مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره ۲۰ ، شماره ۵، آذر و دی ۱۳۹۱
صفحه: ۶۵۶-۶۴۸

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol. 20, No. 5, Nov-Dec 2012
Pages: 648-656

نقش اسید ایکوزاپنتاانوئیک(EPA) بر بیان ژن گیرنده آلفای فعال‌شده در پروکسیزوم‌های در حال تکثیر (PPARα)

مسعود صالحی پور[۱]، حسین نهنگی[۲]، رضا منصوری[۳]، جواد زواررضا[*۴]

۱- استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند
۲- استادیار گروه آناتومی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد
۳- استادیار گروه ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد
۴- استادیار گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۲/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۴/۲۲

چکیده

مقدمه: یکی از مهمترین عامل در شروع و پیشرفت آترواسکلروز نقص هموستازکلسترول در ماکروفاژها و تبدیل آنها به سلول‌های کفی می‌باشد. ژن‌ها و عوامل رونویسی بسیاری مانند PPARα: Peroxisome Proliferator Activated Receptors در هموستاز کلسترول در این سلول‌ها دخالت دارند. اسیدهای چرب از نوع n-3 یکی از مهمترین عوامل تنظیم کننده فعالیت بیان این ژن‌ها به حساب آمده و بنابراین می‌توانند متابولیسم کلسترول درون سلولی و پیشرفت فرایند آترواسکلروز را متأثر سازند. اسید ایکوزاپنتاانوئیک (EPA) در بین این نوع اسیدهای چرب از فراوانی در رژیم غذایی برخوردار است، بنابراین مطالعه اثر آن بر روی بیان ژن فوق از اهمیت به سزایی برخوردار است.

روش بررسی: در این مطالعه LDL توسط روش اولتراسانتریفیوژ با شیب دانسیته جداسازی شده و توسط استات سدیم استیله شد. برای تبدیل ماکروفاژها به سلول‌های کفی، LDL استیله شده به مقدار ۵۰ ماکروگرم در اختیار سلول‌ها قرار گرفت. اثر EPA و لیگاند سنتزی (Wy14643) بر روی بیان ژن PPAR توسط Real time PCR در سلول‌های کفی مشتق از سلول‌های THP-1 بررسی شد.

نتایج: تیمار سلول‌های کفی با EPA سبب کاهش معنی‌دار در کلسترول تام، کلسترول آزاد و استر کلسترول سلولی گردید ($p\leq ۰/۰۵$). EPA و Wy14643 سبب افزایش معنی‌دار بیان ژن PPAR در این سلول‌ها شد.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که این اسید چرب اثر منحصر به فرد و خاصی بر روی بیان ژن و متابولیسم لیپید داشته که می‌تواند از طریق مکانیسم‌های دیگری به جز PPAR مانند مسیر LXR نیز بر روی هموستاز کلسترول درون سلولی اثرگذار باشد.

واژه‌های کلیدی: سلول کفی، اسید ایکوزاپنتا انوئیک، Real time PCR، PPARα، سلول THP-1

* (نویسنده مسئول)؛ تلفن:۰۹۱۲۵۰۲۸۷۴۲، پست الکترونیکی: jzavar@ssu.ac.ir

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-25]

مقدمه

لیپیدهای غذایی (Exogenous Fats) یکی از درشت مغذی‌های ضروری (Macronutrients) برای رشد و تکامل تمام موجودات به حساب می‌آیند. این ترکیبات، سوبسترا برای تأمین انرژی، ترکیبات ساختاری غشاء سلول و مولکول‌های پیام رسان را فراهم می‌سازند. تغییر در کمیت یا کیفیت لیپیدهای غذایی هضم شده اثرات مختلفی بر روی سیستم‌های زیستی بر جای می‌گذارد و عدم تعادل میان اسیدهای چرب مصرفی از نوع اشباع و غیراشباع یا غیراشباع از نوع n-3 و n-6 سبب شروع و پیشرفت چندین نوع بیماری مزمن همچون دیابت، چاقی، سرطان و به ویژه تصلب شرائین یا آترواسکلروز می‌شود(۱).

