

بررسی آسیب شبکه کورویید و افزایش بیان پروتئین آکوپورین نمره ۱ به دنبال القا مدل کلستاتیک در موش ویستار نر

سمیه جباری خورده بلاغ^{*}، شهربانو عریان و دلارام اسلیمی اصفهانی

ایران، تهران، دانشگاه خوارزمی، دانشکده علوم زیستی، گروه علوم جانوری

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۱/۴ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۰/۲۵

چکیده

کلستاز مدلی پرکاربرد برای ایجاد سیروز کبدی است. جریان آب در مغز، از طریق کانال‌های آبی متصل به غشاء موسوم به آکوپورین‌ها (AQPs) صورت می‌گیرد. آکوپورین ۱، عضوی از این خانواده است که در سیستم عصبی، در شبکه کورویید حضور دارد و ممکن است این پروتئین به انتقال آب در سراسر سد خونی-مغزی کمک کند. اختلال در مکانیسم تنظیم بیان AQP1 می‌تواند منجر به ادم هیدروسفالی و سایر مشکلات مغزی گردد. هدف این مطالعه بررسی AQP1 در شبکه کورویید مغز موش‌های نر ویستار کلستاتیک و بررسی بافتی شبکه کورویید آن‌ها با مقایسه سایر گروه‌ها است. حیوانات به سه گروه کنترل، شم با جراحی بدون بستن مجرای صفراوی و کلستاز با جراحی و قطع مجرای صفراوی تقسیم شدند. پس از گذشت دو هفته، موش‌ها کشته شده و مقدار AQP-1 توسط روش ایمونوهیستوشیمی و بافت مغز آن‌ها با استفاده از روش هیستوتکنیک، مورد بررسی قرار گرفت. در سیستم عصبی مرکزی، AQP1، تنها در اپیتلیوم شبکه کورویید بطن‌های جانبی تشخیص داده شد. کلستاز مقدار AQP1 در شبکه کورویید موش‌های نر ویستار کلستاتیک را افزایش داد. همچنین در بررسی بافت‌شناسی رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین اتوزین H & E از هم‌گسیختگی بافت در شبکه کورویید موش‌های کلستاتیک مشاهده شد. این مطالعه برای بررسی تغییرات مقدار پروتئین AQP1 صورت گرفت. علاوه بر آسیب بافت شبکه کورویید، افزایش مقدار این پروتئین ممکن است علت ایجاد ادم و آسیب مغزی مشاهده شده در هنگام کلستاز باشد.

واژه‌های کلیدی: آکوپورین ۱، کلستاز، شبکه کورویید، هیدروسفالی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۳۸۲۵۲۹۰۴۹، پست الکترونیکی: jabari.somaieh@yahoo.com

مقدمه

آب را انتقال می‌دهند و آکوگلیسرپورین‌ها که علاوه بر آب، مولکول‌های کوچک غیرقطبی مثل گلیسرول و اوره را نیز انتقال می‌دهند (۲۱). آکوپورین‌ها در سراسر بدن به‌ویژه کلیه، سلول‌های قرمز خون، ریه و غدد بزاقی توزیع شده‌اند (۷). در سیستم عصبی مرکزی AQP1, 9, 4، به‌طور عمده در رابطه با ادم مغزی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند AQP4 و AQP9، به‌طور گسترده در آستروسیت‌ها واقع شده‌اند در حالی که AQP1 در رأس غشاء سلول‌های اپیتلیال شبکه کورویید بیشترین حضور را دارد (۲۴).

کشف یک خانواده از مولکول‌های پروتئینی کانالی موسوم به آکوپورین (AQP) که مسئول انتقال آب در سراسر غشاء سلولی هستند، زمینه را برای شناسایی مکانیسم همئوستاز و درک اختلالات مربوط به عدم تعادل آب فراهم نمود (۱۷). امروزه بیش از ۱۰ ایزو فرم کانال‌های آبی آکوپورین شناسایی شده‌اند که دارای ساختار مولکولی مشترک شامل ۶ دامین گذرنده از غشا و شاخه‌های داخل سلولی NH₂- و COO هستند. به لحاظ عملکردی آکوپورین‌ها در دو خانواده جای می‌گیرند. آکوپورین‌ها که به‌طور اختصاصی

بیماری‌های کبد می‌تواند منجر به اختلال عملکرد مغز شود (۱۰). با مشاهده ادم مغزی در بیماری‌های کبدی از جمله آنسفالوپاتی کبدی، از طرفی دیگر، وجود دلایلی حاکی از دخالت پروتئین AQP-1 در بروز ادم مغزی، همچنین آگاهی از محل اصلی بیان این پروتئین که در رأس غشا سلول‌های اپیتلیال شبکه کوروئید است، در این مطالعه به بررسی تغییر مقدار پروتئین AQP-1 شبکه کوروئید بطن‌های جانبی موش‌های نر و بیستار پرداخته شد.

