

بررسی نقش فاکتور نکرور دهنده تومور آلفا در کاهش وزن در مدل هیپوکسی سیستمیک حاد و مزمن

فضه حسین‌زاده^{۱*}

تاریخ دریافت ۱۴۰۲/۱۲/۰۳ تاریخ پذیرش ۱۴۰۳/۰۲/۳۰

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: کاهش وزن بدن یک عارضه شایع در شرایط هیپوکسیک است. مطالعات متعدد گزارش کرده‌اند که هیپوکسی تولید فاکتور نکرور تومور آلفا (TNF- α) را در مدل‌های *in vivo* و *in vitro* افزایش می‌دهد. هدف مطالعه حاضر بررسی نقش TNF- α سرم در کاهش وزن بدن در مدل هیپوکسی سیستمیک حاد و مزمن است.

مواد و روش کار: در این مطالعه تجربی، ۲۸ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار به چهار گروه کنترل حاد یا مزمن و هیپوکسی حاد یا مزمن تقسیم شدند. حیوانات به مدت دو روز (حاد) یا ده روز (مزمن) در معرض هوای اتاق ۲۱ درصد اکسیژن یا هیپوکسی ۱۰-۱۱ درصد اکسیژن در یک اتاقک هیپوکسیک نرموباریک قرار گرفتند. غلظت TNF- α با استفاده از روش الیزا ارزیابی شد. از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۷ برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل یافته‌های مربوط به وزن موش‌ها از آزمون *paired-samples t-test* و داده‌های مربوط به غلظت فاکتور تومور نکرور آلفا از آزمون *Two-tailed Student's t-test* استفاده شد. تفاوت‌ها در سطح $p < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که هیپوکسی حاد ($p < 0.001$) و مزمن ($p < 0.05$) باعث افزایش معنی‌دار غلظت TNF- α در سرم شدند. همچنین القاء هیپوکسی سیستمیک حاد ($p < 0.01$) و مزمن ($p < 0.001$) به‌طور معنی‌داری باعث کاهش وزن بدن قبل و بعد از القاء هیپوکسی شد.

بحث و نتیجه‌گیری: یافته‌های ما نشان می‌دهد که هیپوکسی سیستمیک حاد و مزمن با افزایش سطح سرمی TNF- α مرتبط است، همچنین هیپوکسی سیستمیک حاد و مزمن با کاهش وزن بدن مرتبط است. به علت ارتباط TNF- α با کاهش وزن، ممکن است افزایش TNF- α دلیلی برای کاهش وزن بدن در شرایط هیپوکسی باشد.

کلیدواژه‌ها: وزن بدن، نرموباریک، هیپوکسی سیستمیک، TNF- α

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و پنجم، شماره دوم، ص ۱۲۵-۱۱۶، اردیبهشت ۱۴۰۳

آدرس مکانبه: گروه آموزشی فیزیولوژی، دانشکده علوم پزشکی سراب، سراب، ایران، تلفن: ۰۴۱ ۴۳۲۳۷۹۸۱

Email: Hossenzadeh_fez@yahoo.com

مقدمه

گذرای جریان خون به دلیل انسداد در مجرای عروق ایجاد می‌شود. هیپوکسی هیپوکسمی حاد با کاهش گذرا و شدید در فشار اکسیژن در عروق کوچک مشخص می‌شود (۴). اما هیپوکسی مزمن به دلیل کاهش طولانی‌مدت فشار اکسیژن در بافت‌ها ایجاد می‌شود. هیپوکسی مزمن به سه زیرگروه تقسیم می‌شود شامل: هیپوکسی به دلیل محدودیت انتشار (*Diffusion-limited hypoxia*)، هیپوکسی هیپوکسمی و هیپوکسی ناشی از کاهش پرفیوژن^۱ در رگ‌های کوچک. هیپوکسی هیپوکسمی مزمن به دلیل کاهش طولانی‌مدت فشار اکسیژن در خون و افت شدید شیب اکسیژن در داخل عروق ایجاد می‌شود (۵).

