Journal of Ilam University of Medical Sciences

P-ISSN: 1563-4728
E-ISSN: 2588-3135

Effect of Exercise and *Kelussia Odaratissma Mozaff* on the Expression of *Atrogin-1* Gene in Cardiac Tissue of Obese Rats

Raziyeh Mahmodi[1], Hossein Sazegar[1*]

[1] Dept of Biology, Faculty of Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

Article Info

Article type:
Research article

Article History:
Received: 03 February 2021
Revised: 22 February 2021
Accepted: 21 June 2021

**** Correspondence to:***
Hossein Sazegar
Dept of Biology, Faculty of Sciences, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahre-kord, Iran
Email: h.sazgar@iaushk.ac.ir

A B S T R A C T

Introduction: The *Atrogin-1* gene is selectively expressed only in muscle tissue. Considering the importance of the *Kelussia* and *Atrogin-1* gene, this study aimed to investigate the effect of exercise and *Kelussia* on the expression of *Atrogin-1* gene in the heart tissue of obese rats.

Material & Methods: In total, 30 adult male Wistar rats weighing 180 to 200 g were selected and divided into five groups of control, negative control (obese mice), two treatment groups receiving doses of 400 and 800 mg/kg of *Kelussia* extract, and a group of obese mice along with exercise. It should be noted that a rat treadmill was used in which the rats were placed on the device five days a week for one hour. *Atrogin-1* gene expression was assessed using Real-time (RT)-PCR technique, and finally, the results were analyzed using SPSS software through an independent t-test. A p-value less than 0.05 was considered statistically significant.
(Ethic code: IR.IAU.SHK.REC.1399.050)

Findings: The results showed that *Kelussia* extract at a dose of 800 mg/kg could significantly reduce the expression of *Atrogin-1* gene (1.15 ± 0.33^{b}), compared to 400 (1.27 ± 0.50^{ab}) and the obese group. On the other hand, the group of mice with exercise also had a significant decrease in *Atrogin-1* gene expression, compared to the obese group (1.75 ± 0.84^{ab}). The results of biochemical tests also confirmed the improvement of the heart of obese mice with 800 mg/kg.

Discussion & Conclusion: *Kelussia* due to compounds, such as flavonoids, can reduce the expression of *Atrogin-1* gene. If it is confirmed in future studies, it can be a therapeutic target in the hearts of obese people.

Keywords: *Atrogin-1* gene, *Kelussia*, Heart tissue, Obesity

➢ **How to cite this paper**

Mahmodi R, Sazegar H. Effect of Exercise and Kelussia Odaratissma Mozaff on the Expression of Atrogin-1 Gene in Cardiac Tissue of Obese Rats. Journal of Ilam University of Medical Sciences. November 2021;29(4): 83-92.

© The Author(s)

Publisher: Ilam University of Medical Sciences

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-09-22]

[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.4.5.3]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.4.83]

مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام
JIMUS
P-ISSN: ۱۵۶۳-۴۷۲۸
E-ISSN: ۲۵۸۸-۳۱۳۵

بررسی اثر تمرینات ورزشی و کرفس کوهی بر بیان ژن Atrogin-1 در بافت قلب موش های صحرایی چاق

راضیه محمودی [۱]، حسین سازگار*[۱]

[۱] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۱۵
تاریخ داوری: ۱۳۹۹/۱۲/۰۴
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۳/۳۱

نویسنده مسئول:
حسین سازگار
گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران
Email:
h.sazgar@iaushk.ac.ir

چکیده

مقدمه: ژن *Atrogin-1* به‌صورت انتخابی، تنها درون بافت‌های ماهیچه‌ای بیان می‌شود. با توجه به اهمیت گیاه کرفس و ژن *Atrogin-1*، هدف از این پژوهش بررسی اثر تمرینات ورزشی و کرفس کوهی بر بیان ژن *Atrogin-1* در بافت قلب موش های صحرایی چاق است.

مواد و روش ها: ۳۰ سر موش صحرایی نر بالغ با وزن ۱۸۰ تا ۲۰۰ گرم از نژاد ویستار انتخاب شد و به ۵ گروه کنترل، کنترل منفی (موش‌های چاق)، دو گروه تیمار دریافت‌کنندهٔ دوز ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصارهٔ کرفس و همچنین یک گروه موش‌های چاق همراه با تمرینات ورزشی تقسیم گردیدند. گفتنی است که از تردمیل مخصوص موش استفاده شد که موش‌ها ۵ روز در هفته و به مدت یک ساعت بر روی دستگاه قرار گرفتند. بیان ژن *Atrogin-1* با استفاده از تکنیک Real Time RT- PCR بررسی گردید و درنهایت، با استفاده از نرم‌افزار SPSS vol.22 و آزمون های T TEST independent و سطح معنی‌داری $P<0.05$ نتایج بررسی شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که عصارهٔ کلوس با دوز ۸۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم می‌تواند سبب کاهش چشمگیر و معنادار بیان ژن *Atrogin-1* ($۰/۳۳^{b} \pm ۱/۱۵$) نسبت به دوز ۴۰۰ ($۰/۵۰^{ab} \pm ۱/۲۷$)، نسبت به گروه چاق شود. از سوی دیگر، گروه موش‌ها با تمرینات ورزشی نیز کاهش معنادار بیان ژن *Atrogin-1* را نسبت به گروه چاق داشتند ($۰/۸۴^{ab} \pm ۱/۷۵$). نتایج تست‌های بیوشیمیایی نیز بهبود قلب موش‌های چاق را در موش‌های تیمارشده با دوز ۸۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم کلوس تأیید کرد.

بحث و نتیجه‌گیری: کرفس کوهی (کلوس) به سبب داشتن ترکیباتی همچون فلاونوئیدها می‌تواند باعث کاهش بیان ژن *Atrogin-1* شود که در صورت تأیید در مطالعات آینده می‌تواند به‌عنوان یک هدف درمانی در قلب افراد چاق مطرح باشد.

