افزایش بیان آپولیپوپروتئین D در بافت قلب رت‌های هیپرتیروئید و هیپو تیروئید

مرضیه سلامی [۲و۱](M.Sc)، رقیه پاکدل [۳](Ph.D)، حمیدرضا ثامنی [۴](Ph.D)، عباس پاکدل [۴و۱*](Ph.D)، عباسعلی وفایی [۳](Ph.D)

۱- گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

۲- کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

۳- مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

۴- مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی سیستم عصبی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

* نویسنده مسئول، تلفن: ۳۳۲۶۴۱۶۲-۰۲۳ pakdel@semums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۵/۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۸/۲۴

چکیده

هدف: قلب از ارگان‌هایی است که تحت تأثیر اختلالات هورمون‌های تیروئید قرار می‌گیرد. آپولیپوپروتئین D (آپو D) یک گلیکوپروتئین چندعملکردی است که در بافت‌های مختلف از جمله بافت قلب بیان می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی اثر کم‌کاری و پرکاری تیروئید القائی بر سطح پروتئین آپو D در بافت قلب بود.

مواد و روش‌ها: به منظور القاء کم‌کاری و پرکاری تیروئید در رت‌ها به ترتیب از داروی پروپیل تیواوراسیل (PTU, ۱۰۰ ppm) و داروی لووتیروکسین (L-T4, ۸ ppm) به صورت محلول در آب آشامیدنی، به مدت ۶ هفته استفاده شد. اندازه‌گیری هورمون T3 تام سرمی با استفاده از روش الایزا انجام شد. پس از تائید ایجاد مدل، رت‌ها بی‌هوش شده و بافت قلب خارج گردید و بطن و آپکس قلب برای بررسی بافت‌شناسی مورد استفاده قرار گرفت. برای بررسی سطح بیان آپو D از تکنیک ایمونوهیستوشیمی استفاده شد.

یافته‌ها: بررسی داده‌ها نشان داد که بیان آپو D در بافت قلب رت‌های هیپوتیروئید ($P\leq ۰/۰۵$) و هیپرتیروئید ($P\leq ۰/۰۰۱$) نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری افزایش داشته است.

نتیجه‌گیری: یافته‌ها نشان می‌دهد که بیان آپو D قلب در هر دو اختلال هیپوتیروئیدی و هیپرتیروئیدی افزایش می‌یابد که ممکن است بخشی از یک سیستم ذاتی برای محافظت از قلب در برابر صدمات ناشی از استرس اکسیداتیو و التهاب در این اختلالات باشد.

واژه‌های کلیدی: کم‌کاری تیروئید، پرکاری تیروئید، قلب، آپولیپوپروتئین D، ، هورمونهای تیرویید

مقدمه

قلب، مهم‌ترین بافت هدف هورمون‌های تیروئید است. هورمون‌های تیروئید شامل تیروکسین (Thyroxine, T4) و تری‌یدوتیرونین (T3) اثرات مهمی بر سیستم قلبی عروقی دارند [۱-۳] که از طریق مکانیسم‌های ژنی و غیر ژنی ضربان قلب، برونده قلبی و فشارخون را تنظیم می‌کنند. T3 بیان ژن‌های کدکننده پروتئین‌های ساختاری و عملکردی قلب از جمله زنجیره سنگین میوزین آلفا، پمپ کلسیمی شبکه سارکوپلاسمی [۴]؛ گیرنده‌های بتا آدرنرژیک، تروپونین I قلبی و پمپ سدیم- پتاسیم را تنظیم می‌کند [۵].

مطالعات نشان می‌دهند که هر دو اختلال کم‌کاری و پرکاری تیروئید با تغییر بیان ژن‌های مربوط به پروتئین‌های دخیل در سیستم انقباضی، شبکه سارکوپلاسمی و غشای خارجی سلول‌های قلبی باعث اختلال در عملکرد قلب و سیستم قلبی- عروقی می‌شوند. افزایش بیش از حد هورمون‌های تیروئید با تغییر فرآیندهای متابولیسمی و اختلال در عملکرد انقباضی میوفیبریل‌ها، باعث کاردیومیوپاتی می‌شود که با هیپرتروفی بطن چپ، بزرگ شدن محفظه قلب، تاکیکاردی و فیبریلاسیون دهلیزی، افزایش فشار نبض، کاهش فشار دیاستولی و در نهایت نارسایی قلبی همراه است که از طریق مکانیسم‌های مختلف در نهایت منجر به نارسایی قلبی می‌شود [۱]. کاردیومیوپاتی اتساعی نوع دیگری از کاردیومیوپاتی است که در نتیجه آن عضلات کشیده و نازک می‌شوند، سپس دریچه قلب شل می‌شود که در اثر این عارضه قلب بزرگ می‌شود؛ این عارضه در نتیجه کم‌کاری تیروئید نیز ایجاد می‌شود [۶،۷]. یکی از مکانیسم‌های ایجادکننده نارسایی قلبی در پرکاری یا کم‌کاری تیروئید، استرس اکسیداتیو است [۸].

