

Original Article

Comparison of the Protective Effects of Curcumin and Nanocurcumin on Acrolein Induced Mitochondrial Toxicity Isolated from Rat Liver

Behnaz Shafie¹, Jalal Pourahmad², Mohsen Rezaei^{1*}

¹Department of Toxicology,
Faculty of Medical Sciences,
Tarbiat Modares University,
Tehran, Iran.

²Faculty of Pharmacy,
Shahid Beheshti University
of Medical Sciences, Tehran,
Iran.

***Corresponding Author:**
Mohsen Rezaei; Department
of Toxicology, Faculty of
Medical Sciences, Tarbiat
Modares University, Tehran,
Iran.

Email:
rezaei.m@modares.ac.ir

Received: 6 Jul, 2019
Accepted: 20 Oct, 2019

Abstract

Background and Objectives: Contact with acrolein rapidly reduces intracellular glutathione and its antioxidant capacity and causes mitochondrial dysfunction. The use of some polymeric nanocurcumin increases the stability of curcumin. In this study, the effect of these two, was investigated on acrolein-induced toxicity in mitochondria isolated from rat liver cells.

Methods: In this experimental study, male Wistar rats (weight, 180-200g), were used. Mitochondria obtained from rat liver, were exposed to different concentrations of curcumin and nanocurcumin, Then, they were exposed to toxic concentrations of acrolein and the mitochondrial viability, was evaluated in comparison with the non-protected group. Data were analyzed using one way ANOVA test.

Results: In this study, curcumin and nanocurcumin did not show any significant difference in the mitochondria viability at all the concentrations, which is indicative of their non-toxic effect on mitochondria. However, curcumin and nanocurcumin at all concentrations have not been able to exert their protective effect on mitochondria in the presence of acrolein. Moreover, mitochondria can be considered as target organelles against the acute toxicity of acrolein. The mechanism of acrolein toxicity was such that curcumin and nanocurcumin could not exert their protective effects against mitochondrial toxicity of acrolein.

Conclusion: The results of this study showed that since the mechanisms of different toxins are different, they have different effects on various toxicities of protective agents and not every protective agent can exert its effects against all toxins.

Keywords: Acrolein; Mitochondria; Curcumin; Rats.

DOI: 10.29252/qums.13.9.1

مقایسه اثر محافظتی کورکومین و نانوکورکومین بر سمیت آکرولئین در میتوکندری‌های جداشده از کبد موش صحرایی

بهناز شفیع^۱، جلال پوراحمد^۲، محسن رضایی^{۱*}

چکیده

زمینه و هدف: تماس با آکرولئین، به سرعت گلوپروتئین داخل سلولی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن را کاهش می‌دهد و سبب اختلال در میتوکندری می‌شود. استفاده از برخی نانوذرات پلیمری نانوکورکومین نیز موجب افزایش پایداری کورکومین می‌گردد. در این مطالعه اثر این دو بر سمیت ناشی از آکرولئین در میتوکندری‌های جداشده از سلول‌های کبد موش صحرایی بررسی گردید.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، از موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار (با وزن ۲۰۰-۱۸۰ گرم) استفاده شد. میتوکندری‌های به دست آمده از کبد موش صحرایی در مواجهه با غلظت‌های مختلفی از کورکومین و نانوکورکومین قرار گرفتند، سپس آکرولئین در غلظت سمی با آن‌ها مواجه گردید و میزان زنده‌مانی میتوکندری‌ها نسبت به گروه فاقد این ماده محافظ ارزیابی شد. داده‌ها با استفاده از آزمون واریانس یک طرفه آنالیز شدند.

یافته‌ها: در این مطالعه کورکومین و نانوکورکومین در غلظت‌های مختلف، در میزان زنده‌مانی میتوکندری تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان ندادند که بیانگر اثر غیرسمی آن‌ها بر میتوکندری بود؛ با این حال کورکومین و نانوکورکومین در تمامی غلظت‌ها نتوانستند در حضور آکرولئین اثر محافظتی خود را بر میتوکندری‌ها اعمال کنند. همچنین میتوکندری در مقابل سمیت حاد آکرولئین توانست به عنوان یک ارگان هدف مورد توجه قرار گیرد. مکانیسم سمیت آکرولئین به گونه‌ای بود که کورکومین و نانوکورکومین نتوانستند در مقابل سمیت میتوکندریایی آکرولئین، اثرات محافظتی خود را اعمال کنند.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد از آنجایی که مکانیسم سموم مختلف متفاوت است؛ بنابراین در سمیت‌های مختلف، مواد محافظت‌کننده اثرات متفاوتی دارند و هر ماده محافظتی نمی‌تواند در مقابل همه سموم تأثیر خود را اعمال کند.

کلیدواژه‌ها: آکرولئین؛ میتوکندری؛ کورکومین؛ موش‌ها.