واژه‌های کلیدی: کرفس کوهی، ژن *Atrogin-1*، بافت قلب، بیماری چاقی

استناد: محمودی، راضیه؛ سازگار، حسین. بررسی اثر تمرینات ورزشی و کرفس کوهی بر بیان ژن Atrogin-1 در بافت قلب موش های صحرایی چاق. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی ایلام، آبان ۱۴۰۰؛۲۹(۴): ۹۲-۸۳.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-09-22]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.4.5.3]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.4.83]

حق‌مؤلف © نویسندگان

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-09-22]

[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.4.5.3]

[DOI: 10.52547/sjimu.29.4.83]

مقدمه

در کشورهای توسعه‌یافته، چاقی به‌عنوان یکی از مهم‌ترین اختلالات تغذیه‌ای محسوب می‌شود. ارتباط میان افزایش وزن و افزایش مرگ‌ومیر از ۷۵ سال پیش توسط صنعت بیمه عمر شناخته‌شده بود. چاقی به‌عنوان یک عامل خطرساز قابل اصلاح و تعدیل برای ایجاد بیماری‌های قلبی-عروقی در نظر گرفته‌شده است (۱). بیماری‌های قلبی-عروقی علت مرگ یکی از هر ۸ مرد و یکی از ۱۷ زن پیش از ۶۵ سال در کشورهای اروپایی است (۲). در دهۀ اخیر چاقی، مقاومت به انسولین و سندرم متابولیک تأثیرات ژرفی بر سلامت مردم کشورهای درحال‌توسعه ایجاد کرده‌اند، مشکلاتی که به‌واسطۀ حرکت سریع کشورهای درحال‌توسعه ازجمله به سوی سبک زندگی غربی (رژیم غذایی، بی‌حرکتی و مصرف سیگار) ایجادشده است. افزایش انسولین خون به‌صورت جبرانی ناشی از مقاومت به انسولین در افراد چاق موجب اختلالات چربی خون، افزایش فشارخون و دیابت قندی می شود که هریک به‌تنهایی و یا در ارتباط باهم، به‌عنوان عوامل خطرساز ابتلا به بیماری‌های قلبی ـ عروقی به شمار می روند (۳). در کشورهای درحال‌توسعه، به‌واسطۀ وجود تفاوت آشکار در طبقات اجتماعی و اقتصادی و عادت‌های اشتباه بهداشتی، روند شتاب گیری، چشمگیرتر است. در حقیقت، بیماری‌های قلبی ـ عروقی مسئول یک‌سوم کل مرگ‌ومیر زنان در سراسر دنیا و عامل نیمی از مرگ‌ومیرها میان زنان کشورهای درحال‌توسعه هستند (۴).

سازوکارهای مختلفی ازجمله سایتوکاین‌ها و واسطه‌های زیستی فعال، سیگنال‌های بتا آدرنژیک و مسیر پیام‌رسان تغذیه‌ای چاقی را به بیماری‌های قلبی عروقی مرتبط می‌کنند؛ اما یکی از مهم‌ترین علل بروز بیماری‌های قلبی عروقی از میان رفتن پروتئین‌های سلولی و جایگزین شدن کلاژن‌ها به جای سلول‌های ازدست‌رفته است (۵). مسیر اصلی تجزیۀ پروتئین فعال شدن پروتئین FOXO است که زیرمجموعه‌ای از خانوادۀ بزرگ فاکتورهای نسخه‌برداری است. شواهد بیانگر آن است درصورتی‌که ایزومرهای FOXO فعال شوند و از سیتوزل به هسته جابجا گردند، سبب فعال شدن دو ژن به نام‌های رینگ فینگر عضلانی ۱ (MuRF1) و اف باکس (MAFbx/atrogin-1) می‌شود که نتیجۀ آن مهار چرخۀ متابولیسم سلول، مرگ سلولی و آغاز تخریب بافت قلبی خواهد بود (۷، ۶). MAFbx که به‌عنوان atrogin-1 نیز شناخته می‌شود، در موش بر روی کروموزوم ۱۵ قرار گرفته است و لیگازهای یوبیکوئیتین E3 را رمزگذاری می‌کند. این ژن به‌طور تخصصی، در عضلات اسکلتی و قلبی بیان می‌شود و در چندین مدل آتروفی به‌طور قابل‌توجهی تنظیم مثبت شده‌اند. علاوه بر این، درحالی‌که تحت شرایط عادی به نظر می‌رسد موش‌های بدون atrogin-1 از نظر فنوتیپ با انواع معمولی آن‌ها یکسان هستند، اما پس از عصب برداری، این حیوانات در برابر آتروفی عضلانی اندکی از خود محافظت نشان می‌دهند (۸).

با توجه به افزایش دانش بشری، نیاز برای یافتن ترکیبات مؤثر با عوارض جانبی کمتر در جلوگیری یا درمان بیماری‌ها به‌شدت احساس می‌شود. گیاه کرفس کوهی یک گیاه دارویی با محتوی بالای پلی‌فنل‌ها با خاصیت آنتی‌اکسیدانی محسوب می‌شود که خواص کاهش‌دهندۀ استرس اکسیداتیو و حفاظت بافت‌های متابولیک بدن در برابر آسیب‌های شیمیایی را دارد. علاوه بر این، تجویز این گیاه سبب کاهش سطح پراکسیداسیون لیپیدی و سطح چربی‌های سرم در الگوی تجربی هیپرلیپیدمی در موجودات آزمایشگاهی با استفاده از تجویز خوراکی رژیم غذایی پرچربی به مدت ۲ ماه می‌گردد (۹). مطالعات پیشین نشان داده است که این فلاونوئید موجب مهار متابولیسم آراشیدونیک اسید می‌شود؛ همچنین وجود گروه ۵ هیدروکسی در ساختار فلاونوئید باعث می‌گردد که حلقۀ بتای فلاونوئید چرخش آزاد داشته باشد و به این طریق، مهار آنزیم ۵ لیپواکسیژناز را تشدید می‌کند و التهاب را کاهش می‌دهد (۱۰). در سال‌های اخیر، بررسی‌ها بر روی گیاه کرفس بیانگر آن است که عصارۀ این گیاه