مواد و روشها

شرایط نگهداری حیوانات: موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار تهیه‌شده از مرکز تکثیر و نگهداری دانشگاه دامپزشکی تهران، به تعداد ۹ عدد و در محدوده وزنی ۲۰۰-۲۵۰ گرم در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفتند. مراحل نگهداری، جراحی، تیمار پس از جراحی و بررسی نمونه‌های بافتی در آزمایشگاه فیزیولوژی جانوری دانشگاه خوارزمی واحد تهران انجام شد. حیوانات در شرایط آزمایشگاهی در شرایط استاندارد شامل دمای پایدار 21 ± 2 ، نور مناسب (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) در قفس‌های مخصوص در گروه‌های ۳ تایی نگهداری شدند. همچنین آب و غذای کافی در اختیار داشتند. آب و غذای فشرده‌شده مخصوص تهیه‌شده از شرکت تولید خوراک دام و طیور به پرور، به‌جز هنگام جراحی، آزادانه در دسترس حیوانات بود. طبق کد اخلاق پژوهشی، مطالعات حیوانی با رعایت کامل اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام گرفت.

در این آزمایش ابتدا موش‌های نر نژاد ویستار به‌طور تصادفی به ۳ گروه ۳ تایی کنترل (بدون جراحی) و گروه شم (با جراحی کاذب و بدون بستن مجرای صفراوی) و گروه کلستاز، (با جراحی و بستن و قطع کامل مجرای صفراوی) تقسیم شدند. از تزریق درون صفاقی کتامین هیدروکلراید 50 mg/kg و گزیلازین هیدروکلراید mg/kg ۱۰ برای بیهوشی حیوانات استفاده شد. قسمت زیر جناغ

اصطلاح ادم مغزی اشاره به تورم مغز ناشی از تجمع آب اضافی دارد. ادم مغزی با آسیب‌های مختلف مغزی از جمله هیدروسفالی، سکتة مغزی، تومور مغز و آسیب‌های خارج از مغز شامل هیپوناترمی سیستمیک (HS)، نارسایی کلیه و کبد و عفونت مرتبط است (۲۳). دو نوع عمده ادم مغزی وجود دارد، ادم سیتوتوکسیک که نتیجه تجمع درون سلولی آب به علت ناتوانی سلول در متابولیسم سلولی است و منجر به عملکرد نامناسب پمپ سدیم-پتاسیم در غشای سلول گلیال شده در نتیجه احتباس سدیم و آب، ایجاد می‌شود. در مقابل، ادم وازوژنیک که شامل اختلال در سد خونی-مغزی است. همچنین نوع دیگر، ادم هیدروسفالی است که اشاره به جریان مایع مغزی-نخاعی (CSF) از بطن‌ها در سراسر اپاندیموسیت به فضای بینابینی مغز در هیدروسفالی دارد (۲۶). AQPI، نقش مهمی در شکل‌گیری CSF دارد به این دلیل که طور اختصاصی در رأس اپیتلیوم شبکه کوروئید بیان می‌شود. مطالعات اخیر حاکی از آن است که حذف AQPI در (mice) نفوذپذیری آب و تولید CSF را کاهش می‌دهد. همچنین حذف AQPI فشار داخل جمجمه (ICP) را کاهش می‌دهد (۶). آنسفالوپاتی کبدی یک بیماری حاد کبدی است که به دنبال هپاتیت حاد و مزمن و سیروز رخ می‌دهد و اغلب منجر به مرگ می‌شود همچنین آنسفالوپاتی کبدی در کلستاز و اغلب بیماری‌های کبد مشاهده‌شده و منجر به اختلالات عصبی پیچیده‌ای می‌شود (۱۹ و ۲۵). این بیماری با تورم آستروسیت‌ها و ادم مغزی همراه است (۱۲). کلستاز به شرایطی گفته می‌شود که جریان صفرا از کبد به دئودنوم قطع شود. دو علت پایه قطع جریان صفرا شامل: انسداد در مسیر صفراوی مثلاً در اثر سنگ و یا بدخیمی‌ها (نوع انسدادی) و اختلال در تشکیل صفرا در بیماری‌های ژنتیکی و در اثر برخی داروها (نوع متابولیک) است. عملکرد طبیعی مغز نیاز به تعامل بین کبد و مغز دارد. کبد نقش مهمی در فراهم آوردن مواد مغذی برای مغز و از بین بردن مواد سمی مانند نوروتوکسین در مغز دارد. بنابراین

