Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol. 21, No. 3, Jul-Aug 2013
Pages: 311-318

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره ۲۱، شماره ۳، مرداد و شهریور ۱۳۹۲
صفحه: ۳۱۸-۳۱۱

اثر ضددیابتی عصاره زردچوبه از مسیر سلولی غیروابسته به انسولین AMPK

فرنگیس غلامی[۱]، جواد محیطی اردکانی*[۲]، علی مرادی[۳]، فهیمه دانش پویا[۴]

۱،۴- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی، یزد، ایران
۲- دانشیار گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی، یزد، ایران
۳- استادیار گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی، یزد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۹/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۳/۲۳

چکیده

مقدمه: گلوکز خون که در بیماران دیابتی بالا می‌باشد، از دو روش مجزا از خون برداشته می‌شود. مسیر وابسته به انسولین فسفواینوزیتید ۳ کیناز (PI3 K) و مسیر مستقل از انسولین AMPK (AMP-Activated protein kinase). مسیر اول در بیماران دیابتی نوع ۲ دچار نقص بوده ولی مسیر دوم فعال است. عصاره زردچوبه که حاوی درصد بالایی کورکومین است دارای اثر ضددیابتی بوده ولی مکانیسم دقیق آن مشخص نمی‌باشد. در این مطالعه به بررسی اثر کورکومین در فعال‌سازی مسیر با اهمیت AMPK در سلول‌های C2C12 پرداخته شد.

روش بررسی: سلول‌های C2C12 بعد از رشد و تمایز به میوبلاست‌های عضلانی، یک ساعت در معرض غلظت ۴۰ میکرومولار کورکومین (مورد آزمایش) و ۰/۱٪ DMSO (کنترل) قرار گرفتند. پس از جمع‌آوری و لیز سلول‌ها با روش وسترن بلاتینگ، پروتئین‌های p-AMPK و p-ACC شناسایی شدند. اطلاعات با کنترل داخلی β-Actin نرمال شده و هر باند در مقایسه با کنترل به صورت عدد نسبی محاسبه گردید. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS و آزمون Student t-test تجزیه و تحلیل شد.

نتایج: میزان فسفریلاسیون آنزیم‌ها که نشان‌دهنده فعال شدن آنها می‌باشد برای p-AMPK در حضور کورکومین (۲۳±۱/۶) نسبت به کنترل (۳±۰/۵) و برای p-ACC در حضور کورکومین (۳۱/۷±۲) در مقابل کنترل (۱/۷±۰/۴) به طور معنی‌داری افزایش یافته است ($p<0/05$).

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل نشان می‌دهد که اثر ضددیابتی کورکومین می‌تواند از طریق فعال‌سازی مسیر AMPK/ACC صورت گیرد.

واژه‌های کلیدی: کورکومین، AMPK، مسیر مستقل از انسولین، ضد دیابت، C2C12

* (نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۹۱۳۱۵۴۸۸۵۸، پست الکترونیکی: mohiti@ssu.ac.ir

- **این مقاله حاصل پایان نامه دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد می‌باشد.**

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]

مقدمه

دیابت یک بیماری متابولیکی شایع می‌باشد که طبق آمار سازمان جهانی بهداشت (WHO) بیش از ۳۰۰ میلیون نفر در جهان به آن مبتلا بوده و ۸۵ الی ۹۰ درصد این افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ می‌باشند. بررسی‌ها نشان داده‌اند که در سال ۲۰۰۴ میلادی بیش از ۳ میلیون نفر از عوارض قند خون بالا جان خود را از دست داده‌اند و پیش بینی می‌شود مرگ دیابتی‌ها بین سال‌های ۲۰۰۸ تا ۲۰۳۰ میلادی تا ۲:۳ افزایش خواهد یافت(۱). این بیماری که با افزایش مزمن گلوکز در خون شناسایی می‌شود به دلیل نقص در ترشح انسولین (هورمون ترشح شده از سلول‌های بتای پانکراس جهت کاهش قند خون)، فعالیت انسولین و یا هر دو به وجود می‌آید. برداشت گلوکز مرحله محدودکننده سرعت در متابولیسم گلوکز، توسط دو مسیر مجزا در عضلات اسکلتی تحریک می‌شود. یک مسیر فسفواینوزیتید ۳ کیناز (PI3K) وابسته به انسولین است که منجر به انتقال GLUT4 (انتقال‌دهنده اصلی گلوکز در عضلات اسکلتی) از سیتوزول به سطح غشای پلاسمایی می‌شود(۲) و دیگری مسیر AMPK (AMP-activated protein kinase) غیروابسته به انسولین است. محققین نشان داده‌اند که مسیر اول در بیماران دیابتی نوع ۲ دچار نقص بوده ولی مسیر دوم فعال است(۳).