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-06-10]

[DOI: 10.52547/koomesh.23.3.409]

استرس اکسیداتیو در هر دو اختلال کم‌کاری و پرکاری تیروئید افزایش می‌یابد [۹]. افزایش هورمون‌های تیروئیدی با افزایش سطح متابولیسم پایه، افزایش تنفس میتوکندریایی، افزایش سنتز اجزای زنجیره انتقال الکترون باعث افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (reactive oxygen species, ROS) و ایجاد استرس اکسیداتیو می‌شود [۵]. تولید ROS در قلب به وسیله سایتوکاین‌ها و فاکتورهای رشد نیز انجام می‌شود که باعث القاء تشکیل پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های سوپراکسید به‌وسیله NAD(P)H اکسیداز در قلب می‌شود [۸].ROS از طریق مکانیسم غیر ژنومی و از طریق اتصال به رسپتورهای غشایی، باعث فعال شدن مسیرهای سیگنالینگ MAPK-JNK و مسیر NF-KB و در نهایت باعث هیپرتروفی و آپاپتوز در قلب می‌شود [۱۰،۱۱]. استرس اکسیداتیو ناشی از اختلالات تیروئید هم‌چنین باعث افزایش سطح LDL و لیپیدهای اکسیدشده می‌شود، این عوامل باعث تصلب شرایین و تنگی دریچه آئورت می‌شوند؛ و در نهایت منجر به انفارکتوس میوکارد و حتی مرگ می‌شوند [۸].

آپولیپوپروتئین D (آپوD، APOD) یک گلیکوپروتئین خارج سلولی از خانواده لیپوکالین‌هاست که به مولکول‌های هیدروفوبیک کوچک متصل می‌شود و در بافت‌های مختلف از جمله بافت قلب بیان می‌شود و نقش آن به بافت مربوطه وابسته است [۱۲]. مطالعات، نشان می‌دهند که میزان این پروتئین در شرایط استرس‌زا و در پاسخ به استرس اکسیداتیو افزایش پیدا می‌کند [۱۳–۱۵]. Bhatia و همکاران در مطالعه‌ای نشان دادند که آپو D از طریق ریشه محافظت‌شده متیونین، فرم پراکسید لیپیدی را به فرم هیدروکسیدی آن تبدیل می‌کند و از ادامه واکنش‌های رادیکالی جلوگیری می‌کند [۱۶]. مطالعه Wesley C.Y. Leungو همکاران نشان دادند که آپوD ، مهاجرت سلولی عضله صاف عروقی را با همکاری فاکتور رشد مشتق شده از پلاکت‌ها (PDGF) وساطت می‌کند و در غلظت بالایی در نمونه‌های آترواسکلوروزیس وجود دارد [۱۷]. Tsukamoto و همکاران در سال ۲۰۱۳ آپو D را به عنوان پروتئین حفاظت‌کننده قلب معرفی کردند و نشان دادند که افزایش این پروتئین سرعت انفارکتوس میوکارد را کاهش می‌دهد [۱۸].

اختلالات تیروئیدی حدود ۱۵–۹ درصد از جمعیت زنان بالغ را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در حالی‌که نارسایی قلبی در ۱۵–۶ درصد از بیماران پرکار تیروئیدی رخ می‌دهد [۵]. یکی از دلایل اصلی نارسایی قلبی در این بیماران استرس اکسیداتیو ناشی از اختلالات تیروئید است. درمان به موقع و کارآمد تظاهرات قلبی در این بیماران ضروری است؛ زیرا عوارض قلبی–عروقی در این بیماران در نهایت منجر به مرگ می‌شود. بنابراین شناخت مکانیسم‌های سلولی و مولکولی در اختلالات تیروئیدی ضروری است؛ در این مطالعه ما اثر هر دو اختلال کم‌کاری و پرکاری تیروئید را بر میزان بیان پروتئین آپو D را به عنوان یک عامل آنتی‌اکسیدانت و محافظ قلب مورد بررسی قرار دادیم.

مواد و روش‌ها

حیوانات. در این مطالعه ۱۵ سر رت ماده بالغ با نژاد ویستار و محدوده وزنی ۲۰۰–۱۸۵ گرم، از خانه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی سمنان تهیه گردید. حیوانات در شرایط کنترل شده محیطی با دمای (۲±۲۲)، دوره روشنایی/ تاریکی ۲۴ ساعته و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. این طرح در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی سمنان مطرح و با کد اخلاق IR.SEMUMS.REC.1397. 148 مورد تایید قرار گرفت.

طراحی آزمایش. بعد از یک هفته سازگاری با محیط، حیوانات به طور تصادفی به سه گروه ۵ تایی شامل کنترل، کم‌کاری تیروئید و پرکاری تیروئید تقسیم شدند. گروه کم‌کاری تیروئید: داروی پروپیل تیواوراسیل (Propylthioorcil, PTU) خریداری شده از شرکت آمریکایی سیگما را با دوز ۱۰۰ppm، به مدت ۶ هفته در آب آشامیدنی دریافت کردند. گروه کنترل: در این مدت آب آشامیدنی دریافت کردند. گروه پرکاری تیروئید: داروی لووتیروکسین (Levothyroxine،L-T4)، خریداری شده از شرکت ایرانی ابوریحان را با دوز ۸ppm در آب آشامیدنی، به مدت ۶ هفته دریافت کردند. بعد از پایان ۶ هفته، رت‌ها تحت بی‌هوشی عمیق با اتر قرار گرفتند، از آن‌ها خونگیری به عمل آمد، بافت قلب با دقت جدا شد، با نرمال سالین شست‌وشو داده شد و به منظور بررسی‌های بافت‌شناسی در فرمالین ۱۰ درصد به عنوان فیکساتیو قرار داده شد، بعد از فیکس شدن به صورت طولی برش داده شد و از نمونه بافت‌ها، بلوک‌های پارافینی تهیه گردید. برای اندازه‌گیری سطح سرمی T3، نمونه خون بعد از ۳۰ دقیقه نگه‌داری در دمای محیط، با دور ۱۰۰۰rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد، نمونه سرم جدا گردید و تا زمان اندازه‌گیری هورمون در دمای ۷۰– درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

