



کورکومین از مرگ سلولی ایجاد شده به واسطه ۶-OHDA و اختلال مسیر ERK در سلول های نوروبلاستوما ی انسانی جلوگیری می کند

مریم موسوی*^{۱،۲}، مریم اوج فرد^۳، مجیدرضا فرخی^۱

۱- استادیار- مرکز تحقیقات علوم اعصاب- دانشگاه علوم پزشکی شیراز- شیراز- ایران.

۲- استادیار- مرکز تحقیقات نانو فناوری در علوم زیستی و پزشکی- دانشگاه علوم پزشکی شیراز- شیراز- ایران.

۳- کارشناس- آزمایشگاه مرکزی علوم پایه- برج پژوهشی محمد رسول الله- دانشگاه علوم پزشکی شیراز- شیراز- ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۲/۱۱، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۳/۳۰

چکیده

مقدمه: کورکومین، یک ماده طبیعی شیمیایی فنولی زرد رنگ مشتق شده از زردچوبه، اثرات محافظتی در مدل های حیوانی و سلولی بیماری پارکینسون دارد. مطالعه حاضر با هدف بررسی اینکه آیا کورکومین مانع از اثر 6-OHDA در سلول های نوروبلاستوما ی انسانی و سیگنالینگ MAPK می شود انجام شد.

مواد و روش ها: سلول های SH-SY5Y به مدت ۲۴ ساعت با 6-OHDA (۵۰ میکرومتر) درمان شدند. اثر کورکومین (۲ و ۲/۵ میکرومولار) بر روی بقاء سلولی (MTT) و MAPK ها (ERK، JNK و p38) (آزمون وسترن بلات) مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: 6-OHDA باعث کاهش قابل ملاحظه ای از بقاء نورونی و کاهش p-ERK شد. نتایج نشان می دهد که کورکومین می تواند تا حدودی در برابر مرگ سلولی ناشی از 6-OHDA و کاهش p-ERK جلوگیری کند.

نتیجه گیری: این یافته ها پیشنهاد می کنند که بازگرداندن ERK به اثر محافظتی کورکومین در برابر 6-OHDA در سلول های نوروبلاستوما انسان مربوط است.

واژه های کلیدی: کورکومین، 6-OHDA، پارکینسون، SH-SY5Y، ERK.

*نویسنده مسئول: مریم موسوی، تلفن: ۰۹۱۷۷۱۲۵۷۳۶، نمابر: ۰۷۱۳۶۲۸۱۵۱۷، Email: marmoosavi@sums.ac.ir; mmoosavi2000@gmail.com

ارجاع: موسوی مریم، اوج فرد مریم. کورکومین از مرگ سلولی ایجاد شده به واسطه 6-OHDA و اختلال مسیر ERK در سلول های نوروبلاستوما ی انسانی جلوگیری می کند. مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی ۱۳۹۷؛ ۱۳(۳): ۱-۷.

مقدمه

بیماری پارکینسون (PD) دومین اختلال عصبی شایع می‌باشد که حدود ۱ درصد از جمعیت بالای شصت سال و ۴ درصد از افراد بالای هشتاد سال را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱). در حال حاضر، پیش‌ساز دوپامین L-DOPA (L-3,4-dihydroxyphenylalanine) درمان اولیه برای بیماری پارکینسون می‌باشد. با این وجود، پس از گذشت زمان در اکثر بیماران عوارض حرکتی مانند دیسکینزی ناشی از L-dopa و نوسانات حرکتی دیده می‌شود (۲).