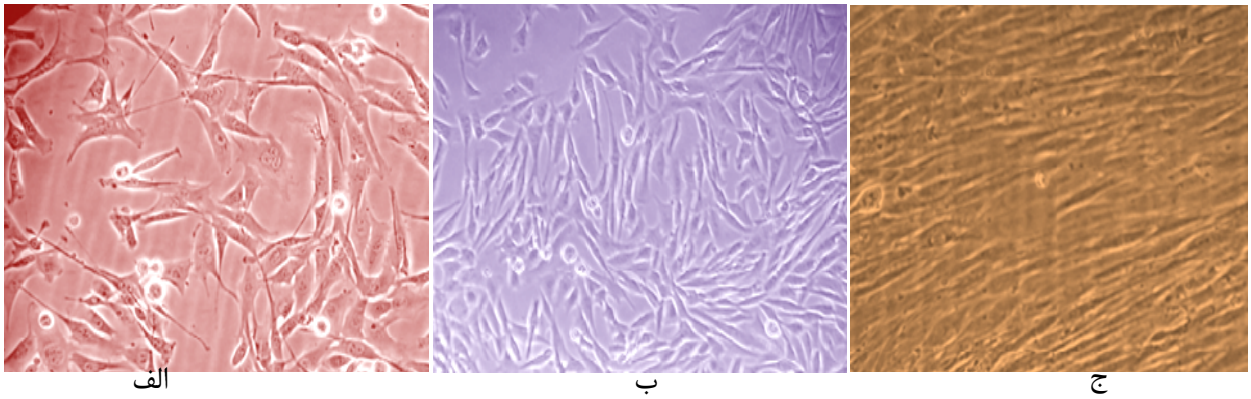
AMPK آنزیمی هتروتریمریک تشکیل شده از سه زیرواحد α، β و γ می‌باشد که با فسفریلاسیون ریشه ترئونین ۱۷۲ در زیرواحد α فعال می‌شود(۴،۵). این آنزیم یک سنسور انرژی داخل سلولی است، زیرا با افزایش نسبت AMP :ATP و اتصال AMP به زیرواحد γ فعالیتش افزوده شده و مسیرهای تولید ATP فعال و مسیرهای مصرف ATP را مهار می‌کند. AMPK در بسیاری از فرآیندهای بیولوژیک دخالت دارد. از جمله در عضلات از طریق افزایش ترانسلوکاسیون و بیان ژن GLUT4 به بهبود برداشت گلوکز کمک می‌کند. همچنین باعث کاهش سنتز و افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب از طریق فسفریلاسیون و مهار آنزیم استیل کوآکربوکسیلاز (ACC) می‌شود و با مهار آنزیم HMG_COA ردوکتاز سنتز کلسترول را کاهش می‌دهد. در نتیجه این اعمال، انتظار می‌رود با فسفریلاسیون و فعال‌شدن AMPK، تجمع چربی اکتوپیک کاهش یافته و عملکرد انسولین و برداشت گلوکز بهبود یابد(۹-۳،۶).