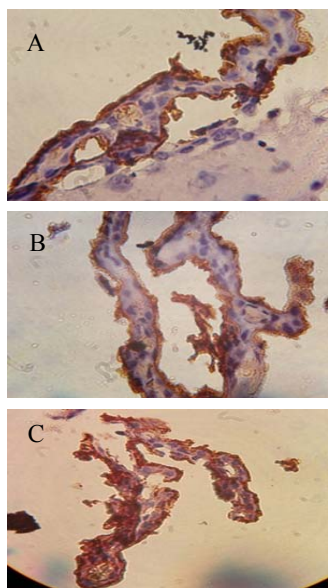
انوزین انجام گرفت. نمونه‌های رنگ‌آمیزی شده با میکروسکوپ نوری Zeiss آلمان مورد بررسی قرار گرفتند. به منظور بررسی و تجزیه و تحلیل با روش ایمنو‌هیستوشیمی، پارافین زدایی و آب دهی لام‌ها صورت گرفت، در گام بعد لام‌ها با قرارگرفتن در بافر سیترات ۱۰ میلی مولار با $\text{pH} = 6$ ، بازیابی آنتی‌ژنی شدند. در مرحله بعدی، نمونه‌ها به مدت یک ساعت در دمای اتاق درون آلبومین سرم گاوی ۴ درصد در PBS قرارگرفتند، در ادامه نمونه‌ها با آنتی‌بادی پلی‌کلونال آکوپورین ۱، انکوبه شدند. پس‌ازاین مرحله لام‌ها در محلول هیدروژن پراکسیداز ۰/۳ درصد در متانول به مدت ده دقیقه قرار داده شدند. در نهایت پس از مهار فعالیت پراکسیداز سلولی، لام‌ها با آنتی‌بادی ثانویه برای آکوپورین ۱، به مدت یک ساعت در دمای معمولی اتاق در اتا‌ک مرطوب انکوبه شدند. به‌منظور آشکارسازی میزان پروتئین‌ها در هر سه گروه مورد آزمایش با استفاده از رنگ‌آمیزی (DAB)، ضمن ایجاد رسوب قهوه‌ای‌رنگ مقایسه کیفی در نحوه بیان پروتئین AQP-1 در هر سه گروه انجام گرفت. در نهایت بررسی نمونه‌ها توسط میکروسکوپ نوری انجام شد و کمی‌سازی داده‌های تهیه‌شده از نمونه‌های حاصل از ایمنو‌هیستوشیمی توسط نرم‌افزار (Image J (version 1.41)، انجام محاسبات (version 20) SPSS، آنالیز داده‌ها One way ANOVA و رسم جدول انجام گرفت.

نتایج

با گذشت دو روز از جراحی BDL و قطع کامل مجرای صفراوی، علائم اولیه کلستاز، استئاتوره و مدفوع B چرب، زردی رنگ ادرار مشاهده شد. القا دوهفته‌ای کلستاز، منجر به ایجاد سندرم کبد کلستاتیک در موش‌ها شد و بروز علائم کلستاز از جمله تغییر رنگ پوست حیوانات به زردی مخصوصاً در گوش، اطراف چشم و خارش، در گروه کلستاتیک مشهود بود. نتایج بررسی مقایسه‌ای لام‌های هیستوتکنیک تهیه‌شده از هر سه گروه، بروز تغییرات بافتی

