

تأثیر کلستاز بر آکوپورین ۴ در شبکه کورویید مغز موش صحرایی نر نژاد ویستار

شهربانو عریان^۱، محمد نبیونی^۲ و دلارام اسلیمی اصفهانی^{*۱}^۱ تهران، دانشگاه خوارزمی، دانشکده علوم زیستی، گروه علوم جانوری^۲ تهران، دانشگاه خوارزمی، دانشکده علوم زیستی، گروه علوم سلولی و مولکولی

تاریخ پذیرش: ۹۵/۹/۳

تاریخ دریافت: ۹۵/۶/۸



چکیده

نقص کبدی و کلستاز باعث هپاتیک آنسفالوپاتی و ادم مغزی پیشرفته می‌شود. آکوپورین ۴ کانال اصلی انتقال آب در مغز است که نقش مهمی در انتقال آب از سد خونی-مغزی به عهده دارد. مشاهده شده که فشار درون جمجمه و همچنین بیان آکوپورین ۴ در هنگام ادم مغزی افزایش می‌یابد. هدف این مطالعه بررسی اثر کلستاز بر فرایند ادم مغزی و نقش کانال آکوپورین ۴ در این فرایند است. موش‌های نر نژاد ویستار (۳۰ عدد) به سه گروه کنترل (بدون جراحی)، شم (جراحی بدون بستن مجرای صفراوی) و کلستاتیک (بستن مجرای صفراوی) تقسیم شدند. بعد از دو هفته مقدار آکوپورین ۴ در تمامی گروه‌ها توسط روش ایمنووهیستوشیمی مورد بررسی قرار گرفت. داده‌ها توسط واریانس یک‌طرفه با استفاده از نرم‌افزار SPSS تجزیه و تحلیل شدند. مقدار آکوپورین ۴ در گروه کلستاتیک نسبت به گروه‌های کنترل و شم افزایش معنی‌دار نشان داد ($P < 0.05$). افزایش آب مغز نیز در گروه کلستاتیک نسبت به گروه‌های کنترل و شم مشاهده شد ($P < 0.05$). نتایج نشان‌دهنده افزایش مقدار آکوپورین ۴ در شبکه کورویید در پاسخ به آسیب مغزی است که احتمالاً در ادم مغزی در هنگام کلستاز نقش دارد.

واژه‌های کلیدی: کلستاز، آکوپورین ۴، آنسفالوپاتی کبدی، شبکه کورویید

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱۸۸۸۴۸۹۴۰، پست الکترونیکی: eslimi@khu.ac.ir

مقدمه

ایجاد سد خونی-مغزی و چرخش مایع مغزی-نخاعی، همچنین در ایجاد اختلالات مربوط به مایع مغزی-نخاعی، ادم و هیدروسفالی نقش مهمی بر عهده دارد (۵، ۱۸، ۲۱). علاوه بر این در مهاجرت سلول‌های گلیال، بازجذب و رهایی پتاسیم به وسیله آستروسیت‌ها همچنین در آسیب‌شناسی ادم مغزی، حمله ناگهانی و تومورها نقش دارد (۳). تنظیم طولانی مدت بیان آکوپورین ۴ توسط هیپوکسی، تغییرات اسمولاریته، تولید آمونیاک و فاکتورهای رونویسی انجام می‌شود و تنظیم کوتاه مدت بیان با واسطه که اکثریت آن‌ها با G-پروتئین جفت می‌شوند، صورت می‌گیرد (۹).

تعادل آب یکی از مکانیسم‌های بنیادی برای هومئوستاز در بدن است و آکوپورین‌ها نقش مهمی در این زمینه ایفا می‌کنند (۲۳). یکی از اعضای این خانواده آکوپورین ۴ است. این آکوپورین به‌ویژه در مغز بیشتر در غشای سلول‌های آستروسیت و اپاندیمال، شبکه کورویید، نواحی اسموسنسوری هیپوتالاموس و حاشیه پارانشیم مغزی مشاهده می‌شود. شبکه کورویید همراه با سلول‌های اپاندیمال و آستروسیت‌ها در تبادل آب و تولید مایع مغزی-نخاعی دارای نقش‌اند (۲۱و۵). مشخص شده آکوپورین ۴ در سیتوپلاسم سلول‌های اپیتلیال شبکه کورویید وجود دارد. اما در مورد سلول‌های اپاندیمال در غشاء قاعده‌ای-جانبی مشاهده می‌شود. تحقیقات نشان می‌دهد آکوپورین ۴ در

خارج سلولی نفوذ می‌کنند. در ادم سیتوتوکسیک سد خونی- مغزی بدون تغییر باقی می‌ماند اما اختلال در متابولیسم سلولی باعث اختلال در عملکرد پمپ سدیم-پتاسیم موجود در می‌شود که به احتباس سدیم و آب در آستروسیت‌ها و ورم آن‌ها منتهی می‌گردد (۲۰ و ۱۴). آنسفالوپاتی کبدی می‌تواند باعث ایجاد هر دو نوع ادم شود (۸). مشخص شده که آکوپورین ۴ در تشکیل ادم‌های وازوژنیک و سیتوتوکسیک دارای نقش است (۲۶).

