وجود، از آنجایی که بارداری خود یکی از عوامل خطر ابتلاء به این بیماری محسوب می‌شود، شیوع ابتلاء زنان نسبت به مردان از افزایش بیش‌تری برخوردار است؛ به طوری که انجمن بارداری آمریکا گزارش کرده است که از هر هزار بارداری، یک تا دو نفر با کلستاز مواجه می‌شوند که از این میان زنان دوقلوی باردار، و یا کسانی که سابقه بیماری کبدی دارند، در معرض خطر بیش‌تری قرار دارند (۴). همچنین مطالعات نشان داده‌اند که بارداری در سنین پایین، وزن کم هنگام تولد، ابتلا به عفونت، و مدت زمان طولانی تغذیه تزریقی نیز می‌تواند از جمله سایر عوامل خطر مرتبط با کلستاز محسوب شود (۴). اهمیت کلستاز باعث شده است که پژوهش‌های بسیاری با هدف بررسی عوامل موثر در پاتوژنز این بیماری صورت گیرد و در این مطالعات عوامل مختلفی از جمله آترزی یا فقدان مجرای صفراوی، مصرف برخی از داروها، سابقه خانوادگی، عفونت، بارداری و بیماری‌های اتوایمیون، ژنتیکی و متابولیک به عنوان پارامترهای درگیر در بروز این بیماری مطرح شده‌اند. در بین مکانیسم‌های دخیل در پاتوژنز کلستاز، مطالعات in vitro و in vivo نشان داده‌اند که بروز پدیده آپوپتوز در هپاتوسیت‌ها یکی از بارزترین خصوصیت این بیماری است.

آپوپتوز یا مرگ برنامه‌ریزی شده سلول، فرآیند فیزیولوژیک پیچیده‌ای است که سلول‌های ناخواسته، پیر و آسیب دیده را از بین می‌برد و نقش مهمی در رشد طبیعی جنینی، حفاظت و نگه‌داری immune privileged sites، متعادل کردن پاسخ ایمنی و بیولوژی تومور ایفا می‌کند (۶، ۷). خانواده پروتئینی Bcl-2 یک تنظیم‌کننده مهم در این فرآیند است که خود از دو گروه پروتئین‌های آنتی و پروآپوپتوتیک تشکیل می‌شود (۸). آپوپتوز از دو مسیر کلی تشکیل شده است: مسیر داخلی (میتوکندریایی) که به وسیله پروتئین‌های خانواده Bcl-2 کنترل می‌شود و مسیر خارجی که کارکرد آن از طریق فعالیت و اتصال لیگاند و گیرنده‌های مرگ تنظیم می‌شود (۹، ۱۰). لازم به ذکر است که هر دو این مسیرها با فعال کردن کاسپازها، منجر به شکستن زیر ساخت‌های داخل سلولی می‌شود و به این ترتیب سلول‌ها را از بین می‌برد (۹، ۱۰). در بین اعضاء خانواده پروتئینی Bcl-2، Bcl-xl یکی مولکول‌های مهارکننده آپوپتوز محسوب می‌شود که دارای چهار ناحیه BH به‌نام‌های BH-1، BH-2، BH-3 و BH-4 در ساختمان خود است (۶، ۱۱). از سوی دیگر، مولکول Bad نیز جزء اعضاء پروآپوپتوتیک این خانواده پروتئینی به حساب می‌آیدکه در ساختمان خود فقط ناحیه BH-3 را دارد (۱۰). بدیهی است که با توجه به نقش کلیدی فرآیند آپوپتوز، فعالیت صحیح و تنظیم شده آن برای عملکرد بسیاری از ارگان‌های بدن و به خصوص جهت حفظ تعامل بین مغز و کبد ضروری است. مطالعات نشان داده است که کبد نقش مهمی در فراهم آوردن مواد غذایی و از بین بردن مواد سمی مانند نوروتوکسین دارد (۱۲). کبد می‌تواند در نواحی مختلف مغز مانند استریاتوم تاثیرگذار باشد. استریاتوم هسته ورودی اصلی عقده‌های قاعده‌ای (basal ganglia) است که وظیفه دریافت و یکپارچه سازی ورودی گلوتاماترژیک تحریکی نواحی قشری و تالاموسی مغز را داشته و کنترل شدیدی در رفتار و هسته پایین دست عقده‌های قاعده‌ای دارد و بسیاری از عملکردهای شناختی، عاطفی و محرکی و همچنین یادگیری رویه‌ای، حافظه مرجع، جهت‌گیری خودمحور و یادگیری مبتنی بر قانون توسط این ناحیه از صورت می‌گیرد (۱۳). احتمال می‌رود که بروز هرگونه اختلال در سلول‌های کبدی به علت بیماری‌هایی نظیر کلستاز، بتواند با تاثیرگذاشتن بر این قسمت مغز، بسیاری از اعمال شناختی- ادراکی را نیز تحت تاثیر قرار دهد. مطالعات نشان داده‌اند که بروز کلستاز و متعاقب آن، بروز پدیده هاپیربیلی-روبینمی می‌تواند بسیاری از رفتارهای ادراکی را تحت تاثیر بگذارد و بدین ترتیب باعث بروز اختلالاتی همچون کاهش حافظه، تغییر الگوی خواب و لرزه شود. با اینکه تاکنون به درستی مکانیسم دخیل در بروز چنین درگیری‌های عصبی شناخته نشده است، به نظر می‌رسد که باقی ماندن برخی از ترکیباتی که برای دفع خود وابسته به جریان صفراوی هستند، همچون اسیدهای صفراوی و اندوتوکسین‌های داخلی، می‌توانند در ایجاد این علایم بالینی تاثیرگذار باشند (۱۶-۱۴). از سوی دیگر، سایر بررسی‌های صورت گرفته بر روی تاثیر کلستاز بر ناحیه هیپوکمپ و استراتیوم نشان می‌دهند که به دلیل قرارگیری رسپتورهای اپوئید، این ناحیه از مغز بیش‌ترین از سایر نواحی تحت تاثیر کلستاز قرار می‌گیرد (۱۶).