^۱گروه سم‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

^۲دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات:

محسن رضایی؛ گروه سم‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

آدرس پست الکترونیکی:

rezaei.m@modares.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۸/۴/۱۵

تاریخ پذیرش: ۹۸/۷/۲۸

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Shafie B, Pourahmad J, Rezaei M. Comparison of the protective effects of curcumin and nanocurcumin on acrolein induced mitochondrial toxicity isolated from rat liver. Qom Univ Med Sci J 2019;13(9):1-9. [Full Text in Persian]

مقدمه

کبد، نقش اساسی در متابولیسم چربی‌ها و سوخت‌وساز بدن دارد. میتوکندری سلول‌های کبدی (هپاتوسیت‌ها) نیز از منابع اصلی تولید ATP می‌باشند، همچنین این اندامک نقش مهمی در میزان تولید ATP و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، اکسیداسیون چربی و فرآیند مرگ سلولی برعهده دارد. عوامل سمی بسیاری از طریق افزایش سطح استرس اکسیداتیو، سبب سرکوب عملکرد میتوکندری سلول می‌شوند (۱). پروپنال یا آکروئین، یک آلدئید الکتروفیل غیراشباع α و β بوده که در دمای اتاق به‌صورت بی‌رنگ و قابل اشتعال با بوی تحریک‌کننده و بسیار فرار وجود دارد (۲). این ماده یک آلاینده مهم زیست‌محیطی، غذایی و آبی است که توسط سازمان حفاظت محیط‌زیست آمریکا به‌عنوان یکی از ۱۸۸ آلاینده پرخطر شناسایی شده و می‌تواند در ایجاد بسیاری از بیماری‌ها از جمله آسیب نخاعی، مالتیپل اسکلروزیس، آلزایمر، بیماری‌های قلبی - عروقی، دیابت ملیتوس، انسفالوپاتی کبدی و سمیت کلیوی موردتوجه قرار گیرد (۳،۴). این ماده در محیط‌زیست، در طول احتراق ناقص سوخت‌های نفتی (دود خارج‌شده از اگزوز خودروها)، پلاستیک، کاغذ و چوب منتشرشده و بخش عمده‌ای از دود سیگار (حدود ۱۴۰-۲۵ میکروگرم بر سیگار) تولید می‌شود (۵). از سوی دیگر، این ماده در روغن‌های گیاهی و حیوانی، در حین پخت‌وپز که حرارت بالا می‌بینند تولید می‌گردد و در آب آشامیدنی نیز وجود دارد و به‌عنوان یک الکتروفیل بسیار قوی در داخل بدن تا چندین روز فعال باقی می‌ماند (۶). آکروئین هم در تماس مزمن و هم در تماس حاد، اثرات قابل توجهی دارد. این ماده دارای اثرات سمی متنوعی در ارگان‌ها و بافت‌های مختلف می‌باشد. مکانیسم‌های مستقیم از سمیت آکروئین مانند اضافه شدن به پروتئین، DNA و مکانیسم‌های غیرمستقیم شامل القای استرس اکسیداتیو، اختلال در میتوکندری و استرس در شبکه آندوپلاسمی بوده که ارگان‌ها و شرایط پاتولوژیکی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۷). مسیر اصلی حذف آکروئین به‌وسیله کونژوگه شدن با گلوتاتیون (GSH) در کبد است. تماس با آکروئین به‌سرعت و به‌طور چشمگیری گلوتاتیون داخل سلولی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را کاهش داده و سبب اختلال در میتوکندری می‌شود (۸).

کورکومین با نام دی فرولیل متان (Diferuloylmethan)، یک پلی‌فنول زردرنگ است که اغلب از ریزوم زردچوبه و سایر قسمت‌های این جنس به دست می‌آید (۹). همچنین به‌عنوان یک ماده محافظت‌کننده برای تعدیل مسیرهای متعدد مولکولی، از طریق مکانیسم‌های مختلف مانند القای آپوپتوز، مهار سیگنال‌های بقا و جلوگیری از گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) شناخته شده است (۱۰). مطالعات نشان داده‌اند کورکومین دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضدباکتریایی، ضدقارچی، ضدویروسی، ضدالتهابی، ضدتکثیری و پروآپوپتوزی است و پتانسیل درمانی فوق‌العاده‌ای علیه بیماری‌های تحلیل‌برنده عصبی، ورم مفاصل، دیابت، پسوریازیس، آلرژی، التهاب روده، مسمومیت کلیوی، آلزایمر، افسردگی، ایدز، مالتیپل اسکلروزیس، بیماری‌های قلبی - عروقی، به‌ویژه سرطان دارد (۱۱،۱۰). محدودیت اصلی استفاده از کورکومین، حل شدن ضعیف و متابولیسم سریع آن است؛ درنتیجه جذب آن از طریق معده و روده بسیار ضعیف می‌باشد (۱۲). استفاده از نانوذرات پلیمری به‌نام نانوکورکومین موجب افزایش چند برابری در پایداری کورکومین می‌گردد؛ ازجمله این نانوذرات می‌توان به PLGA (Polylactic-co-glycolic acid) اشاره کرد که موجب افزایش ۲۲ برابری دسترسی زیستی کورکومین در موش، در مقایسه با حالت عادی می‌شود. برخی از نانوذرات‌ها می‌توانند با لیگاند، کونژوگه شوند و اختصاصی یک سلول خاص عمل کنند (۱۳).