سینه موش‌ها به‌اندازه ۳ سانتیمتر به سمت میان شکم به‌وسیله تیغ جراحی در دولایه برش داده شد. به کمک پنس سر کج کبد را از حفره شکمی خارج نموده تا مجرای صفراوی رؤیت شود. بعد از تشخیص مجرا و تفکیک آن از رگ خونی، توسط پنس سر کج، مجرای صفراوی ثابت شد و با نخ مخصوص جراحی در دونقطه بافاصله از هم گره‌های جداگانه زده شد. در نهایت این مجرا از بین دو گره به‌طور کامل قطع گردید. انسداد کامل مجرای صفراوی (BDL) روش رایج القا کلستاز (۲۶) انجام گرفت و کبد به داخل حفره شکم برگردانده شد. جدار شکم در دولایه پوست و عضله به‌صورت جداگانه بخیه زده شد و بعد از جراحی ۲ میلی‌لیتر سرم نرمال سالین به شکل درون صفاقی تزریق شد و روی بخیه با بتادین ضدعفونی گردید. موش‌ها به قفس‌های مخصوص با غذای در دسترس انتقال یافتند و توسط پوشش مناسب گرم نگه‌داشته شدند. بعد از گذشت دو روز از جراحی، با مشاهده علائم اولیه کلستاز، استئاتوره و ادرار تیره‌رنگ، اطمینان حاصل شد که کلستاز بروز داده است.

بررسی بافتی و ایمنو‌هیستوشیمی: باگذشت دو هفته بعد از جراحی، موش‌ها با استفاده از دوز بالای کلروفورم کشته‌شده و سر آن‌ها جدا گردید. توسط وسایل جراحی استریل، استخوان جمجمه جدا شد. سپس با احتیاط و بدون آسیب به بافت مغز، پایک‌های مغزی قیچی شد و در نهایت با قطع اتصال پیاز بویایی به جمجمه، مغز به‌صورت کامل خارج گردید. در نهایت بعد از شستشوی مختصر بافت با سرم فیزیولوژی و جداسازی باقیمانده خون و استخوان احتمالی جمجمه، نمونه‌های مغز درون فرمالین ۱۰ درصد به‌منظور فیکس کردن قرار داده شد و پس از حداقل ۲۴ ساعت ادامه مراحل هیستوتکنیک طی گردید. که این مراحل شامل آگیری نمونه‌ها، شفاف‌سازی، حمام پارافین و قالب‌گیری بودند. مرحله بعد برش‌گیری توسط میکروتوم Braid & Tatlock آلمان با درجه ۵ میکرون برش‌های مغزی تهیه نموده و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین



شکل ۲- رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی با AQP-1 در شبکه کورونید بطن‌های جانبی مغز رت‌های نر ویستار با بزرگنمایی $\times 400$. تصویر A نمونه کنترل، B نمونه گروه شم و C گروه کلستاز

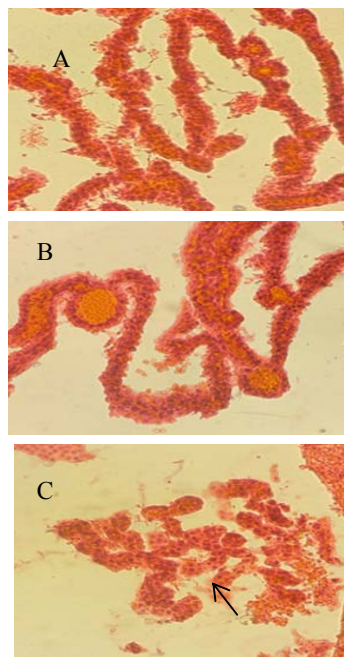
جدول ۱- درصد رنگ‌پذیری نمونه‌ها در گروه‌های مختلف

میزان رنگ‌پذیری نمونه به درصد	گروه‌ها
28	کنترل
23	شم
42	کلستاز
Ns(Not significant)	ارزش p گروه شم در مقایسه با کنترل
<0.01	ارزش p گروه کلستاز در مقایسه با کنترل

بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه داده‌های حاصل از بررسی‌های کمی ایمونوهیستوشیمی حاکی از افزایش در میزان تراکم پروتئین AQP-1 در شبکه کورونید بطن‌های جانبی موش‌های نر ویستار است. مشاهدات بافت‌شناسی از شبکه کورونید، از هم‌پاشیدگی بافت و چروکیدگی سلول در نمونه‌های کلستاتیک نسبت به دو گروه کنترل و شم را

و سلولی، از هم‌پاشیدگی بافت و چروکیدگی سلول‌های شبکه کورونید بطن‌های جانبی در موش‌های کلستاتیک را نسبت به دو گروه دیگر نشان داد (شکل ۱).