هیپوکسی که ناشی از کمبود اکسیژن قابل‌دسترس در خون و در بافت‌های بدن است به چندین علت، مانند کاهش فشار سهمی اکسیژن جو (صعود به ارتفاعات) یا کاهش انتقال اکسیژن توسط خون به بافت‌ها یا ناتوانی بافت‌ها در استفاده از اکسیژن و نیز بیماری‌های مختلف تنفسی مانند آسم، آپنه‌ی انسدادی خواب، بیماری انسدادی مزمن ریه (COPD) و بیماری‌های سیانوتیک قلبی ایجاد می‌شود (۱-۳). هیپوکسی به دو صورت حاد یا مزمن ظاهر می‌شود. از نظر پاتوفیزیولوژیکی، هیپوکسی حاد را می‌توان به دو زیرگروه تقسیم کرد: هیپوکسی ایسکمیک و هیپوکسی هیپوکسمیک. هیپوکسی ایسکمیک اغلب به دلیل توقف یا کاهش

^۱ استادیار گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پزشکی سراب، سراب، ایران (نویسنده مسئول)

¹ Perfusion

تبریز خریداری شد. حیوانات در شرایط تاریک - روشنایی ۱۲ ساعته، دمای 21 ± 2 درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۷۰ درصد و دسترسی آزاد و کافی به آب و غذا نگهداری شدند. در پژوهش حاضر تمام آزمایش‌ها بر اساس آیین‌نامه‌ی کمیته‌ی اخلاق پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تبریز برای پژوهش‌های حیوانی با شناسه (+89/4-13/11) صورت گرفت.

حیوانات به‌طور تصادفی به چهار گروه شامل گروه کنترل حاد، هیپوکسی حاد، کنترل مزمن و هیپوکسی مزمن ($n=7$) تقسیم شدند. گروه‌های کنترل حاد و مزمن در معرض (اکسیژن ۲۱ درصد) هوای اتاق (به ترتیب به مدت دو و ده روز قرار گرفتند. حیوانات گروه‌های هیپوکسی حاد و مزمن در دستگاه سیستم کامل هیپوکسی، به ترتیب به مدت دو و ده روز در شرایط اکسیژن ۱۱ درصد قرار گرفتند. این حیوانات تنها ۱۰ دقیقه در روز برای تمیز کردن قفس‌ها از محیط دستگاه خارج می‌شدند. هیپوکسی به‌وسیله دستگاه سیستم کامل هیپوکسی (GO2 Altitude (شرکت Biomedtech - استرالیا) القا شد که هیپوکسی را بدون نیاز به سیلندر گاز ایجاد می‌کرد. یک حسگر اکسیژن و کنترل‌کننده در دیواره اتاقک به‌منظور کنترل درصد اکسیژن داخل آن تعبیه شده بود.

اندازه‌گیری وزن موش‌ها:

وزن (گرم) تمام حیوانات با استفاده از ترازوی دیجیتالی در روز اول قبل از قرار گرفتن در دستگاه هیپوکسی و نیز بعد از اتمام دوره هیپوکسی اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری غلظت فاکتور تومور نکروز آلفا:

برای اندازه‌گیری غلظت فاکتور تومور نکروز آلفا نمونه‌های خون از دم حیوانات جمع‌آوری شد و سرم به‌دست‌آمده در دمای 20°C - درجه سانتی‌گراد ذخیره شد. سطوح خونی غلظت فاکتور تومور نکروز آلفا ($\text{TNF-}\alpha$)، با استفاده از الایزا بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده ارزیابی شد (Invitrogen USA). به‌طور خلاصه، نمونه‌های سرم جمع‌آوری‌شده به چاهک‌ها به‌صورت نمونه و استاندارد اضافه می‌شدند. هر یک از چاهک‌ها پوشیده از آنتی‌بادی ضد فاکتور تومور نکروز آلفا بودند. سپس آنتی‌بادی ضد فاکتور تومور نکروز آلفا متصل به بیوتین برای اتصال به فاکتور تومور نکروز آلفا که به آنتی‌بادی ضد فاکتور تومور نکروز آلفا متصل است اضافه می‌شد. بعد از انکوباسیون به مدت یک ساعت، به‌وسیله بافر شستشو چاهک‌ها شسته می‌شدند. سپس استرپتویدین-HRP برای اتصال به آنتی‌بادی ضد فاکتور تومور نکروز آلفا متصل به بیوتین اضافه می‌شد. بعد از انکوباسیون، استرپتویدین-HRP غیر متصل شستشو داده می‌شدند. سپس محلول سوبسترا حاوی تترا متیل بنزودین و 0.2% درصد پراکسید هیدروژن برای واکنش