با توجه به خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد سرطانی کورکومین و نانوکورکومین، در این مطالعه تأثیر این دو ماده بر سمیت ناشی از آکروئین در میتوکندری‌های جداشده از سلول‌های کبد موش صحرایی مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی، از موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار (با وزن ۲۰۰-۱۸۰ گرم) استفاده شد. موش‌ها یک‌هفته قبل از شروع آزمایش در شرایط استاندارد (۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی) با در نظر گرفتن دوره نوری از ۷ صبح تا ۷ شب، دمای ۲۵-۲۷ درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی ۳۰-۲۵٪ در شرایط طبیعی و رژیم غذایی طراحی شده (غذای مخصوص رت)

نگهداری شدند تا با محیط جدید سازگار شوند. در کار با حیوان آزمایشگاهی، منشور اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه تربیت مدرس رعایت گردید. در این مطالعه، از کبد رت‌های سالم، میتوکندری تخلیص و مورد استفاده قرار گرفت، همچنین هر آزمایش حداقل سه بار در روزهای متفاوت تکرار شد. کورکومین از کمپانی مرک و آکروئین، نانوکورکومین و سایر مواد، از کمپانی سیگما تهیه گردید. نانوکورکومین شامل: mPEG و Oleoyl chloride بود. این سامانه دارویی دارای ابعاد زیر ۱۰۰ نانومتر بوده و (mPEG-oleate (OA با استریفیکاسیون کلرید اولئویل (۰/۰۱ مول، ۳/۰۱ گرم) و متوکسی PEG 2.000 (۰/۰۱ مول، ۲۰ گرم) در حضور تری اتیل آمین (۰/۰۱۲ مول، ۱/۲ گرم) و کلروفرم به عنوان حلال در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد به مدت ۲ ساعت سنتز شد (۱۴).

در این مطالعه، ابتدا حیوانات با کتامین (دوز ۹۰ میلی گرم بر کیلوگرم و زایلازین (دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) به صورت داخل صفاقی بیهوش شدند، سپس کبد حیوانات از بدن آن‌ها جدا و در بافر مانیتول (شامل HEPES ۱۰ میلی مولار، مانیتول ۲۰۰ میلی مولار، سوکروز ۷۰ میلی مولار و EGTA ۱ میلی مولار) شست و شو داده شد. در ادامه، درون پلیت بر روی یخ وزن شده و با قیچی قطعه قطعه گردید. کبد قطعه قطعه شده بر روی یخ به آرامی با هموژنایزر دستی همراه با بافر مانیتول هموژنیزه شد، سپس عمل سانتریفوژ به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰g در دمای ۴ درجه سانتیگراد به وسیله سانتریفوژ یخچال دار انجام گرفت. در این مرحله هسته، سلول‌های شکسته شده و دیگر بافت‌های سلولی حذف شدند (۱۵). سپس سوپرناتانت به دست آمده با سرعت ۱۰۰۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. سوپرناتانت دوم حاوی قطعات میکروزومال و میتوکندری‌های شکسته بود. در ادامه، رسوب پایینی مجدداً در بافر مانیتول پیچاژ شده و در ۱۰۰۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. برای خالص سازی، این مرحله چندین بار تکرار شد، سپس سوسپانسیون میتوکندری‌های جدا شده در محلول بافری بالا در دمای ۴ درجه سانتیگراد برای سنجش‌های مورد نظر مورد استفاده قرار گرفت (۱۶). رسوب میتوکندریایی با بافر تخلیص به حجم مشخص رسانده شد، سپس میزان پروتئین آن با روش برادفورد سنجش گردید.