باعث کاهش سطح کلسترول تام و بالا بردن تری‌گلیسرید کبدی، پیشگیری از بیماری‌های قلبی عروقی، کاهش غلظت گلوکز و کراتینین در موش‌های دیابتی، کاهش فشارخون، یرقان و تقویت قلب می‌شود؛ همچنین آثار ضدقارچی و ضدباکتریایی نیرومندی دارد. فلاونوئیدها بر فعالیت تیروئیدی اثر مهاری داشته و خطر هیپوتیروئیدیسم را افزایش می‌دهند (۱۱)؛ بنابراین، با توجه به اهمیت گیاه کرفس و ژن *Atrogin-1*، هدف از این پژوهش بررسی اثر تمرینات ورزشی و کرفس کوهی بر بیان ژن *Atrogin-1* در بافت قلب موش های صحرایی چاق است.

مواد و روش ها

نوع مطالعه و نمونه‌گیری: مطالعهٔ حاضر تجربی و روش گردآوری اطلاعات به‌صورت آزمایشگاهی– مشاهده‌ای بود. در این بررسی، ۳۰ سر رت نر بالغ ویستار با میانگین وزنی ۲۰±۱۸۰ گرم، از لانهٔ حیوانات دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد خریداری شد. این حیوانات آزمایشگاهی در شرایط استاندارد ۲۳ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد و سیکل ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با آب و غذای کافی و استاندارد درون قفس‌های مخصوص دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد نگهداری گردیدند. رت‌ها پس از سازگاری با محیط، به‌طور تصادفی به ۵ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. گروه‌بندی حیوانات شامل ۱. کنترل، ۲. کنترل منفی (موش‌های چاق بدون تیمار)، ۳. گروه A (موش‌های چاق دریافت‌کنندهٔ دوز ۸۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصارهٔ کلوس)، ۴. گروه B (موش‌های چاق دریافت‌کنندهٔ دوز ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصارهٔ کلوس) و ۵. گروه C (موش‌های چاق همراه با تمرینات ورزشی) بود. پس از گروه‌بندی و پس از طی شدن دورهٔ تطبیق حیوانات با حرارت و رطوبت محل نگهداری، آزمایش‌ها آغاز شد. در ضمن اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی در همهٔ مراحل لحاظ گردید.

چاق کردن رت‌ها: رت‌ها به مدت ۶ هفته با رژیم غذایی با چربی بالا چاق شدند که شامل ۴۵ درصد چربی برابر با ۴/۷ کیلوکالری در هر گرم (۲۴ درصد چربی، ۲۴ درصد پروتئین و ۴۱ درصد کربوهیدرات) بود.

ورزش دادن رت‌ها: برای تمرینات ورزشی از تردمیل مخصوص موش استفاده گردید که رت‌ها ۵ روز در هفته و به مدت یک ساعت بر روی دستگاه قرار گرفتند.

تهیهٔ عصارهٔ کرفس: گیاه کرفس از مناطق کوهستانی مدنظر در استان چهارمحال و بختیاری جمع‌آوری و با تأیید متخصصین گیاه‌پزشکی دانشگاه آزاد شهرکرد تأیید شد و در محلی که دور از نور و آفتاب و در دمای رطوبت مناسب به‌طوری‌که هوا در آن محل جریان داشته باشد، نگهداری و خشک گردید؛ سپس با آسیاب برقی، به قطعات ۰/۵ تا ۳ سانتی پودر شد و سپس ۵۰ گرم از این پودر را با الکل اتانول ۷۰ درصد صنعتی مخلوط گردید، به‌اندازه‌ای که پودر کامل با الکل پوشیده شود و الکل تا روی گیاه بیاید و بعد از ۵ ساعت، از کاغذ صافی عبور داده شد. عصاره‌ای که پس از عبور از کاغذ صافی به دست آمد، با دستگاه Rotary که روی دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد گذاشته و خود دستگاه شرایط ایده‌آل را ایجاد می‌کند، تغلیظ گردید. درنهایت، مقدار انتخابی عصاره‌ها با حل کردن آن‌ها در یک حلال مناسب به‌دست آمد و به‌صورت گاواژ به رت‌ها داده شد. پس از گذشت یک ماه از فرایند گاواژ و تیمار، رت‌ها در شرایط کاملاً بهداشتی، با استفاده از کلروفورم بیهوش گردیدند و با استفاده از ست جراحی شکم آن‌ها باز و کبدشان برداشته شد.

استخراج RNA و سنتز xDNA در تحقیق حاضر، برای استخراج RNA تام از ترایزول (Invitrogen ساخت کشور امریکا) مطابق پروتکل استفاده گردید و پس از استخراج RNA استخراج‌شده از لحاظ کیفی و کمی بررسی شد. برای حذف آلودگی احتمالی RNA استخراج‌شده به DNA ژنومی، هر نمونه RNA استخراج‌شده با آنزیم *DNase*I (سیناژن ساخت کشور ایران) به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تیمار گردید و به‌منظور خنثی‌سازی آنزیم DNaseI هر نمونه با ۱ میکرولیتر اتیلن دی آمین ترا استیک اسید (EDTA مرک ساخت کشور

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-09-22]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.4.5.3]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.4.83]