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

بررسی‌های کمی ایمونوهیستوشیمی و مقایسه داده‌های کمی پروتئین AQP-1 در شبکه کورونید بطن‌های جانبی رت‌های هر سه گروه، نشان‌دهنده میزان بالای وجود این پروتئین در نمونه‌های کلستاتیک نسبت به دو گروه دیگر است. این مقدار توسط نرم‌افزار ImageJ کمی شد (شکل ۲). جدول ۱- بررسی مقدار پروتئین AQP-1، در شبکه کورونید بطن‌های جانبی موش ویستار نر. مقدار AQP-1، در گروه کلستاتیک ۴۲ درصد بوده که تفاوت معناداری را نسبت به گروه شم با ۲۳ درصد بیان و گروه کنترل با ۲۸ درصد بیان نشان داد. ارزش p در مقایسه با دو گروه شم و کنترل تفاوت چندانی نشان نداد ($p < 0.01$ (**)).
ImageJ. version 1.41

(metabolic syndrome) دسته‌بندی می‌شود (۵). بیماری‌های کبدی همچنین ارتباط متقابل با بیماری‌های قلبی عروقی، نارسایی‌های حاد کلیوی و پاسخ‌های التهابی سیستمیک دارند (۱۳، ۱۴ و ۱۵). آنسفالوپاتی کبدی، سندرم متابولیسم عصبی - روانی حاصل از بیماری‌های حاد کبدی است (۶). این بیماری کبدی منجر به ضایعات مغزی از جمله آدم وازوژنیک و سیتوتوکسیک می‌شود و در افراد بیمار در نهایت در صورت عدم درمان منجر به کما و مرگ می‌شود (۲۵). طبق اطلاعات کمی حاصل از وزن‌تر مغز موش‌ها، میزان وزن‌تر مغز گروه کلستاتیک نسبت به دو گروه دیگر افزایش داشته که می‌تواند به علت وجود ادم مغزی باشد (۱۹). ادم مغزی اشاره به تورم مغز در اثر تجمع مایع مازاد در مغز دارد (۱۶). ادم با نمونه‌های زیادی از آسیب‌های مغزی از جمله هیدروسفالی، آسیب‌های مغزی، سکتة مغزی، تومور مغزی مرتبط است (۱۱). بررسی‌ها نشان داده‌اند که در بیماری‌هایی نظیر افزایش فشار داخل جمجمه، هایپرناترمیای سیستمیک، میگرن و هیدروسفالی میزان مایع مغزی-نخاعی و فشار داخل جمجمه افزایش می‌یابد (۸، ۱۸ و ۲۰). بیشترین میزان مایعات خارج سلولی محفوظ در مغز، از مایع مغزی نخاعی تشکیل شده است و به‌طور عمده توسط شبکه کوروئید واقع در بطن‌های مغزی تولید می‌شود و به‌منزله سد اصلی خون و مایع مغزی - نخاعی است (۲۷). تحقیقات نشان داد که میزان تولید مایع مغزی نخاعی در موش‌های ترنسژنیک که فاقد AQP-1 بودند به نصف مقدار آن در موش‌های گروه کنترل کاهش یافت (۲۲). میزان سطح پروتئین AQP-1 در پاسخ به عوامل و پارامترهای فیزیولوژیک و پاتوفیزیولوژیک تنظیم می‌شود. گرچه برخی شواهد برای این روند وجود دارد اما جزئیات ناشناخته باقی‌مانده است. در رابطه با تنظیم عملکرد و نفوذپذیری این پروتئین مشخص شده که ترکیبات جیوه AQP-1 را مهار می‌کنند (۵). در رابطه با سطح کلی AQP-1 دلایلی وجود دارد که تنظیم سطح این پروتئین در شبکه