حجم نهایی سوسپانسیون میتوکندری، ۱ میلی گرم پروتئین بر میلی لیتر در نظر گرفته شد. سوسپانسیون میتوکندری به دست آمده در گروه‌های مختلف و در معرض غلظت‌های مختلفی از کورکومین و نانوکورکومین (۱/۲۵، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میکرومولار) قرار گرفت (۱۷). Viability و میزان IC50 به وسیله روش MTT assay سنجش شد. این روش رنگ سنجی، معیاری کمی برای تعیین زنده ماندنی است که در آن نمک زرد رنگ تترازولیوم (MTT)، به وسیله آنزیم دهیدروناز میتوکندریایی احیا و شکسته شده و موجب تشکیل کریستال‌های بنفش رنگ فورمازان غیر محلول می‌شود؛ بنابراین در این مطالعه از حلال DMSO استفاده شد تا کریستال‌های فورمازان را حل کند (۱۸). در مرحله بعد، به یک میلی لیتر از سوسپانسیون میتوکندریایی، غلظت‌های مختلفی از ماده محافظتی کورکومین و نانوکورکومین (۲/۵، ۵، ۱۰، ۲۰ میکرومولار) به مدت ۴۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد افزوده شد (۱۹، ۱۷، ۱۰)، سپس در مجاورت آکروئین با دوز IC50 به دست آمده، به مدت ۴۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد قرار گرفت. محلول MTT (به میزان ۱۰۰ میکرولیتر) با غلظت نهایی ۰/۵ میلی گرم بر میلی لیتر به هر میکروتیوب حاوی سوسپانسیون میتوکندریایی تیمار شده اضافه گردید و به مدت ۴۰ دقیقه در انکوباتور با دمای ۳۰-۲۰ درجه سانتیگراد گذاشته شد تا انکوبه شود. در ادامه، DMSO (به میزان ۱۰۰ میکرولیتر) اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه انکوبه گردید. در نهایت، جذب در طول موج ۵۷۰ نانومتر در دستگاه ELISA rider قرائت شد.

درصد مهار میتوکندری با غلظت‌های مختلف آکروئین (۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰، ۱۰۰۰، ۱۶۰۰، ۲۰۰۰ میکرومولار) طبق رابطه زیر محاسبه گردید (۲۰)، سپس با استفاده از نرم افزار Excel میزان IC50 در غلظت ۴۰۰ میکرومولار تعیین شد.

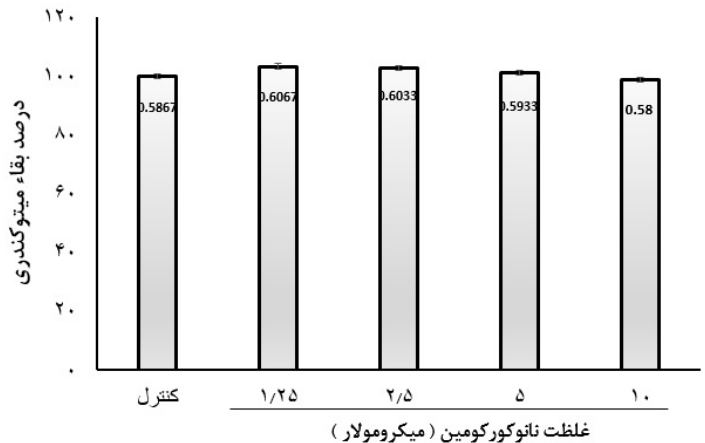
$$\text{جذب ماده سمی - جذب کنترل} \times 100 = \frac{\text{درصد مهار میتوکندری}}{\text{جذب کنترل}}$$

داده‌ها با استفاده از نرم افزار و آزمون واریانس یک طرفه (برای مقایسه میانگین‌ها، تعیین اختلاف میانگین‌ها و معنی دار بودن نتایج) آنالیز شدند. سطح معنی داری، $p < 0.05$ در نظر گرفته شد. داده‌ها به صورت $\text{Mean} \pm \text{SE}$ بیان شدند.

یافته‌ها

در این مطالعه اثر غلظت‌های مختلف کورکومین و نانوکورکومین بر سنجش زنده‌مانی میتوکندری‌های تخلیص شده از سلول‌های کبدی موش صحرایی بررسی گردید.

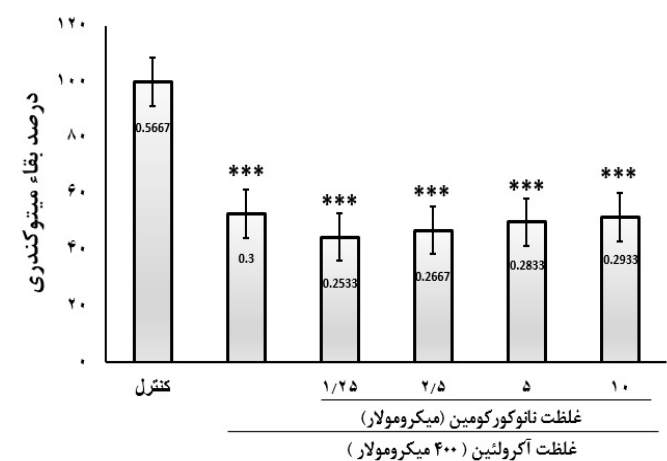
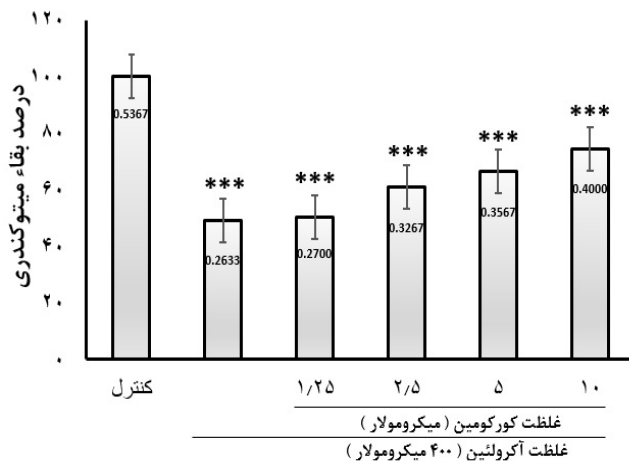
امکان زنده‌مانی میتوکندری‌ها از طریق سنجش تست MTT، پس از ۴۰ دقیقه تماس میتوکندری‌ها با غلظت‌های مختلف کورکومین



نمودار شماره ۱: تأثیر غلظت‌های مختلف کورکومین و نانوکورکومین بر میزان تبدیل MTT.