با توجه به اهمیت بسیار زیاد فعال شدن مسیر AMPK/ACC در افراد دیابتی نوع ۲، بسیاری از محققین به کشف داروهایی با مکانیسم فعالیت در این مسیر پرداختند(۱۳-۳،۹). همچنین از قدیم گیاهان جهت درمان انواع بیماری‌ها از جمله دیابت مورد استفاده قرار می‌گرفتند(۱۴) و شاید مهم‌ترین شاهد در اهمیت و تأثیر محصولات طبیعی ضددیابتی را بتوان در استفاده گسترده از داروی ضددیابتی متفورمین یافت که برگرفته از منابع طبیعی است(۱۵). در میان این مواد گیاهی، عصاره زردچوبه که حاوی درصد بالایی از ترکیب پلی‌فنولی کورکومین است بسیار مورد توجه بوده و تحقیقات گسترده‌ای نه تنها بر روی اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و ضدسرطانی آن بلکه به عنوان کاهش‌دهنده قندخون به انجام رسیده و در حال انجام است(۲۰-۱۶). علیرغم این تلاش‌ها مکانیسم مولکولی دقیق اثر کاهندگی گلوکز توسط کورکومین به طور ضعیفی شناخته شده است. بنابراین در این مطالعه به بررسی اثر کورکومین در فعال شدن مسیر AMPK/ACC در سلول‌های عضلانی که مصرف کننده اصلی گلوکز بعد از سلول‌های چربی هستند، پرداخته شده است.

روش بررسی

در این مطالعه کارآزمایی آزمایشگاهی سلول‌های C2C12 (ATCC-CRL-1772-)، رده سلولی میوبلاست موش) از انستیتو پاستور ایران تهیه و در فلاسک ۵۰ میلی‌لیتری حاوی محیط کشت (DMEM: Dulbecco's Modified Eagle's Medium)، ۱۰٪ سرم جنین گاوی (FBS) (Gibco-BRL /آمریکا) و ۱٪ آنتی‌بیوتیک‌های استرپتومایسین و پنی‌سیلین (sigma/ آمریکا) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵٪ CO2 تکثیر داده شد. به منظور تمایز سلول‌های میوبلاستی اولیه به میوسیت‌های عضلانی، بعد از رسیدن تراکم سلول‌ها به بیش از ۸۰٪، از محیط تمایز DMEM حاوی ۲٪ Horse serum و ۱٪ آنتی‌بوتیک‌ها استفاده گردید (شکل ۱، الف- ب)(۲۱).

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]



الف ب ج

شکل ۱: عکس‌های میکروسکوپی از کشت سلول‌های C2C12 و مراحل تمایز آن (درشت نمایی ۴۰).

شش روز پس از قرار گرفتن سلول‌ها در محیط تمایزی DMEM + ۲٪ Horse serum، سلول‌ها به مدت یک ساعت در معرض ۴۰ میکرومولار کورکومین حل شده در دی‌متیل‌سولفوکساید (DMSO) قرار داده شدند. همچنین فلاسک دیگری به عنوان کنترل در نظر گرفته شد که به آن فقط DMSO اضافه گردید (به طور کلی غلظت DMSO در هر دو فلاسک مورد آزمایش کمتر از ۰/۱ درصد در نظر گرفته شده است) (شکل۱، ج).

سلول‌های تمایز یافته C2C12 دو مرتبه با بافرفسفات سرد شسته شده و ۵۰۰ میکرولیتر بافر لیز (۱۵۰ میلی‌مولارکلریدسدیم، ۱٪ ترایتون ۱۰۰– X، ۰/۵٪ سدیم داکسی‌کولات، ۰/۱٪ سدیم دودسیل‌سولفات(SDS)، ۱۰ میلی مولار فلورید سدیم (NaF) (Merk، آلمان)، ۱ میلی‌مولار سدیم اورتووانادات، ۱ میلی‌مولار PMSF، ۱٪ آنتی‌پروتئاز، ۵۰ میلی مولار تریس با PH=۸ به فلاسک‌ها افزوده و سپس با استفاده از اسکرابر از کف فلاسک جدا شدند. به منظور لیز کامل، سلول‌های جدا شده به مدت ۳۰ دقیقه در بافر لیز روی یخ قرار گرفته و گهگاهی ورتکس می‌شدند. برای جدا کردن بقایای سلول‌های تخریب شده، سلول‌های لیز شده در دمای ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۶۰۰g سانتریفوژ گردیدند. سپس محلول رویی به منظور انجام آزمون‌های ایمونوبلاتینگ جدا و تا زمان تجزیه و تحلیل در ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از تعیین مقدار پروتئین موجود در هموژن سلولی با استفاده از معرف برادفورد میزان ۶۰ میکروگرم پروتئین در الکتروفورز ژل پلی‌اکریل‌آمید ۱۰٪ SDS جداسازی و در ادامه به کاغذ نیتروسلولز انتقال داده شد. غشای نیتروسلولز با محلول انسدادگر ۳٪ شیر بدون چربی به مدت یک شب در ۴ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. پس از شستشوی کامل غشا و خروج کامل ماده انسدادگر، غشا با آنتی‌بادی اولیه برعلیه p-AMPK و p-ACC (Cell Signalling/آمریکا) با غلظت ۱:۱۰۰۰ و β-Actin (Santa Cruz Biotecnology/آمریکا) با غلظت ۱:۵۰۰۰ در محلول ۵٪ آلبومین سرم گاوی به مدت یک شب در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از شستشو، غشا به مدت یک ساعت در دمای محیط با آنتی‌بادی ثانویه کونژوگه شده با (HRP: Horseradish Peroxidase) با غلظت ۱:۵۰۰۰ در محلول ۲٪ آلبومین سرم گاوی مورد انکوباسیون قرار گرفت. باندها با روش کمی لومینسانس تقویت شده ECL (GE/ Amersham Healthcare ترکیه) قابل رؤیت گردیدند و با استفاده از دستگاه Gel Documentation از آنها عکسبرداری شد. اطلاعات با کنترل داخلی β-Actin نرمال شده و هر باند در مقایسه با باند کنترل به صورت عدد نسبی نشان داده شده‌اند.