نشان داد. کلستاز اختلال در جریان و یا تولید صفرا است و از جمله بیماری‌های کبدی است که اثر به سزایی در ایجاد گروهی از آسیب‌های بافتی دارد. سندرم کلستاز به توقف یا کاهش جریان صفرا از مجرای صفراوی گفته می‌شود که می‌تواند به دلیل اختلال سلولهای مجاری و هیپاتوسیت‌ها در تشکیل صفرا باشد و یا به دلیل انسداد مجرای صفراوی ایجاد شود و در نهایت منجر به بیماری سیستمیک گردد (۴). به لحاظ بالینی کلستاز تجمع خونی تمام موادی است که طبیعتاً باید به همراه صفرا دفع می‌شدند. کلستاز موجب تجمع اسیدها و نمک‌های صفراوی، افزایش تولید پروستاگلاندین‌ها، نیتریک اکساید و ایجاد تغییرات عروقی می‌گردد (۴). در نتیجه احتباس صفرا در سندرم کلستاز میزان اسیدهای صفراوی در پلاسما افزایش یافته و نتیجه آن تظاهر زردی، خستگی، استئاتوره، افزایش آلکالین فسفاتاز سرم، افزایش γ -گلوتامین ترانس پپتیداز است (۹). در کلستاز به هر علتی، مقدار نیتریک اکساید، افزایش می‌یابد و نیتریک اکساید با آپیتوز در ارتباط است و همچنین افزایش اندوتوکسین‌ها در کلستاز منجر به بروز آسیب و نکروز بافتی در کبد می‌شود. افزایش عواملی همچون آلکالین فسفاتاز در کلستاز که باعث افزایش استرس اکسیداتیو شده و از عوامل ایجاد نکروز بافتی است، گزارش شده است (۳ و ۶). کلستاز همچنین روند غیرطبیعی تجمع اسیدهای صفراوی است که توسط نقص در جابه‌جایی و انتقال اسیدهای صفراوی رخ می‌دهد. این اسیدها محصول عمده سوخت‌وساز کلسترول در کبد هستند و به‌عنوان مواد فیزیولوژیک تسهیل‌کننده انتقال و جذب ویتامین‌های محلول در چربی به شمار می‌روند. علاوه بر این به دفع چربی کمک می‌کنند. احتباس و تجمع مواد سمی، نمک‌های آب‌دوست صفراوی، باعث تحریک تولید سیتوکین‌های پیش التهابی و افزایش روند آپیتوز که منجر به آسیب بافتی می‌شود می‌گردد.

به‌دلیل نقش کبد در مسیرهای متابولیکی بدن، هرگونه اختلال در عملکرد کبد در گروه سندرم متابولیک

برای کاهش بیان ژن آکوپورین ۱ همچنان که در کاهش تولید مایع مغزی نخاعی مؤثر بوده است احتمالاً در کاهش علائم آسیب‌رسان حاصل از آنسفالوپاتی کبدی و سایر نارسایی‌های کبدی اثربخش خواهد بود.

سپاسگزاری

مطالعه پیش رو، در آزمایشگاه فیزیولوژی جانوری گروه علوم جانوری دانشگاه خوارزمی انجام‌گرفته است، لذا از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه و ریاست محترم دانشکده علوم زیستی که امکانات اجرایی این پژوهش را فراهم نمودند، صمیمانه سپاسگزاریم. همچنین از سرکار خانم لطیفه کریم‌زاده باردنی کارشناس آزمایشگاه دانشگاه خوارزمی جهت راهنمایی‌های بی‌دریغشان نهایت تشکر را داریم.

کوروئید اتفاق می‌افتد. فشارخون بالا در موش، به‌طور خودبه‌خود موجب افزایش ترشح و جریان مایع مغزی نخاعی می‌شود (۴). افزایش ترشح مایع مغزی-نخاعی به نظر می‌رسد توسط تنظیم افزایشی AQP-1 در شبکه کوروئید تسهیل می‌شود (۲۸و۲). باتوجه به یافته‌های پژوهشگران در بیماری‌های مغزی که حاصل از عدم تعادل جریان آب در مغز و مایع مغزی-نخاعی در داخل بطن‌ها است همچنین انواع نارسایی‌های کبدی که منجر به افزایش مواد سمی و آسیب‌رسان به بافت مغز می‌شوند، می‌توان نتیجه‌گیری کرد این امکان وجود دارد افزایش بیان پروتئین آکوپورین ۱ در شبکه کوروئید بطن‌های جانبی، که در این مطالعه مشاهده شد همچنین بروز آسیب بافتی به شبکه کوروئید که به‌منزله سد خونی و مایع مغزی-نخاعی است و نقش به‌سزایی در تولید و تعادل مایعات مغزی دارد، در نهایت منجر به ادم مغزی و هیدروسفالی در اغلب بیماری‌های کبدی از جمله کلستاز شود (۱). بنابراین تلاش