اندازه‌گیری سطح سرمی T3. سطح سرمی T3 با روش الایزای رقابتی و با استفاده از کیت تجاری شرکت آمریکایی Dia plus، اندازه‌گیری شد.

رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی. به منظور انجام رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی، ابتدا از نمونه بافت‌های فیکس شده، مقاطعی به ضخامت ۵ میکرومتر با استفاده دستگاه میکروتوم تهیه گردید. این مقاطع به روی لام‌های شارژ مثبت منتقل شد. و به منظور

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-06-10]
[DOI: 10.52547/koomesh.23.3.409]

حذف پارافین و شفاف‌سازی بافت، لام‌ها ابتدا به مدت ۲ ساعت در فور با دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند و بعد از سرد شدن به مدت ۱۵ دقیقه در زایلن قرار گرفتند. نمونه بافت‌ها به وسیله سری الکل با غلظت نزولی (هر کدام ۳ دقیقه؛ الکل مطلق، ۹۰درصد، ۸۰درصد و ۵۰درصد) آب‌دهی شدند و در بافر تریس به مدت ۳ دقیقه شست‌وشو داده شدند. به منظور حذف فعالیت پروکسیداز بافتی، اسلایدها به مدت ۱۵ دقیقه در محلول ۳ درصد پراکسید هیدروژن (H_2O_2) / TBS در بافر نمکی تریس (Tris-buffered saline, TBS) انکوبه شدند. به منظور بازیابی آنتی‌ژن بافتی، اسلایدها به مدت ۲۰ دقیقه در بافر تریس با دمای ۹۸ درجه سانتی‌گراد و pH=۹ انکوبه شدند. اسلایدها دو مرتبه با TBS-tween-20 و هر مرتبه به مدت ۵ دقیقه شست‌وشو داده شدند. به منظور بلوکه کردن آنتی‌ژن‌های غیر اختصاصی، اسلایدها در آلبومین سرم گاوی (Bovine serum albumin) ۱ درصد در TBS در محفظه مرطوب، در دمای اتاق به مدت ۲ ساعت انکوبه شدند. سپس اسلایدها با آنتی‌بادی اولیه ضد APOD (ab187513; Abcam, USA) با غلظت ۱/۱۵۰ (ab/BSA۱٪) به مدت ۱ شب در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. اسلایدها ۳ مرتبه و هر مرتبه به مدت ۵ دقیقه در TBS-Tween-20 شست‌وشو داده شدند. اسلایدها با آنتی‌بادی ثانویه متصل به آنزیم HRP (Horse radish peroxidase) (ab7090, Abcam, USA) با غلظت ۱/۱۰۰ (ab/BSA1%)، در دمای اتاق و در تاریکی به مدت ۱ ساعت انکوبه شدند و سه مرتبه و هر مرتبه به مدت ۵ دقیقه با TBS-tween-20 شست‌وشو داده شدند و پس از آن در محول ۲ درصد DAB (ab946665,abcam,USA) به مدت ۱۰ دقیقه، در دمای اتاق و تاریکی انکوبه شدند. اسلایدها به مدت ۵ دقیقه در آب مقطر شست‌وشو داده شدند و به منظور رنگ‌آمیزی زمینه‌ای، به مدت ۴۰ ثانیه در رنگ هماتوکسیلین انکوبه شدند؛ سپس آب‌گیری و شفاف‌سازی شدند و در نهایت مونته شدند.

آنالیز آماری. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار IBM-SPSS-22 استفاده شد. به منظور بررسی نرمالیتی داده‌ها، از آزمون کلموگروف اسمیرنوف استفاده شد. برای مقایسه تفاوت بین گروه‌ها، از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد. داده‌ها به صورت Mean±SEM نشان داده شده‌اند.

نتایج

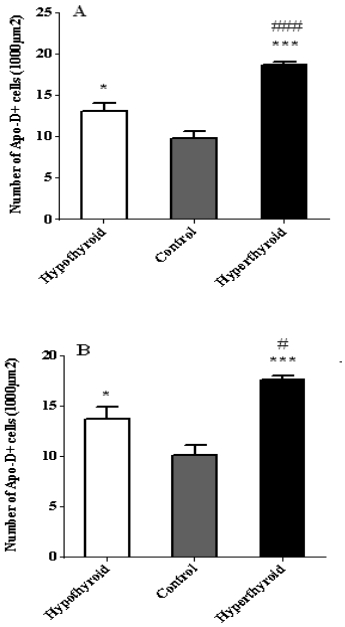
غلظت سرمی تری‌یدوتیرونین (T3). جدول ۱. نشان می‌دهد که سطح سرمی T3 در گروه کم‌کاری تیروئید نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری کاهش یافته است (P<۰/۰۰۱) و در گروه پرکار تیروئیدی به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است (P<۰/۰۰۱).