آزمایشات به طور کامل سه بار تکرار شد و نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان گردید. در ادامه با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۴ و آزمون آماری independent Student t-test مورد ارزیابی قرار گرفت و سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

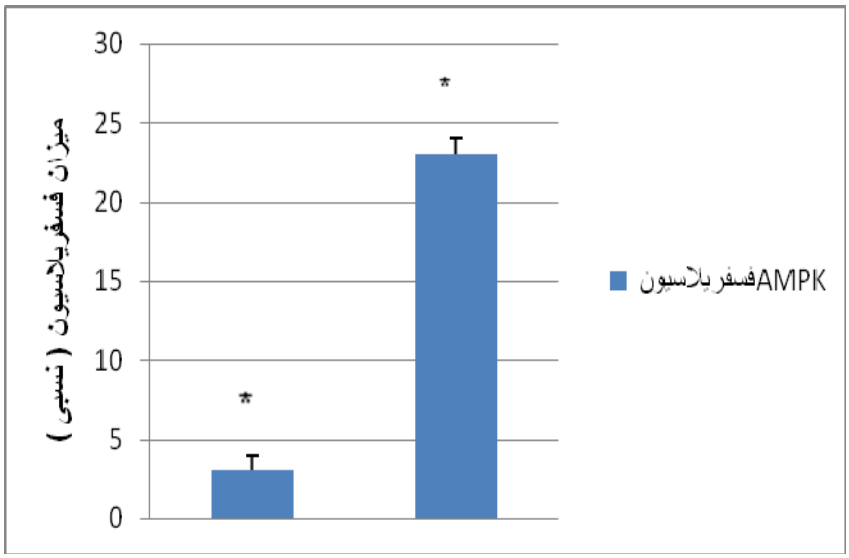
نتایج

به منظور بررسی اثر کورکومین در افزایش فسفریلاسیون

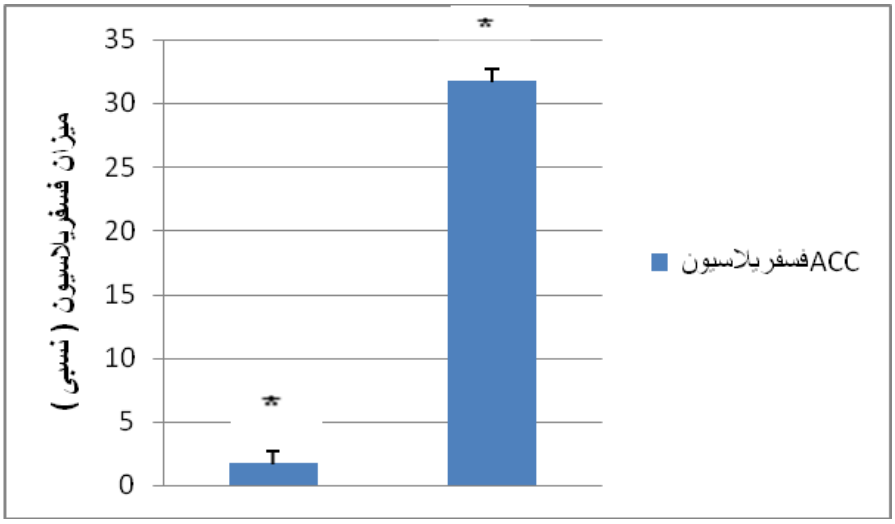
[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]