به دلیل اینکه در هنگام کلستاز ادم مغزی مشاهده می‌شود (۲۴) و آکوپورین ۴ در ایجاد ادم دارای نقش است، در این تحقیق به بررسی تغییرات آکوپورین ۴ در شبکه کورویید بدنبال القای انسداد مجاری صفراوی پرداخته شد.

مواد و روشها

شرایط نگهداری حیوانات: این مطالعه در آزمایشگاه فیزیولوژی جانوری دانشکده علوم زیستی دانشگاه خوارزمی تهران انجام شد. در این مطالعه از موشهای صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم استفاده شد. حیوانات در شرایط محیطی (۲ ± ۲۲ درجه سانتیگراد) و تنظیم نور به صورت دوره‌های ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. کلیه حیوانات دسترسی آزادانه به آب آشامیدنی و غذای مخصوص حیوانات آزمایشگاهی داشتند. تمام آزمایشات براساس موازین اخلاقی رفتار با حیوانات انجام شد که به تأیید کمیته اخلاقی دانشکده علوم زیستی دانشکده خوارزمی رسیده است.

گروه‌های مورد آزمایش و جراحی کلستاز: موش‌های مورد آزمایش به‌طور تصادفی به سه گروه شامل کنترل (بدون جراحی)، شم (جراحی بدون انسداد مجرای صفراوی) و کلستاتیک (جراحی همراه با انسداد مجرای صفراوی) تقسیم شدند. در گروه شم، جراحی بدون بستن مجرای صفراوی انجام شد و در گروه کلستاز، حیوانات

سندروم کلستاز از نظر فیزیولوژیک به توقف یا کاهش جریان صفرا اطلاق می‌شود که می‌تواند به دلیل اختلال در تشکیل صفرا توسط هپاتوسیت‌ها و سلول‌های مجاری و یا به دلیل انسداد مجاری صفراوی و جریان ناقص صفرا ایجاد شود (۲۵). این سندروم باعث تجمع صفرا در داخل خون و کاهش ترشح صفرا به داخل روده شده که در نهایت باعث ایجاد بیماری سیستمیک می‌شود. کلستاز باعث تجمع بیلی‌روبین، اسیدها و نمک‌های صفراوی و کلسترول در خون می‌شود که در حالت عادی به درون صفرا ترشح می‌شوند. همچنین موجب افزایش تولید پروستاگلاندین‌ها، نیتریک اکساید و اوپیوئیدهای درون‌زاد، اندوتوکسمی، هایپرآمونیا و ایجاد تغییرات عروقی می‌گردد (۴، ۱۰، ۱۱ و ۲۲). کلستاز را اغلب می‌توان از طریق بررسی سطح آنزیم‌های کبدی شامل افزایش قابل‌توجه در آلکالین فسفاتاز (ALP)، گاما گلوتامیل ترانس پپتیداز (GGT)، آمینوترانسفرازهای آلانینو آسپاراتات (ALT و AST) و بیلی روبین سرم تشخیص داد.

مطالعات نشان داده‌اند که بیماری‌های کبدی می‌توانند بر عملکرد مغز تأثیر بگذارند. هپاتیک انسفالوپاتی (انسفالوپاتی کبدی) یک سندروم عصبی- روانی است که در بیماری‌های کبدی و کلستاتیک دیده شده است و باعث تغییر در عملکرد و متابولیسم مغز و نیز تغییرات مورفولوژیک در این بیماران می‌گردد. این سندرم شامل اختلالات عصبی گسترده‌ای بوده (۸)، همچنین همراه با تورم آستروسیت‌ها و ادم مغزی می‌باشد. گزارش شده است که در افراد بیمار، پیشرفت بیماری و ادم ممکن است در نهایت منجر به کاهش هوشیاری و کما شود (۱۹).