جدول ۱. پرایمرهای موردنظر

پرایمر	توالی پرایمر	دمای اتصال (°C)	سایز باند (bp)
Atrogin1-R	5'- CGCTCCTTAGTACTCCCTTTGTG-3'	۶۴	۱۹۲
Atrogin1-F	5'- CTTGGATGAGAAAAGCGGCAC-3'		
GAPDH-F	5'- TGATTCTACCCACGGCAAGTTC-3'	۵۶	۲۰۰
GAPDH-R	5' -CGCTCCTGGAAGATGGTGATG-3'		

آلمان) تیمار و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. درنهایت، با استفاده از کیت شرکت یکتا تجهیز آزما و پرایمر ۶ نوکلئوتیدی تصادفی، طبق پروتکل کیت، cDNA هر نمونه سنتز گردید. به‌منظور بررسی میزان بیان ژن‌های مدنظر، پرایمرهای رفت‌وبرگشت اختصاصی هر ژن توسط نرم‌افزار BeaconDesigner vol.8.0 و Oligo7 (۱۳، ۱۲) طراحی شد و پس از BLAST در پایگاه اینترنتی NCBI، توسط شرکت پیشگام سنتز گردید که در جدول شمارهٔ ۱ آورده شده است.

تکنیک RT-PCR: در این بررسی، برای تأیید صحت سنتز cDNA از تکنیک PCR استفاده گردید و برای انجام تکنیک، ۱۰ میکرولیتر PCR Master Mix (یکتا تجهیز آزما)، ۰/۵ میکرولیتر از هرکدام از پرایمرهای رفت‌وبرگشت (۵pmol/ µL)، ۱ میکرولیتر نمونهٔ cDNA (۲۵ ng/ µL)، در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر (با آب مقطر استریل) تهیه و مخلوط شد. در ادامه، با برنامهٔ دمایی: فعال‌سازی اولیه در دمای ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، واسرشت در دمای ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، برای اتصال آغازگرها در دمای مناسب (بهترین دما برای انجام PCR برای ژن GAPDH ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد بود) به مدت ۳۰ ثانیه، بسط در دمای ۷۲ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و طویل‌سازی نهایی در دمای ۷۲ درجهٔ سانتی‌گراد و به مدت ۱۰ دقیقه تکثیر صورت گرفت و درنهایت، روی ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز انجام گردید.

تکنیک Real time RT-PCR: در پژوهش حاضر، از تکنیک Real Time –RT PCR (دستگاه Corbett rotor gene 6000) به‌منظور سنجش کمی سطح بیان ژن‌های مدنظر استفاده شد. برای انجام این تکنیک از SYBR Green(یکتا تجهیز آزما ساخت کشور ایران) استفاده گردید و درنهایت، پس از محاسبه ΔCT نسبت بیان ژن هدف در نمونهٔ مدنظر (بیمار) نسبت به نمونه کنترل (سالم) با فرمول $2^{-\Delta CT}$ محاسبه شد.

تست‌های بیوشیمیایی: در تحقیق حاضر، تست‌های بیوشیمیایی شامل تست کلسترول، قند، HDL و LDL بود که در ادامه به توضیح هریک از آن‌ها پرداخته‌شده است. این آزمایش‌ها با روش اتوآنالیزر و توسط دستگاه اتوآنالیزر (Auto Analyser BT 3000plus، ساخت کشور ایتالیا) صورت گرفت.

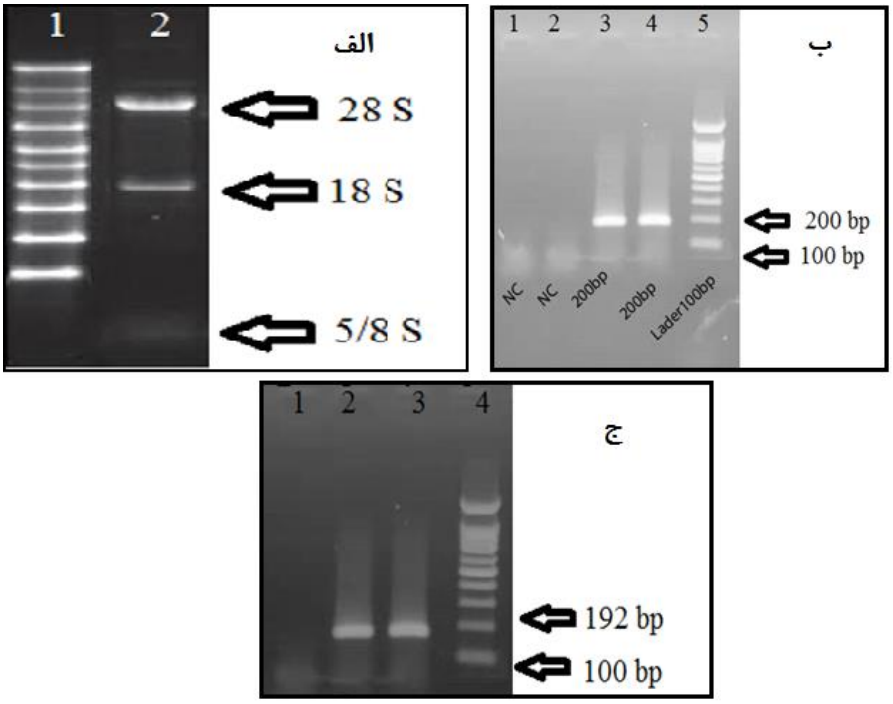
آنالیزهای آماری: آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS vol.22 انجام شد. ازآنجاکه داده‌ها توزیع نرمال داشتند، با روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و با آزمون پشتیبان post test LSD ارزیابی گردیدند و نتایج به‌صورت Mean ± SEM ارائه و تفاوت میان گروه‌های مختلف با $P<0.05$ معنادار تلقی شد.

پژوهش حاضر در کمیتهٔ اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد با کد IR.IAU.SHK.REC.1399.050 به تصویب رسیده است.