استرس هیپوکسیک معمولاً از طریق کاهش مصرف انرژی، افزایش سرعت متابولیسم و از دست دادن اشتها باعث کاهش وزن بدن در انسان سالم و حیوانات آزمایشگاهی می‌شود (۶، ۷). چندین مطالعه نشان داده‌اند که هیپوکسی حاد و مزمن باعث ایجاد تغییراتی در فعالیت ترشحی ماکروفاژها و افزایش تولید سایتوکین‌های التهابی مانند اینترلوکین-۱ β (IL-1 β)، اینترلوکین-۱ α (IL-1 α)، اینترلوکین-۶ (IL-6) و فاکتور نکروز تومور آلفا ($\text{TNF-}\alpha$) در انواع سلول‌های ایمنی مانند مونوسیت‌های خون و ماکروفاژها می‌شود (۸-۱۰). فاکتور نکروز تومور آلفا، کاشکسین (Cachexin)، یک سایتوکین چند عملکردی (۱۱، ۱۲)، با اثرات متنوع سلولی، از جمله آپوپتوز، نکروز، اثرات التهابی و ضد رگ‌زایی است که تولید سایر سایتوکین‌های التهابی و کموکاین‌ها را نیز تحریک می‌کند (۱۳، ۱۴). تولید بیش‌ازحد این سایتوکین نقش پاتوفیزیولوژیک در اختلالات بالینی ایفا می‌کند. شواهدی از نقش فاکتور نکروز تومور آلفا ($\text{TNF-}\alpha$) بر اشتها گزارش شده است (۱۷-۱۵). نشان داده شده است که فاکتور نکروز تومور آلفا به سطح سلول‌های اندوتلیال عروق مغزی متصل شده سبب آزادسازی موادی می‌شود که بر اشتها تأثیر می‌گذارد (۱۸). تحقیقات نشان داده است که فاکتور نکروز تومور آلفا همچنین از سد خونی مغزی عبور کرده بر گیرنده‌های خود که در نواحی مختلف هیپوتالاموس بیان می‌شوند متصل شده و با اثر بر روی محور هیپوتالاموس - هیپوفیز آدرنال باعث ایجاد بی‌اشتهایی می‌شود (۱۴). شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد فاکتور نکروز تومور آلفا به ایجاد لاغری شدید (کاشکسی) در بیماران مبتلا به سرطان و COPD کمک می‌کند (۱۲ و ۱۹-۲۱). در مطالعه‌ی دیگر نشان دادند که بیان طولانی‌مدت فاکتور نکروز تومور آلفا سبب ضعف و کم‌اشتهایی می‌شود. آنزیم لیپوپروتئین لیپاز و سایر آنزیم‌های درگیر در آنابولیک چربی را کاهش می‌دهد و نیز باعث تحلیل سلول‌های عضلانی می‌شود (۲۲). علاوه بر این، مطالعه دیگری نشان داد که کاهش وزن بدن در موش‌ها پس از تجویز فاکتور نکروز تومور آلفا ($\text{TNF-}\alpha$) با کاهش مصرف غذا و آب متناسب است (۲۳).

تا به امروز، هیچ مطالعه‌ی در مورد نقش فاکتور نکروز تومور آلفا ($\text{TNF-}\alpha$) در کاهش وزن بدن در هیپوکسی سیستمیک نرموباریک حاد و مزمن گزارش نشده است. با توجه به حقایق ذکرشده در بالا در مورد $\text{TNF-}\alpha$ ، مطالعه حاضر باهدف بررسی نقش فاکتور نکروز تومور آلفا در کاهش وزن بدن موش‌ها در هیپوکسی سیستمیک حاد و مزمن انجام شد.

مواد و روش کار

حیوانات:

در این مطالعه تجربی، تعداد ۲۸ سر موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار (۲۲۰-۲۵۰ گرم) از حیوانخانه‌ی دانشگاه علوم پزشکی

با $p < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد. از آزمون شاپیرو ویلک (Shapiro-Wilk) برای تعیین نرمال بودن داده‌ها استفاده شد.