در فرایند ایجاد آترواسکلروز عوامل عروقی، بیوشیمیایی و فیزیکی دخالت دارند. اندوتلیوم به عنوان یک سد انتخابی میان خون و بافت‌ها عمل می‌کند و مولکول‌های تنظیمی ترشح می‌کند که می‌توانند ترومبوز، التهاب، تونوس عروقی و نوآرائی عروقی را تنظیم نمایند(۲). یکی از مهمترین عوامل فیزیکی که بر روی سلول‌های اندوتلیال اثر می‌گذارند استرس در اثر جریان (Shear Stress Fluid) به ویژه در محل انشعابات سرخرگی است، زیرا جریان خون در این مناطق نامنظم بوده و جهت خاصی ندارد. نفوذپذیری لایه اندوتلیال در این مناطق افزایش یافته و در نتیجه ماکرومولکول‌هایی مانند LDL و HDL بر اساس شیب غلظت از خون وارد لایه انتیمای عروق می‌شوند. در این لایه توسط گونه‌های فعال اکسیژنی، (ROS) اکسید شده و LDL تغییر یافته (m-LDL) به ویژه LDL اکسید شده (ox-LDL) تولید می‌شود که یک اتوآنتی‌بادی برای سیستم ایمنی به حساب می‌آید و با فعال کردن سلول‌های ایمنی و بلعیده شدن توسط ماکروفاژها (MQ) در ایجاد سلول کفی شرکت می‌کنند(۳).

ox-LDL بلعیده شده توسط MQ وارد لیزوزوم‌ها شده و محتوای استر کلسترول (EC) آنها به کلسترول آزاد (FC) و اسید چرب آزاد (FFA) هیدرولیز می‌شود. کلسترول آزاد توسط اسیل کوآ اسیل ترانسفراز (ACAT1) دوباره استریفیه شده و در درون سلول به صورت قطرات چربی (Fat Droplet) انباشته می‌شود. در واقع نتیجه اصلی برداشت ox-LDL توسط MQ تولید و ذخیره ذرات اسید کلسترول در درون سلول و ایجاد ظاهر کفی (Foam) آن می‌باشد. این سلول‌های کفی نقشی پر اهمیت در شروع و پیشرفت فرایند پلاک آترواسکلروز دارند(۳).

نقش محافظتی اسیدهای چرب امگا- ۳ در بیماری‌های قلبی ـ عروقی یا Cardiovascular Diseases؛ CVD در مطالعات مختلف به اثبات رسیده است(۴). اسیدهای چرب PUFA امگا ۳ از طریق تغییر در بیان ژن و فعالیت پروتیئن‌های هسته‌ای مانند گیرنده‌های فعال شده تکثیر پراکسیزومی (PPAR) اثرات خود را اعمال می‌نمایند(۵).

خانواده PPAR درای سه ژن PPARα، PARβ/δ، PPARγ است. تمام PPARها توسط اسیدهای چرب و برخی لیگاندهای شیمیایی و سنتزی فعال می‌شوند. این عوامل دارای پراکنش، کار و نقش‌های گسترده‌ای هستند. در این تحقیق در مورد وظیفه یکی از اعضاء این کلاس یعنی PPARα در ماکروفاژها که نقش بسیار مهمی در متابولیسم لیپیدها دارد صحبت می‌گردد(۶،۷).

PPARα بیشتر در بافت‌های درگیر در اکسیداسیون اسیدهای چرب من جمله کبد، چربی قهوه‌ای، قلب، سلول‌های دیواره عروق، مونوسیت‌ها/ ماکروفاژها و سلول‌های اندوتلیال بیان شده و بیان ژن‌های دخیل انتقال و بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب در میتوکندری را کنترل می‌کند(۱).

با توجه به اعمال متعدد و بسیار گسترده PPARα در هموستاز لیپید شگفت انگیز نخواهد بود که در آترواسکلروز نقش مهم و برجسته‌ای داشته باشد.

بهترین لیگاندهای اندوژن PPARα اسیدهای چرب PUFA مانند اسید لینولنیک (EPA)، اسید دوکوزاهگزااینوئیک (DHA) و اسید ایکوزاپنتا انوئیک (EPA) هستند و فعال شدن آن سبب کاهش خطر بیماری‌های قلبی ـ عروقی می‌شود. بنابراین احتمال دارد فعال شدن عوامل فوق یکی از مهمترین دلایل کاهش بیماری‌های قلبی ـ عروقی توسط اسیدهای چرب PUFA به حساب آید(۱).

با توجه به مطالب گفته شده این مطالعه قصد دارد مکانیسم دقیق آثار محافظتی اسیدهای چرب امگا ۳ را در سطح سلولی

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-25]

مولکولی در درون سلول‌های ماکروفاژ کفی بررسی نماید.