یافته ها

بررسی کمی و کیفیت RNA استخراج‌شده بر روی ژل آگارز و صحت سنتز cDNA و ژن: RNA استخراج‌شده بر روی ژل آگارز یک درصد الکتروفورز شد. باندهای ۱۸ S و ۲۸ S به‌طور واضح قابل‌تشخیص بود که نشان‌دهندهٔ سالم بودن RNA است که در شکل شمارهٔ ۱. الف نشان داده‌شده

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-09-22]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.4.5.3]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.4.83]



شکل ۱. الف. بررسی کیفی RNA استخراج‌شده بر روی ژل آگارز یک درصد؛ ب. تأیید صحت سنتز cDNA. چاهک اول و دوم کنترل منفی، چاهک سوم نمونهٔ سالم، چاهک چهارم نمونهٔ رت چاق و چاهک پنجم مارکر است؛ ج. تأیید صحت سنتز *Atrogin-1* باند باند ۱۹۲ جفت بازی مربوط به *Atrogin-1* نشان داده‌شده است که چاهک ۱ کنترل منفی، چاهک ۲ و ۳ نمونهٔ سالم و چاق، چاهک ۴ مارکر است.

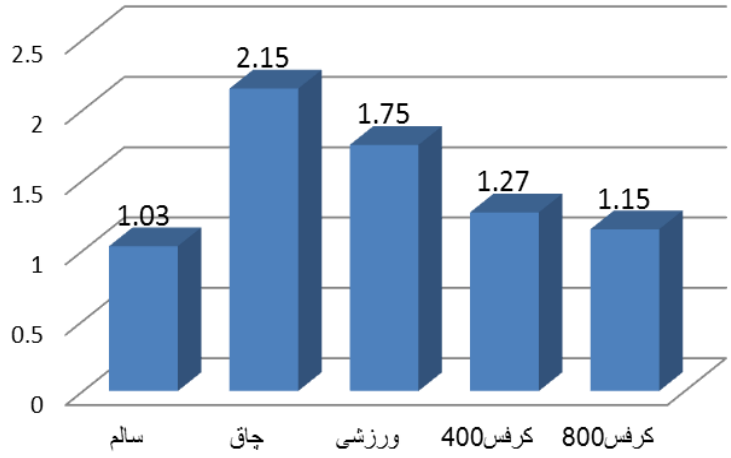
است؛ همچنین مقدار ۱ میکرولیتر از هر نمونه RNA استخراج‌شده توسط دستگاه نانودراپ در طول‌موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و در نسبت ۲۶۰/۲۸۰ بین ۱/۵–۲ بود که نبودِ آلودگی‌های پروتئین و فنول را نشان داد. ژن *GAPDH* در همهٔ شرایط و در تمام سلول‌ها رونویسی می‌شود و RNA آن در دسترس است. پس از استخراج و سنتز cDNA لازم است که صحت آن بررسی گردد که به‌منظور تأیید صحت سنتز cDNA با پرایمرهای اختصاصی ژن *GAPDH*، واکنش PCR انجام شد. پس از پایان کار، الکتروفورز محصولات PCR روی ژل آگارز صورت گرفت که باند ۲۰۰ جفت بازی مربوط به *GAPDH* مشاهده گردید که در شکل شمارهٔ ۱. ب، باند ژن نشان داده‌شده است.

در این تحقیق، تأیید صحت سنتز *Atrogin-1* با پرایمرهای اختصاصی آن واکنش RT-PCR انجام شد و پس از پایان کار، روی ژل آگارز یک درصد بررسی گردید که باند ۱۹۲ جفت بازی مربوط به *Atrogin-1* دیده شد. در شکل شمارهٔ ۱. ج، باند باند ۱۹۲ جفت بازی مربوط به *Atrogin-1* نشان داده شده است.

نتایج آنالیز بیان ژنی: در این پژوهش، برای بررسی اثر تمرینات ورزشی و کرفس کوهی بر بیان ژن *Atrogin-1* در بافت قلب موش‌های صحرایی چاق، داده‌های حاصل از بیان ژن به روش real time RT-PCR با استفاده از آزمون آماری T-test independent و سطح معناداری $P<0.05$ انجام شد.

بررسی داده‌های حاصل از بیان ژن *Atrogin-1* بیانگر آن بود که عصارهٔ کرفس کوهی باعث کاهش بیان ژن *Atrogin-1* می‌شود و این کاهش بیان از نظر آماری معنادار است ($P<0.05$) که در شکل شمارهٔ ۲ و جدول شمارهٔ ۲ نشان داده‌شده است. عصارهٔ کرفس کوهی باعث کاهش بیان ژن *Atrogin-1* در قلب موش‌های چاق می‌شود.همان‌طور که مشاهده می‌شود، عصارهٔ کرفس کوهی با دوز ۸۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم می‌تواند باعث کاهش بیشتر بیان ژن *Atrogin-1* نسبت به دوز ۴۰۰ در رت‌های چاق شود و این کاهش بیان از نظر آماری نسبت به گروه چاق معنادار بود؛ همچنین ورزش نیز باعث کاهش

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-09-22]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.4.5.3]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.4.83]