گروه کورکومین و نانوکورکومین در غلظت‌های مختلف نتوانستند در حضور آکرولئین اثر محافظتی خود را بر میتوکندری‌ها اعمال کنند که تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل داشت.

امکان زنده‌مانی میتوکندری‌ها از طریق سنجش تست MTT پس از ۴۰ دقیقه تماس با غلظت‌های مختلف کورکومین و نانوکورکومین، سپس ۴۰ دقیقه تماس با غلظت ۴۰۰ میکرومولار آکرولئین (غلظت IC50) انجام شد.



نمودار شماره ۲: اثر کورکومین و نانوکورکومین در حضور آکرولئین
* نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل است ($p < 0.001$).

بحث

امروزه، نقش میتوکندری در سن شروع بیماری، شدت بیماری‌ها، آپوپتوزیس و مرگ سلولی مشخص شده است. اهمیت مطالعه میتوکندری‌ها به علت نقش این ارگانل در آسیب‌شناسی بسیاری از بیماری‌ها و پیری می‌باشد (۱۶). آکروئین نیز نقش مهمی در چندین بیماری؛ از جمله آسیب نخاعی، مالتیپل اسکلروزیس، آلزایمر، بیماری‌های قلبی - عروقی، دیابت ملیتوس، انسفالوپاتی کبدی و سمیت کلیوی ایفا می‌کند. قرار گرفتن در معرض آکروئین در سطح سلولی، اثرات سمی گوناگونی از جمله اضافه شدن با DNA و پروتئین، استرس اکسیداتیو، اختلال در میتوکندری، آسیب غشایی، استرس در شبکه آندوپلاسمی و اختلال در عملکرد ایمنی و ایجاد التهاب را در پی دارد (۶). در یک مطالعه سلولی (سال ۲۰۱۲)، آکروئین سبب افزایش نفوذپذیری میتوکندری، اختلال در عملکرد آن و افزایش استرس اکسیداتیو در هپاتوسیت‌ها گردید. در این مطالعه زنده‌مانی هپاتوسیت‌ها در حضور آکروئین (از غلظت ۲/۵ میکرومولار تا غلظت ۲۵ میکرومولار) به مدت ۲۴ ساعت نشان داد بین آکروئین با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری وجود ندارد و غلظت مهاری ۵۰٪ از هپاتوسیت‌ها بین غلظت ۵۰ و ۷۵ میکرومولار اندازه‌گیری شد (۷).

نتایج یک مطالعه دیگر در سال ۲۰۰۶ نشان داد آکروئین به عنوان سم میتوکندریایی سبب ایجاد اختلال در عملکرد آن می‌شود و سمیت آکروئین نیز نقش مهمی در سمی کردن سلول‌های کبدی و بیماری‌های مرتبط با سیگار کشیدن ایفا می‌کند. در مطالعه حاضر، آکروئین به صورت وابسته به دوز، سبب مهار NADH سوکسینات مرتبط با زنجیره تنفسی میتوکندریایی، تغییر در نفوذپذیری غشای میتوکندری، افزایش در کربونیل‌های پروتئینی و مهار انتخابی آنزیم‌های کمپلکس I و II میتوکندری، پیرووات دهیدروژناز، آلفا کتوگلو تارات دهیدروژناز شد. در این مطالعه پس از ۶۰ دقیقه تماس میتوکندری‌ها با آکروئین، فعالیت کمپلکس I میتوکندریایی در غلظت ۵۰۰ میکرومولار شروع به کاهش کرد و با افزایش غلظت آکروئین به آهستگی کم شد و فعالیت کمپلکس II نیز از غلظت ۱۰۰ میکرومولار شروع به کاهش کرد و با افزایش غلظت آکروئین به شدت کم شد (۲۱).