روش بررسی

این تحقیق به روش تجربی صورت گرفت. نمونه‌های خون از ۲۰ فرد مذکر بین ۵±۳۰ سال که دارای پروفایل لیپیدی و لیپوپروتئینی طبیعی بودند، گرفته شد. از آنجایی که تنها سالم بودن افراد مهم است و مرد یا زن بودن آنها چندان اهمیتی نداشت برای یکنواخت شدن نمونه‌ها و با توجه به بالاتر بودن میزان LDL در مردان در این سن، تنها از افراد مذکر نمونه خون گرفته شد.

از هر فرد حدود ۱۰-۱۵mL خون در لوله‌های دارای ضدانعقاد Na2EDTA (غلظت نهایی ۱ mg/mL) جمع‌آوری گشت. نمونه‌ها در ۱۵۰۰g به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ºC سانتریفیوژ شدند. در مرحله بعد TG و TC توسط روش آنزیماتیک، لیپوپروتئین‌ها به روش الیزا و Lp(a) توسط روش کدورت‌سنجی اندازه‌گیری شدند. برای جداسازی لیپوپروتئین‌ها، پلاسما در دمای ۷۰ºC- نگهداری شدند.

بعد از ایجاد شیب در لوله‌های دستگاه اولتراسانتریفیوژ، (SW41-ti Swing Bucket Rotor) با نیروی ۲۰۰۰۰۰g به مدت ۱۰ ساعت در دمای ۴ºC در دستگاه اولتراسانتریفیوژ (Beckman Coulter, Inc, Palo Alto, CA) سانتریفیوژ شدند(۸) و LDL با وزن مخصوص بین ۱/۰۳۵g/mL و ۱/۰۶۵g/mL جداسازی گردید.

برای ایجاد LDL تغییر یافته(m-LDL)، LDL توسط روش Fraenkel-Conrat استیله شد. در این روش به محلول LDL اسید استیک و اندیریداستیک طی چندین مرحله و به آرامی اضافه شد(۷). بعد از اتمام فرایند استیلاسیون، محلول به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ºC در برابر ۱۲ L محلول NaCl-EDTA (0.15 M NaCl, 0.3M EDTA, and pH 7.4) دیالیز گردید(۹).

جهت اثبات استیله شدن LDL، خصوصیات الکتروفورتیکی LDL حاصل از مرحله قبل بر روی صفحات استات سلولز، با ولتاژ ۲۰۰ و به مدت ۴۰ دقیقه در بافر باربیتورات (pH=8.65) و رنگ‌آمیزی(Pansue S (0.5 g/100 H2O انجام گرفت(۱۰).

جهت تعیین غلظت پروتئین از روش استاندارد سنجش کمی پروتئین به روش برادفورد (Bradford Protein Assay) استفاده شد(۱۰).

سلول‌های THP-1 در محیط RPMI 1640 با غلظت ۱۰٪FBS استرپتومایسین، آمفوتریسین B، گلوتأمین ۲ mM آتمسفر مرطوب دارای ۵٪ CO2 در دمای ۳۷ºC کشت داده شدند. برای تمام آزمایشات، سلول‌ها به تعداد ۱×۱۰۶ در فلاسک‌های ۲۵cm^2 انجام گرفت و محیط RPMI 1640 به محیط بدون سرم (Serum SFM: Free Medium) تغییر داده شد.

اثراسید ایکوزاپنتاانوییک(20:5;5,8,11,14) (3) و لیگاندهای سنتزی PPAR (Wy14643) بر حیات سلولی توسط تست XTT اندازه‌گیری شد(۱۱) و میزان حیات سلولی با گروه کنترل مقایسه شدند.

برای تمایز مونوسیت‌های THP-1 به MQ، با محیط کشت RPMI1640 شسته شدند و در محیط SFM شناور شدند. به محیط کشت ۱۰۰ng/ml PMA (Phorbol 12-Myristate 13-Acetate) به مدت ۷۲ ساعت اضافه شد(۱۲). بعد از تمایز سلولی برای تبدیل MQ به سلول کفی، MQ در حضور ۵۰µg/mL ac-LDL حل شده در محیط SFM کشت شدند(۱۳).

تمام اسیدهای چرب و لیگاندهای سنتزی در DMSO (غلظت نهایی DMSO در محیط کمتر ۰/۱٪ است) حل شدند. تیمار با اسیدهای چرب و لیگاندها ۲۴ ساعت قبل از تبدیل MQها به سلول کفی انجام گرفت. غلظت اسیدهای چرب در این تحقیق ۱۰۰µM از اسید ایکوزاپنتاانوییک (20:5;5,8,11,14) (EPA)، ۵۰ µM فعال کننده PPARα (Wy14643) بود. برای نشان دادن تجمع قطرات چربی در درون سلول‌های کفی، سلول‌ها توسط Red O Oil رنگ‌آمیزی شدند.