یافته‌ها

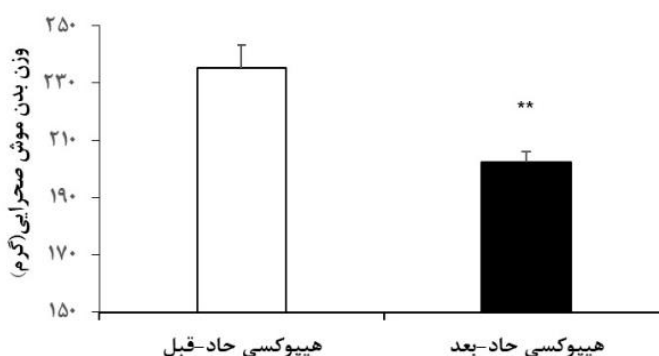
اثر هیپوکسی سیستمیک حاد و مزمن بر وزن موش‌های صحرایی نر:

وزن بدن موش‌های صحرایی نر در گروه هیپوکسی حاد، قبل از هیپوکسی (۲۳۵/۱۴±۸/۲۸) نسبت به بعد از هیپوکسی حاد (۲۰۲/۲۸±۳/۸۳) به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($p < 0.01$). وزن بدن موش‌های صحرایی نر در گروه هیپوکسی سیستمیک مزمن قبل از القا هیپوکسی (۲۴۱/۴۳±۳/۹۹) نسبت به بعد از القا هیپوکسی مزمن (۱۹۶/۴±۵/۷۸) کاهش معنی‌داری یافت ($p < 0.01$). (نمودار ۱ و نمودار ۲).

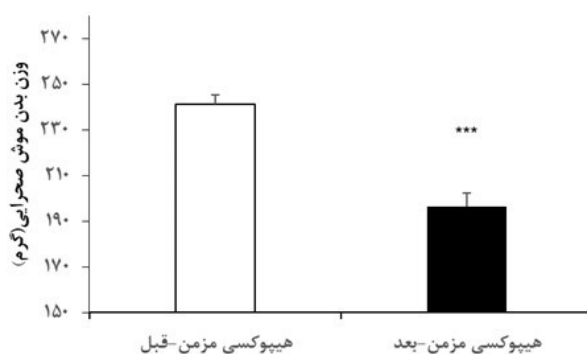
HRP به چاهک‌ها اضافه می‌شد. واکنش به‌واسطه اضافه کردن اسید متوقف می‌شد و غلظت $TNF-\alpha$ سرم به‌وسیله جذب نوری در طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه‌گیری می‌شد (۲۴). بعد از اتمام آزمایشات، حیوانات تحت بیهوشی عمیق با فنتوباریتال ۱۰۰ میلی‌گرم/به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت داخل صفاقی، کشته شدند.

تحلیل آماری:

نتایج بصورت میانگین ± انحراف معیار (Mean±SEM) بیان شد. برای تحلیل یافته‌های وزن موش‌ها از آزمون paired-samples t-test و داده‌های مربوط به غلظت فاکتور تومور نکرور آلفا از آزمون Two-tailed Student's t-test استفاده شد. از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۷ برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد. تفاوت‌ها در سطح



نمودار (۱): اثرات هیپوکسی حاد بر وزن بدن قبل از القاء هیپوکسی حاد و ۴۸ ساعت بعد از آن: داده‌ها بر اساس میانگین ± انحراف معیار (Mean±SEM) ارائه شده است. $p < 0.01$ در مقایسه با قبل از القاء هیپوکسی حاد می‌باشد. داده‌ها با استفاده از آزمون تی جفت شده تجزیه و تحلیل شد. (هر گروه شامل ۷ موش صحرایی نر)