تحقیقات نشان داده است که ادم مغزی به دو صورت وازوژنیک و سیتوتوکسیک وجود دارد. در ادم وازوژنیک که خارج سلولی است سد خونی- مغزی و اتصالات پیوسته سلول‌های آندوتلیال دچار آسیب شده و مایع از عروق خونی نشت می‌کند. این مایع و پروتئین‌ها به فضای

دمای ۹۰ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. حذف مکانهای اتصال غیراختصاصی آنتی‌بادی اولیه با قراردادن برشها در آلبوین سرم گاوی (سیگما) ۴٪ در PBS برای یک ساعت در دمای معمولی اتاق انجام شد. سپس برشها با آنتی‌بادی پلی‌کلونال آکوپورین ۴ (Abcam) به مدت ۲۴ ساعت در چهار درجه سانتیگراد در اتاق مرطوب و در کنترل منفی، برشها فقط با محلول ۴ درصد PBS-BSA انکوبه شدند. پس از شستشو در PBS مهار فعالیت پراکسیداز سلولی با قراردادن لامها در محلول هیدروژن پراکسیداز ۰/۳ درصد در متانول به مدت ده دقیقه انجام شد. سپس لامها شسته و با آنتی‌بادی ثانویه برای آکوپورین ۴ (Abcam) به مدت یک ساعت در دمای معمولی اتاق مرطوب انکوبه شد آشکارسازی با استفاده از نشانگر دی‌آمینوبنزدین (DAB) با استفاده از کیت ضمیمه ایمونوهیستوشیمی (Laboratories, Inc., Montgomery, Tx)، با ایجاد رسوب قهوه‌ای انجام گرفت. سپس آنالیز برشها با میکروسکوپ نوری (Zeiss آلمان) انجام شد.

روش و ابزار تجزیه و تحلیل اطلاعات: محاسبات با استفاده از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه برای مقایسه گروه‌ها توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ (IBM) انجام شد. برای مقایسه‌های زوجی از آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد. از لحاظ آماری P-Value کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار فرض شد.

نتایج

دو هفته پس از جراحی انسداد مجرای صفراوی، حیوانات علائم کلستاز از جمله خارش و زرد شدن برخی از نواحی بدن مانند گوش‌ها و ناحیه اطراف چشم‌ها را نشان دادند. همچنین افزایش معنی‌دار میزان آنزیم‌های AST، ALT، GGT، ALP، بیلی‌روبین کل و بیلی‌روبین مستقیم خون حیوانات سیزده روز پس از کلستاز نسبت به گروه‌های شم مشاهده شد ($P < 0/001$). جدول ۱ نشان‌دهنده اثر کلستاز بر میزان تغییرات آنزیم‌های کبدی سیزده روز پس از کلستاز می‌باشد. داده‌های کمی حاصل از اندازه‌گیری وزن‌تر

تحت عمل جراحی قرارگرفته صفراوی آن‌ها بسته شد (BDL- Bile Duct Ligation). پس از بی‌هوش کردن حیوانات توسط تزریق درون صفاقی کتامین هیدروکلراید (۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و زایلین دو درصد (۴ میلی‌گرم/کیلوگرم)، موهای ناحیه میانی شکم کاملاً تراشیده شده واز الکل ۷۰ درجه برای ضدعفونی پوست شکم استفاده شد. سپس توسط چاقوی جراحی یک شکاف طولی به اندازه ۳ سانتیمتر درخط میانی شکم ایجاد شده و در دو مرحله پوست و عضلات جدار شکم باز شد. پس از یافتن مجرا، پنبه‌سی زیر آن قرار داده شد و با استفاده از نخسیلک چهارصفر درد و نقطه جداگانه با فاصله از هم گره‌زده شده و پس از آن مجرا بریده شد. سپس جدار شکم در دولایه عضله و پوست با نخ سیلک دوخته‌شده و بعد از اتمام عمل جراحی، یک میلی‌لیتر سالین نرمال داخل صفاق تزریق شد. بعد از پایان کار، محل جراحی با الکل یا بتادین کاملاً ضدعفونی گردید. دوز بعد از انجام عمل جراحی تغییر رنگ ادرار حیوان و همچنین گوش‌های آن‌ها به‌طرف زرد شدن، نشان‌دهنده موفقیت عمل جراحی کلستاز بود.

روش بررسی بافتی و ایمونوهیستوشیمی: پس از گذشت دو هفته از جراحی کلستاز، موش‌ها توسط کلروفورم کشته و مغز آن‌ها خارج شد. سپس در فرمالین ۱۰٪ تثبیت شدند. در مرحله بعد، نمونه‌ها وارد روند آگیری، شفاف‌سازی، آغستگی با پارافین و قالب‌گیری شدند. پس از تهیه مقاطع سریال ۶ میکرونی به کمک میکروتوم، رنگ‌آمیزی لام‌های تهیه شده به روش همتوکسیلین-اوزین انجام شد و بررسی‌های بافتی به‌وسیله میکروسکوپ و گراتیگول انجام گرفت. برای شمارش سلولی از نرم‌افزار Image J استفاده شد (۱۵).