میزان بیان mRNA توسط Real-Time PCR تعیین کمیت شد. روش Real Time PCR برای بررسی کمی بیان ژن استفاده می‌گردد. RNA تام سلولی با استفاده از کیت RNA easy (Qiagen, USA) استخراج گردید و غلظت RNA توسط روش اسپکتفوتومتری در طول موج‌های ۲۶۰nm و ۲۸۰nm سنجش گردیده و میزان خلوص آن تعیین گردید. RNA

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-25]

استخراج شده برای مراحل بعدی در دمای ۷۰°C- نگهداری گردید. ۱µg از RNA توسط کیت quantiTect (Qiagen,USA) Reverse Transcription به cDNA تبدیل گردید. سنجش کمی بیان ژن (Real Time PCR) توسط کیت SYBER Green (Qiagen, USA) صورت پذیرفت. شاخص‌های عمل PCR به صورت زیر بود: ۹۵°Cبه مدت ۱۰ دقیقه، ۴۰ سیکل (۹۵°C به مدت ۱۵ ثانیه، ۶۰°C به مدت ۶۰ ثانیه).

نتایج واکنش با استفاده از روش Delta Delta CT با استفاده از Efficiency تصحیح شده، مورد بررسی قرار گرفتند. Efficiency هر یک از واکنش‌ها به طور اختصاصی و با استفاده از نرم‌افزار LinReg محاسبه و در معادله مورد استفاده قرار گرفت. همچنین در این مطالعه از ژن Actin به عنوان ژن خانه‌دار استفاده شد.

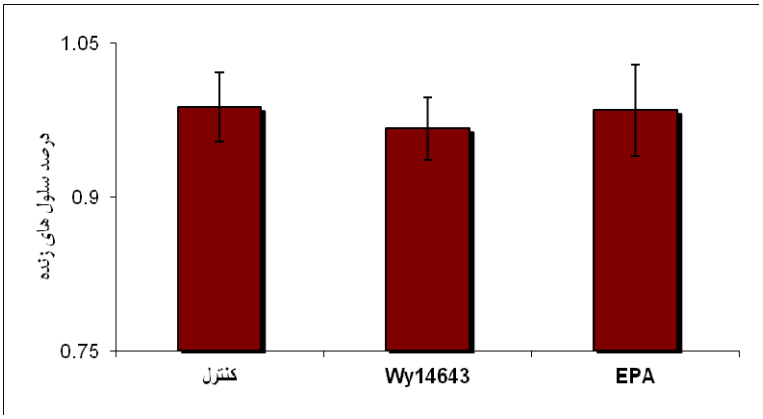
جهت اندازه گیری کلسترول تام، کلسترول آزاد و کلسترول استر داخل سلولی، ابتدا تعداد مشخصی سلول‌ها توسط بافر PBS شسته شدند و سلول‌ها توسط بافر RIPA لیز شدند و میزان پروتئین توسط روش برادفورد اندازه‌گیری شد(۱۲).

جهت اندازه‌گیری کلستروم تام، کلستروم آزاد و استرکلسترول سلول‌ها در ۲۰۰ میکرولیتر هگزان - ایزوپروپان(۳:۲) هموژنیزه شدند(۷). فاز آلی برای اندازه‌گیری کلستروم تام و استرکلسترول توسط روش آنزیمی انجام گرفت. نتایج به صورت g Lipids/mg Cellular Proteins بیان شد.

تمام نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شدند. تفاوت میان گروه‌ها توسط تست One-Way ANOVA و Tukey Multiple Comparison در نرم افزار SPSS مشخص گردیدند و سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

تست XTT نشان داد که EPA و لیگاند سنتزی PPAR (Wy14643) نسبت به گروه کنترل (DMSO) اثر معنی‌داری بر روی میزان حیات سلولی ندارد (نمودار ۱).



نمودار ۱: حیات سلولی در حضور اسید چرب و لیگاند سنتزی نتایج به صورت درصد جذب نوری (%OD) ارائه شده است(*p<۰/۰۵)

بررسی اثر EPA بر روی میزان استرکلسترول و کلسترول آزاد نشان داد که اسید EPA و لیگاندهای سنتزی (Wy14643) PPAR سبب کاهش معنی‌دار (p=۰/۰۵) سطح کلسترول تام، کلسترول آزاد و استرکلسترول و نیز درصد استر کلسترول داخل سلولی می‌شوند (نمودار ۲).