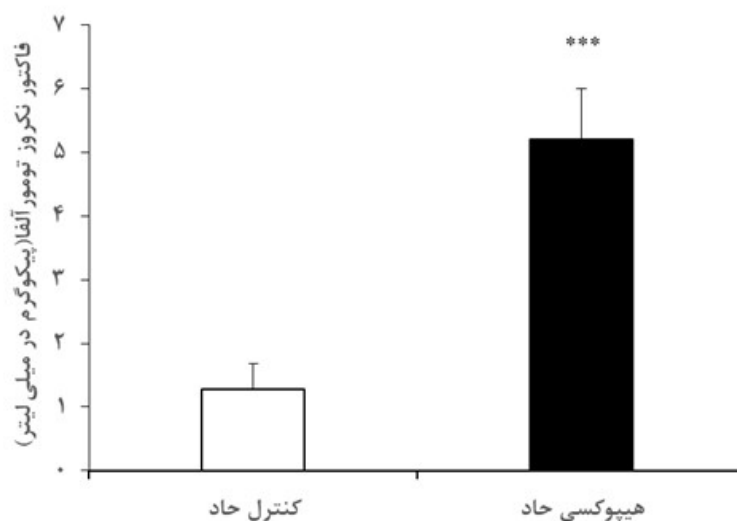


نمودار (۲): اثرات هیپوکسی مزمن بر وزن بدن قبل از القاء هیپوکسی مزمن و ده روز بعد از آن: داده‌ها بر اساس میانگین ± انحراف معیار (Mean± SEM) ارائه شده است. $p < 0.01$ در مقایسه با قبل از القاء هیپوکسی مزمن می‌باشد. داده‌ها با استفاده از آزمون تی جفت شده تجزیه و تحلیل شد. (هر گروه شامل ۷ موش صحرایی نر)

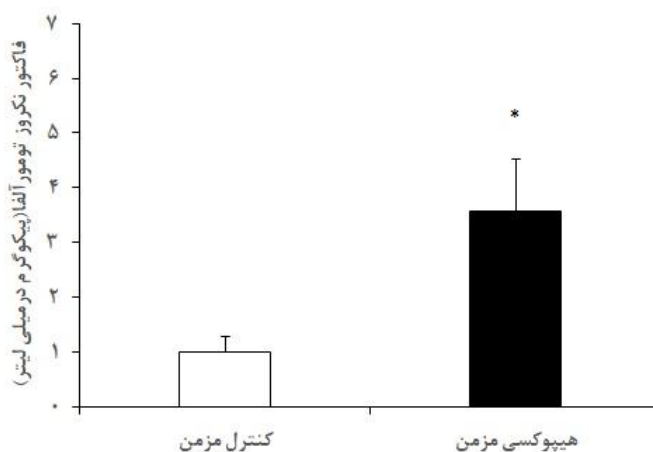
اثر هیپوکسی سیستمیک حاد و مرمین بر سطح غلظت فاکتور نکروز تومور آلفا (TNF- α) سرم:

در گروه هیپوکسی سیستمیک حاد، سطح سرم فاکتور نکروز تومور آلفا ($5/2 \pm 0/81$) پیکوگرم در میلی لیتر) در مقایسه با گروه کنترل حاد ($1/28 \pm 0/4$) پیکوگرم در میلی لیتر) به طور معنی داری

افزایش یافت ($p < 0/001$). همچنین در گروه هیپوکسی مزمن سطح سرم فاکتور نکروز تومور آلفا ($3/57 \pm 0/96$) پیکوگرم در میلی لیتر) در مقایسه با گروه کنترل مزمن ($1 \pm 0/29$) پیکوگرم در میلی لیتر) به طور معنی داری افزایش یافت ($p < 0/05$). (نمودار ۳ و نمودار ۴).



نمودار (۳): اثرات هیپوکسی حاد بر سطح فاکتور نکروز تومور آلفا سرم خون: مقادیر بر اساس میانگین \pm انحراف معیار (Mean \pm SEM) ارائه شده است. $p < 0/001$ در مقایسه با گروه کنترل حاد. داده‌ها با استفاده از آزمون t-test Student دو طرفه تجزیه و تحلیل شد. (هر گروه شامل ۷ موش صحرایی نر)



نمودار (۴): اثرات هیپوکسی مزمن بر سطح فاکتور نکروز تومور آلفا سرم خون: مقادیر بر اساس میانگین \pm انحراف معیار (Mean \pm SEM) ارائه شده است. $p < 0/05$ در مقایسه با گروه کنترل مزمن. داده‌ها با استفاده از آزمون t-test Student دو طرفه تجزیه و تحلیل شد. (هر گروه شامل ۷ موش صحرایی نر)