تحقیقات متعددی نشان داده‌اند که داروهای مختلفی در القاء آپوپتوز نقش دارند که از آن جمله می‌توان به کورکومین اشاره

کرد (۲۰-۱۷). کورکومین یک ترکیب پلی فنولی جدا شده از ادویه زردچوبه جنوب آسیا است که به صورت گسترده در طب سنتی آیروودایی (طب سنتی هند که بیماری ها را با استفاده از ترکیب غذا ها، گیاهان و تمرین های تنفسی درمان می‌کنند.) مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۷، ۱۸). اثرات درمانی بالقوه آن بر روی انواع بیماری به مدت طولانی شناخته شده است (۲۱، ۲۲). بررسی‌های پیشین بیان کرده‌اند که کورکومین از خود اثرات محافظت از کبد نشان می‌دهد که مکانیسم این اثر به خوبی شناخته نشده است. بر همین اساس، در این تحقیق، بر آن شدیم تا بیان ژن‌های آپوپتوزی را در ناحیه استریاتوم موش‌های مبتلاء به کلستاز مورد بررسی قرار دهیم و همچنین تاثیر دارو کورکومین بر تغییرات بیان این ژن‌ها نیز ارزیابی شود.

مواد و روشها

در این مطالعه تجربی، ۷۵ سر رت نر نژاد ویستار با وزن تقریبی ۵۰±۲۲۰ گرمی از دانشکده فارماکولوژی دانشگاه تهران خریداری و به طور تصادفی به ۴ گروه تقسیم شدند. یک هفته به موش‌ها زمان داده شد تا خود را با محیط حیوان خانه سازگار کنند.گروه‌بندی موش‌ها به این ترتیب بود که گروه اول یا کنترل رژیم غذایی معمولی داشتند. در این گروه، فرآیند آپوپتوز در حالت پایه بررسی شد. گروه دوم شم-کورکومین که فقط متحمل استرس جراحی بودند، به همراه تزریق داروی کورکومین و تداخل استرس ناشی از جراحی نسبت به دو گروه دیگر مورد بررسی قرار گرفت.گروه سوم یا BDL که جراحی انسداد مجاری صفراوی در آنها انجام شد و در آخرگروه BDL-کورکومین که علاوه بر انجام جراحی به ازاء هر ۱kg از وزن حیوان، ۴۰mg کورکومین به این گروه تزریق شد. یک روز پس از آخرین تزریق موش‌ها جراحی شدند و ناحیه استریاتوم استخراج گردید.

جهت انجام بخش مولکولی مطالعه، از هر گروه رت دو نمونه ناحیه چپ و دو نمونه ناحیه راست استریاتوم (چهار نمونه از هر گروه)، به صورت تصادفی انتخاب شد و از بافت استریاتوم طی روش کیت، RNA استخراج شد. با استفاده از کیت تاکارا از شرکت clontech سنتز cDNA انجام شد و در مرحله بعدی پرایمرهای ژن‌های Bad، Bcl-xl و GAPDH به دست آمد. در آخر تمام پرایمرهای طراحی شده (طبق جدول ۱)، توسط NCBI BLAST مورد آنالیز قرار گرفت. برای اطمینان از اختصاصی بودن پرایمرها و نمایش طول قطعات تکثیر شده نمونه ها به روی ژل پلی آکریل آمید منتقل شد.