برای آنالیز ایمونوهیستوشیمی، پس از پارافین‌زدایی و آبدهی برشها، برشهای بافتی به‌منظور بازیابی آنتی‌ژنی، در بافر سیترات ۱۰ میلی‌مولار با pH=۶ به مدت ۲۰ دقیقه در

سه گروه کنترل، شم و کلستاز که در جدول ۲ آورده شده است، نشان‌دهنده افزایش وزن تر در نمونه‌های کلستاتیک در مقایسه با نمونه‌های کنترل و شم می‌باشد ($P < 0.05$).

جدول ۱- اثر کلستاز بر میزان تغییرات آنزیم‌های کبدی سیزده روز پس از کلستاز ($P < 0.001$).

کلستاتیک***	کنترل	نمونه
۱۳۱/۹ ± ۱۰/۶	۳۳/۹ ± ۳/۸	ALT(IU/L)
۱۱۰/۳ ± ۹/۹	۳۶/۱ ± ۲/۸	AST(IU/L)
۶۵۵/۹ ± ۱۶/۸	۳۶۳/۶ ± ۸/۷	ALP(IU/L)
۲۲/۹ ± ۱/۶	۴/۵ ± ۰/۲	GGT (IU/L)
۵۸/۶ ± ۱۱/۱	۵/۶ ± ۱/۷	Total bilirubin(mg/dl)
۳۲/۹ ± ۷/۹	۲/۹ ± ۱/۱	Direct bilirubin(mg/dl)

دنبال آن تغییراتی در بیان آکوپورین ۴ مشاهده می‌گردد که به نظر می‌رسد در ادم مغزی دارای نقش است (۱۶).

نتایج این مطالعه نشان داد که با بستن مجرای صفراوی و ایجاد کلستاز، میزان آکوپورین ۴ در شبکه کورویید افزایش یافته است (۲۰). همچنین داده‌های کمی حاصل از اندازه‌گیری وزن تر مغز موش‌ها، نشان‌دهنده افزایش درصد وزن تر در نمونه‌های کلستاتیک در مقایسه با نمونه‌های کنترل و شم بود که احتمالاً به دلیل وجود ادم می‌باشد. از آنجائیکه یکی از مدل‌ها که برای بررسی انواع اختلالات کبدی استفاده می‌شود بستن مجرای صفراوی است بنابراین نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق را می‌توان به این‌گونه مطالعات نیز تعمیم داد (۲۱).

بیان آکوپورین ۴ در پاهای انتهای آستروسیت‌ها باعث همگن شدن آن‌ها و یکپارچگی سد خونی-مغزی می‌شود (۱۸). آکوپورین ۴ دارای نقش بالقوه در ادم‌های سیتوتوکسیک و وازوژنیک می‌باشد که در نهایت با افزایش فشار درون مجسمه باعث کما (Coma) می‌شوند (۸). مشاهده شده که بیان آکوپورین-۴ در آستروسیت‌ها نقش مهمی در ادم مغز پس از ایسکمی (خفگی/هیپودمیسی، سخته مغزی) ضربه مغزی (کوفتگی، جراحت قشرمغز) تومورها، التهابات (منزیت‌ها)، اختلالات متابولیکی

مشاهدات میکروسکوپی شبکه کورویید رنگ‌آمیزی شده توسط هماتوکسیلین-انوزین نشان‌دهنده ایجاد آسیب در شبکه کورویید می‌باشد (شکل ۱). در نمونه کنترل و شم سلول‌های اپیتلیال دارای ظاهری سلامت هستند. در نمونه کلستاتیکاز هم گسیختگی بافت و چروکیدگی سلول مشاهده می‌شود.

نتایج حاصل از تأثیر کلستاز بر بیان پروتئین AQP4 در شبکه کورویید در شکل ۲ نشان داده شده است. این تصاویر که با استفاده از نرم‌افزار Image J کمی شده، نشان‌دهنده افزایش میزان پروتئین AQP4 در نمونه‌های کلستاتیک در مقایسه با نمونه‌های کنترل و شم می‌باشد ($P < 0.001$).

جدول ۲- میانگین وزن تر گروه‌های کنترل، شم و کلستاز ($P < 0.05$).