براساس نتایج مطالعات پیشین انجام شده بر روی میتوکندری، از غلظت‌های بالاتر از ۱۰۰ میکرومولار برای به دست آوردن IC50 در این مطالعه استفاده شد. نتایج نشان داد با به دست آوردن غلظت مهاری ۵۰٪ از میتوکندری‌ها (IC50) در غلظت ۴۰۰ میکرومولار، اثرات سمی آکروئین بر میتوکندری‌های تخلیص شده از سلول‌های کبدی موش صحرایی در غلظت‌های بالاتر از ۱۰۰ میکرومولار بروز می‌کند که در مطالعات سلولی در غلظت‌های پایین‌تر از ۱۰۰ میکرومولار نیز این نتایج به دست آمده است. یک منبع مهم تولید آکروئین در سلول، پراکسیداسیون لیپید مرتبط با استرس اکسیداتیو می‌باشد که آکروئین را به عنوان یک محصول جانبی تولید می‌کند. آکروئین، یک ترکیب بسیار واکنش‌پذیر با خاصیت الکتروفیلی بوده که با نوکلئوفیل‌های سلولی واکنش می‌دهد و سبب تخلیه آن‌ها می‌شود. آکروئین به سرعت ظرفیت آنتی اکسیدانت گلو تاتیون را کاهش داده و قادر به ایجاد پراکسیداسیون لیپیدی است (۱۸). علاوه بر اینکه آکروئین محصول جانبی پراکسیداسیون لیپید است، به تنهایی نیز می‌تواند سبب القای پراکسیداسیون لیپید شود. این آلدئید واکنش‌پذیر در ایجاد آسیب اکسیداتیو در سلول‌ها و بافت‌ها نقش بالقوه‌ای ایفا می‌کند. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۶ انجام شد، مشخص گردید غلظت‌های آکروئین در محیط Invivo با افزایش زمان پس از ایجاد آسیب، افزایش می‌یابند و از طرفی، پراکسیداسیون لیپید یک واکنش زنجیره‌ای است که سلول‌های مرده آکروئین را از سیتوزول به محیط خارج سلولی آزاد می‌کند (۲۲). با توجه به اینکه مواجهه با آکروئین، در محیط اجتناب‌ناپذیر است می‌توان از مواد طبیعی که با اثر بر روی میتوکندری، سمیت میتوکندری را کاهش می‌دهند استفاده کرد. کورکومین یک ماده مهم در ریزوم زردچوبه و یک مولکول لیوفیل است که به سرعت به درون غشای سلول نفوذ می‌کند. در آسیب حاد کبدی ناشی از لیپوپلی ساکارید گالاکتوز آمین، کورکومین به طور بالقوه سبب کاهش آسیب پاتولوژیک کبدی، کاهش آنزیم‌های سرم و محتوای MDA شده است. در طول استرس اکسیداتیو در کبد، هومئوستاز کلسیم داخل سلولی کاهش یافته و سبب افزایش غلظت کلسیم آزاد در سیتوزول هپاتوسیت‌ها می‌شود که خود منجر به آسیب سلولی

غیرقابل برگشت می‌گردد. همچنین کورکومین با غلظت ۵ میکرومولار می‌تواند از ایجاد H_2O_2 و پاراستامول ناشی از افزایش کلسیم در هیپاتوسیت موش صحرایی جلوگیری کند (۱۰). درمان نوروئین‌های قشری با کورکومین (غلظت‌های ۲۰-۲/۵ میکرومولار) به مدت ۱۸ ساعت می‌تواند از کاهش زنده‌مانی سلول‌های ناشی از t-BHP، جلوگیری کند و آپوپتوز سلول را به صورت وابسته به دوز کاهش دهد. همچنین کورکومین به دلیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی، محتوای GSH نوروئین‌ها را پس از حذف t-BHP افزایش می‌دهد (۱۹). در مطالعه‌ای نشان داده شد کورکومین در غلظت‌های بالاتر از ۲۰ میکرومولار سبب القای آپوپتوز می‌شود (۱۷). در مطالعه حاضر نیز از غلظت‌های مختلف کورکومین و نانوکورکومین (۲/۵، ۱/۲۵، ۵ و ۱۰ میکرومولار) بر میتوکندری‌های جداشده از کبد موش صحرایی استفاده شد که هر دو ماده، در همه غلظت‌ها هیچ‌گونه سمیتی بر میتوکندری‌ها نداشتند و تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد (نمودار شماره ۱). کورکومین فعالیت آنتی‌تومورژنیک خود را از طریق مکانیسم وابسته به ROS نشان می‌دهد، هرچند که سطح ROS داخل سلولی لزوماً با فعالیت ضد تومورژنیک ارتباط ندارد و این نشان می‌دهد مولکول‌هایی که در واقع سلول‌های لوسمی را از بین برده، ممکن است خود ROS نباشد، اما این امکان وجود دارد که برخی دیگر از مولکول‌های واکنش‌پذیر مانند کربونیل‌های واکنش‌پذیر و آلدئیدهای واکنش‌پذیر که از ROS مشتق شده‌اند، این فعالیت را داشته باشند. بر این اساس کورکومین و اثرات ضد تومورژنیک آن می‌تواند بر طیف وسیعی از سلول‌های سرطانی؛ از جمله سرطان کبد، پوست، پانکراس، پروستات، تخمدان، ریه و سر و گردن مورد استفاده قرار گیرد (۲۳). در مطالعه‌ای نشان داده شد هم کورکومین و هم نانوکورکومین می‌توانند سلول‌های نوروبلاستوم انسانی را در مقابل سمیت ناشی از آکروئین محافظت کرده و این حفاظت را از طریق سیستم ردوکس، دفاع آنتی‌اکسیدانی و کنترل مسیرهای زنده‌مانی سلول به وسیله کورکومین انجام دهند. نانوکورکومین در غلظت ۰/۵ میکرومولار توانست باعث حفاظت سلول‌ها شود، درحالی‌که کورکومین در غلظت ۰/۵ میکرومولار نتوانست سبب حفاظت