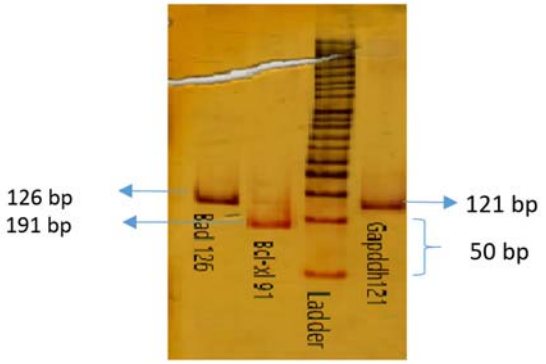
در مرحله بعد از cDNAهای گروه کنترل رقت‌های ۱، ۱/۵، ۱/۲۵ و ۱/۱۲۵ تهیه و از رقت‌های مذکور برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد. از این منحنی برای ارزیابی بازدهی واکنش استفاده و ضریب کارایی (EI) و شیب خط (slope) محاسبه گردید. به منظور انجام واکنش RealTimePCR ازدستگاه ABI StepOnePlus RealTime PCR طی دو مرحله استفاده شد. جداسازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه و تکثیر در ۴۰ سیکل که شامل جداسازی در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه و مرحله اتصال در دمای ۶۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه صورت گرفت. در پایان منحنی استاندارد برای هر پرایمر بر اساس Ct به دست آمده در برابر رقت های مورد استفاده، رسم گردید.

جدول ۱. توالی پرایمر ژن‌های مورد استفاده در این پژوهش

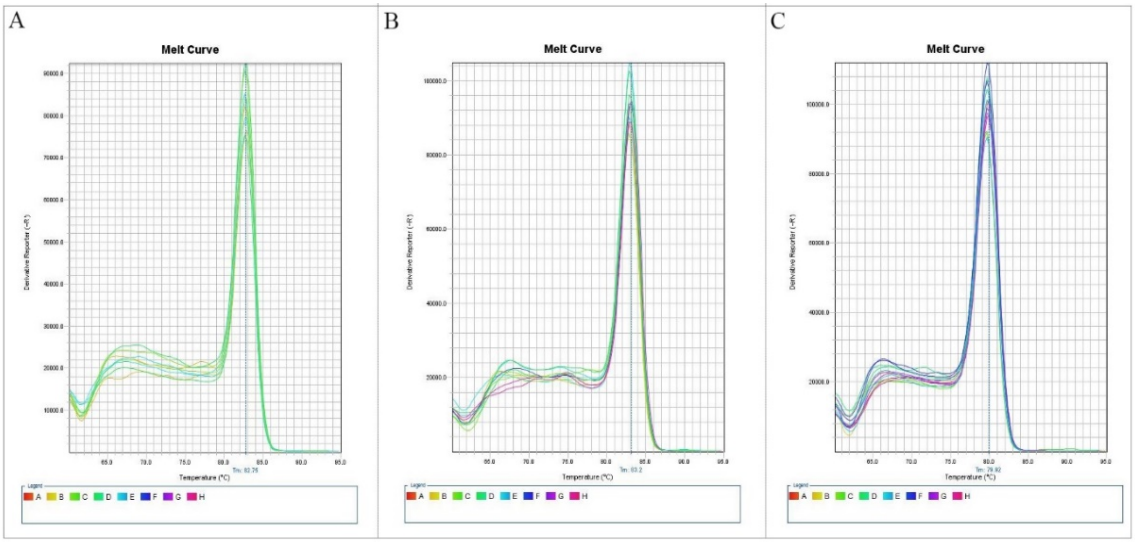
نام ژن	سکانس پرایمر ۵´→۳´	طول قطعه تکثیر شونده	طول پرایمر
GAPDH	F´:AAGTTCAACGGCACAGTCAAGG R´:CATACTCAGCACCAGCATCACC	121	F:22 R:22
BAD	F:GGAGCATCGTTCAGCAGCAG R:CCATCCCTTCATCTTCCTCAGTC	126	F:20 R:23
BCL-XL	F:GCTGGTGGTTGACTTTCTCTCC R:GGCTTCAGTCCTGTTCTCTTTCG	91	F:22 R:22