* در مقایسه با گروه کنترل و † در مقایسه با گروه شم

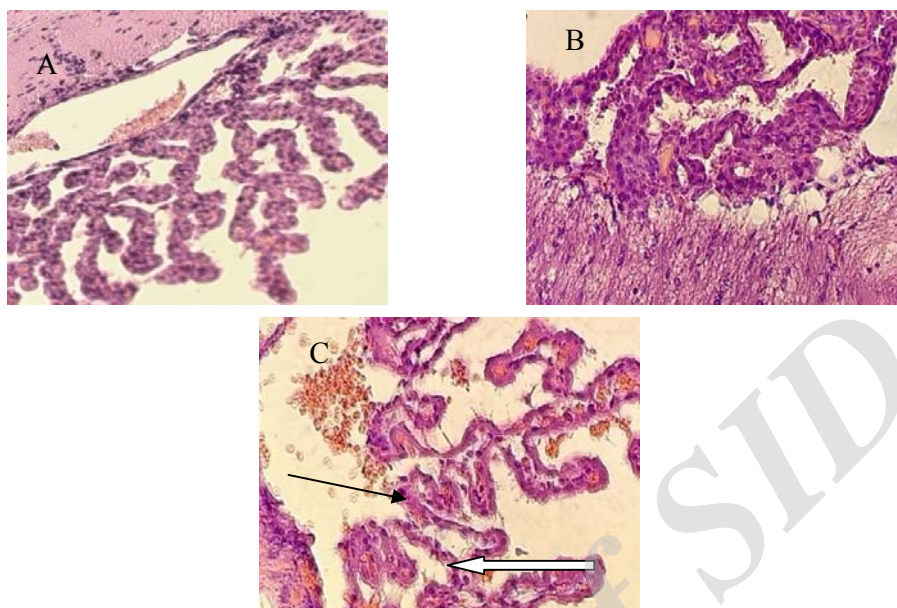
گروه	میانگین وزن تر مغز
کنترل	۷۶/۱ ± ۱/۳
شم	۷۶/۳ ± ۱/۱
کلستاز	۷۸/۷ ± ۲/۶ †*

بحث

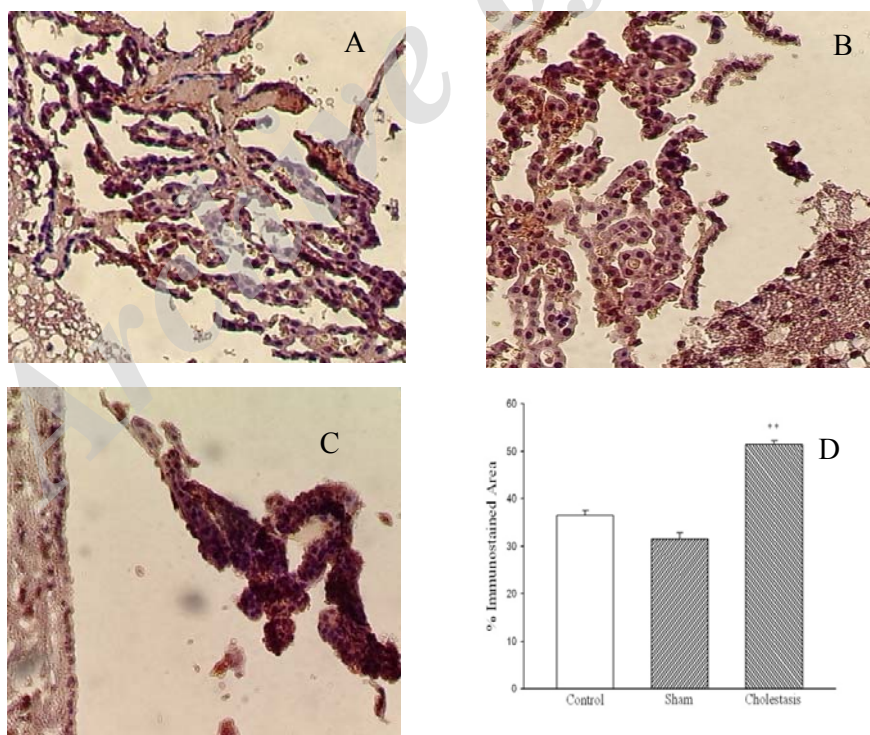
مشاهده شده که در اختلالات کبدی و هپاتیک آنسفالوپاتی فشار درون مجسمه افزایش و ادم ایجاد می‌شود (۱۷) و به

پارانشیم مغزی نقش داشته و وظیفه مهمی را در ایسکمی مغزی به عهده دارد.

(مسمومیت آب/هیپوناترمی) و افزایش آمونیاک ایفا می‌کند (۱۲). عملاً آکوپورین ۴ در کنترل ورود و خروج آب به



شکل ۱- شبکه کورویید. اسلاید A مربوط به نمونه کنترل. اسلاید B مربوط به نمونه شم و اسلاید C مربوط به نمونه کلستاز. (رنگ‌آمیزی H&E- $400\times$). مقایسه اسلایدها نشان‌دهنده ایجاد آسیب در شبکه کورویید و از هم‌گسیختگی بافتی می‌باشد. سلول‌های چروکیده با فلش مشخص شده‌اند.