جدول ۱. اثر القاء کم‌کاری تیروئید با PTU و پرکاری تیروئید القائی با L-T4 بر سطح سرمی T3

گروه	تعداد	T3 (ng/dl)	P-value
کنترل	۵	۱۴۶/۰۴ ± ۶/۳۶	-
کم‌کاری تیروئید	۵	۸۷/۹۸ ± ۱۰/۶۷	P<۰/۰۰۱
پرکاری تیروئید	۵	۲۱۲/۳۴ ± ۷/۴	P<۰/۰۰۱

داده‌ها به صورت Mean ± SEM بیان شده اند. گروههای کم کاری و پر کاری تیروئید با گروه کنترل مقایسه شده اند.

اثر کم‌کاری و پرکاری تیروئید بر تعداد سلول‌های $APOD^+$ در بافت قلب. تعداد سلول‌های $APOD^+$ در مقاطع طولی و مقاطع عرضی بافت قلب، در سه گروه کنترل، کم‌کاری تیروئید و پرکاری تیروئید، به وسیله تکنیک ایمونوهیستوشیمی مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه در هر گروه ۳ حیوان و به ازای هر حیوان چهار مقطع بررسی شد. به منظور شمارش تعداد سلول‌ها در مقاطع بافت قلب، از نرم‌افزار Motic image plus 2.0 و تصاویر با رزولوشن ۱۵۰۰ پیکسل استفاده شد. سلول‌ها در تمامی مقاطع با بزرگ‌نمایی ۴۰ x و در سطح مقطع sq ۱۰۰۰ µm شمارش شدند. نتایج حاصل از آنالیز، نشان داد که هم کم‌کاری تیروئید (P<۰/۰۵) و هم پرکاری تیروئید (P<۰/۰۰۱) باعث افزایش معنی‌دار تعداد سلول‌های $APOD^+$ در مقاطع طولی و عرضی بافت قلب، نسبت به گروه کنترل شده است (شکل ۱).



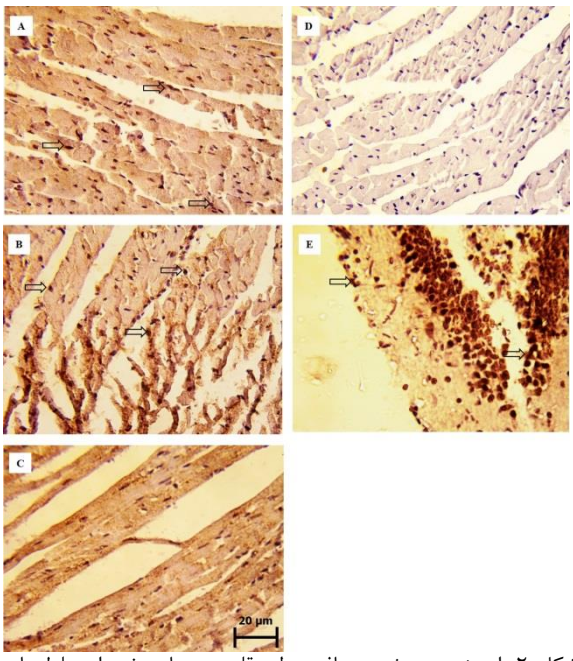
شکل ۱. اثر کم‌کاری و پرکاری تیروئید بر تعداد سلول‌های APOD+ در مقاطع عرضی (A) و مقاطع طولی (B) در بافت قلب. برآورد تعداد سلول‌های APOD+ با استفاده از نرم افزار motic image plus 2.0 انجام

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-06-10]

[DOI: 10.52547/koomesh.23.3.409]

گرفت. داده‌ها به صورت Mean ± SEM بیان می‌شوند. *P<۰/۰۵، **P<۰/۰۱ و ***P<۰/۰۰۱ نسبت به گروه کنترل. # P<۰/۰۵ و ### P<۰/۰۰۱ نسبت به گروه کم کاری تیروئید.

بررسی داده‌ها نشان داد که افزایش تعداد سلول‌های $APOD^+$ در بافت قلب گروه پرکاری تیروئید نسبت به گروه کم‌کاری تیروئید، در هر دو مقطع طولی و عرضی به طور معنی‌داری بیش‌تر است (P<۰/۰۰۱) (شکل ۲).



شکل ۲.-ایمونوهیستوشیمی بافت بطن قلب رت‌ها. برخی از سلول‌های APOD+ با فلش مشخص شده اند. A: بافت قلب رت هیپرتیروئید، B: بافت قلب رت هیپوتیروئید، C: بافت قلب رت کنترل نرمال، D: کنترل منفی ایمونوهیستوشیمی برای نشان دادن عدم وجود اتصال غیر اختصاصی و E بافت مغز به عنوان کنترل مثبت ایمونوهیستوشیمی است.

بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه بررسی بیان APOD با روش ایمونوهیستوشیمی در بافت قلب رت‌های ماده با اختلالات تیروئید، نشان داد که بیان آن در رت‌های گروه‌های هیپرتیروئید و هیپوتیروئید نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. مقایسه بیان آپو D بین گروه‌های هیپرتیروئید و هیپوتیروئید نشان داد که بیان آن به طور قابل ملاحظه‌ای در گروه پرکاری تیروئید بیش‌تر بود.

مطالعات دهه‌های گذشته نقش آپو D را با افزایش استرس مرتبط دانسته‌اند. اخیراً ما در مطالعه‌ای که اثر کم‌کاری و پرکاری تیروئید را بر بیان آپولیپوپروتئین D در مغز در حال تکامل بررسی کردیم، نشان دادیم که هر دو اختلال کم‌کاری و پرکاری تیروئید، بیان آپو D را هم در سطح پروتئین و هم در سطح mRNA در ناحیه هیپوکمپ مغز در حال تکامل پوپ‌ها، افزایش می‌دهند. در این مطالعه ارتباط معنی‌داری بین افزایش و استرس اکسیداتیو در پرکاری تیروئید وجود داشت [۱۹]. Ricardo Gredilla نشان داد که القاء کم‌کاری تیروئید با تزریق روزانه PTU (۵۰۰ppm) به مدت ۵ هفته و القاء پرکاری تیروئید با تزریق روزانه L-T4 (۱۲ ppm) به مدت ۵ هفته به آب آشامیدنی، باعث افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب به DNA میتوکندریایی در بافت قلب رت‌های درمان شده می‌شود [۲۲]. Civelek و همکارانش نشان دادند که در روند القاء پرکاری تیروئید، با اضافه کردن ۰/۴ میلی‌گرم لووتیروکسین به جیره غذایی به مدت ۲۴ روز، سطح پراکسیداسیون لیپیدی و استرس اکسیداتیو به صورت معناداری در قلب رت افزایش می‌یابد. Araujo و همکارانش نیز نشان دادند که القاء پرکاری تیروئید با داروی لووتیروکسین (۱۲ppm) به مدت ۴ هفته باعث افزایش معنی‌دار پراکسیداسیون لیپیدی در قلب رت‌ها نسبت به گروه کنترل می‌شود [۲۳].

در مطالعات انجام شده در زمینه بیماری‌های سیستم عصبی مثل آلزایمر، پارکینسون، مولتیپیل اسکلروزیس، پیری و سایر بیماری‌هایی که استرس اکسیداتیو نقش بالقوه را در ایجاد پاتولوژی بیماری ایفا می‌کند، بیان آپو D در سطح پروتئین افزایش پیدا می‌کند. شواهد به‌دست آمده از این مطالعات نشان دادند که آپو D به عنوان بخشی از دفاع طبیعی ارگانیسم‌ها در برابر استرس ناشی از اکسیداسیون و التهاب است که در بیماری‌های تخریب‌کننده سیستم عصبی و در فرآیند پیری افزایش می‌یابد و تأثیر مهمی در سلامت مغز دارد. Bhatia و همکاران با نتایجی که در سال ۲۰۱۲ منتشر کردند، نشان دادند که آپو D، مشتقات هیدروپروکسیدهای ایکوزانوئیدها را به فرم کاهش‌یافته آن یعنی فرم هیدروکسیدی آن تبدیل می‌کند؛ در این حالت فرم فعال به فرم غیر فعال (فرم هیدروکسید) تبدیل می‌شود و از ادامه واکنش زنجیره‌ای رادیکالی جلوگیری می‌شود [۱۶]. مطالعه برون‌تنی Eva Mart´ınez و همکاران نشان داد که افزایش غلظت H_2O_2، باعث افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و به دنبال آن افزایش سطح آپو D می‌شود [۲۰]. Raquel Pascua-Maestro و همکاران در سال ۲۰۱۸ تأیید کردند که در طی ایجاد استرس اکسیداتیو در سیستم عصبی، آپو D ترشح شده توسط سلول‌های آستروگلیا، به صورت وزیکول‌هایی به نورون‌ها منتقل شده و باعث افزایش بقاء این نورون‌ها تحت شرایط استرس اکسیداتیو می‌شود [۲۱]؛ بنابراین تمام این مطالعات، عملکرد آنتی‌اکسیدانی آپو D را در شرایط پراکسیداسیون لیپیدی تأیید می‌کنند. در این مطالعه نیز ما نشان دادیم که بیان آپو D در سطح پروتئین در هر دو اختلال کم‌کاری و پرکاری تیروئید افزایش می‌یابد (شکل ۱). با توجه به نتایج مطالعات ذکر شده و این مطالعه می‌توان گفت که احتمالاً یکی از مکانیسم‌های دخیل در افزایش سطح پروتئین آپو D در بافت

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-06-10]
[DOI: 10.52547/koomesh.23.3.409]