یافته‌ها

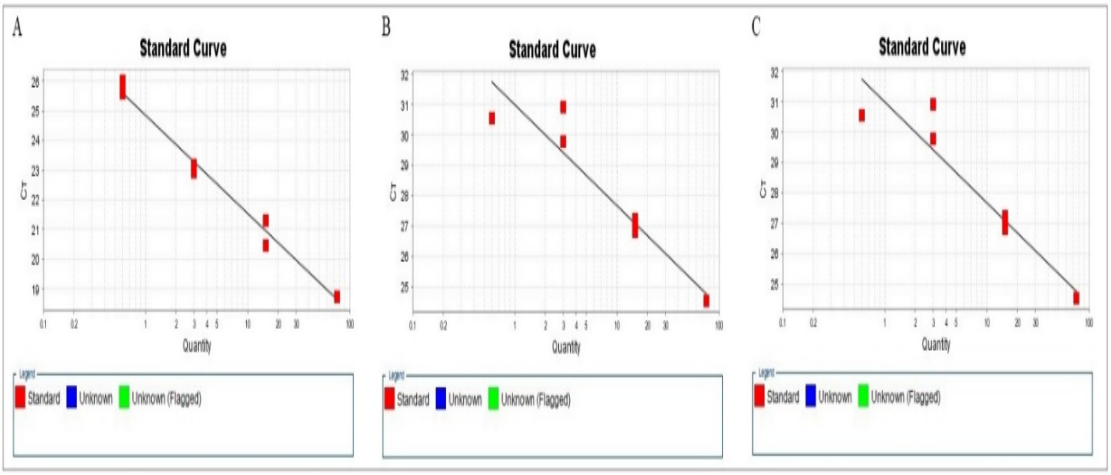
در ابتدا صحت پرایمرهای ژن‌های Bad، Bcl-xl و GAPDH مورد استفاده در این پژوهش توسط الکتروفورز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده از تکثیر قطعات نشانگر صحت این پرایمرها است (شکل ۱).



شکل ۱. الکتروفرز پرایمرها جهت بررسی صحت آن‌ها. نتیجه PAGE برای تکثیر نمونه کنترل با پرایمر. اعداد نشان دهنده طول قطعات تکثیر شده بر حسب جفت باز هستند.



شکل ۲. نمودار منحنی ذوب (دمای نقطه ذوب ۸۲/۷۲) موید اختصاصی بودن پرایمر مورد نظر است. A) GAPDH، B) Bad، C) Bcl-xl.



شکل ۳. منحنی استاندارد ژن‌ها. A) ژن GAPDH با بازده ۰/۹۹ ٪، B) ژن Bad با بازده ۱/۱ ٪، C) ژن Bcl-xl با بازده ۱/۱ ٪.

همچنین بررسی نقطه ذوب این پرایمرها نیز موید اختصاصیت پرایمرها برای ژن‌های مورد نظر است (شکل ۲).

با توجه به بازده‌های متفاوت در تکثیر ژن‌های مورد نظر، بازده‌ها در محاسبه میزان بیان ژن توسط نرم‌افزار REST مدنظر قرار گرفته‌اند. منحنی استاندارد ژن‌های Bad، Bcl-xl و DAPDH در بازده تکثیر ۱۱۰-۹۰ درصد در شکل‌های ۳ و ۴ مشاهده می‌شود.

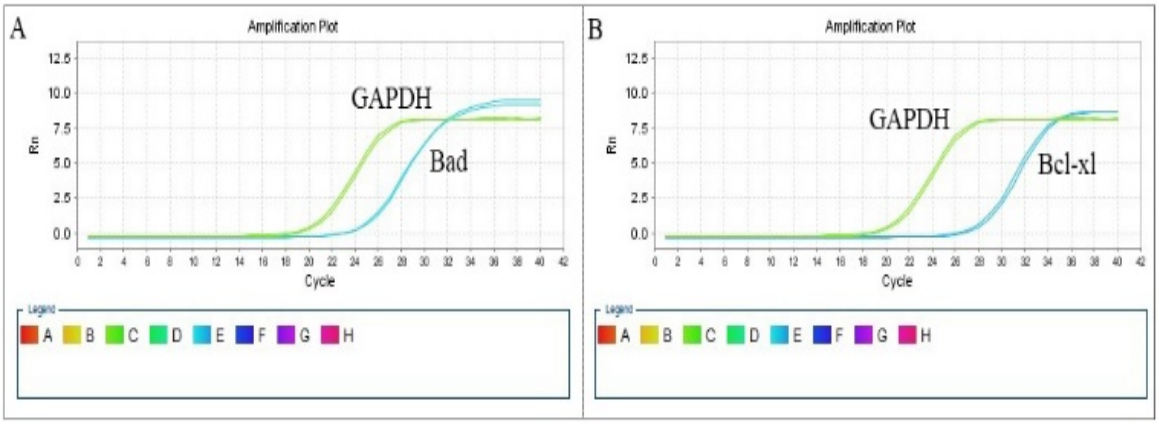
با تکثیر قطعات ژن‌های Bad و Bcl-xl نسبت به ژن کنترل GPDH مشخص شد که تفاوت معنی‌دار نسبت بیان ژن پروآپوپتوتیک Bad به ژن آنتی‌آپوپتوتیک Bcl-xl در گروهی از موش‌ها که تنها با جراحی دچار انسداد مجاری صفراوی شده بودند (گروه BDL)، نسبت به گروه BDL-curcumin، مشاهده می‌شود ($p<۰/۰۵$). این در حالی است که تفاوت معنی‌داری بین گروه شم-کورکومین و BDL-کورکومین در سلول‌های ناحیه استریاتوم مغز رت‌ها دیده نشد (شکل ۴). به‌علاوه، نتایج نشان‌گر آن است که کورکومین باعث کاهش بیان ژن پروآپوتوتیک نسبت به آنتی‌آپوپتوتیک و باعث کاهش آپوپتوز ناشی از BDL می‌شود.