بحث و نتیجه‌گیری

همچنانکه نتایج تحقیق حاضر نشان داد، هیپوکسی حاد و مزمن به‌طور قابل‌توجهی سبب کاهش وزن بدن موش‌ها شد. وزن بدن به‌طور طبیعی به‌وسیله دریافت غذا و توسط هورمون‌ها تنظیم می‌شود (۲۵). استرس هیپوکسی در طی یک یا دو روز اول، موجب کاهش قابل‌ملاحظه وزن بدن می‌شود. همچنان که نتایج مطالعات نشان داده است هیپوکسی علاوه بر اینکه سبب کاهش اشتها و دریافت غذا می‌شود (۲۷،۲۶) از طریق افزایش گلیکولیز بی‌هوازی منجر به افزایش مصرف ذخایر انرژی و توده بدنی شده که در نهایت سبب کاهش وزن بدن می‌شود (۲۸).

یافته‌های ما نشان داد که در هیپوکسی سیستمیک نرموباریک حاد و مزمن سطح سرمی فاکتور تومور نکروز آلفا افزایش می‌یابد و با کاهش وزن بدن در شرایط هیپوکسی در ارتباط است. در حمایت از این نتیجه، مطالعات دیگر نشان دادند که فاکتور تومور نکروز آلفا در کاهش اشتها و لاغری شدید (کاشکسی) به دنبال بیماری‌های القاء‌کننده هیپوکسی نقش دارد (۲،۶،۲۹). داده‌های مطالعه حاضر کاهش وزن بدن را در هر دو گروه هیپوکسی حاد و مزمن نشان داد. استرس هیپوکسیک معمولاً از طریق کاهش مصرف انرژی، افزایش سرعت متابولیسم (۳۰) و کاهش اشتها (۳۱) باعث کاهش وزن بدن می‌شود. در مطالعه حاضر غلظت سرمی فاکتور تومور نکروز آلفا در گروه هیپوکسی حاد افزایش بیشتری نسبت به گروه هیپوکسی مزمن داشت. اما تفاوت معنی‌داری بین دو گروه وجود نداشت. به نظر می‌رسد ممکن است مربوط به مدت مواجهه با هیپوکسی و سایر مکانیسم‌های فیزیولوژیکی جبرانی باشد که میزان فاکتور تومور نکروز آلفا را در شرایط هیپوکسی مزمن نسبت به هیپوکسی حاد کمتر افزایش می‌دهد. همچنین وزن بدن در گروه هیپوکسی مزمن نسبت به گروه هیپوکسی حاد کاهش بیشتری داشت هر چند این کاهش معنی‌دار نبود. با توجه به یافته‌های به دست آمده در هیپوکسی مزمن، وقتی سازش به هیپوکسی شروع می‌شود دریافت غذا در مقادیر کم حفظ شده و میزان قندخون کاهش می‌یابد (۳۲).

در حمایت از مطالعه حاضر در مطالعه‌ی نشان دادند که وقتی موش‌های صحرایی نر در معرض هیپوکسی به مدت ۱۵ روز قرار می‌گیرند، وزن بدن به‌طور قابل‌توجهی به‌ویژه در یک الی دو روز اول در مواجهه با هیپوکسی کاهش می‌یابد. در این مطالعه همچنین علاوه بر کاهش وزن بدن، مصرف غذا، گلوکز خون و انسولین پلاسما هم کاهش یافت، اما فعالیت محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال (HPA) که در تنظیم تغذیه نقش دارد، افزایش یافت (۲۸). فاکتور نکروز تومور آلفا یکی از سایتوکین‌های مهم پیش‌التهابی است، که ارتباط بسیار نزدیکی با میزان لپتین، درصد چربی و متابولیسم انرژی