AMPK/ACC و در نتیجه افزایش فعالیت این دو آنزیم، از غلظت ۴۰ میکرومولار کورکومین با خلوص بیش از ۹۵٪ به مدت یک ساعت در سلول‌های میوبلاستی عضله موش C2C12 استفاده شد، زیرا این غلظت و زمان طبق منابع مورد مطالعه یکی از بهترین شرایط به منظور بررسی اثر کورکومین در این رده سلولی می‌باشد(۱۴). در این تحقیق نشان داده شد که کورکومین در غلظت ۴۰ میکرومولار به مدت یک ساعت می‌تواند در مقایسه با گروه کنترل (بدون حضور کورکومین) میزان فسفریلاسیون آنزیم AMPK را افزایش دهد (نمودار ۱، شکل ۲).

فسفریلاسیون ریشه ترئونین ۱۷۲ در زیر واحد α نشان‌دهنده فعال شدن این آنزیم است و فسفریلاسیون ریشه سرین ۷۹ در آنزیم ACC بهترین ویژگی پایین دست، جهت فعال شدن مسیر سیگنالینگ AMPK است. غلظت ۴۰ میکرومولار کورکومین به مدت یک ساعت باعث فسفریلاسیون ACC و فعالیت این آنزیم می‌شود (نمودار ۲، شکل ۲).

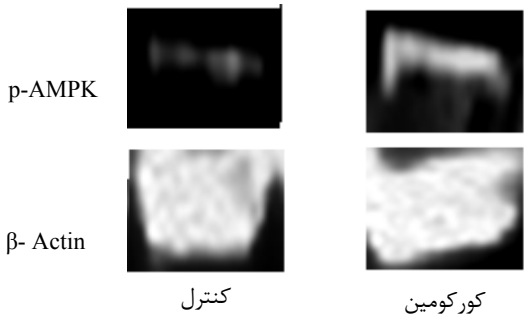


نمودار ۱: کورکومین فسفریلاسیون AMPK در سلول های C2C12

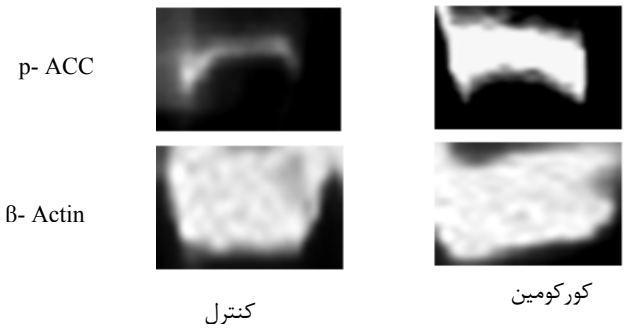


نمودار ۲: کورکومین فسفریلاسیون ACC در سلول های C2C12

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]



شکل ۲: باندهای حاصل از آزمایش وسترن بلاتینگ برای AMPK



شکل ۳: باندهای حاصل از آزمایش وسترن بلاتینگ برای ACC

بحث

کورکومین پلی‌فنولی استخراج شده از ریشه گیاه زردچوبه با نام علمی Curcuma longa از خانواده Zingiberaceae می‌باشد که می‌تواند اثرات ضددیابتی خود را در اندام‌هایی مانند پانکراس، کبد و بافت چربی نشان دهد. هر چند اطلاعات کمی در مورد اثرات ضددیابتی این پلی‌فنول مهم در عضلات اسکلتی وجود دارد(۲۲). برای کورکومین مکانیسم‌های مختلفی از جمله افزایش بیان و ترانسلوکاسیون غشایی GLUT4، مهار بیان ژن گلوکز ۶ فسفاتاز کبدی، افزایش اکسیداسیون گلوکز از طریق مهار PDK4 (کیناز مهارکننده پیروات دهیدروژناز) و افزایش سنتز گلیکوژن از طریق فعال کردن آنزیم گلیکوژن سنتاز در عضلات اسکلتی رده L6 و موش‌های دیابتی شده در نظر گرفته شده است(۱۴،۲۲،۲۳).