قلب رت‌های مورد مطالعه، استرس اکسیداتیو است. مطالعات قبلی افزایش استرس اکسیداتیو در هر دو اختلال کم‌کاری و پرکاری تیروئید در قلب را تأیید کرده‌اند. در مطالعه دیگری Mahfoud Messarah و همکارانش نشان دادند که اختلال پرکاری تیروئید باعث افزایش معنی‌دار سطح پراکسیداسیون لیپیدی و آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیس‌موتاز و گلوتاتیون پروکسیداز در بافت قلب نسبت به گروه کنترل و گروه کم‌کاری تیروئید شده است؛ این افزایش در گروه کم‌کاری تیروئید نیز وجود داشته است؛ اما این افزایش معنی‌دار نبود [۲۲]. در این مطالعه ما نیز از داروی L-T4 با دوز ۸ ppm و داروی PTU با دوز ۱۰۰ ppm در آب آشامیدنی به مدت ۶ هفته، به ترتیب برای القاء پرکاری و کم‌کاری تیروئید استفاده کردیم؛ نتایج ما نشان داد که داروی PTU و L-T4 به ترتیب باعث القاء کم‌کاری و پرکاری تیروئید شده است (جدول ۱ را ببینید). بر اساس مطالعات بالا می‌توان تأیید کرد که در مدل‌های القائی ما نیز افزایش سطح پراکسیداسیون لیپیدی یکی از مکانیسم‌های احتمالی است که افزایش سطح پروتئین آپو D را به عنوان یک آنتی‌اکسیدانت و محافظ قلبی تحت تأثیر قرار می‌دهد.

عمل آنتی‌اکسیدانی آپو D به خاطر وجود ریشه اسید آمینه متیونین آن است. آپو D از طریق گروه SH متیونین در موقعیت ۹۳ و به صورت انتخابی، باعث کاهش هیدروپروکسیدهای لیپیدی به فرم احیاء، یعنی فرم هیدروکسیدی می‌شود که در طی این فرآیند متیونین به متیونین سولفوکسید تبدیل می‌شود؛ بنابراین از ادامه واکنش رادیکالی جلوگیری به عمل می‌آید [۲۳].

مطالعات دیگری نشان داد که در هر دو اختلال کم‌کاری و پرکاری تیروئید، میزان آزاد شدن اسید آراشیدونیک از غشاء سلول‌ها به جریان خون افزایش می‌یابد که در نتیجه آن سطح متابولیت‌های ناشی از آن مثل پروستاگلاندین‌ها، لکوترین‌ها و لیپوکسین‌ها با مکانیسم‌های متفاوتی در این دو اختلال افزایش می‌یابند. در طی اختلال کم‌کاری تیروئید، سطح PGI2 که محصول عملکرد آنزیم COX-2 است، افزایش می‌یابد. این متابولیت باعث پیشرفت آترواسکلوروزیس در این اختلال نیز می‌شود. از طرف دیگر در اختلال پرکاری تیروئید میزان متابولیت‌های ناشی از مسیر P450، از جمله HETE-۲۰ و HETE-۱۲ افزایش می‌یابد که افزایش این دو متابولیت یکی از دلایل افزایش فشارخون در این اختلال است [۲۴]. با توجه به ارتباط روندهای التهابی با اختلالات تیروئیدی و اهمیت آپو D در پایدار کردن اسید آراشیدونیک در غشای سلول‌ها و ممانعت از آزاد شدن آن از غشاء سلول می‌توان گفت که افزایش آپو D در قلب موش‌های با اختلالات تیروئیدی نقش ضد التهابی نیز دارد [۱۶].

در هر دو اختلال کم‌کاری و پرکاری تیروئید میزان فاکتورهای التهابی از جمله IL-1 در بافت قلب افزایش می‌یابد [۴] که خود باعث افزایش بیان آپو D می‌شود [۲۵]. از سوی دیگر در پروموتور ژن آپو D جایگاه اتصال برای عنصر پاسخ به هورمون‌های تیروئید (Thyroid Response Element, TRE) وجود دارد؛ بنابراین این هورمون‌ها می‌توانند بیان این پروتئین را در سطح mRNA نیز تحت تأثیر قرار دهند [۲۶]؛ در این مطالعه ما نشان دادیم که افزایش سطح پروتئین آپو D در بافت قلب موش‌های با اختلال پرکاری تیروئید نسبت به این افزایش در بافت قلب نمونه‌های با اختلال کم‌کاری تیروئید، بیش‌تر و معنی‌دار است؛ بنابراین می‌توان گفت هورمون‌های تیروئیدی در بیان آپو D اثر تنظیمی مثبت دارد که این اثر در مطالعه قبلی که بافت مورد مطالعه، مغز در حال تکامل بود نیز مشاهده شد [۱۹].

یافته‌ها نشان می‌دهد که بیان آپو D در قلب در هر دو اختلال هیپوتیروئیدی و هیپرتیروئیدی افزایش می‌یابد. این افزایش ممکن است بخشی از یک سیستم ذاتی برای محافظت از قلب در برابر صدمات ناشی از استرس اکسیداتیو و التهاب در این اختلالات باشد. با توجه به این‌که آپو D یک پروتئین چند عملکردی است؛ پیشنهاد می‌گردد مطالعات مولکولی و بالینی بیش‌تری برای شناخت عملکرد محافظتی آن در مشکلات قلبی در آینده انجام گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله قسمتی از نتایج طرح مصوب تحقیقاتی به شماره ۱۴۶۵ ارائه شده به کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی سمنان است. بدین‌وسیله از زحمات کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی قدردانی می‌نماییم. هم‌چنین از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی سمنان بابت تامین بودجه این طرح سپاس‌گزاریم.