منابع

- اسلیمی اصفهانی، د.، عریان، ش.، نبیونی، م.، ۱۳۹۶. تأثیر کلستاز بر آکوپورین ۴ و شبکه کوروئید مغز موش صحرایی نر نژاد ویستار، مجله پژوهش‌های جانوری (زیست‌شناسی ایران)، جلد ۳۰، شماره ۱، صفحه ۱۲-۱۷.
- قارونی ف.، عریان، ش.، نبیونی، م.، اسلیمی اصفهانی، د.، حسینی نیا، ط.، کریمیان پیرو، م.، پارسا، س.، ۱۳۹۴. بررسی اثر سندروم کلستاز بر تغییرات بافتی هسته‌های مجاور بطنی و فوق بصری هیپوتالاموس
- مغز موش صحرایی نر نژاد ویستار، یافته‌های نوین در علوم زیستی، جلد ۱۰، شماره ۲، صفحه ۷۷-۸۵.
- سامانی جهرمی، ا.، ذوالقدری جهرمی، س.، کارگر جهرمی، ح.، ۲۰۱۴. بررسی هیستوپاتولوژیکی تأثیر آنزیم آلکالین فسفاتاز بر بافت کبد موش نر بالغ بر پایه مهار آنزیمی، مجله علوم پزشکی پارس، جلد ۱۲، صفحات ۱۳-۱۷.
- Al-Sarraf, H., and Philip, L., 2003. Effect of hypertension on the integrity of blood brain and blood CSF barriers, cerebral blood flow and CSF secretion in the rat. *Brain Res*, 975, PP: 179-188.
- Amiry-Moghaddam, M., and Ottersen, O. P., 2003. The olecular basis of water transport in the brain, *Nat Rev Neurosci*, 4, PP: 991-1001.
- Andres, T., and Blei, J., 2001. Juan Co'rdoba, *Hepatic Encephalopathy*. *AJG*, 7, PP: 68-76.
- Arcienega, I. I., Brunet, J. F., Bloch, J., and Badaut, J., 2010. Cell locations for AQP1, AQP4 and 9 in the non- human primate brain. *Neuroscience*, 167, PP: 1103-1114.
- August, H., and Van Alphen, M. M., 1986. a result of increased CSF pressure: A new pathophysiological concept (preliminary report). *Neuro Rev*, 9, PP: 121-124.
- Bergasa, N. V., Alling, D. W., and Vergalla, J., 1994. Jones EA. Cholestasis in the male rat is associated with naloxone-reversible antinociception, *Journal Hepatol*, 20(1), PP: 85-90.
- Bergasa, N. V., Vergalla, J., and Swain, M. G., 1996. Hepatic concentration of proenkefalin – derived opioids are increased in a rat model of cholestasis. *Liver*, 16(5), PP: 298- 302.