شکل ۲- برش کرونال از مغز رت بالغ نر در ناحیه شبکه کورویید با بزرگنمایی $400\times$. اسلاید A مربوط به نمونه کنترل. اسلاید B مربوط به نمونه شم و اسلاید C مربوط به نمونه کلستاز و نمودار D اطلاعات کمی شده توسط نرم‌افزار Image J می‌باشند (روش ایمونوهیستوشیمی). مقایسه این اسلایدها بیان‌گر افزایش میزان تراکم آکوپورین-۴ در نمونه کلستاز پس از دو هفته است (نسبت به گروه شم و کنترل ($P < 0.001$)).

تحقیقات نشان داده که ۲۴ ساعت پس از ایسکمی موضعی میزان آکوپورین ۴ کاهش می‌یابد در حالیکه میزان آب افزایش می‌یابد. علاوه بر این نشان داده شده که میزان آکوپورین ۴ در یک و ۴۸ ساعت پس از ایسکمی افزایش می‌یابد که مرتبط با اوج تجمع آب مغز می‌باشد (۱۳).

علاوه بر این نشان داده که آکوپورین ۴ نقش مهمی در هومئوستاز یونی از طریق تسهیل انتشار آب‌بازی می‌کند. در برخی مطالعات دیگر mRNA آکوپورین ۴ در هنگام ادم مغزی افزایش می‌یابد و گسستگی سد خونی-مغزی باعث القاء بیان mRNA آکوپورین ۴ در آستروسیت‌ها می‌شود (۸ و ۱۸).

مشاهده شده که حذف AQP4 موجب وخیم‌تر شدن ادم مغز وازوژنیک ناشی از نشت مایع می‌شود و در ادم سیتوتوکسیک حذف AQP4 باعث کاهش سرعت جریان خروجی آب از مغز می‌شود. همچنین بیان بیش‌ازحد AQP4 در موش‌های تراریخته منجر به شدت یافتن تورم سیتوتوکسیک مغز می‌گردد. در موش‌های دچار ادم سیتوتوکسیک حذف AQP4 منجر به کاهش میزان آب ورودی به مغز و در نتیجه کاهش اثرات مخرب ادم مغزی می‌شود (۱۲).

یک مطالعه نشان داد که بقاء پس از مسمومیت حاد آب و شوک ایسکمی در مدل موش‌های فاقد آکوپورین ۴ کاهش یافت که با کاهش نفوذ آب از سد خونی-مغزی و کاهش جریان آب به پارانشیم مغزی همراه بود. در مطالعه دیگر نشان داده شد که در مدل موش‌های فاقد آکوپورین ۴ تورم مغزی بیشتری نسبت به موش‌های دست‌نخورده پس از ایجاد آسیب‌های مغزی مشاهده شد (۱۴). یک مطالعه نشان داد که در مراحل اولیه ادم، آکوپورین ۴ افزایش نمی‌یابد و حتی کاهش می‌یابد (۲۰). این کاهش مانع جریان آب در مغز می‌شود و به این صورت مغز از خود محافظت می‌کند.

در هر حال به نظر می‌رسد تنظیم افزایشی آکوپورین ۴ با ادم در ارتباط است ولی مشخص نیست که آیا افزایش آن باعث ادم می‌شود یا مکانیسمی برای جبران تداوم ادم است (۷). در سیروز تنظیم مثبت آکوپورین ۴ همزمان با فعال شدن P ۳۸ میکایناز، پاسخ جبرانی به مهار تشکیل ادم می‌باشد (۶).

محققان نشان دادند که افزایش بیان پروتئین آکوپورین ۴ در موش‌های صحرایی که مجرای صفراوی آن‌ها بسته شده مشاهده شده است (۴). همچنین احتمالاً آکوپورین ۴ عامل پیشرفت ادم در هیامیک آنسفالوپاتی می‌باشد (۱۸ و ۱۹). علاوه بر این اگر آکوپورین ۴ عامل پیشرفت ادم بر طبق موقعیت غشائی در هیامیک آنسفالوپاتی باشد، این مسئله ممکن است به امکان ادم وازوژنیک در مغز باشد که به دنبال اختلالات کبدی ایجاد می‌شود زیرا تحقیقات نشان داده‌اند که آکوپورین ۴ نقش مهمی در کلیرانس ادم وازوژنیک بازی می‌کند که قابل مقایسه با یافته‌ها در افزایش بیان آکوپورین ۴ در موش‌های صحرایی که مجرای صفراوی آن‌ها بسته شده، می‌باشد. اگرچه اینکه تغییرات بیان زمانی و فضایی آکوپورین ۴ به‌خصوص در اختلالات کبدی نیاز به مطالعات بیشتر دارد (۷).

مطالعات نشان داده‌اند که اندوتوکسین‌ها در موش‌های کلستاتیک می‌توانند منجر به ایجاد کما و ادم شوند، محققان با تزریق لیپوپلی ساکارید (LPS) به موش‌های کلستاتیک حالت‌های قبل از کما و ادم سیتوتوکسیک را القا می‌نمایند. همچنین هایپراآمونیا ایجاد شده در هنگام کلستاز باعث افزایش آکوپورین ۴ شده و می‌تواند به ادم مغزی منتهی شود (۲۴).