سلول‌ها گردد. علاوه بر این، کورکومین می‌تواند به طور مستقیم گونه‌های فعال اکسیژن، از جمله رادیکال‌های سوپراکسید و هیدروکسیل را خنثی کند، همچنین می‌تواند فعالیت کاتالاز، گلوکاتایون پراکسیداز و سوپراکسید دسموتاز را افزایش دهد. بنابراین نمی‌توان گفت کورکومین باعث از بین رفتن NO نیتروژن اکسید می‌شود؛ چراکه آکروئین می‌تواند تولید این ماده را تحریک کند. نتایج مطالعه‌ای نشان داد فعالیت آنتی‌اکسیدانی کورکومین برای رادیکال‌های وابسته به نیتروژن اکسید در محافظت عصبی مبهم است که علت آن می‌تواند عدم بازسازی کاهش گلوکاتایون و افزایش پروتئین‌های کربونیل به وسیله کورکومین باشد (۲۴).

در مطالعه حاضر بررسی اثر محافظتی کورکومین و نانوکورکومین بر سمیت ناشی از آکروئین در میتوکندری‌های جداشده از سلول‌های کبدی نشان داد آکروئین می‌تواند منجر به کاهش بقای میتوکندری‌ها در حضور کورکومین و نانوکورکومین در مدت زمان ۴۰ دقیقه شود که تفاوت معنی‌داری با غلظت‌های مختلف این دو ماده، در امکان زنده‌مانی میتوکندری‌ها در مقایسه با گروه کنترل مشاهده گردید (نمودار شماره ۲).

نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد میتوکندری در مقابل سمیت آکروئین به عنوان یک ارگان هدف مورد توجه است و آکروئین نیز نقش مهمی در سمیت هیپاتوسیت‌ها و آسیب کبدی ایفا می‌کند. برطبق نتایج مطالعات پیشین، کورکومین دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضدباکتریایی، ضدقارچی، ضدویروسی، ضدالتهابی، ضدتکثیری و پروآپوپتوزی است و پتانسیل درمانی فوق‌العاده‌ای علیه بیماری‌ها به‌ویژه سرطان دارد، اما در مطالعه حاضر، سمیت حاد کورکومین و نانوکورکومین نتوانست در مقابل سمیت میتوکندریایی آکروئین، اثرات محافظتی خود را اعمال کند؛ چراکه آکروئین بیشترین اثرات سمی خود را از طریق استرس اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپید و کاهش گلوکاتایون اعمال می‌کند؛ بنابراین هر ماده‌ای که به عنوان یک آنتی‌اکسیدانت تلقی گردد، به این معنا نیست که می‌تواند مانع از تخریب میتوکندری‌ها و مرگ نهایی آن‌ها شود.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت دانشگاه تربیت مدرس (کد اخلاق: TR.TMV.REC.1395.498) انجام پذیرفت. لذا از تمام کسانی که ما را در انجام این مطالعه یاری نمودند، نهایت تشکر و قدردانی را داریم.

از آنجایی که مکانیسم سموم مختلف متفاوت است؛ لذا در سمیت‌های مختلف، مواد محافظت‌کننده اثرات متفاوتی دارند و هر ماده محافظتی نمی‌تواند درمقابل هر سمی اثرات خود را اعمال کند. این یافته برای پیشگیری و یا درمان بیماری‌های وابسته به اختلال عملکرد میتوکندری می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد.

References:

1. Song BJ, Akbar M, Abdelmegeed MA, Byun K, Lee B, Yoon SK, et al. Mitochondrial dysfunction and tissue injury by alcohol, high fat, nonalcoholic substances and pathological conditions through post-translational protein modifications. *Redox Biol* 2014;3:109-23. Link
2. Avezov K, Reznick AZ, Aizenbud D. LDH enzyme activity in human saliva: the effect of exposure to cigarette smoke and its different components. *Arch Oral Biol* 2014;59(2):142-8. Link
3. Joshi-Barve S, Amancherla K, Patil M, Bhatnagar A, Mathews S, Gobejishvili L, et al. Acrolein, a ubiquitous pollutant and lipid hydroperoxide product, inhibits antiviral activity of interferon- α : relevance to hepatitis C. *Free Radic Biol Med* 2009;47(1):47-54. Link
4. Stevens JF, Maier CS. Acrolein: sources, metabolism, and biomolecular interactions relevant to human health and disease. *Mol Nutr Food Res* 2008;52(1):7-25. Link
5. Bui LC, Manaa A, Xu X, Duval R, Busi F, Dupret J-M, et al. Acrolein, an α , β -unsaturated aldehyde, irreversibly inhibits the acetylation of aromatic amine xenobiotics by human arylamine N-acetyltransferase 1. *Drug Metab Dispos* 2013;41(7):1300-5. Link
6. Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ J* 2012;5(1):9-19. Link
7. Moghe A, Ghare S, Lamoreau B, Mohammad M, Barve S, McClain C, et al. Molecular mechanisms of acrolein toxicity: relevance to human disease. *Toxicol Sci* 2015;143(2):242-55. Link
8. Mohammad MK, Avila D, Zhang J, Barve S, Arteel G, McClain C, et al. Acrolein cytotoxicity in hepatocytes involves endoplasmic reticulum stress, mitochondrial dysfunction and oxidative stress. *Toxicol Appl Pharmacol* 2012;265(1):73-82. Link
9. Miłobędzka JV, Kostanecki ST, Lampe V. Zur Kenntnis Curcumins. *Berichte de deutschen chemischen Gesellschaft* 1910;43(2):2163-70. Link
10. Rauf A, Imran M, Orhan IE, Bawazeer S. Health perspectives of a bioactive compound curcumin: A review. *Trends Food Sci Technol* 2018;74:33-45. Link
11. Rodrigues JL, Prather KL, Kluskens LD, Rodrigues LR. Heterologous production of curcuminoids. *Microbiol Mol Biol Rev* 2015;79(1):39-60. Link
12. Gryniewicz G, Slifirski P. Curcumin and curcuminoids in quest for medicinal status. *Acta Biochimica Polonica* 2012;59(2):201. Link
13. Tsai Y-M, Jan W-C, Chien C-F, Lee W-C, Lin L-C, Tsai T-H. Optimised nano-formulation on the bioavailability of hydrophobic polyphenol, curcumin, in freely-moving rats. *Food Chem* 2011;127(3):918-25. Link

14. Erfani-Moghadam V, Nomani A, Zamani M, Yazdani Y, Najafi F, Sadeghizadeh M. A novel diblock of copolymer of (monomethoxy poly [ethylene glycol]-oleate) with a small hydrophobic fraction to make stable micelles/polymersomes for curcumin delivery to cancer cells. *Int J Nanomed* 2014;9:5541. Link
15. Mohammadi-Bardbori A, Ghazi-Khansari M. The inhibitory effect of captopril on paraquat toxicity in mitochondria isolated from the rat liver. *Toxicol Lett* 2006;164:S246. Link
16. Hosseini M-J, Shaki F, Ghazi-Khansari M, Pourahmad J. Toxicity of copper on isolated liver mitochondria: impairment at complexes I, II, and IV leads to increased ROS production. *Cell Biochem Biophys* 2014;70(1):367-81. Link
17. Tahmasebi Birgani M, Erfani-Moghadam V, Babaei E, Najafi F, Zamani M, Shariati M, Nazem S, Farhangi B, Motahari P, Sadeghizadeh M. Dendrosomal nano-curcumin; The novel formulation to improve the anticancer properties of curcumin. *Prog Biol Sci* 2015;5(2):143-58. Link
18. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 1983;65(1-2):55-63. Link
19. Izem-Meziane M, Djerdjouri B, Rimbaud S, Caffin F, Fortin D, Garnier A, et al. Catecholamine-induced cardiac mitochondrial dysfunction and mPTP opening: Protective effect of curcumin. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011;302(3):H665-74. PubMed
20. König T, Stipani I, Horvath I, Palmieri F. Inhibition of mitochondrial substrate anion translocators by a synthetic amphipathic polyanion. *J Bioenerg Biomembr* 1982;14(5-6):297-305. Link
21. Sun L, Luo C, Long J, Wei D, Liu J. Acrolein is a mitochondrial toxin: effects on respiratory function and enzyme activities in isolated rat liver mitochondria. *Mitochondrion* 2006;6(3):136-42. Link
22. Luo Z, Harada T, London S, Gajdusek C, Mayberg MR. Antioxidant and iron-chelating agents in cerebral vasospasm. *Neurosurgery* 1995;37(6):1154-9. Link
23. Larasati YA, Yoneda-Kato N, Nakamae I, Yokoyama T, Meiyanto E, Kato JY. Curcumin targets multiple enzymes involved in the ROS metabolic pathway to suppress tumor cell growth. *Sci Rep* 2018;8(1):2039. PubMed
24. Doggui S, Belkacemi A, Paka GD, Perrotte M, Pi R, Ramassamy C. Curcumin protects neuronal like cells against acrolein by restoring A kt and redox signaling pathways. *Mol Nutr Food Res* 2013;57(9):1660-70. Link