بحث

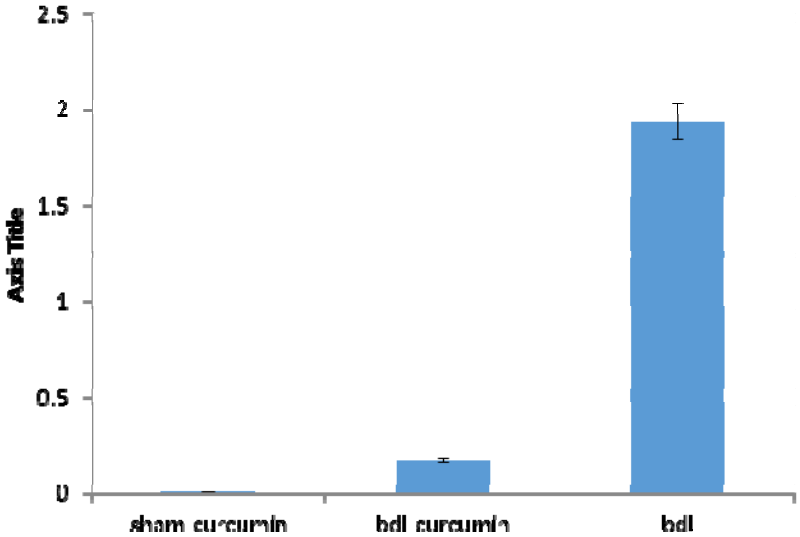
در یک تعریف کلی، کلستاز بیماری است که در آن به علت اختلال در دفع صفرا و در نتیجه تجمع ترکیبات سمی صفرا همچون نمک‌های صفراوی در کبد، سلول‌های کبدی دچار آسیب می‌شوند که درنهایت این صدمات می‌تواند با ایجاد نارسایی حاد و یا مزمن کبدی و همچنین بروز انسفالوپاتی کبدی منجر به بروز مرگ و یا کما در بیماران شود؛ به طوری

که گزارش‌های ارسال شده از مرکز کنترل بیماری، کلستاز را به عنوان یکی از ۱۵ علت اول مرگ و میر در ایالات متحده معرفی می‌کنند (۵-۱). همان طور که گفته شد، بروز آسیب در سلول‌های کبدی متعاقب این بیماری علت اصلی بسیاری از تظاهرات بالینی این بیماری محسوب می‌شود (۵). مطالعات نشان داده‌اند که آسیب‌های کبدی متعاقب کلستاز به علت انواع مختلفی از مرگ سلولی شامل آپوپتوز، نکروز و اتوفاژی رخ می‌دهد که در میان آن‌ها دو پدیده آپوپتوز و نکروز از اهمیت بالایی برخوردار هستند (۲۳). آپوپتوز یا مرگ برنامه‌ریزی شده سلول، فرآیند فیزیولوژیک پیچیده‌ای است که در پیرو آن سلول‌های ناخواسته، پیر و آسیب دیده از بین می‌روند (۶).

مولکول‌ها و مدیاتورهای داخل سلولی متعددی این پدیده را کنترل و تنظیم می‌کنند که در بین آن‌ها پروتئین‌های آپوپتوزی متعلق به خانواده Bcl-2 از اهمیت به سزایی برخوردار هستند (۷). بر حسب نوع عملکرد، اعضاء خانواده Bcl-2 به دو دسته پروتئین‌های پروآپوپتوتیک و آنتی‌آپوپتوتیک تقسیم می‌شوند که هریک با تحریک و یا ممانعت از بروز آپوپتوز این پدیده مهم درون سلولی را تنظیم می‌کنند. این پروتئین‌ها توسط بسیاری از محرک‌های درون و خارج سلولی فعال می‌شوند و هر عاملی که تعادل این دو دسته پروتیئن را در سلول برهم زند، می‌تواند باعث القاء و یا مهار غیرطبیعی آپوپتوز در سلول‌ها شود (۱۱-۶). مطالعات نشان داده‌اند که برای حفظ عملکرد طبیعی مغز، تعامل بین سلول‌های مغزی و کبدی از اهمیت بالایی برخوردار است. از



شکل ۴. منحنی تکثیر ژن Bad (A) و Bcl-xl (B) نسبت به ژن GAPDH



شکل ۵. بررسی تغییرات بیان ژن پروآپوپتوتیک نسبت به آنتی آپوپتوتیک در سه گروه شم-کورکومین، BDL-کورکومین و BDL نسبت به کنترل. تغییر بیان ژن Bad به Bcl-xl در گروه BDL نسبت به سایر گروه‌ها از افزایش معنی‌داری داشت ($p<0/05$).

