

Kurkumīna ietekme uz vara izdalīšanu no aknu šūnām

*Anita Bērziņa¹, Laura Hippe¹, Inese Mārtiņšone²,
Šimons Svīrskis¹, Modra Murovska¹, Mārtiņš Kālis¹*

Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

¹*A. Kīrhenšteina mikrobioloģijas un virusoloģijas institūts*

²*Higiēnas un arodslimību laboratorija*

Ievads. Varš cilvēka organismā ir svarīgs mikroelements, taču pārmērīga tā koncentrācija šūnās ir toksiska. No cilvēka organisma tas tiek izvadīts ar aknu palīdzību. Palielinātas vara koncentrācijas gadījumā aknu šūnās vara transportproteīns ATP7B pārvieto to no Goldži kompleksa uz vezikulām citoplazmā, lai varu izvadītu no šūnām. Vara metabolisms cilvēka organismā ir traucēts Vilsona slimības gadījumā – aknu šūnās ir defektīvs vara transportproteīns ATP7B, tāpēc palielinās vara koncentrācija un tas rada audu bojājumus. Viens no potenciālajiem Vilsona slimības ārstēšanas līdzekļiem, kas varētu ietekmēt vara izvadīšanu no aknu šūnām, ir kurkumīns – savienojums, kas atrodas auga *Curcuma longa* saknēs.

Darba mērķis, materiāls un metodes. Darba mērķis ir noskaidrot, kā kurkumīns ietekmē ATP7B proteīna vara transportēšanas funkciju aknu šūnās HepG2, ja tajās ir palielināta vara koncentrācija.

Kolokalizācijas mērījumiem aknu HepG2 šūnas audzētas MEM barotnē (papildināta ar 10% FCS, 2 mM glutamīnu un penicilīna-streptomicīna maisījumu) uz segstikliņiem, kas pārklāti ar poli-L-lizīnu. Kad šūnas sasniegušas 90% konfluenci, tām pievienoti 5 μM vai 25 μM kurkumīna uz 24 stundām un attiecīgi 20 μM vai 100 μM CuCl₂ uz 4 stundām. Pēc tam šūnas krāsotas ar primārajām antivielām, kas iezīmē Goldži kompleksu *mouse α p230 (Becton Dickinson, USA)* un vara transportproteīnu *rabbit α ATP7B (Proteintech, USA)*, un sekundārajām antivielām: *goat α mouse IgG (H+L), Alexa Fluor 488 (AbCam, USA)* un *donkey α rabbit IgG (H+L), Dylight 550 (AbCam, USA)*. Kodola iekrāsošanai izmantots DAPI. Šūnas vizualizētas, izmantojot *Nikon A1R+ (Nikon, Japan)* konfokālo mikroskopu. Goldži kompleksa un ATP7B proteīna kolokalizācijas analīze veikta ar *NIS Elements (Nikon, Japan)* programmatūru. Vara izdalīšanas mērījumiem šūnas uzstātas kultivēšanas flakonos un, kad tās sasniegušas 90% konfluenci, pievienoti 5 μM vai 25 μM kurkumīna uz 24 stundām un attiecīgi 20 μM vai 100 μM CuCl₂ uz papildu 24 stundām. Pēc tam šūnām nomainīta barotne un barotnes paraugi ņemti ik pēc 1,5; 3; 4,5; 6; 7,5 un 9 stundām. Barotnē izdalītā vara daudzums noteikts ar atomabsorbcijas spektrofotometru *Varian Spectra AA 200 Z (Varian, USA)*.

Rezultāti. Kolokalizācijas analīze parāda, ka gan 5 μM, gan 25 μM kurkumīna spēj ietekmēt vara transportu ārpus Goldži kompleksa uz citoplazmu, lai izvadītu to no šūnām, ja tām pievienoti 20 μM CuCl₂, taču 100 μM CuCl₂ gadījumā kurkumīns vara transportu ietekmēt vairs nespēj. Atomabsorbcijas spektrofotometrijas dati liecina, ka kurkumīns nespēj izvadīt varu no šūnu līnijas HepG2.

Secinājumi. Lai gan kurkumīns veicina vara transportu no Goldži kompleksa uz vezikulām citoplazmā, tas nespēj varu izvadīt no HepG2 šūnām.



“Baltinfect” projekts (projekta / līguma Nr. 316275) “Infekcijas slimību pētniecības potenciāla attīstīšana Rīgas Stradiņa universitātē”.