شکل ۲. نتایج آنالیز آماری بیان ژن *Atrogin-1*

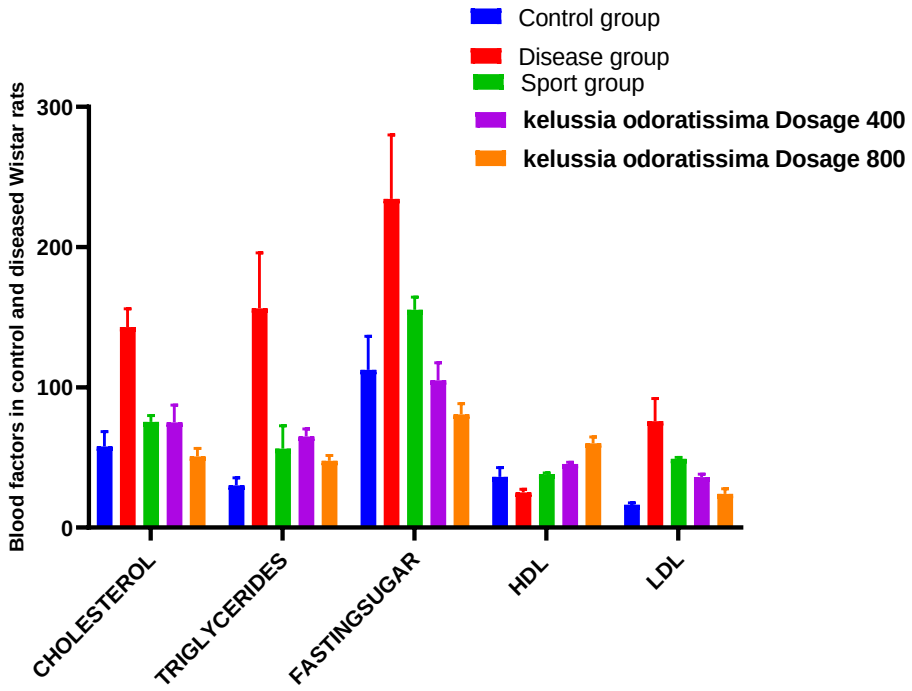
جدول ۲. مقایسهٔ میزان تغییرات بیان ژن atrogin در گروه‌های مختلف

گروه	سالم	بیمار	عصارهٔ کرفس ٤٠٠	عصارهٔ کرفس ۸۰۰	ورزشی
بیان ژن	۱/۰۳±۰/۲۶^{b}	۲/۱۵±۰/۷۳^{a}	۱/۲۷±۰/۵۰^{ab}	۱/۱۵±۰/۳۳^{b}	۱/۷۵±۰/۸۴^{ab}

a,b: میانگین‌ها با حروف لاتین متفاوت، اختلاف آماری معنادار دارند ($P<0.05$).

بیان ژن *Atrogin-1* نسبت به گروه چاق می‌شود.

نتایج تست‌های بیوشیمیایی: تست‌های بیوشیمیایی تحقیق حاضر شامل تست کلسترول، قند، HDL و LDL بود که در شکل شمارهٔ ۳ نشان داده‌شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، در شکل شمارهٔ ۳ همهٔ فاکتورهای قند، تری‌گلیسرید، کلسترول و LDL در گروه چاق افزایش



شکل ۳. نتایج تست‌های بیوشیمیایی کلسترول، قند، HDL و LDL و تری‌گلیسرید در گروه‌های تیمار، ورزشی، بیمار و کنترل

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-09-22]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.4.5.3]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.4.83]

یافته که پس از تمرینات ورزشی در گروه ورزشی و همچنین دو گروه تیمار با دوز ۴۰۰ و ۸۰۰ این فاکتورها کاهش یافته است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، عصارهٔ کرفس کوهی با دوز ۸۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم می‌تواند سبب کاهش بیشتر بیان ژن *Atrogin-1* نسبت به دوز ۴۰۰ در رت‌های چاق شود و این کاهش بیان از نظر آماری نسبت به گروه چاق معنادار بود ($P<0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

گیاه کرفس کوهی یک گیاه دارویی با محتوی بالای پلی‌فنل‌ها با خاصیت آنتی‌اکسیدانی محسوب می‌شود که خواص کاهش‌دهندهٔ استرس اکسیداتیو و حفاظت بافت‌های متابولیک بدن در برابر آسیب‌های شیمیایی را دارد. علاوه بر این، تجویز این گیاه سبب کاهش سطح پراکسیداسیون لیپیدی و سطح چربی‌های سرم در الگوی تجربی هیپرلیپیدمی در موجودات آزمایشگاهی با استفاده از تجویز خوراکی رژیم غذایی پرچربی به مدت ۲ ماه می‌گردد (۹). وجود گروه ۵ هیدروکسی در ساختار فلاونوئید باعث می‌شود که حلقهٔ بتای فلاونوئید چرخش آزاد داشته باشد و از این راه، مهار آنزیم ۵ لیپواکسیژناز را تشدید می‌کند و التهاب را کاهش می‌دهد (۱۰). با توجه به اهمیت گیاه کرفس و نقش آن در پیشگیری از بیماری‌های قلبی-عروقی در این پژوهش بر آن شدیم تا به بررسی اثر تمرینات ورزشی و کرفس کوهی بر بیان ژن *Atrogin-1* در بافت قلب موش های صحرایی چاق بپردازیم و نتایج نشان داد که عصارهٔ کرفس باعث کاهش بیان ژن *Atrogin-1* در موش‌های چاق می‌شود که این کاهش بیان از نظر آماری معنادار بود ($P<0.05$). علاوه بر این، نتایج روی موش‌های چاق نشان داد که عصارهٔ کرفس کوهی می‌تواند به علت داشتن ترکیباتی مانند فلاونوئیدها باعث پیشگیری از بیماری قلبی و لاغری در رت‌های چاق شود؛ بنابراین، برای یک نتیجه‌گیری کلی می‌توان گفت کرفس کوهی (کلوس) به سبب داشتن ترکیباتی همچون فلاونوئیدها باعث کاهش بیان ژن *Atrogin-1* می‌گردد و در صورت تأیید در مطالعات آینده می‌تواند به‌عنوان یک هدف درمانی در بیماری چاقی و همچنین بیماری قلبی مطرح باشد. همسو با این موضوع، تحقیقاتی انجام شده که در ادامه به بررسی چند مورد از مهم‌ترین آن‌ها پرداخته‌شده است. در سال ۲۰۰۷، جین و همکاران به بررسی کورکومین بر روی بیان ژن *Atrogin-1* پرداختند. آنان اظهار داشتند که مصرف کورکومین که به‌صورت تزریق داخل صفاقی به‌صورت روزانه و به مدت ۴ روز به موش‌ها، باعث کاهش معنادار *Atrogin-1* در موش‌ها می‌شود و احتمالاً بتوان با مصرف کورکومین از آنتروفی عضلانی ناشی از چاقی با مهار مسیر آتروفی عضله استفاده کرد (۱۴) که نتایج این دانشمندان با یافته‌های پژوهش حاضر همسو بود؛ زیرا نتایج نشان داد که عصارهٔ کرفس سبب کاهش بیان ژن *Atrogin-1* در موش‌های چاق می‌شود که این کاهش بیان از نظر آماری معنادار بود ($P<0.05$). علاوه بر این، نتایج روی موش‌های چاق نشان داد که عصارهٔ کرفس کوهی می‌تواند به سبب داشتن ترکیباتی مثل فلاونوئیدها، باعث پیشگیری از بیماری قلبی و لاغری در رت‌های چاق گردد. رمضانی و همکاران در سال ۲۰۰۹، به بررسی آثار ضدالتهابی گیاه کرفس پرداختند. برای ارزیابی التهاب، از روش ایجاد تورم در گوش موش توسط گزیلن استفاده شد و اظهار داشتند که عصارهٔ کرفس آثار نیرومند ضدالتهابی حتی در دوزهای پایین دارد که احتمالاً به علت وجود فلاونوئید، فتالید و کومارین در دانهٔ کرفس است (۱۵). در سال ۲۰۰۹، زنچی و همکاران به بررسی تمرینات ورزشی و بیان ژن *Atrogin-1* در موش‌ها پرداختند. نتایج نشان داد که ژن پروتئولیتیک عضلانی MuRF-1 و *Atrogin-1* در گروه تمرینی که ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسهٔ تمرینی اندازه‌گیری شده، به‌طور معناداری کاهش یافته است (۱۶). در پژوهش حاضر نیز نتایج نشان داد که عصارهٔ کرفس باعث کاهش بیان ژن *Atrogin-1* در موش‌های چاق می‌شود. علاوه بر این، نتایج تمرینات ورزشی بر روی موش‌های چاق نشان داد که عصارهٔ کرفس کوهی می‌تواند به علت داشتن ترکیباتی مانند فلاونوئیدها، سبب پیشگیری از بیماری قلبی و لاغری در رت‌های چاق و باعث کاهش بیان