دارد. افزایش غلظت فاکتور نکروز تومور آلفا در خون موجب افزایش سوخت و ساز و انرژی مصرفی در حال استراحت و کاهش وزن بدن می‌شود. فاکتور نکروز تومور آلفا همچنین از سد خونی مغزی عبور کرده برگزیده‌های خود که در نواحی مختلف هیپوتالاموس بیان می‌شوند متصل شده و با اثر بر روی محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال باعث ایجاد بی‌اشتهایی می‌شود (۱۴). در تأیید مطالعه ما در پژوهشی نشان دادند که میزان فاکتور نکروز تومور آلفا در افراد لاغر قبل از اجرای برنامه ورزشی بسیار بیشتر از افراد چاق بود که نشانگر سوخت و ساز زیاد همراه با افزایش مصرف انرژی، کاهش وزن بدن که ممکن است با لاغری شدید (کاشکسی) همراه باشد (۳۳). لاغری شدید (کاشکسی) یک سندرم متابولیک پیچیده است که با کاهش قابل‌توجه وزن، تحلیل عضلات و کاهش اشتها مشخص می‌شود (۳۴).

برای اولین بار یافته‌های ما نقش سطوح فاکتور تومور نکروز آلفا (TNF- α) در گردش خون را در کاهش وزن بدن در هیپوکسی نرموباریک حاد و مزمن نشان داد. این مدل تجربی مشابه وضعیت بالینی بیماری‌های القاء‌کننده هیپوکسی مانند بیماری مزمن انسداد ریه (COPD) است. مطالعه حاضر نشان داد که سطوح بالای فاکتور تومور نکروز آلفا با کاهش وزن بدن در شرایط هیپوکسیک همراه است. این مطالعه نشان داد که هیپوکسی حاد و مزمن به‌طور قابل‌توجهی باعث افزایش سطح سرمی فاکتور تومور نکروز آلفا و کاهش وزن بدن می‌شود. این نتایج نشان می‌دهد که افزایش سطح فاکتور تومور نکروز آلفا در گردش خون توسط هیپوکسی ممکن است دلیلی برای کاهش وزن بدن در شرایط هیپوکسی باشد. این داده‌ها توسط مطالعات دیگری پشتیبانی می‌شوند که گزارش داده‌اند هیپوکسی باعث افزایش تولید فاکتور تومور نکروز آلفا می‌شود و ممکن است نقش بالقوه‌ای در کاهش وزن داشته باشد (۳۵-۳۷). علاوه بر این، گزارش شده است که تجویز فاکتور تومور نکروز آلفا در موش‌ها می‌تواند مصرف غذا و آب را کاهش داده و وزن بدن را کاهش دهد (۲۳،۳۸).

علاوه بر این، نتایج سایر مطالعات نشان داد که تجویز آنتی فاکتور تومور نکروز آلفا (anti-TNF- α) به‌طور قابل‌توجهی وزن بدن و توده بدون چربی را افزایش می‌دهد (۳۹،۲۹) که یافته‌های مطالعه فعلی را بیشتر تأیید می‌کند. از سوی دیگر، نتایج مطالعه قبلی ما نشان داد که هیپوکسی سیستمیک حاد و مزمن به‌طور قابل‌توجهی مصرف غذا را در موش‌ها کاهش می‌دهد (۲۷). بنابراین افزایش سطح فاکتور تومور نکروز آلفا با هیپوکسی، مصرف غذا را مهار کرده و در نتیجه کاهش وزن بدن را به همراه داشت. مطالعات دیگر نشان داد که فاکتور تومور نکروز آلفا به‌طور مستقیم در هیپوتالاموس عمل

از محدودیت‌های مطالعه حاضر عدم اندازه‌گیری سایر فاکتورهای التهابی درگیر در روند کاهش وزن موش‌ها در شرایط هیپوکسی سیستمیک حاد و مزمن بود. در مطالعات آینده پیشنهاد می‌شود، سایر فاکتورهای التهابی و مکانیسم‌های مولکولی درگیر در روند کاهش وزن در شرایط هیپوکسی حاد و مزمن مورد بررسی قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

از جناب آقای محمودرضا حسن زاده بابت کمک‌های مفید ایشان در آزمایشگاه تشکر می‌نماییم.

حمایت مالی تحقیق

این مطالعه با پشتیبانی مالی مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی تبریز به شماره ۸۹-۶۰-۷ انجام شد.

تضاد منافع

تضاد منافع ندارد.