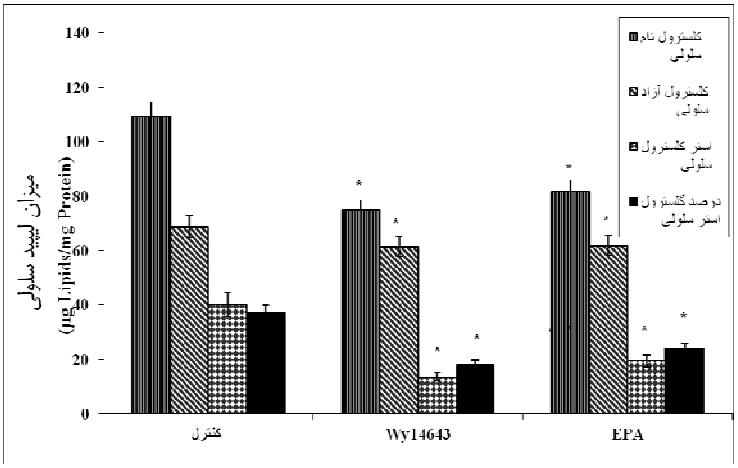
میزان کلسترول تام و کلسترول آزاد توسط روش آنزیمی اندازه‌گیری شد و میزان استر کلسترول به صورت تفاوت میان کلسترول تام و کلسترول آزاد محاسبه گردید. نتایج حاصل سه آزمایش مستقل به صورت دوبار تکرار صورت گرفت. مقایسه میان گروه‌ها توسط تست آماری ANOVA و به دنبال آن تست آماری Tukey multicomparison صورت گرفت (*p<۰/۰۵).

سطوح mRNA توسط روش Cyber Green آنالیز شده‌اند. نتایج نسبت به بیان ژن actin- نرمالایز شده‌اند (*p <۰/۰۵).

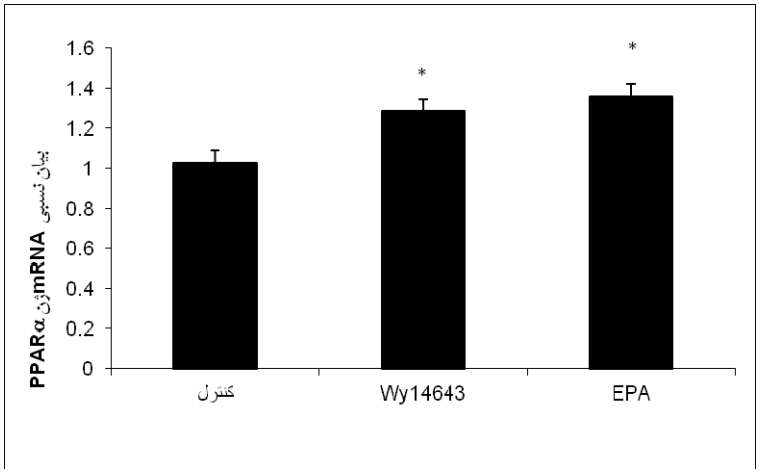
تیمار با EPA و WY14643 سبب افزایش معنی‌دار سطح

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-25]

بیان mRNA ژن PPAR نسبت به گروه کنترل (که تنها DMSO دریافت کرده بودند) گردید (p =۰/۰۵) (نمودار ۳).



نمودار ۲: EPA سطح کلستروم تام، کلستروم آزاد و استرکلسترول در مقایسه با گروه کنترل در سلول‌های کفی مشتق از THP-1



نمودار ۳: اثرات EPA و لیگاند سنتزی PPAR بر روی بیان ژن PPARα در سلول‌های کفی مشتق از ماکروفاژهای THP-1