کورکومین ماده‌ی موجود در زردچوبه، ادویه کاری زرد رنگ با سابقه ای طولانی جهت استفاده در پخت و پز و یا پزشکی می‌باشد (۳). که دارای اثرات گسترده دارویی مانند خواص ضد التهابی (۴)، اثرات آنتی اکسیدان قوی (۵)، فعالیت ضد پروتئازی (۶) و اثرات مهار بر سرطان (۷) می‌باشد. اخیراً، برخی مطالعات اثرات محافظت‌کنندگی از نورونها را توسط کورکومین در مدل‌های تجربی PD نشان داده‌اند (۸). در مدل ۶-OHDA از بیماری پارکینسون، موش‌های تحت درمان با کورکومین محافظت جسم سیاه و سطح دوپامین در جسم مخطط (striata) را نشان دادند (۹). وانگ و همکاران گزارش کردند که کورکومین توانایی بازگرداندن پتانسیل غشاء میتوکندری و زنده نگه داشتن سلول را در سلول‌های بنیادی جنین موش‌های آسیب دیده با ۶-OHDA را دارد (۱۰). همچنین، Rajeswari و همکاران نشان دادند پس از تزریق کورکومین در موش‌هایی که به آنها 1, 2, 3, 6-(1-methyl-4-phenyl-1, tetrahydropyridine) MPTP تزریق شده است، سطح دوپامین و DOPAC (3,4-Dihydroxyphenylacetic acid) در striata افزایش معنی‌داری داشته است (۱۱). همچنین، کورکومین در جلوگیری از مرگ سلولی در سلول‌های SH-SY5Y (۱۲ و ۱۳) مؤثر نشان داده شده است (۱۴). از آنجا که سیگنالینگ MAPK ها در آپوپتوز و مرگ سلولی دخیل است، این مطالعه با هدف بررسی اثر محافظتی کورکومین بر سمیت ناشی از ۶-OHDA بر سیگنالینگ MAPK انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

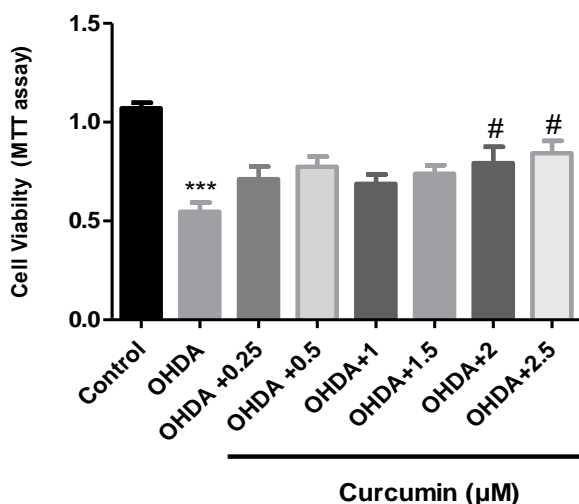
سلول‌های SH-SY5Y از انستیتو پاستور ایران خریداری شد. مواد کشت سلولی شامل DMEM / F12، سرم جنین گاوی (FBS) و پنی سیلین-استرپتومایسین از Gibco life technologies خریداری شدند. کورکومین و ۶-OHDA از شرکت سیگما بودند. آنتی‌بادی‌های وسترن بلات از Cell Signaling Technology خریداری شده است. کیت واکنش گر (RPN2235) Amersham ECL از GE health care و غشای PVDF از Millipore خریداری شد. سایر مواد از منابع معمول تجاری خریداری شد.

سلول‌های SH-SY5Y انسانی در محیط کشت DMEM / F12 (1:1) همراه با ۱۰ درصد سرم جنین گاوی، ۱۰۰ U/ml پنی سیلین و ۱۰۰ µg/ml استرپتومایسین رشد می‌کردند. برای آزمایش MTT، از پلیت ۹۶ خانه‌ای و برای مطالعات وسترن بلات از پلیت‌های ۶ خانه‌ای استفاده شد. سلول‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در رطوبت ۹۵ درصد و ۵ درصد CO₂ انکوبه شدند. از آنجا که گزارش کرده‌اند سلول‌های SH-SY5Y یافته دارای تغییراتی در مسیر AKT می‌باشند که منجر به مقاومت بیشتر به ۶-OHDA می‌شود (۱۵) سلول‌های SH-SY5Y تمایز نیافته برای مطالعه نوروتوکسیسیته و یا محافظت عصبی در کارهای تحقیقاتی در مدل تجربی PD مناسب‌تر است (۱۶). بنابراین در این تحقیق از سلول‌های SH-SY5Y تمایز نیافته استفاده شد. غلظت داروهای ۶-OHDA و کورکومین بر اساس مطالعات آزمایشی اولیه انتخاب شده است. بر این اساس دوز ۵۰ میکرومولار برای ۶-OHDA و دوز ۲ و ۲/۵ میکرومولار برای کورکومین در این مطالعه انتخاب شد. قبل از استفاده از ۶-OHDA برای دستیابی به غلظت مورد نیاز آن را در اسید اسکوربیک ۰/۱ درصد رقیق کرده و به محیط کشت تازه سلولی اضافه شد. کورکومین در دی متیل سولفوکساید (DMSO) حل شد به گونه‌ای که غلظت نهایی DMSO در محیط کشت، از ۰/۱ درصد تجاوز نمی‌کرد.