در این مطالعه، به منظور شناسایی دیگر مکانیسم‌های عملکردی کورکومین، به تحقیق در این مورد پرداختیم که آیا کورکومین می‌تواند باعث فعال شدن مسیر AMPK/ACC شود.

در نهایت، نتایج این مطالعه نشان داد که کورکومین می‌تواند در زمان و غلظت انتخابی (۴۰ میکرومولار، یک ساعت) در رده سلول عضلانی C2C12 باعث افزایش فسفریلاسیون و در نتیجه افزایش فعالیت آنزیم AMPK شود. همچنین به منظور تأیید این یافته، فسفریلاسیون و مهار آنزیم پایین دست AMPK یعنی آنزیم ACC نیز مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده شد که کورکومین در این زمان و غلظت توانسته است به طور محسوسی فسفریلاسیون آنزیم ACC را نیز افزایش دهد.

در مطالعه‌ای Kang و همکارش به بررسی اثر سینرژیسم کورکومین و انسولین در متابولیسم گلوکز سلول‌های عضلانی موش پرداختند و نشان دادند که کورکومین مسیر AMPK/ACC را فعال کرده و با داشتن اثر سینرژیسم با انسولین سبب بهبود عملکرد انسولین می‌شود(۱۴). نتایج مطالعه Kang با نتایج حاصل از این مطالعه مبنی بر فعال شدن مسیر AMPK/ACC در سلول‌های عضلانی رده C2C12 همسو می‌باشد.

در مطالعه‌ای دیگر نیز محققین به بررسی فعالیت مسیر AMPK/ACC در سلول‌های کبدی موش (H4IIE) و سلول‌های کبدی انسان (Hep3B) در حضور غلظت‌های متفاوت کورکومین پرداختند و مشاهده کردند که کورکومین در سلول‌های کبدی می‌تواند مسیر سلولی بسیار مهم AMPK/ACC را فعال کند(۲۳). نتایج این محققین نیز علیرغم تفاوت در رده سلولی مورد استفاده با نتایج مطالعه حاصل، مبنی بر افزایش فعالیت مسیر AMPK/ACC در حضور کورکومین همگام و موافق می‌باشد و با توجه به اهمیت سلول‌های عضلانی به عنوان مهم‌ترین سلول‌های مصرف‌کننده گلوکز، نتایج این دو تحقیق در کنار هم می‌تواند اهمیت استفاده از کورکومین را به منظور بهبود پاتوژنز بیماران دیابتی روشن‌تر سازد.

در نتیجه، این مطالعه نشان می‌دهد که کورکومین در غلظت میکرومولار، مسیر AMPK/ACC را فعال می‌کند و می‌تواند توضیحی برای برخی اثرات کاهندگی گلوکز توسط این

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]

پلی‌فنول باشد. این مکانیسم جدید فعالیت کورکومین همراه با دیگر ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و عدم سمیت آن تا ۱۲ گرم برای انسان(۲۶-۲۴) و یافته‌های امیدوارکننده از مدل‌های حیوانات دیابتی شده نشان می‌دهد که کورکومین می‌تواند یک راهکار و روش مکمل برای مدیریت دیابت باشد. در ادامه نیز پیشنهاد می‌شود به منظور تحقیق بیشتر در این مسیر، اثر کورکومین در حضور مهارکننده مسیر AMPK/ACC، در غلظت‌ها و زمان‌های مختلف مورد بررسی قرار گیرد.

سپاسگزاری

در اینجا لازم می دانیم از همکاری کلیه اساتید و کارکنان گروه بیوشیمی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد کمال تشکر را داشته باشیم.