بحث و نتیجه‌گیری

ماکروفاژهای کفی در تمام مراحل آترواسکلروز دخالت دارند و از طرفی اثبات شده است که ماکروفاژهای مشتق از THP-1 را می‌توان به عنوان یک مدل قابل اعتماد برای مطالعه متابولیسم لیپید در MQهای انسانی در نظر گرفت. افزایش برداشت m-LDL مانند ac-LDL از طریق گیرنده‌های به دام انداز (SRs) توسط MQ باعث تجمع کلسترول آزاد و استر کلسترول در درون سلول گشته و نهایتاً منجر به ایجاد سلول کفی می‌شود(۱۴). مطالعات قبلی نشان داده‌اند اسیدهای چرب امگا ۳ مانند EPA می توانند پیشرفت فرایند آترواسکلروز را مهار و بنابراین ترکیبات ضدآتروژنیک است. البته برخی مطالعات انجام شده مانند تحقیقی که توسط Mondy انجام گرفت خواص آتروژنیک این اسیدهای چرب را در موش‌های C57BL/6 نشان داده‌اند(۱۵). این تحقیق اثرات EPA بر روی پراکنش کلسترول و بیان ژن PPAR را در سلول‌های کفی مشتق از THP-1 بررسی می‌نماید. اسیدهای چرب مانند n-3 PUFA به عنوان یکی از سوبستراهای آنزیم ACAT1 به حساب می‌آیند. آنزیمACAT1 این اسیدهای چرب را با کلسترول به صورت استر درآورده و استرکلسترول در درون سلول ذخیره

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-25]

می‌نماید. بنابراین غلظت درون سلولی اسیدهای چرب می‌تواند بر روی میزان فعالیت و مقدار پروتئین این آنزیم اثر داشته باشد. همانگونه که قبلاً اشاره شد افزایش میزان استرکلسترول درون سلولی یک عامل مهم در تبدیل MQ به سلول کفی می‌باشد.

این مطالعه نشان داد که انکوباسیون سلول‌های کفی با EPA و لیگاند سنتزی مربوط به PPAR میزان کلسترول تام، استرکلسترول و کلسترول آزاد و درصد استرکلسترول را کاهش می‌دهد. این یافته‌ها نتایج به دست آمده توسط Weldon و همکاران و Chinetti و همکاران را تأیید نمود(۱۲،۱۳). این یافته‌ها را می‌توان به وسیله خروج (efflux) تقویت شده کلسترول از سلول توسط ABCA1 و مهار مسیر ACAT1 بیان کرد. به دلیل اینکه اسیدهای چرب می‌توانند مسیرهای LXR و SREBP را تحت تأثیر قرار دهند، بررسی‌های بیشتری برای تعیین نقش اسیدهای چرب در متابولیسم لیپید در سلول‌های کفی لازم است(۱۶).

یکی از مهمترین تغییرات در تشکیل سلول‌های کفی و بنابراین شرکت آنها در فرایند آترواسکلروز تجمع قطرات لیپید در ماکروفاژ در MQ است. عوامل و ژن‌های زیادی در تجمع لیپید دخالت دارند، از این عوامل و ژن‌ها نقش PPAR در این پدیده بسیار متمایز و برجسته است. یکی از مهمترین لیگاندهای آنها اسیدهای چرب می‌باشند.

این ژن مسئول بیان عوامل رونویسی است که نقش مهمی در تنظیم بیان ژن‌های دخیل در متابولیسم لیپید و گلوکز و نیز فرایندهای التهابی دارد. PPAR در بسیاری از انواع سلول‌های انسانی از جمله MQهای طبیعی و نیز MQها یافت شده در پلاک‌های آترواسکلروزی بیان می‌شود. در MQها تعادل میان کلسترول آزاد و استرکلسترول در سلول‌های کفی مشتق از THP-1، نقش این فاکتور رونویسی بسیار شاخص است(۱۱). مثلاً فعال شدن PPAR توسط اسیدهای چرب می‌تواند بیان آنزیم‌هایی مانند CPT-1 یک آنزیم کلیدی در کاتابولیسم اسیدهای چرب را القاء نموده، دسترسی اسیدهای چرب به عنوان یکی از سوبستراهای اصلی ACAT1 را محدود ساخته(۱۲) و بنابراین می‌تواند منجر به کاهش کلسترول تام و استرکلسترول درون سلولی شود(۱۲،۱۶). اما این احتمال نیز وجود دارد که تحریک خروج کلسترول از غشاء سلول توسط عواملی مانند ژن‌های تنظیم شده توسط LXR سبب کاهش کلسترول درون سلولی به عنوان سوبسترای ACAT1 شده و در نتیجه میزان کلسترول تام و استر کلسترول درون سلولی کاهش یابد(۱۸). در این مطالعه Wy14643 سبب افزایش بیان PPAR در سلول‌های کفی گردید و لیکن EPA اثری را نشان نداد. برخی تحقیقات نشان داده‌اند که اسیدهای چرب غذایی بیان ژن PPAR را در سلول‌های کفی مشتق از THP-1 و سایر بافت‌ها القاء نمی‌کنند(۱۲،۱۹،۲۰). البته برخی تحقیقات نیز وجود دارند که رژیم غذایی غنی از PUFA می‌تواند میزان mRNA ژن PPAR را افزایش دهد(۲۱).