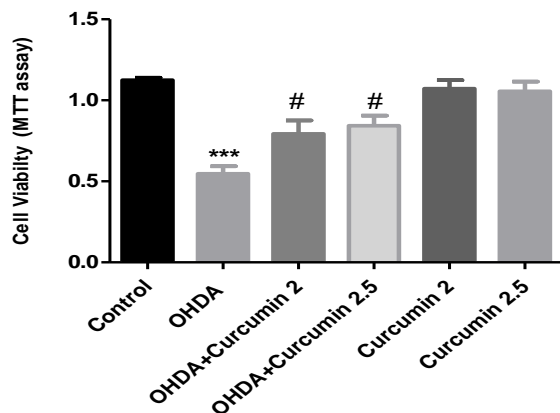
سلول‌های کشت شده در پلیت ۹۶ خانه با تراکم سلول‌های ۱ × ۱۰^۴ سلول در هر خانه، در معرض ۶-OHDA قرار گرفته که با یا بدون کورکومین درمان شدند. بیست و چهار ساعت پس از درمان، محیط کشت با یک محیط حاوی ۰/۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر MTT تغییر یافت و به مدت ۴ ساعت انکوبه شدند. سپس محیط کشت رویی به آرامی برداشته شد و رسوبات در هر چاه در ۱۰۰ میکرولیتر DMSO حل شد. میزان جذب نوری در طول موج ۵۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه میکروپلیت ریدر (Synergy HT, Biotek) اندازه‌گیری شد. ۲۴ ساعت پس از درمان تغییرات مورفولوژی سلول‌ها بررسی شد. اشکال، حجم و تعداد سلول‌های گروه‌های مختلف با همدیگر مقایسه شد.

سلول‌ها با میزان تراکم ۱۰^۶ سلول / cm² در پلیت‌های دارای ۶ خانه قرار گرفتند. ۲۴ ساعت بعد از درمان، سلول‌ها با PBS سرد شستشو داده و با استفاده از اسکرابر سلولی در PBS برداشته شد. مایع به دست آمده با دوز ۱۰۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. پلیت در بافر لیزکننده RIPA حاوی پروتئاز و فسفاتاز inhibitor cocktail آورده شد. سلول‌ها همگن شدند و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در یخ نگهداری شدند. سلول‌های لایز شده به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در دور ۱۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد تا آلودگی‌های آن حذف شود. محتوای

B1



شکل ۱- اثر دوزهای مختلف OHDA-6 در زنده ماندن سلول‌های SH-SY5Y در روش MTT(A) و اثر دوزهای مختلف کورکومین در برابر OHDA-6 (B) *** $P < 0.001$ نشان‌دهنده تفاوت بین گروه کنترل و OHDA-6 است. # $P < 0.05$ نشان‌دهنده تفاوت بین گروه‌های OHDA-6 و تحت درمان با کورکومین است.



شکل ۲- اثر دوزهای انتخاب شده کورکومین (۲ و ۲.۵ میکرومولار) با / بدون OHDA-6 در میزان بقای سلول. داده‌ها به صورت میانگین \pm SEM نمایش داده شده است. *** $P < 0.001$ نشان‌دهنده تفاوت بین گروه کنترل و OHDA-6 می‌باشد. # $P < 0.05$ نشان‌دهنده تفاوت بین گروه‌های OHDA-6 و تحت درمان با کورکومین است.

نتایج مورفولوژیکی سلول‌های SH-SY5Y در شکل ۳ نشان داده شده است. ۲۴ ساعت پس از درمان تصاویر عکس‌برداری شد. همان‌طور که نشان داده شده است، OHDA-6 تعداد سلول‌های زنده را کاهش می‌دهد، در حالی که کورکومین تا حدودی از مرگ سلولی جلوگیری می‌کند.

پروتئینی نمونه‌ها با استفاده از روش Lowry ارزیابی شد و با توجه به نتایج آن، نمونه‌ها با مقادیر مساوی پروتئین (۴۰ میکروگرم در هر خانه پلیت) با ژل الکتروفورز پلی آکریل آمید ۱۰ درصد جدا شده و به غشاء PVDF (پلی وینیلیدین فلوراید) منتقل شدند. پس از بلوک‌گیری در ۵ درصد BSA، غشاها به مدت یک شب در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در معرض آنتی‌بادی‌های اولیه قرار گرفتند. غشاء به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق با آنتی‌بادی horseradish peroxidase-conjugated antirabbit ECL (Enhanced Chemiluminescence) بررسی شدند. در نهایت فیلم‌های رادیوگرافی اسکن شد و تراکم باندها با نرم‌افزار Image-J محاسبه شد.