References:

1- World Health Organization. ***Diabetes fact sheet***. 2012. Available from: www.who.int/media centrt/ factsheets/fs 312/en/

2- Dugani CB, Randhawa VK, Cheng AWP, Patel N, Klip A. ***Selective regulation of the perinuclear distribution of glucose transporter 4 (GLUT4) by insulin signals in muscle cells.*** Eur J Cell Biol 2008; 87(6): 337-51.

3- Zhang BB, Zhou G, Li C. ***AMPK: an emerging drug target for diabetes and the metabolic syndrome.*** Cell Metab 2009; 9(5): 407-16.

4- Göransson O, McBride A, Hawley SA, Ross FA, Shpiro N, Foretz M, et al. ***Mechanism of action of A-769662, a valuable tool for activation of AMP-activated protein kinase.*** J Biol Chem 2007; 282(45): 32549-60.

5- Chen L, Jiao ZH, Zheng LS, Zhang YY, Xie ST, Wang ZX, et al. ***Structural insight into the autoinhibition mechanism of AMP-activated protein kinase.*** Nature 2009; 459(7250): 1146-9.

6- Fogarty S, Hardie DG. ***Development of protein kinase activators: AMPK as a target in metabolic disorders and cancer.*** Biochim Biophys Acta 2010; 1804(3): 581-91.

7- Hwang SL, Yang BK, Lee JY, Kim JH, Kim BH, Suh KH, et al. ***Isodihydrocapsiate stimulates plasma glucose uptake by activation of AMP-activated protein kinase.*** Biochem Biophys Res Commun 2008; 371(2): 289-93.

8- Ju J-S, Gitcho MA, Casmaer CA, Patil PB, Han D-G, Spencer SA, et al. ***Potentiation of insulin-stimulated glucose transport by the AMP-activated protein kinase.*** Am J Physiol Cell Physiol 2007; 292(1): C564-72.

9- Hwang JT, Kwon DY, Yoon SH. ***AMP-activated protein kinase: a potential target for the diseases prevention by natural occurring polyphenols.*** New Biotechnol 2009; 26(1-2): 17-22.

10- Hwang JT, Lee MS, Kim HJ, Sung MJ, Kim HY, Kim MS, et al. ***Antiobesity effect of ginsenoside Rg3 involves the AMPK and PPAR-γ signal pathways.*** Phytother Res 2009; 23(2): 262-6.

11- Ahn J, Lee H, Kim S, Park J, Ha T. ***The anti-obesity effect of quercetin is mediated by the AMPK and MAPK signaling pathways.*** Biochem Biophys Res Communic 2008; 373(4): 545-9.

12- Breen DM, Sanli T, Giacca A, Tsiani E. ***Stimulation of muscle cell glucose uptake by resveratrol through***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]

sirtuins and AMPK. Biochem Biophys Res Commun 2008; 374(1): 117-22.

13- Liang KW, Yin SC, Ting CT, Lin SJ, Hsueh CM, Chen CY, et al. ***Berberine inhibits platelet-derived growth factor-induced growth and migration partly through an AMPK-dependent pathway in vascular smooth muscle cells.*** Eur J Pharmacol 2008; 590(1-3): 343.

14- Kang C, Kim E. ***Synergistic effect of curcumin and insulin on muscle cell glucose metabolism.*** Food Chem Toxicol 2010; 48(8-9): 2366-73.

15- Martineau LC, Adeyiwola-Spoor DCA, Vallerand D, Afshar A, Arnason JT, Haddad PS. ***Enhancement of muscle cell glucose uptake by medicinal plant species of Canada's native populations is mediated by a common, Metformin-like mechanism.*** J Ethnopharmacol 2010; 127(2): 396-406.

16- Maheshwari RK, Singh AK, Gaddipati J, Srimal RC. ***Multiple biological activities of curcumin: a short review.*** Life Sci 2006; 78(18): 2081-7.

17- Joe B, Vijaykumar M, Lokesh B. ***Biological properties of curcumin-cellular and molecular mechanisms of action.*** Crit Rev Food Sci Nutr 2004; 44(2): 97-111.

18- Srinivasan K. ***Plant foods in the management of diabetes mellitus: spices as beneficial antidiabetic food adjuncts.*** Int J Food Sci Nutr 2005; 56(6): 399-414.