آنجایی که سلول‌های کبدی نقش حیاتی را در دفع مواد نوروتوکسین ایفا می‌کنند، هرگونه آسیب به این سلول‌ها می‌تواند بر روی بخش‌های مختلفی از مغز تاثیر منفی بگذارد (۱۲). یکی از بخش‌هایی از مغز که می‌تواند متعاقب بروز هرگونه آسیب به سلول‌های کبدی دچار اختلال شود، ناحیه‌ای به نام استریاتوم است. استریاتوم هسته ورودی اصلی عقده‌های قاعده‌ای (basal ganglia) است که وظیفه دریافت و یکپارچه سازی ورودی گلوتاماترژیک تحریکی نواحی قشری و تالاموسی مغز را داشته و کنترل شدیدی در رفتار و هسته پایین دست عقده‌های قاعده‌ای دارد. لازم به ذکر است که بسیاری از عملکردهای شناختی، عاطفی و محرکی و همچنین یادگیری رویه‌ای، حافظه مرجع، جهت‌گیری خودمحور و یادگیری مبتنی بر قانون توسط این ناحیه از مغز صورت می‌گیرد. به‌علاوه، پژوهش‌ها نشان می‌دهند که علاوه بر اعمال ذکر شده، این منطقه در انتخاب پاسخ‌های مختلف رفتاری در زمان مورد نیاز حین تغییر کار که می‌تواند شامل برنامه ریزی حرکتی و کنترلی، تصحیح خطا در پاسخ، انتخاب استراتژی و تعیین سوئیچینگ باشد که نیاز به پایش نشانه‌های محیطی و اصلاح پاسخ رفتاری در مواقع رخ دادن تغییر تصادفی را دارد نیز تاثیرگذار است (۱۳). بر اساس اطلاعات موجود به نظر می‌رسد استفاده از ترکیباتی که منجر به تنظیم آپوپتوز در سلول‌ها شوند، بتواند برای کاهش اثرات بیماری کلستاز به خصوص عوارض مغزی آن مناسب باشد.

تحقیقات متعددی نشان داده‌اند که داروهای مختلفی در القای آپوپتوز نقش دارند از جمله می‌توان به کورکومین اشاره کرد. کورکومین یک ترکیب پلی فنولی جدا شده از ادویه زردچوبه جنوب آسیا است که به صورت گسترده در طب سنتی آیروودایی (طب سنتی هند که بیماری‌ها را با استفاده از ترکیب غذا ها، گیاهان و تمرین های تنفسی درمان می‌کنند) مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۷-۲۰). اثرات درمانی بالقوه آن بر روی انواع بیماری به مدت طولانی شناخته شده است (۲۱، ۲۲). یکی از بیماری‌هایی که تاکنون تاثیر داروی کورکومین بر روی آن مورد بررسی قرار گرفته است؛ کلستاز است. در مطالعه یانگ و همکارانش، اثر مهارکنندگی کورکومین بر کلستاز از طریق مسیر سیگنالینگ FXR و تنظیم التهاب و اسیدهای صفراوی بررسی شد (۲۴). در این مطالعه اشاره شده است که به جای عمل جراحی کوله سیستکتومی در بیماران مبتلا به کوله سیستیت می توان از این دارو استفاده کرد. همچنین کورکومین را به عنوان درمانی بالقوه برای کلستاز معرفی کردند. مکانیسم اساسی کورکومین در برابر کلستاز، بازگرداندن هموستاز اسیدهای صفراوی و عدم ایجاد پاسخ‌های التهابی است که به نوبه خود به میرایی و آپوپتوز و به طور کلی کلستاز کمک می‌کند. در مجموع، کورکومین می‌تواند به عنوان یک گزینه درمانی بالقوه برای آسیب کبدی و صفراوی و کلستاز استفاده شود (۲۴). در مطالعه دیگری دیترس و همکارانش به بررسی اثر کورکومین بر کلستاز و کلسترول بالا القاء شده توسط سیکلوسپورین در سوخت و ساز بدن موش صحرایی پرداختند و نشان دادند که کورکومین، قادر به تحریک جریان صفرا و کاهش کلسترول است. دراین مطالعه که بر روی موش نر نژاد ویستار انجام شد، موش‌ها به صورت روزانه با کورکومین تحت درمان قرار گرفتند. پس از دو هفته، جریان صفرا و دفع صفراوی، املاح صفراوی، کلسترول، بیلی روبین، و متابولیت اصلی آن اندازه‌گیری شد که نشان داد کورکومین منجر به کاهش جریان صفرا (۷٪) و دفع املاح صفراوی (۱۲٪) می‌شود (۲۵). مطالعات متعددی بر روی مکانیسم عملکرد کورکومین بر روی کلستاز صورت گرفته‌اند. Yu و همکارانش سه گروه از موش های صحرایی شهر اسپارگو داولی ایالت ویرجینیا را مورد مطالعه قرار دادند. آن‌ها بیان Fas/FasL در موش های صحرایی دارای آسیب مغزی Hypoxia-Hypercapnia (HHBD) که توسط کورکومین درمان شده بودند را با رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی و Western Blotting بررسی کردند و تغییرات پاتولوژیک سلول‌های مغزی را توسط میکروسکوپ الکترونی عبوری مشاهده کردند. آن‌ها مشاهده کردند که موش‌های HHBD (مبتلا به آسیب مغزی هیپوکسی-هایپرکاپنیا) افزایش قابل ملاحظه‌ای در بیان Fas/FasL و تغییرات فراساختاری در سلول‌های بافت مغز از خود نشان دادند و همچنین مداخله کورکومین به صورت کارآمد آپوپتوز Fas/FasL-mediated و HHBD که ورم مغزی را القا کرده بود را وارونه کرد. در پایان نتیجه گرفتند که کورکومین می‌تواند یک جایگزین درمانی بالقوه برای HHBD باشد (۲۶). در همین راستا، Erenoğlu و همکارانش اثرات حفاظتی احتمالی کورکومین بر استرس اکسیداتیو کلستاز و آسیب کبدی در موش‌هایی که مجرای صفراوی آن‌ها مسدود شده را مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها مشاهده کردند که درمان BDL توسط کورکومین آسیب کبدی را تسکین بخشید و همچنین هر دو α-SMA و فعالیت TUNEL زیاد شده در BDL با درمان توسط کورکومین کاهش یافتند. در نهایت نتیجه گرفتند که کورکومین باعث کاهش در آسیب کبدی کولستاتیک ایجاد شده توسط BDL (انسداد مجرای صفراوی)، انتشار انسداد صفراوی و فیبروز می‌شود (۲۷). با توجه به