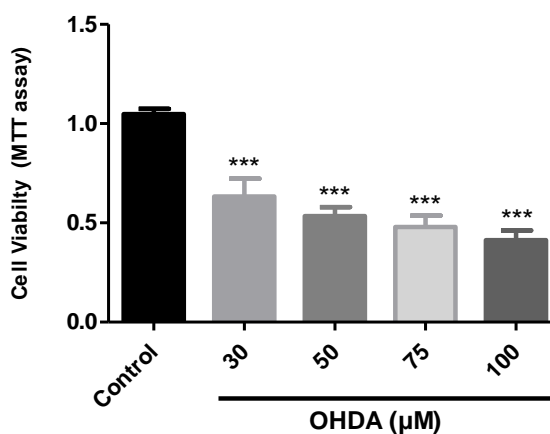
آزمایشات MTT و آنالیز وسترن بلات ۳ مرتبه تکرار شدند. داده‌ها توسط واریانس یک‌طرفه به دنبال Tukey به‌عنوان آزمون post hoc مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج

شکل A۱ نشان‌دهنده مسمومیت ناشی از OHDA-6 در دوزهای مختلف است. دوز $50 \mu\text{M}$ به عنوان القاگر تقریباً ۵۰ درصد مرگ سلولی انتخاب شده است. شکل B1 اثر دوزهای مختلف کورکومین را برخلاف سمیت OHDA-6 نشان می‌دهد. در شکل ۲ اثر کورکومین در دوزهای ۲ و $2.5 \mu\text{M}$ با یا بدون OHDA-6، نشان می‌دهد. آنالیز واریانس یک طرفه اختلاف معنی‌داری را بین گروه‌ها نشان می‌دهد ($P < 0.001$). تجزیه و تحلیل داده‌ها پس از آزمون Tukey نشان داد که کورکومین در دوزهای ۲ و $2.5 \mu\text{M}$ میکرومولار مانع مرگ سلولی ناشی از OHDA-6 شده است. کورکومین به خودی خود هیچ اثری بر بقای

A1

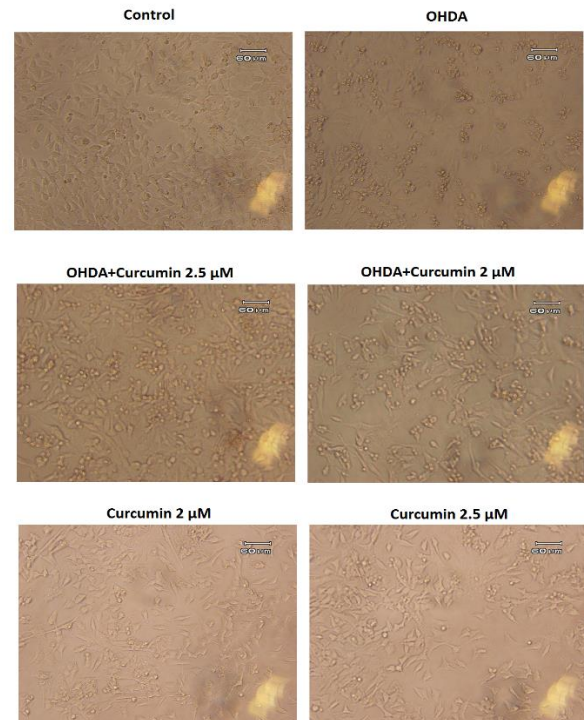
سلولی نسبت به گروه کنترل ندارد.