منابع

[1] Vargas-Uricoechea H, Bonelo-Perdomo A, Sierra-Torres CH. Effects of thyroid hormones on the heart. Clin Investig Arterioscler 2014; 26: 296-309. https://doi.org/10.1016/j.arteri.2014.07.003 PMid:25438971

[2] De K, Ghosh G, Datta M, Konar A, Bandyopadhyay J, Bandyopadhyay D, Bhattacharya S, Bandyopadhyay A. Analysis of differentially expressed genes in hyperthyroid-induced hypertrophied heart by cDNA microarray. J Endocrinol 2004; 182: 303-314. https://doi.org/10.1677/joe.0.1820303 PMid:15283691

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-06-10]

[DOI: 10.52547/koomesh.23.3.409]

[3] Klein I, Danzi S. Thyroid disease and the heart. Circulation 2007; 116: 1725-1735. https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.678326 PMid:17923583

[4] Stanciu AE, Zamfir-Chiru-Anton A, Stanciu MM, Gheorghe DC. Impact of thyroid disease on heart failure. the role of the clinical cardiac electrophysiologist in the management of congestive heart failure 2017; 141. https://doi.org/10.5772/66283

[5] Elnakish MT, Ahmed AA, Mohler PJ, Janssen PM. Role of oxidative stress in thyroid hormone-induced cardiomyocyte hypertrophy and associated cardiac dysfunction: an undisclosed story. Oxid Med Cell Longev 2015; 2015: 854265. https://doi.org/10.1155/2015/854265 PMid:26146529 PMCid:PMC4471379

[6] Sabih DE, Inayatullah M. Managing thyroid dysfunction in selected special situations. Thyroid Res 2013; 6: 2. https://doi.org/10.1186/1756-6614-6-2 PMid:23379325 PMCid:PMC3626556

[7] Triggiani V, Iacoviello M, Monzani F, Puzzovivo A, Guida P, Forleo C, et al. Incidence and prevalence of hypothyroidism in patients affected by chronic heart failure: role of amiodarone. Endocr Metab Immune Disord Drug Targets 2012; 12: 86-94. https://doi.org/10.2174/187153012799278947 PMid:22214334

[8] Mishra P, Samanta L. Oxidative stress and heart failure in altered thyroid states. ScientificWorldJournal 2012; 2012: 741861. https://doi.org/10.1100/2012/741861 PMid:22649319 PMCid:PMC3354657

[9] Mancini A, Di Segni C, Raimondo S, Olivieri G, Silvestrini A, Meucci E, Currò D. Thyroid hormones, oxidative stress, and inflammation. Mediators Inflamm 2016; 2016: 6757154. https://doi.org/10.1155/2016/6757154 PMid:27051079 PMCid:PMC4802023

[10] Fernandes R, Dreher G, Schenkel P, Fernandes T, Ribeiro M, Araujo A, Belló-Klein A. Redox status and pro-survival/pro-apoptotic protein expression in the early cardiac hypertrophy induced by experimental hyperthyroidism. Cell Biochem Funct 2011; 29: 617-623. https://doi.org/10.1002/cbf.1796 PMid:21989893

[11] Bergh JJ, Lin H-Y, Lansing L, Mohamed SN, Davis FB, Mousa S, Davis PJ. Integrin αVβ3 contains a cell surface receptor site for thyroid hormone that is linked to activation of mitogen-activated protein kinase and induction of angiogenesis. Endocrinology 2005; 146: 2864-2871. https://doi.org/10.1210/en.2005-0102 PMid:15802494

[12] Crespo-Sanjuán J, Zamora-Gonzalez N, Calvo-Nieves MD, Andres-Ledesma C. Apolipoprotein D. Advances in Lipoprotein Research 2017: 25. https://doi.org/10.5772/66626

[13] Dassati S, Waldner A, Schweigreiter R. Apolipoprotein D takes center stage in the stress response of the aging and degenerative brain. Neurobiol Aging 2014; 35: 1632-1642. https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2014.01.148 PMid:24612673 PMCid:PMC3988949

[14] Martínez-Pinilla E, Navarro A, Ordóñez C, del Valle E, Tolivia J. Apolipoprotein D subcellular distribution pattern in neuronal cells during oxidative stress. Acta Histochemica 2015; 117: 536-544. https://doi.org/10.1016/j.acthis.2015.04.003 PMid:25953740

[15] Zhou Y, Wang L, Li R, Liu M, Li X, Su H, et al. Secreted glycoprotein BmApoD1 plays a critical role in anti-oxidation and anti-apoptosis in Bombyx mori. Biochem Biophys Res Commun 2018; 495: 839-845. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.11.044 PMid:29128356

[16] Bhatia S, Knoch B, Wong J, Kim WS, Else PL, Oakley AJ, Garner B. Selective reduction of hydroperoxyeicosatetraenoic acids to their hydroxy derivatives by apolipoprotein D: implications for lipid antioxidant activity and Alzheimer's disease. Biochem J 2012; 442: 713-721. https://doi.org/10.1042/BJ20111166 PMid:22150111

[17] Leung WC, Lawrie A, Demaries S, Massaeli H, Burry A, Yablonsky S, et al. Apolipoprotein D and platelet-derived growth factor-BB synergism mediates vascular smooth muscle cell migration. Circ Res 2004; 95: 179-186. https://doi.org/10.1161/01.RES.0000135482.74178.14 PMid:15192024