اطلاعات موجود، در این تحقیق به بیان ژن‌های آپوپتوز و تأثیرات آنها بر کلستاز و سلول‌های ناحیه استریاتوم پرداخته شد و بیان دو ژن دخیل در آپوپتوز Bad وBcl-xl در ناحیه استریاتوم مغز چهار گروه رت نر مورد مطالعه قرار گرفت. این چهار گروه رت شامل رت های شاهد (کنترل)، شم – کورکمین ، BDL، -BDLکورکومین بودند. هدف از مطالعه بیان ژن‌های مذکور در این رت‌ها، در ابتدا تعیین اثر کلستاز مصنوعی (BDL) بر بیان دو ژن Bad و Bcl-Xl و سپس تعیین اثر داروی کورکومین بر جبران و یا جلوگیری از اثرات احتمالی بود. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که بین گروه-های شم کورکومین، BDL کورکومین و BDL به تنهایی تفاوت معنی‌داری در نسبت بیان ژن Bad به Bcl-xl وجود دارد. در گروه شم کورکومین نسبت بیان ژن پرو آپوپتوتیک Bad به ژن انتی آپوپتوتیک Bcl-xl و هم چنین در گروه BDL کورکومین نیز یافته معنی‌داری مشاهده نشد. اما در گروه BDL نسبت بیان این دو ژن معنی‌دار بود. نتایج این تحقیق مشخص می‌سازد که تاثیر داروی کورکومین بر بیان ژن‌های Bad و Bcl-xl موثر است و نقش محافظتی بر روی آسیب ناشی از کلستاز بر روی بخش مغز استریاتوم دارد. با مقایسه بیان ژن‌های مذکور در این ۴ گروه رت، اطلاعات ارزشمندی در رابطه با اهداف پروژه حاصل شد. در این مطالعه، فقط گروه‌هایی با هم مقایسه شدند که مقایسه آنها بتواند ما را به اهداف پژوهش برساند. لازم به ذکر است که تمام نتیجه گیری‌های زیر فقط مربوط به ناحیه استریاتوم مغز رت‌ها است و به معنای تعمیم آن به سایر نواحی مغزی و یا بافت‌های دیگر نیست.

REFERENCES

1. Moyer V, Freese DK, Whitington PF, Olson AD, Brewer F, Colletti RB, et al. North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. Guideline for the evaluation of cholestatic jaundice in infants: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2004;39:115-28.

2. Anstee QM, Seth D, Day CP.Anstee. genetic factors that affect risk of alcoholic and nonalcoholic fatty liver disease. Gastroenterology 2016;150:1728-44.

3. Fogel EL, Mchenry L, Sherman S, Watkins JL, Lehman GA. Therapeutic biliary endoscopy. Endoscopy 2005;37:139-45.

4. Gupta K, Wang H, Amin SB. Parenteral Nutrition-Associated Cholestasis in Premature Infants: Role of Macronutrients. JPEN J Parenter Enteral Nutr 2016;40:335-41.

5. Hosseini N, Alaei H, Zarrindast MR, Nasehi M, Radahmadi M. Cholestasis progression effects on long-term memory in bile duct ligation rats. Adv Biomed Res 2014;3:215.