نتایج این تحقیق نشان داد که با بستن مجرای صفراوی و ایجاد کلستاز، آسیب و ازهم‌گسیختگی بافتی در شبکه کورویید مشاهده می‌شود و سلول‌ها چروکیده شده‌اند. همچنین بررسی‌ها نشان‌دهنده افزایش میزان آکوپورین ۴ در شبکه کورویید می‌باشد. علاوه بر این، داده‌های کمی حاصل

میزان پروتئین آکوپورین ۴ نیز در شبکه کوروئید افزایش نشان داد که احتمالاً به دلیل نقش AQP۴ در ادم ایجاد شده در هیپاتیک انسفالوپاتی می‌باشد.

از اندازه‌گیری وزن تر مغز موش‌ها، نشان‌دهنده افزایش درصد وزن تر در نمونه‌های کلستاتیک در مقایسه با نمونه‌های کنترل و شم بود.

در این مطالعه، مشاهده شد که با بستن مجرای صفراوی و ایجاد کلستاز، وزن تر مغز افزایش یافته است. علاوه بر این

منابع

- ۱ - حامدی، م.، فتاحیان دهکری، ر.ا.، حیدرنژاد، م.س.، و مبینی دهکردی، م.، ۱۳۹۵. اثر نانوذرات اکسید روی بر فاکتور التهابی TGF- β ، میزان بیوشیمیایی LDH سرمی و تغییرات بافتی در کبد موش، دوره ۲۹، شماره ۱، صفحات ۱۱۷-۱۳۴.
- ۲ - نبیونی، م.، حججی، و.، قربانی، آ.، و کریم زاده باردنی، ل.، ۱۳۹۵. اثرات کورکومین بر کبد رت‌های ویستار مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک القاء شده با استرادیول والرات، دوره ۲۹، شماره ۱، صفحات ۹۸-۱۱۶.
- 3- Amiry-Moghaddam, M., Xue, R., Haug, F.M., Neely, J.D., Bhardwaj, A., and Agre, P., 2004. Alpha-syntrophin deletion removes the perivascular but not endothelial pool of aquaporin-4 at the blood-brain barrier and delays the development of brain edema in an experimental model of acute hyponatremia. *FASEB J*, 18, PP: 542-544.
- 4- Bergasa, N.V., Alling, D.W., Vergalla, J., and Jones, E.A., 1994. Cholestasis in the male rat is associated with naloxone-reversible antinociception. *J. Hepatol*, 20(1), PP: 85-90.
- 5- Boassa, D., and Andrea, J.Y., 2005. Physiological Roles of Aquaporins in the Choroid Plexus, *Curr Top Dev Biol*, 67, PP: 181-206.
- 6- Bhattachary, A., Palla, B., Pandey, P., and Anand, K.r., 2012. Aquaporin-4 in Cerebral Edema following Ischemia /Reperfusion Injury: Exploration of Novel Therapeutic Strategies. *American Journal of Neuroprotection and Neuroregeneration*, 27, PP: 90-116.
- 7- Fukuda, A., Badaut J, 2012. Aquaporin 4: A Player in Cerebral Edema and Neuroinflammation. *J. Neuroinflammation*, 9, 279 p.
- 8- García-Moreno, L.M., Conejo, N.M., González-Pardo, H., Aller, M.A., Nava, M.P., Arias, J., and Arias, J.L., 2005. Evaluation of two experimental models of hepatic encephalopathy in rats, *Braz J Med Biol Res*. 38(1), PP: 127-32.
- 9- Gunnarson, E., Zelenina, M., and Aperia, A., 2004. Regulation of brain aquaporins, *Neurochem Int*, 129(4), PP: 947-55.
- 10- Homayoun, H., Khavandgar, S., Namiranian K Gaskari S.A., 2002. The role of nitric oxide in anticonvulsant and proconvulsant effects of morphine in mice, *Epilepsy Res*, 48, PP: 33-41.
- 11- Homayoun, H., Sayyah, M., Dehpour, A.R., 2002. The additive effect of opioids and nitric oxide in increasing pentylene tetrazole-induced seizure threshold in cholestatic mice, *J Gastroenterol Hepatol*, 17(1), PP: 96-101.
- 12- Haussinger, D., Kircheis, G., Fischer, R., Schliess, F., and Vom Dahl, S., 2000. Hepatic encephalopathy in chronic liver disease: a clinical manifestation of astrocyte swelling and low-grade cerebral edema? *J Hepatol*, 32, PP: 1035-1038.
- 13- Haussinger, D., 2006. Low grade cerebral edema and the pathogenesis of hepatic encephalopathy in cirrhosis, *Hepatology*, 43, PP: 1187-1190.
- 14- Klatzo, Igor., 1987. "Pathophysiological aspects of brain edema", *Acta Neuropathologica*, 72 (3), PP: 236-239.
- 15- Lavazza, C., Carlo-Stella, C., Giacomini, A., Cleris, L and Righi, M. 2010. CD34₊ cells engineered to express membrane-bound tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand target both tumor cells and tumor vasculature. *The Journal of Gastroenterology*. 139: 675-684.
- 16- Moloudi, R.E., Hassanzadeh, K., Rouhani, S.h., Zandi, F., Ahmadi, A., Khalwatian, P., Rostami, A., Sheikh esmaeili, F., and Izadpanah, E., 2014. Effect of chloroformic extract of *Cichorium intybus* on liver function tests and serum level of TNF- α in obstructive cholestasis in rat. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences*, 19 (4), PP: 10-19.