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-09-22]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.4.5.3]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.4.83]

ژن *Atrogin-1* گردد. در سال ۲۰۱۶، دانگ و همکاران به بررسی بیان ژن *Atrogin-1* در سنجاب‌ها پرداختند. آنان اظهار داشتند که بیان ژن *Atrogin-1*و *MuRF1* ممکن است برای جلوگیری از آتروفی SOL از طریق کنترل تعدیل پروتئین‌های ماهیچه‌ای در حین خواب زمستان اثرگذار باشد (۱۷). در سال ۲۰۱۷، کافشانی و همکاران بیان کردند که افزودن پودر کرفس کوهی به رژیم غذایی مبتلایان به هایپرلیپیدمی، تفاوت معناداری جز افزایش HDL-C، در مقایسه با بیمارانی که داروهای معمول خود را مصرف کرده‌اند، نداشت. آنان نتیجه گرفتند که انجام مطالعات طولانی‌مدت دربارهٔ اثر آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بر روی کرفس کوهی بر لیپیدها و گلوکز بیماران مبتلا به هایپرلیپیدمی ضروری به‌نظر می‌رسد (۱۸). با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق می‌توان گفت که عصارهٔ کرفس می‌تواند با تأثیر بر بیان ژن *Atrogin-1* در موش‌های چاق، سبب پیشگیری از بیماری قلبی و لاغری در رت‌های چاق شود. در سال ۲۰۱۹، حسینی و همکاران اظهار کردند که مصرف کورکومین باعث کاهش معنادار *Atrogin-1* در موش‌ها می‌گردد و احتمالاً بتوان با مصرف کورکومین از آنتروفی عضلانی قلبی ناشی از چاقی با مهار مسیر آتروفی عضله استفاده کرد (۱۹).

سازوکارهای گوناگونی ازجمله سایتوکاین‌ها و واسطه‌های زیستی فعال، سیگنال‌های بتا آدرنژیک و مسیر پیام‌رسان تغذیه‌ای، چاقی را به بیماری‌های قلبی عروقی مرتبط می‌کنند؛ اما یکی از مهم‌ترین علل بروز بیماری‌های قلبی عروقی از میان رفتن پروتئین‌های سلولی و جایگزین شدن کلاژن‌ها به‌جای سلول‌های ازدست‌رفته است. MAFbx که به‌عنوان Atrogin- 1 نیز شناخته می‌شود، به‌طور تخصصی در عضلات اسکلتی و قلبی بیان می‌گردد و در چندین مدل آتروفی به‌طور قابل‌توجهی تنظیم مثبت شده‌اند. حضور سیگنال‌های لوکالیزیشن در این پروتئین نشان‌دهندهٔ احتمال برهم‌کنش این پروتئین با عوامل رونویسی و سایر پروتئین‌های هسته به‌منظور یوبیکوئیتینه کردن و تجزیهٔ آن‌ها است. از سوی دیگر، تحقیقات بر روی کرفس کوهی نشان می‌دهد که این گیاه سبب کاهش وزن و کاهش اختلالات قلبی می‌شود؛ بنابراین، نتایج این بررسی نشان داد که عصارهٔ کلوس با دوز ۸۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم می‌تواند سبب کاهش چشمگیر و معنادار بیان ژن *Atrogin-1* نسبت به دوز ۴۰۰ نسبت به گروه چاق شود. از سوی دیگر، گروه موش‌ها با تمرینات ورزشی نیز کاهش معنادار بیان ژن *Atrogin-1* را نسبت به گروه چاق داشتند. نتایج تست‌های بیوشیمیایی نیز بهبود قلب موش‌های چاق را در موش‌های تیمارشده با دوز ۸۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم کلوس تأیید کرد و در صورت تأیید در مطالعات آینده می‌تواند به‌عنوان یک هدف درمانی در بیماری چاقی و همچنین بیماری قلبی مطرح باشد.