6. Shimizu S, Narita M, Tsujimoto Y. Bcl-2 family proteins regulate the release of apoptogenic cytochrome c by the mitochondrial channel VDAC. Nature 1999;399:483-7.

7. Kam PC, Ferch NI. Apoptosis: mechanisms and clinical implications. Anaesthesia 2000;55:1081-93.

8. Marzetti E, Privitera G, Simili V, Wohlgemuth SE, Aulisa L, Pahor M, et al. Multiple pathways to the same end: mechanisms of myonuclear apoptosis in sarcopenia of aging. ScientificWorldJournal 2010;10:340-9.

9. Opiela J. Apoptosis in preimplantation bovine embryos and methods used for its detection. Ann Anim Sci 2009;9:3-16.

10. Gopisetty G, Ramachandran K, Singal R. DNA methylation and apoptosis. Mol Immunol 2006;43:1729-40.

11. Tsujimoto Y, Shimizu S. Bcl-2 family: life-or-death switch. FEBS Lett 2000;466:6-10.

12. Zollner G, Trauner M. Nuclear receptors as therapeutic targets in cholestatic liver diseases. Br J Pharmacol 2009;156:7-27.

13. Yager LM, Garcia AF, Wunsch AM, Ferguson SM. The ins and outs of the striatum: role in drug addiction. Neuroscience 2015;301:529-41.

14. Nasehi M, Sabouri Khanghah V, Mirzaei Varzeghani S, Zarrindast MR. Involvement of nitric oxide system on anxiolytic-like behaviors induced by cholestasiss. BCN 2012;3:19-29.

15. Ahmadi S, Karami Z, Mohammadian A, Khosrobakhsh F, Rostamzadeh J. Cholestasis induced antinociception and decreased gene expression of MOR1 in rat brain. Neuroscience 2015;284:78-86

16. Bergasa NV, Rothman RB, Vergalla J, Xu H, Swain MG, Jones EA. Central mu-opioid receptors are down-regulated in a rat model of cholestasis. J Hepatol 1992;15:220-4.

17. Tomren MA, Másson M, Loftsson T, Tønnesen HH. Studies on curcumin and curcuminoids XXXI. Symmetric and asymmetric curcuminoids: stability, activity and complexation with cyclodextrin. Int J Pharm 2007;338:27-34.

18. Kunnumakkara AB. Curcumin potentiates antitumor activity of gemcitabine in an orthotopic model of pancreatic cancer through suppression of proliferation, angiogenesis, and inhibition of nuclear factorkappaB- regulated gene products. Cancer Res 2007;67:3853-61.

19. Varalakshmi C, Ali AM, Pardhasaradhi B, Srivastava RM, Singh S, Khar A. Immunomodulatory effects of curcumin. Int Immunopharmacol 2008;8:688-700.

20. Katiraee F, Babaei E, Ghaderi A, Ashrafi-Helan J. Effect of Dendrosomal Nanocurcumin on CaMCA1 Gene Expression and Encoding Metacaspase in Candida Species and its Possible Role in Cell Death. J Isfahan Med Sch 2016;34:933-9.

21. Bruck R, Ashkenazi M, Weiss S, Goldiner I, Shapiro H, Aeed H, et al. Prevention of liver cirrhosis in rats by curcumin. Liver Int 2007;27:373-83.

22. Shishodia S, Amin HM, Lai R, Aggarwal BB. Curcumin (diferuloylmethane) inhibits constitutive NF-kappaB activation, induces G1/S arrest, suppresses proliferation, and induces apoptosis in mantle cell lymphoma. Biochem Pharmacol 2005;70:700-13.

23. Voruganti VS, Cole SA, Ebbesson SO, Göring HH, Haack K, Laston S, et al. Genetic variation in APOJ, LPL, and TNFRSF10B affects plasma fatty acid distribution in Alaskan Eskimos. Am J Clin Nutr 2010;91:1574-83.

24. Yang F, Tang X, Ding L, Zhou Y, Yang Q, Gong J, et al. Curcumin protects ANIT-induced cholestasis through signaling pathway of FXR-regulated bile acid and inflammation. Sci Rep 2016;6:33052.

25. Eters M, Klabunde T, Meyer H, Resch K, Kaever V. Effects of curcumin on cyclosporine-induced cholestasis and hypercholesterolemia and on cyclosporine metabolism in the rat. Planta Med 2003;69:337-43.

26. Yu L, Fan Y, Ye G, Li J, Feng X, Lin K, et al. Curcumin inhibits apoptosis and brain edema induced by hypoxia-hypercapnia brain damage in rat models. Am J Med Sci 2015;349:521-5.

27. Shams ardakani MR. Guide treatment plant. first edition. Iran: Publications of the Academy of Medical Sciences 1998;64:432-98.