باشد، زیرا تا حدی سبب زنده ماندن سلول‌ها در روش MTT می‌شود (۱۲، ۱۳). مشخصه اصلی بیماری پارکینسون، از دست دادن نورون‌های دوپامینرژیک (۷۰-۵۰ درصد) در درجه سیاه است (۱۷). سلول‌های SH-SY5Y به‌عنوان زیرمجموعه‌ای از سلول‌های نوروبلاستوما انسان (۱۸) دارای برخی ویژگی‌های مشابه با نورون‌های دوپامینرژیک می‌باشند (۱۴) که به همین سبب یک مدل سلولی مناسب برای بیماری پارکینسون می‌باشد. ۶-OHDA از طریق ناقل بازجذب دوپامین (۱۹) وارد سلول شده و منجر به تولید ROS و مرگ سلول‌های عصبی می‌شود (۲۰). کورکومین به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان در مقایسه با ویتامین E حداقل ۱۰ برابر فعال‌تر است (۲۱). بنابراین اثر آنتی‌اکسیدانی قوی کورکومین نقش مهمی در اثر محافظتی آن دارد. کورکومین مرگ سلولی را در سلول‌های SH-SY5Y از طریق تنظیم استرس اکسیداتیو کاهش می‌دهد (۲۲). مطالعات اپیدمیولوژیک پیشنهاد کرده‌اند که ممکن است میزان پایین بروز PD در هند به مصرف زردچوبه / کورکومین توسط هندوهای آسیایی مربوط باشد (۲۳). اثر محافظتی کورکومین در برابر مرگ سلول‌های SH-SY5Y ناشی از 6-OHDA در این مطالعه نشان داده شد که با پیشنهادات و مطالعات اخیر حیوانی (۲۴ و ۲۵) مطابقت دارد و نشان دهنده اثرات مفید کورکومین در مدل PD می‌باشد (۸).

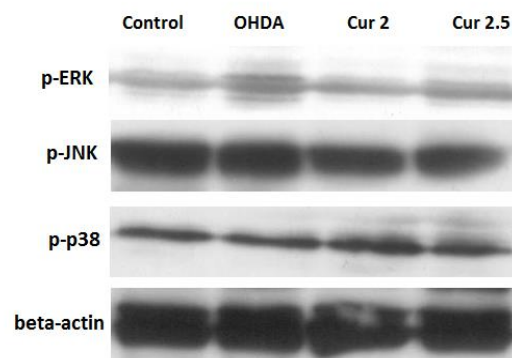
کینازهای تنظیم‌کننده سیگنال خارج سلولی (ERK1 / 2) سرین / ترونین پروتئین کیناز را حفظ کرده که به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های مهم پاسخ‌های عصبی به تحریکات عملکردی و پاتولوژیک ظاهر شده‌اند (۲۶). اگرچه در بافت‌های عصبی گزارش شده است که فعالیت ERK معمولاً در بقاء سلول، تکثیر و تمایز دخیل هستند (۲۷-۲۹)، برخی از شواهد نشان می‌دهد که فعال شدن ERK باعث مرگ سلول می‌شود (۲۶، ۳۰ و ۳۱). مطالعات پس از مرگ در بیماری پارکینسون، نشان داد که pERK درجه سیاه افزایش یافته است (۳۲). همچنین، مطالعات ما نشان داد که 6-OHDA باعث افزایش فعالیت ERK می‌شود که از طریق درمان با کورکومین جلوگیری می‌شود. از آن جا که ROS قادر به فعال کردن ERK می‌باشد، در تحقیقات قبلی ارتباط بین استرس اکسیداتیو و فعال سازی ERK در سلول‌های عصبی پیشنهاد شده است (۳۳ و ۳۴) پیشنهاد شده است که فعال سازی ERK ناشی از ROS سبب مرگ سلولی و آپوپتوز می‌شود (۳۵-۳۷). پس این احتمال وجود دارد که 6-OHDA باعث افزایش فعالیت ERK به علت توانایی آن در تولید ROS شود و اثر کورکومین در بازسازی فعالیت ERK به اثر مهارتی آن بر تولید ROS اشاره دارد.

در مجموع، نتایج این مطالعه نشان داد که اثر محافظتی کورکومین بر سمیت 6-OHDA در سلول‌های نوروبلاستوما انسان با اصلاح سیگنال ERK همراه است. این نتایج ما را از اثرات محافظتی کورکومین در بیماری پارکینسون PD آگاه می‌سازد.



شکل ۳- تصاویر سلول‌های SH-SY5Y کشت داده در گروه‌های مختلف تصاویر ۲۰ برابر بزرگتر شده‌اند.

تصاویر وسترن بلات در شکل ۴ مقادیر p-ERK، p-JNK و p-p38 را نشان می‌دهد. همان‌طور که نشان داده شده است، 6-OHDA سبب افزایش p-ERK شده، درحالی‌که هیچ تأثیری در مقدار p-JNK و p-p38 ندارد. افزایش p-ERK با درمان توسط کورکومین برگشت یافته است.