محدودیت‌های مطالعه: از مشکلات و محدودیت‌های اجرایی این طرح می‌توان به مرگ‌ومیر موش‌ها اشاره کرد که برای رفع این مشکل، تعداد بیشتری رت در هر گروه در نظر گرفته شد تا در صورت مرگ‌ومیر، در پایان تعداد کافی رت در هر گروه برای آنالیز آماری وجود داشته باشد.

تشکر و قدردانی

این بررسی برگرفته از پایان‌نامهٔ کارشناسی ارشد و تحت حمایت معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد شهرکرد است و بدین‌وسیله نویسندگان از همهٔ افرادی که در جمع‌آوری نمونه‌های خون در این پژوهش یاری رساندند، کمال تشکر و قدردانی را دارند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که تضاد منافعی در این مطالعه وجود ندارد.

کد اخلاق: IR.IAU.SHK.REC.1399.050

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-09-22]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.4.5.3]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.4.83]

References

1. Eckel RH, Krauss RM. American Heart Association call to action: obesity as a major risk factor for coronary heart disease. Circulation 1998;97: 2099-100. doi.10.1161/01.CIR.97.21.2099
2. Allender S, Scarborough P, Peto V, Rayner M, Leal J, Luengofernandez R, et al. European cardiovascular disease statistics. European Heart Network2008;3: 11-35.
3. Samiee RF, Ziaee A, Qambarian A, Mirmiran P, Momenan A, Azizi F. [Association between risk factors of cardiovascular diseases and obesity among Tehranian Women]. TLGSJ2012;2:1-20. (Persian)
4. Pilote L, Dasgupta K, Guru V, Humphries KH, Mcgrath J, Norris C, et al. A comprehensive view of sex-specific issues related to cardiovascular disease. CMAJ2007;176: 1-44. doi.10.1503/cmaj.051455
5. Perl A. Mtor activation is a biomarker and a central pathway to autoimmune disorders, cancer, obesity, and aging. Ann Newyork Acad Sci 2015;1346: 33. doi.10.1111/nyas.12756
6. Milan G, Romanello V, Pescatore F, Armani A, Paik JH, Frasson L, et al. Regulation of autophagy and the ubiquitin proteasome system by the foxo transcriptional network during muscle atrophy. Nature Com2015;6: 6670. doi.10.1038/ncomms7670
7. Martins R, Lithgow GJ, Link W. Long live foxo unraveling the role of foxo proteins in aging and longevity. Ag Cell 2016;15: 196-207. doi. 10.1111/acel.12427
8. Bodine SC, Latres E, Baumhueter S, Lai VKM, Nunez L, Clarke BA, et al. Identification of ubiquitin ligases required for skeletal muscle. Atroph Sci 2001;294: 1704-8. doi. 10.1126/science.1065874
9. Tsi D, Das N, Tan B. Effects of aqueous celery Apium graveolens extract on lipid parameters of rats fed a high fat diet. Plant Med1995;61: 18-21. doi.10.1055/s-2006-957990
10. Kaouadjii M. Nouveaa glycoside befphtalid chezgentiona pedicellata. J Nat Prod. 1986;49: 872-87.
11. Ferreira AC, Neto JC, Silva AC, Kuster RM, Carvalho DP. Inhibition of thyroid peroxidase by Myrcia uniflora flavonoids. Chem Res Toxicol 2006;19: 351-5. doi.org/10.1021/tx0501684
12. Rychlik W. Oligo 7 primer analysis software PCR Primer design. 2 th ed. Springer Publication. 2007;P. 35-59. doi.10.1007/978-1-59745-528-2_2
13. Rahimi Z, Salehi M, Dousti A. [CCL2 polymorphism in drug resistant and drug-responsive patients with epilepsy in Isfahan Iran]. Med Lab J 2017;11: 30-4. (Persian)
14. Jin B, Li YP. Curcumin prevents lipopolysaccharide induced atrogin 1/MAFbx upregulation and muscle mass loss. J Cell Biochem2007;100: 960-9. doi.10.1002/jcb.21060
15. Ramezani M, Nasri S, Yassa N. Study of anti inflammatory effect of aqueous and hexane extract of Apium graveolens L. in Mice. Iranian J Med Arom Plants 2009;24: 437-43. doi.cabdirect/abstract/20093145047
16. Zanchi NE, Siqueirafilho MA, Lira FS, Rosa JC, Yamashita AS, Oliveira CR, et al. Chronic resistance training decreases MuRF1 and Atrogin1 gene expression but does not modify Ak and GSK-3β and p70S6K levels in Rats. European J Appl Physiol 2009;106: 415-23. doi.10.1007/s00421-009-1033-6
17. Dang K, Li YZ, Gong LC, Xue W, Wang HP, Goswami N, et al. Stable atrogin1 and murf1 gene expression is involved in the protective mechanism in soleus muscle of hibernating daurian ground squirrels Spermophilus dauricus. Biology Open 2016;5: 62-71. doi. 10.1242/bio.015776
18. Kafeshani M, Mirhosseini M, Momeni A, Rabiei R, Rafieiankopaei M. Impact of Kelussia odoratissima mozaffarian lipid profile and fasting blood sugar in hyperlipidemia patients. J Nephropharmacol2017;6: 9.
19. Hoseini A. [The effect of eight weeks of curcumin supplementation on the expression of Some regulatory genes of atrophic processes in the heart tissue of fatty adult fatty Rats]. J Fasa Uni Med Sci 2019;9: 1425-32. (Persian).

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-09-22]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1400.29.4.5.3]
[DOI: 10.52547/sjimu.29.4.83]