در این مطالعه Wy14643 میزان بیان ژن PPAR را در MQها افزایش داد($p\leq ۰/۰۵$) ولیکن همانگونه که قبلاً بیان شد EPA در سلول‌های کفی هیچ گونه اثر معنی‌داری نداشت. این رخداد نشان می‌دهد که متاوبولیسم لیپید در سلول‌های کفی با MQها متفاوت بوده و میانکنش و هماهنگی میان عوامل مختلف دخیل در این فرآیند در دو نوع سلول یکسان نیست.

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد که هر اسید چرب می‌تواند لیگاندی منحصر به فرد بوده که میل ترکیبی ویژه‌ای برای عوامل رونویسی و ژن‌های مختلف دارد. این لیگاندها اثرات ویژه و منحصر به فرد بر روی متابولیسم لیپید در سلول‌های کفی دارند. هماهنگی میان ژن‌های دخیل در متابولیسم لیپید این سلول‌ها بسیار پیچیده بوده و این می‌تواند نتایج مختلف به دست آمده توسط محققین مختلف را توجیه نماید. برای شناخت کامل و دقیق اثر هر اسید چرب و نقش هر ژن و عامل رونویسی بر روندهای منتج به تشکیل سلول کفی و ایجاد آترواسکلروز، مطالعه همزمان این ژن‌ها توسط روش‌هایی مانند استفاده از تراشه‌های میکرواری می‌تواند سودمند باشد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از دانشگاه آزاد واحد پرند تشکر به عمل می‌آید.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-25]

منابع:

1- Castrillo A, Tontonoz P. ***Nuclear receptors in macrophage biology: at the crossroads of lipid metabolism and inflammation.*** Annu Rev Cell Dev Biol 2004; 20: 455-80.

2- Lusis AJ. ***Atherosclerosis.*** Nature 2000; 407: 233-41.

3- Rader DJ, Puré E. ***Lipoproteins, macrophage function, and atherosclerosis: beyond the foam cell?*** Cell Metab 2005; 1(4): 225-30.

4- Dyerberg J, Bang HO, Hjorne N. ***Fatty acid composition of the plasma lipids in Greenland Eskimos.*** Am J Clin Nutr 1975; 28(9): 958-66.

5- Jump DB. ***Fatty acid regulation of gene transcription.*** Crit Rev Clin Lab Sci 2004; 41(1): 41-78.

6- Bradford M. ***A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding.*** Anal. Biochem 1976; 72: 248-54.

7- Lida KT, Kawakami Y, Suzuki H, Sone H, Shimano H, Toyoshima H, et al. ***PPARa ligands, troglitazone and pioglitazone, up-regulate expression of HMG-CoA synthase and HMG-CoA reductase gene in THP-1 macrophages.*** FEBS Lett 2002; 520(1-3): 177-81.

8- Havel R, Eder HA, Bragdon JH. ***The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human plasma*** J Clin Invest 1995; 34(9)1345-53.

9- Fraenkel-Conrat H. ***Methods for in vestigating the essential groups for enzyme activity.*** Methods Enzymol 1957; 4: 247-69.

10- Magnani N, Howard N. ***A quantitative method for blood lipoproteins using Cellulose acetate electrophoresis***. J Clin Pathol 1971; 24(9): 837-45.

11- Scudiere DA, Shoemaker RH, Paul K, Monks A, Tierney S, Nofziger T, et al. ***Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines1.*** Cancer Res 1998; 48: 4827-33.

12- Weldon SM, Mitchell S, Kelleher D, Gibney M, Roche H. ***Conjugated linoleic acid and atherosclerosis :no effect on molecular markers of cholesterol homeostasis in THP-1 macrophage.*** Atherosclerosis 2004; 174(2): 261-73.

13- Chinetti G, Lestavel S, Fruchart J, Clavey V, Staels B. ***Peroxisome proliferators –activated receptor alpha reduces cholesterol estrification in macrophages.*** Circ Res 2003; 92(2): 212-7.

14- Kritharides L, Christian A, Stoudt G, Morel D, Rothblat G. ***Cholesterol metabolism and efflux in human THP-1 macrophages.*** Arterioscler Thromb Vasc Biol 1998; 18: 1589-99.