شکل ۴- نتایج وسترن بلات که نشان دهنده مقادیر MAPK و اکتین پس از درمان با 6-OHDA (۵۰ میکرومولار) یا کورکومین (۲ و ۲/۵ میکرومولار) است.

بحث

این مطالعه نتایج تحقیقات قبلی را تأیید می‌کند که نشان می‌دهد که کورکومین قادر به جلوگیری از مرگ سلولی ناشی از 6-OHDA می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با استفاده از گرنت شماره ۹۳-۰۱-۵۵-۸۳۳۱ دانشگاه علوم پزشکی شیراز انجام شد.

References

1. Driver JA, Logroscino G, Gaziano JM, Kurth T. Incidence and remaining lifetime risk of Parkinson disease in advanced age. *Neurology* 2009;72:432-8. doi:10.1212/01.wnl.0000341769.50075.bb
2. Morgante L, Morgante F, Moro E, Epifanio A, Girlanda P, Ragonese P, et al. How many parkinsonian patients are suitable candidates for deep brain stimulation of subthalamic nucleus? Results of a questionnaire. *Parkinsonism & related disorders* 2007;13:528-31. doi:10.1016/j.parkreldis.2006.12.013
3. Aggarwal BB, Sundaram C, Malani N, Ichikawa H. Curcumin: the Indian solid gold. *Advances in experimental medicine and biology* 2007;595:1-75. doi:10.1007/978-0-387-46401-5_1
4. Srimal RC, Dhawan BN. Pharmacology of diferuloyl methane (curcumin), a non-steroidal anti-inflammatory agent. *The Journal of pharmacy and pharmacology* 1973;25:447-52.
5. Masuda T, Hidaka K, Shinohara A, Maekawa T, Takeda Y, Yamaguchi H. Chemical studies on antioxidant mechanism of curcuminoid: analysis of radical reaction products from curcumin. *J Agric Food Chem* 1999;47:71-7.
6. Sui Z, Salto R, Li J, Craik C, Ortiz de Montellano PR. Inhibition of the HIV-1 and HIV-2 proteases by curcumin and curcumin boron complexes. *Bioorg Med Chem* 1993;1:415-22.
7. Kim JH, Nam SW, Kim BW, Kim WJ, Choi YH. Astaxanthin improves the proliferative capacity as well as the osteogenic and adipogenic differentiation potential in neural stem cells. *Food Chem Toxicol* 2010;48:1741-5. doi:10.1016/j.fct.2010.04.002
8. Wang XS, Zhang ZR, Zhang MM, Sun MX, Wang WW, Xie CL. Neuroprotective properties of curcumin in toxin-base animal models of Parkinson's disease: a systematic experiment literatures review. *BMC complementary and alternative medicine* 2017;17:412. doi:10.1186/s12906-017-1922-x
9. Zbarsky V, Datla KP, Parkar S, Rai DK, Aruoma OI, Dexter DT. Neuroprotective properties of the natural phenolic antioxidants curcumin and naringenin but not quercetin and fisetin in a 6-OHDA model of Parkinson's disease. *Free radical research* 2005;39:1119-25. doi:10.1080/10715760500233113
10. Wang J, Du XX, Jiang H, Xie JX. Curcumin attenuates 6-hydroxydopamine-induced cytotoxicity by anti-oxidation and nuclear factor-kappa B modulation in MES23.5 cells. *Biochemical pharmacology* 2009;78:178-83. doi:10.1016/j.bcp.2009.03.031
11. Rajeswari A, Sabesan M. Inhibition of monoamine oxidase-B by the polyphenolic compound, curcumin and its metabolite tetrahydrocurcumin, in a model of Parkinson's disease induced by MPTP neurodegeneration in mice. *Inflammopharmacology* 2008;16:96-9. doi:10.1007/s10787-007-1614-0
12. Jaisin Y, Thampithak A, Meesarapee B, Ratanachamng P, Suksamrarn A, Phivthong-Ngam L, et al. Curcumin I protects the dopaminergic cell line SH-SY5Y from 6-hydroxydopamine-induced neurotoxicity through attenuation of p53-mediated apoptosis. *Neuroscience letters* 2011;489:192-6. doi:10.1016/j.neulet.2010.12.014
13. Meesarapee B, Thampithak A, Jaisin Y, Sanvarinda P, Suksamrarn A, Tuchinda P, et al. Curcumin I mediates neuroprotective effect through attenuation of quinoprotein formation, p-p38 MAPK expression, and caspase-3 activation in 6-hydroxydopamine treated SH-SY5Y cells. *Phytotherapy research: PTR* 2014;28:611-6. doi:10.1002/ptr.5036