11. Blei, A. T., 2001. Pathophysiology of brain edema in fulminant hepatic failure, revisited. *Metab Brain Dis*, 16, PP: 85-94.
12. Blendis, L., 2006. Hepatic encephalopathy forward to the past. *Gastroenterology*, 130(7), PP: 2239– 2240. doi: 10.1053/j.
13. Haussinger, D., 2006. Low grade cerebral edema and the pathogenesis of hepatic encephalopathy in cirrhosis, *Hepatology*, 43, PP: 1187–1190.
14. Homayoun, H., Khavandgar, S., Namiranian, K., and Gaskari, S. A., 2002a. The role of nitric oxide in anticonvulsant and proconvulsant effects of morphine in mice, *Epilepsy Res*, 48, PP: 33-41.
15. Homayoun, H., Sayyah, M., and Dehpour, A. R., 2002b. The additive effect of opioids and nitric oxide in increasing pentylenetetrazole-induced seizure threshold in cholestatic mice. *J Gastroenterol Hepatol*, 17(1), PP: 96-101.
16. Kimelberg, H. K., 1995. Current concepts of brain edema. Review of laboratory investigations, *Journal Neurosurg*, 83, PP: 1051-9.
17. King, L. S., and Agre, P., 1996. Pathophysiology of the aquaporin water channels. *Ann Rev Physiol* 58, PP: 619-648.
18. Klatzo, I., 1994. Evolution of brain edema concepts. *Acta Neurochir Suppl (Wien)*, 60, PP: 3-6.
19. Klatzo, I., 1987. "Pathophysiological aspects of brain edema". *Acta Neuropathologica*, 72 (3), PP: 236–239.
20. Moon, Y., Sungwon, J. H., Shin, D., and Jung, Y., 2006. Increased aquaporin-1 expression in choroidplexus epithelium after systemichyponatremia. *Neurosc. Lett*, 395, PP: 1-6.
21. Nielsen, S., Smith, B. L., Christensen, E. I., and Agre, P., 1993. Distribution of the aquaporin CHIP in secretory and resorptive epithelia and capillary endothelia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 90, PP: 7275-7279.
22. Oshio, K., Song, Y., Verkman, A. S., and Manley, G. T., 2003. Aquaporin-1 deletion reduces osmotic water permeability and cerebrospinal fluid production, *Acta Neurochir*, 86, PP: S525–28.
23. Oshio, K., Watanabe, H., Song, Y., Verkman, A., and SManley, G. T., 2005. Reduced cerebrospinal fluid production and intracranial pressure in mice lacking choroid plexus water channel Aquaporin-1. *Journal FASEB*, 19, PP: 76-8.
24. Praetorius, J., and Nielsen, S., 2006. Distribution of sodium transporters and aquaporin-1 in the human choroid plexus, *Am Journal Physiol Cell Physiol* 291, PP: C59-67.
25. Rama Rao, K. V., and Norenberg, M. D., 2007. Aquaporin-4 in hepatic encephalopathy, *Metab Brain Dis*, 22, PP: 265–275.
26. Raslan, A., and Bhardwaj, A., 2007. Medical management of cerebral edema, *Neurosurgical Focus*, 22 (5), E12 p.
27. Spector, R., Johanson, C. E., 1989. The mammalian choroid plexus. *Sci Am*, 261, PP: 68-74.
28. Tomassoni, D., Bramanti, V., Amenta, F., 2010. Expression of aquaporins 1 and 4 in the brain of spontaneously hypertensive rats. *Brain Res*, 1325, PP: 155-163.
29. Sauer-Lehnen, S., Weiskirchen, S., Borkham-Kamphorst, E., Tolba, R. H., Tacke, F., and Weiskirchen, R., 2015. Bile Duct Ligation in Mice: Induction of Inflammatory Liver Injury and Fibrosis by Obstructive Cholestasis. *Journal Vis. Exp.* (96), e52438 p, doi: 10.3791/52438 .

Considering of damage to the choroid plexus and increasing expression of AQP-1 canals after induction of cholestatic model in male Wistar rat.

Jabari Khordehbelagh S., Oryan Sh. and Eslimi Esfehiani D.

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

Abstract

Considering of damage to the choroid plexus and increasing expression of AQP-1 canals after induction of cholestatic model in male Wistar rat. Cholestasis is a model for creating Cirrhosis of the liver. The flux of water in the brain through membrane-anchored water channels, known as aquaporins (AQPs). Aquaporin-1 is a member of the family. There is in the central nervous system, it is possible that these proteins contribute to water transport across the blood-brain barrier. Mechanism of regulation of expression AQP1 is a complex and disruption of it can lead to cerebral edema, hydrocephalus, and other brain problems. The purpose of this study is evaluating the AQP-1 in cholestatic Wistar male rats' choroid plexus and considering of choroid plexus tissue compared with the other groups. This study was performed via bilateral bile duct ligation in rats. The animals were divided in to three groups, Control, Sham, with surgery but without bile duct ligation and cholestasis with surgery and cut the bile duct. After two weeks rats were sacrificed. Brain tissue and the amount of AQP-1 were determined by immunohistochemistry method and H & E staining. In the central nervous system, AQP-1 was expressed only in the epithelium of the lateral ventricle's choroid plexus. Rats with cholestasis showed increased AQP-1 protein in choroid plexus, also in histological observation by H & E staining, choroid plexus tissue damage in cholestatic samples was observed. This study was conducted to investigate changes in the amount of AQP-1 protein. Also, it shows increased levels of AQP-1 in the choroid plexus of cholestatic rats which may cause brain damage and edema have been observed in cholestasis.

Key words: Aquaporin-1, Cholestasis, Choroid plexus, Hydrocephalus