[18] Tsukamoto K, Mani D, Shi J, Zhang S, Haagensen DE, Otsuka F, et al. Identification of apolipoprotein D as a cardioprotective gene using a mouse model of lethal atherosclerotic coronary artery disease. Proc Natl Acad Sci U S A 2013; 110: 17023-17028. https://doi.org/10.1073/pnas.1315986110 PMid:24082102 PMCid:PMC3801016

[19] Salami M, Bandegi AR, Sameni HR, Vafaei AA, Pakdel A. Hippocampal up-regulation of apolipoprotein D in a rat model of maternal hypo-and hyperthyroidism: implication of oxidative stress. Neurochem Res 2019; 44: 2190-2201. https://doi.org/10.1007/s11064-019-02859-5 PMid:31414343

[20] Martínez E, Navarro A, Ordónez C, del Valle E, Tolivia J. Oxidative stress induces apolipoprotein D overexpression in hippocampus during aging and Alzheimer's disease. J Alzheimers Dis 2013; 36: 129-144. https://doi.org/10.3233/JAD-130215 PMid:23568103

[21] Pascua Maestro R, González E, Lillo C, Ganfornina MD, Falcon-Perez JM, Sanchez D. Extracellular vesicles secreted by astroglial cells transport Apolipoprotein D to neurons and mediate neuronal survival upon oxidative stress. Front Cell Neurosci 2018; 12: 526. https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00526 PMid:30687015 PMCid:PMC6335244

[22] Messarah M, Saoudi M, Boumendjel A, Boulakoud MS, El Feki A. Oxidative stress induced by thyroid dysfunction in rat erythrocytes and heart. Environ Toxicol Pharmacol 2011; 31: 33-41. https://doi.org/10.1016/j.etap.2010.09.003 PMid:21787667

[23] Oakley AJ, Bhatia S, Ecroyd H, Garner B. Molecular dynamics analysis of apolipoprotein-D-lipid hydroperoxide interactions: mechanism for selective oxidation of Met-93. PloS One 2012; 7: e34057. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034057 PMid:22479522 PMCid:PMC3316614

[24] Yao X, Sa R, Ye C, Zhang D, Zhang S, Xia H, et al. Effects of thyroid hormone status on metabolic pathways of arachidonic acid in mice and humans: a targeted metabolomic approach. Prostaglandins Other Lipid Mediat 2015; 118: 11-18. https://doi.org/10.1016/j.prostaglandins.2015.03.005 PMid:25841349

[25] Do Carmo S, Levros Jr L-C, Rassart E. Modulation of apolipoprotein D expression and translocation under specific stress conditions. Biochim Biophys Acta 2007; 1773: 954-969. https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2007.03.007 PMid:17477983

[26] Do Carmo S, Séguin D, Milne R, Rassart E. Modulation of apolipoprotein D and apolipoprotein E mRNA expression by growth arrest and identification of key elements in the promoter. J Biol Chem 2002; 277: 5514-5523. https://doi.org/10.1074/jbc.M105057200 PMid:11711530

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-06-10]

[DOI: 10.52547/koomesh.23.3.409]

Koomesh -Volume 23, Issue 3 (May and June 2021), 409-414

Cardiac up-regulation of apolipoprotein D in a rat model of hypo- and hyperthyroidism

Marziyeh Salami (M.Sc)[2,1], Roghayeh Pakdel (Ph.D)[3], HamidReza Sameni (Ph.D)[4], Abbas Pakdel (Ph.D)[*4,1], Abbas Ali Vafaei (Ph.D)[3]

1 - Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran
2 - Student Research Committee, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran
3- Research Center of Physiology, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran
4- Nervous System Stem Cells Research Center, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

* Corresponding author. +98 23 33654162 pakdel@semums.ac.ir
Received: 26 Jul 2020; Accepted: 14 Nov 2020

Introduction: Cardiac tissue is one of the organs affected by thyroid hormones imbalances. Apolipoprotein D is a multifunctional glycoprotein that is expressed in various tissues including heart tissue. The aim of this study was to evaluate the effect of both hypothyroidism and hyperthyroidism on the level of apolipoprotein D protein in the heart tissue.

Materials and Methods: In order to induce hypothyroidism and hyperthyroidism in white mice, propylthiouracil (PTU, 100 ppm) and levothyroxine (L-T4, 8 ppm) dissolved in water and were used for 6 weeks, respectively. ELISA method was used to measure the total T3 hormone in rat serum. After confirming the model, the mice were anesthetized and the heart tissue was removed and the ventricle and apex of the heart were used for histological examination. Immunohistochemistry was used to evaluate the expression level of apolipoprotein D.

Results: We showed for the first time that the expression of apolipoprotein D in the hearts of hypothyroid ($P<0.05$) and hyperthyroid ($P<0.001$) rats increased significantly compared to the control group.

Conclusion: It is suggested that the increase in cardiac apolipoprotein D levels due to thyroid disorders may be part of an inherent system to protect the heart against damage caused by oxidative stress and inflammation in these disorders.

Keywords: Apolipoproteins D; Hyperthyroidism; Hypothyroidism; Thyroid Hormones, Heart

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-06-10]

[DOI: 10.52547/koomesh.23.3.409]