14. Song JX, Shaw PC, Wong NS, Sze CW, Yao XS, Tang CW, et al. Chrysoxetine, a novel bibenzyl compound selectively antagonizes MPP(+), but not rotenone, neurotoxicity in dopaminergic SH-SY5Y cells. *Neuroscience letters* 2012;521:76-81. doi:10.1016/j.neulet.2012.05.063
15. Cheung YT, Lau WK, Yu MS, Lai CS, Yeung SC, So KF, et al. Effects of all-trans-retinoic acid on human SH-SY5Y neuroblastoma as in vitro model in neurotoxicity research. *Neurotoxicology* 2009;30:127-35. doi:10.1016/j.neuro.2008.11.001
16. Schule B, Pera RA, Langston JW. Can cellular models revolutionize drug discovery in Parkinson's disease? *Biochimica et biophysica acta* 2009;1792:1043-51. doi:10.1016/j.bbadis.2009.08.014
17. Forno LS. Neuropathology of Parkinson's disease. *Journal of neuropathology and experimental neurology* 1996;55:259-72. doi:10.1016/j.parkreldis.2017.07.033
18. Xing C, Peng Y, Chang R, Yin Y, Xie Z. Effects of insulin-like growth factor-1 on okadaic acid-induced apoptosis in SH-SY5Y cells. *Cell biology international* 2005;29:803-8. doi:10.1016/j.cellbi.2005.04.012
19. Ljungdahl A, Hokfelt T, Jonsson G, Sachs C. Autoradiographic demonstration of uptake and accumulation of 3H-6-hydroxydopamine in adrenergic nerves. *Experientia* 1971;27:297-9.
20. Hwang O. Role of oxidative stress in Parkinson's disease. *Experimental neurobiology* 2013;22:11-7. doi:10.5607/en.2013.22.1.11
21. Khopde SM, Priyadarsini KI, Guha SN, Satav JG, Venkatesan P, Rao MN. Inhibition of radiation-induced lipid peroxidation by tetrahydrocurcumin: possible mechanisms by pulse radiolysis. *Biosci Biotechnol Biochem* 2000;64:503-9.
22. Jaroenwichawan T, Chaicharoenaudomrung N, Namkaew J, Noisa P. Curcumin attenuates paraquat-induced cell death in human neuroblastoma cells through modulating oxidative stress and autophagy. *Neuroscience letters* 2017;636:40-7. doi:10.1016/j.neulet.2016.10.050
23. Ganguli M, Chandra V, Kambh MI, Johnston JM, Dodge HH, Thelma BK, et al. Apolipoprotein E polymorphism and Alzheimer disease: The Indo-US Cross-National Dementia Study. *Arch Neurol* 2000;57:824-30.
24. Khatri DK, Juvekar AR. Neuroprotective effect of curcumin as evinced by abrogation of rotenone-induced motor deficits, oxidative and mitochondrial dysfunctions in mouse model of Parkinson's disease. *Pharmacology, biochemistry, and behavior* 2016;150:151:39-47. doi:10.1016/j.pbb.2016.09.002
25. Song S, Nie Q, Li Z, Du G. Curcumin improves neurofunctions of 6-OHDA-induced parkinsonian rats. *Pathology, research and practice* 2016;212:247-51. doi:10.1016/j.prp.2015.11.012
26. Chu CT, Levinthal DJ, Kulich SM, Chalovich EM, DeFranco DB. Oxidative neuronal injury. The dark side of ERK1/2. *European journal of biochemistry / FEBS* 2004;271:2060-6. doi:10.1111/j.1432-1033.2004.04132.x
27. Bogoyevitch MA, Court NW. Counting on mitogen-activated protein kinases-ERKs 3, 4, 5, 6, 7 and 8. *Cellular signalling* 2004;16:1345-54. doi:10.1016/j.cellsig.2004.05.004
28. Roskoski R. ERK1/2 MAP kinases: structure, function, and regulation. *Pharmacological research: the official journal of the Italian Pharmacological Society* 2012;66:105-43. doi:10.1016/j.phrs.2012.04.005
29. Subramaniam S, Unsicker K. ERK and cell death: ERK1/2 in neuronal death. *FEBS J* 2010;277:22-9. doi:10.1111/j.1742-4658.2009.07367.x
30. Ren Y, Jiang H, Yang F, Nakaso K, Feng J. Parkin protects dopaminergic neurons against microtubule-depolymerizing toxins by attenuating microtubule-associated protein kinase activation. *The Journal of biological chemistry* 2009;284:4009-17. doi:10.1074/jbc.M806245200