15- Munday JS, Thompson KG, James K. ***Dietary conjugated linoleic acids promote fatty streak formation in the C57BL/6 mouse atherosclerosis model***. Br J Nutr 1999; 81(3): 251-5.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-25]

16- Zhang J, Kris-Etherton PM, Thompson JT, Hannon DB, Gillies PJ, Heuvel JP. ***Alpha-linolenic acid increases cholesterol efflux in macrophage-derived foam cells by decreasing stearoyl CoA desaturase 1 expression: evidence for a farnesoid-X-receptor mechanism of action.*** J Nutr Biochem 2012; 23(4): 400-9.

17- Argmann CA, Sawyez CG, McNeil CJ, Hegele RA, Huff MW. A***ctivation of PPAR gamma and retinoid X receptor results in net depletion of cellular cholesteryl esters in macrophages exposed to oxidized lipoproteins***. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2003; 23(3): 475-82.

18- Chinetti G, Fruchart JC, Staels B. ***Transcriptional regulation of macrophage cholesterol trafficking by PPARα and LXR***. Biochem Society Transact 2006; 34(Pt 6): 1128-31.

19- Sugiyama E, Ishikawa Y, Li Y, Kagai T, Nobayashi M, Tanaka N, et al. ***Eicosapentaenoic acid lowers plasma and liver cholesterol levels in the presence of PPAR alpha***. Life Sci 2008; 83(1-2): 19-28.

20- Vecchini A, Ceccarelli V, Susta F, Caligiana P, Orvietani P, Binaglia L, et al. ***Dietary- linolenic acid reduces COX-2 expression and induces apoptosis of hepatoma cells***. J Lipid Res 2004; 45(2): 308-16.

21- Coyne GS, Kenny DA, Childs S, Sreenan JM, Waters SM. ***Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids alter the expression of genes involved in prostaglandin biosynthesis in the bovine uterus.*** Theriogenology 2008; 70(5): 772-82.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-25]

Role Ecosapantaenoic Acid(EPA) on the gene expression of Peroxisome Proliferators Activated Receptors

Salehi M(PhD)[1], Nahangi H(PhD)[2], Mansori R(PhD)[3], Zavarreza J(PhD)[*4]

[1]*Department of biology, Azad University ,Parand, Iran*
[2]*Department of Anatomy, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran*
[3]*Departmentog of immunology, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran*
[4]*Department of Biochemistry, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran*

Received: 6 May 2012 ***Accepted:*** 12 Jul 2012

Abstract

Introduction: Defect in the cholesterol homeostasis in macrophage as well as converting them to foam cells is one of the most important factors in the initiation and progression of atherosclerosis. Many genes and transcription factors like Peroxisome Proliferators Activated Receptors are involved in cholesterol homeostasis in these cells. N-3 fatty acids are one of the most important factors regulating the expression of these genes and thus can affect intracellular metabolism of cholesterol, initiation, and progression of atherosclerosis. Ecosapantalenic acid (EPA) among N-3 fatty acids in the diet is the most frequent .Therefore studies investigating its effect on the gene expression have great significance.

Methods: In this study, LDL was isolated by density gradient ultra centrifugation method and then was acetylated with sodium acetate. To convert macrophages into foam cells, macrophages were incubated with Acetylated LDL in a concentration of 50g / mL. The effects of EPA and the synthetic ligand (Wy14643) on the gene expression of PPAR α gene in foam cells derived from THP-1 cells were investigated by Real time PCR technique.

Results: treatment of cells with EPA caused a decrease in cellular cholesterol, free cholesterol and cholesterol ester ($P \leq 0.05$). EPA and wy14643 significantly increased gene expression of PPAR α in these cells.

Conclusion: It seems that this fatty acid had unique and special effect on the gene expression and lipid metabolism in foam cells. Also, mechanisms other than PPAR α such as LXR can also be effective on intracellular cholesterol homeostasis in foam cells. In order to gain more information regarding effects of this fatty acids, simultaneous study of genes involved in lipid metabolism within the foam cell will be needed.

Keywords: Ecosapantalenic Acid; foam cells; Peroxisome Proliferators Activated Receptors; Real time PCR; THP-1

This paper should be cited as:
Salehi M, Nahangi H, Mansori R, Zavarreza J. ***Role ecosapantaenoic acid (EPA) on the gene expression of peroxisome proliferators activated receptors***. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2012; 20(5): 648-56.

****Corresponding author: Tel: +98 9125028742, Fax: +98 8203414, Email: jzavar@ssu.ac.ir***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-25]