- 17- Nabavizadeh, F., Moloudi, R.E., Dehpour, A.R., Nahrevanian, H., Shahvesi, K., and Salimi, E., 2010. The effects of cholestasis and cirrhosis on gastric acid and pepsin secretions in rat: Involvement of nitric oxide. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 13 (4): 207-212.
- 18- Papadopoulos, M.C., and Verkman, A.S., 2007. Aquaporin-4 and brain edema, *Pediatr Nephrol*, 22(6), PP: 778-84.
- 19- Rama Rao, K.V., and Norenberg, M.D., 2007. Aquaporin-4 in hepatic encephalopathy, *Metab Brain Dis*, 22, PP: 265–275.
- 20- Raslan, A., and Bhardwaj, A., 2007. Medical management of cerebral edema, *Neurosurgical Focus*, 22 (5), E12 p.
- 21- Redzic, Z.B., and Segal, M.B., 2004. The structure of the choroid plexus and the physiology of the choroid plexus epithelium, *Adv Drug Deliv Rev*, 56, PP:1695-1716.
- 22- Trauner, M., Meier, P.J., and Boyer, J.L., 1999. Molecular regulation of hepatocellular transport systems in cholestasis. *J Hepatol*, 31, PP: 165-178.
- 23- Venero, J.L., Mari'a, L.V., Machado, A., and Cano, J., 2001. Aquaporins in the central nervous system, *GProg in Neurobio*, 63, PP: 321–33.
- 24- Wright, G., Davies, N.A., Shawcross, D.L., Hodges, S.J., Zwingmann, C., Brooks, H.F., Mani, A.R., Harry, D., Stadlbauer, V., Zou, Z., Williams, R., Davies, C., Moore, K.P., and Jalan, R., 2007. Endotoxemia produces coma and brain swelling in bile duct ligated rats. *Hepatology*, 45(6), PP: 1517-26.
- 25- Zollner, G., and Trauner, M., 2008. Mechanisms of cholestasis, *Clin Liver Dis*, 12(1), PP: 1-26.
- 26- Zador, Z., Stiver, S., Wang, V., and Manley, G.T., 2009. Role of aquaporin-4 in cerebral edema and stroke, *Handb Exp Pharmacol*, (190), PP: 159-70.

Effects of Cholestasis on Aquaporin 4 Choroid Plexus of Male Wistar Rat

Oryan Sh.¹, Nabiuni M.² and Eslimi Esfahani D.¹

¹ Animal Biology Dept., Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, I.R. of Iran

² Cell and Molecular Sciences Dept., Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, I.R. of Iran

Abstract

Liver failure and cholestasis are associated with progressive brain edema (astrocyte swelling), which underlies hepatic encephalopathy (HE). Aquaporin4 (AQP4) is the main water channel in the brain that has important role in water transport across blood-brain-barrier. It has been proved that intracranial pressure and also expression of AQP4 increase in brain edema. The aim of this study was to determine whether edema of cholestasis is associated with the brain aquaporin-4 (AQP4). Data assessed by analysis of variance (ANOVA) followed by post-hoc Tukey test. Male wistar rats (n = 30) were divided into three groups as control (nosurgery), sham (surgery without bile duct ligation) and cholestatic (surgery with bile duct ligation, BDL). After 2 weeks, expression of AQP4 in control, sham, and experimental groups were determined by immunohistochemistry. AQP4 expression was significantly increased in BDL (p < 0.05), but not in control and sham groups (P < 0.05). Increased brain water was observed in cholestasis compared to sham and control rats (P < 0.05). These results indicate that increased AQP4 levels in choroid plexus in response to brain injury are likely critical to the development of brain oedema in cholestasis.

Key words: Cholestasis, Aquaporin-4, Hepatic Encephalopathy, Choroid Plexus