31. Zhuang S, Schnellmann RG. A death-promoting role for extracellular signal-regulated kinase. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 2006;319:991-7. doi:10.1124/jpet.106.107367
32. Zhu JH, Kulich SM, Oury TD, Chu CT. Cytoplasmic aggregates of phosphorylated extracellular signal-regulated protein kinases in Lewy body diseases. *The American journal of pathology* 2002;161:2087-98. doi:10.1016/s0002-9440(10)64487-2
33. Numakawa T, Matsumoto T, Numakawa Y, Richards M, Yamawaki S, Kunugi H. Protective Action of Neurotrophic Factors and Estrogen against Oxidative Stress-Mediated Neurodegeneration. *Journal of toxicology* 2011;2011:405194. doi:10.1155/2011/405194
34. Stanciu M, Wang Y, Kentor R, Burke N, Watkins S, Kress G, et al. Persistent activation of ERK contributes to glutamate-induced oxidative toxicity in a neuronal cell line and primary cortical neuron cultures. *J Biol Chem* 2000;275:12200-6.
35. Ramachandiran S, Huang Q, Dong J, Lau SS, Monks TJ. Mitogen-activated protein kinases contribute to reactive oxygen species-induced cell death in renal proximal tubule epithelial cells. *Chem Res Toxicol* 2002;15:1635-42.
36. Wang X, Martindale JL, Holbrook NJ. Requirement for ERK activation in cisplatin-induced apoptosis. *The Journal of biological chemistry* 2000;275:39435-43. doi:10.1074/jbc.M004583200
37. Zhuang S, Yan Y, Daubert RA, Han J, Schnellmann RG. ERK promotes hydrogen peroxide-induced apoptosis through caspase-3 activation and inhibition of Akt in renal epithelial cells. *American journal of physiology Renal physiology* 2007;292:F440-7. doi:10.1152/ajprenal.00170.2006



Curcumin prevents 6-OHDA Induced Cell Death and ERK disruption in Human Neuroblastoma Cells

Maryam Moosavi (Ph.D.)^{1,2*}, Maryam.Owjfard (B.S.)³,Majid Reza Farokhi (Ph.D.)¹

1- Shiraz Neuroscience Research Center, Shiraz University of Medical sciences, Shiraz, Iran.

2- Nanobiology and Nanomedicine Research Centre, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran.

3- Basic Science Research Lab, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran.

Received: 20 June 2018, Accepted: 1 May 2018

Abstract:

Introduction: Curcumin, a natural phenolic yellow chemical derived from turmeric, has been found to exert some protective effects in animal and cellular models of Parkinson's disease (PD). The present study aimed to examine whether curcumin prevents the effect of 6-OHDA in human neuroblastoma cells and MAPKs signaling.

Methods: SH-SY5Y cells were treated with 6-OHDA (50 μ M) for 24 h. The effect of curcumin (2 and 2.5 μ M) on cellular viability (MTT assay) and MAPKs (ERK, JNK and p38) (wester blot assay) was evaluated.

Results: 6-OHDA caused significant reduction of neuronal viability and p-ERK decrement. The results indicate that curcumin can partially protected against 6-OHDA induced cell death and p-ERK decline.

Conclusion: These finding suggest that ERK restoration is related to the protective effect of curcumin against 6-OHDA in human neuroblastoma cells.

Keyword: Curcumin; 6-OHDA, Parkinson, ERK, SH-SY5Y.

Conflict of Interest: No

*Corresponding author: M. Moosavi, Email: mmoosavi2000@gmail.com

Citation: Moosavi M, Owjfard M. Curcumin prevents 6-OHDA induced cell death and ERK disruption in Human neuroblastoma cells. Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences 2018;13(3):1-7.