19- Suresh Babu P, Srinivasan K. ***Amelioration of renal lesions associated with diabetes by dietary curcumin in streptozotocin diabetic rats.*** Mol Cell Biochem 1998; 181(1-2): 87-96.

20- Babu PS, Srinivasan K. ***Hypolipidemic action of curcumin, the active principle of turmeric (Curcuma longa) in streptozotocin induced diabetic rats.*** Molecular Cellular Biochemistry 1997; 166(1-2): 169-75.

21- Absalan A, Mohiti-Ardakani J, Hadinedoushan H, Khalili MA. ***Hydro-Alcoholic cinnamon extract, enhances glucose transporter isotype-4 translocation from intracellular compartments into the cytoplasmic membrane of C2C12 myotubes.*** Ind J Clin Biochem 2012; 27(4): 351-6.

22- Na LX, Zhang YL, Li Y, Liu LY, Li R, Kong T, et al. ***Curcumin improves insulin resistance in skeletal muscle of rats.*** Nutr Metab Cardiovasc Dis 2011; 21(7): 526-33.

23- Kim T, Davis J, Zhang AJ, He X, Mathews ST. ***Curcumin activates AMPK and suppresses gluconeogenic gene expression in hepatoma cells.*** Biochem Biophys Res Commun 2009; 388(2): 377-82.

24- Aggarwal BB, Sundaram C, Malani N, Ichikawa H. ***Curcumin: the Indian solid gold.*** In: The Molecular Targets and Therapeutic Uses of Curcumin in Health and Disease. Springer; 2007.p.1-75.

25- Hatcher H, Planalp R, Cho J, Torti F, Torti S. ***Curcumin: from ancient medicine to current clinical trials.*** Cell Mol Life Sci 2008; 65(11): 1631-52.

26- Goel A, Kunnumakkara AB, Aggarwal BB. ***Curcumin as "Curecumin": From kitchen to clinic.*** Biochem Pharmacol 2008; 75(4): 787-809.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]

Anti Diabetic Effect of Curcuma Longa Extract via Non-insulin Dependent Cellular Pathway AMPK

Gholami F(MSc)[1], Mohiti Ardakani J(PhD)*[2], Moradi A(PhD)[3], Danesh Pouya F(MSc)[4]

[1-4]Department of Biochemistry & Molecular Biology, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

Received: 17 Dec 2012 ***Accepted:*** 16 Jun 2013

Abstract

Introduction: Blood glucose is high in diabetic patients. It is taken from blood by two separate pathways: Insulin-dependent pathway of phosphoinositide 3 kinase (PI3K) and insulin-independent pathway AMPK (AMP-Activated protein kinase). The first pathway is impaired in type 2 diabetic patients, but the second pathway is active. On the other hand, curcuma longa extract containing a high percentage curcumin has Anti-diabetic effects, but its exact mechanism is not clear. Therefore, this study intends to investigate the effect of curcumin on the activation of the critical pathway AMPK in C2C12 cells.

Methods: C2C12 cells, after growth and differentiation to muscle myoblast, were exposed to 40 µM concentrations of curcumin (test group) and 0.1%DMSO (control) for one hour. Then cells were collected, lysed and p-AMPK and p-ACC proteins were identified by Western blotting technique. Data were normalized with the β-Actin internal control and each band was calculated as arbitrary number compared with the control. Significant results were determined by using SPSS statistical software and student t-test.

Results: Phosphorylation of enzymes, that indicates their activation, significantly increased for p-AMPK (23±1.6) and for p-ACC (31.7±2) in presence of curcumin Compared to the control (3±0.5; 1.7±0.4) (p-value <0.05).

Conclusion: The results demonstrated that anti-diabetic effects of curcumin could be done through the activation of AMPK / ACC.

Keywords: AMPK (AMP-activated protein kinase); C2C12; Curcumin

This paper should be cited as:

Gholami F, Mohiti Ardakani J, Moradi A, Danesh Pouya F. ***Anti diabetic effect of curcuma longa extract via non-insulin dependent cellular pathway AMPK***. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2013; 21(3): 311-18.

****Corresponding author: Tel: +98 9131548858, Email: mohiti@ssu.ac.ir***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]