ملاحظات اخلاقی

در پژوهش حاضر تمام آزمایش‌ها بر اساس آیین‌نامه‌ی کمیته‌ی اخلاق پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تبریز برای پژوهش‌های حیوانی با شناسه (89/4-13/11) صورت گرفت.

می‌کند و با کنترل بیان انتقال دهنده‌های عصبی مصرف انرژی را تعدیل می‌کند (۴۰). به نظر می‌رسد که فاکتور تومور نکروز آلفا در هیپوتالاموس برای سرکوب تغذیه عمل می‌کند و منجر به کاهش وزن بدن می‌شود (۴۱،۴۲). بنابراین کاهش وزن در موش‌ها ممکن است با دخالت سیستم فاکتور تومور نکروز آلفا یکی از واسطه‌های بی‌اشتهایی در هیپوتالاموس باشد (۲۳،۴۱). علاوه بر این، چندین مطالعه نشان داده‌اند که فاکتور تومور نکروز آلفا از طریق کاهش چربی از طریق مهار لیپوپروتئین لیپاز (LPL) یا با تحریک لیپولیز در بافت چربی در کاهش وزن بدن نقش دارد و همچنین باعث از بین رفتن پروتئین عضله اسکلتی می‌شود (۴۳،۴۴). مطالعات دیگر گزارش کردند که تجویز فاکتور تومور نکروز آلفا ($TNF-\alpha$) متابولیسم و گردش پروتئین (Protein turnover) را تسریع می‌کند و باعث افزایش تنظیم بافت‌های چربی mRNA لپتین و تعدیل سیگنال‌دهی انسولین و لپتین می‌شود (۴۵).

بنابراین، یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که فعال شدن سیستم فاکتور تومور نکروز آلفا ($TNF-\alpha$) توسط هیپوکسی ممکن است به کاهش وزن بدن در شرایط هیپوکسی مرتبط باشد. می‌توان نتیجه گرفت که اثر هیپوکسی بر کاهش وزن بدن، حداقل تا حدی، ممکن است ناشی از افزایش تولید فاکتور تومور نکروز آلفا ($TNF-\alpha$) باشد.

References:

- Dong Z, Wang JZ, Yu F, Venkatachalam MA. Apoptosis-resistance of hypoxic cells: multiple factors involved and a role for IAP-2. *Am J Pathol* 2003;163(2):663-71. doi: 10.1016/S0002-9440(10)63693-0
- Castillejos-López M, Romero Y, Varela-Ordoñez A, Flores-Soto E, Romero-Martinez BS, Velázquez-Cruz R, et al. Hypoxia induces alterations in the circadian rhythm in patients with chronic respiratory diseases. *Cells* 2023;12(23):2724. doi: 10.3390/cells12232724
- Kanaan A, Farahani R, Douglas RM, Lamanna JC, Haddad GG. Effect of chronic continuous or intermittent hypoxia and reoxygenation on cerebral capillary density and myelination. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2006;290(4): R1105-14. doi: 10.1152/ajpregu.00535.2005
- Dewhirst MW, Cao Y, Moeller B. Cycling hypoxia and free radicals regulate angiogenesis and radiotherapy response. *Nat Rev Cancer* 2008;8:425-36
- Sorg BS, Moeller BJ, Donovan O, Cao Y, Dewhirst MW. Hyperspectral imaging of hemoglobin saturation in tumor microvasculature and tumor hypoxia development. *J Biomed Opt* 2005;10(4):44004. doi:10.1117/1.2003369
- Lipp J, Neubauer S, Schipfer S, Lichter N, Tufman A, Otto B, et al. Hypobaric hypoxia causes body weight reduction in obese subjects. *Obesity (Silver Spring)* 2010;18(4):675-81. doi: 10.1038/oby.2009.509
- Wang R, Guo S, Tian H, Huang Y, Yang Q, Zhao K, et al. Hypoxic training in obese mice improves metabolic disorder. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2019;8:10:527. doi: 10.3389/fendo.2019.00527
- Castillo-Rodríguez RA, Trejo-Solis C, Cabrera-Cano A, Gómez-Manzo S, Dávila-Borja VM. Hypoxia as a Modulator of Inflammation and Immune Response in

- Cancer. *Cancers (Basel)* 2022;14(9):2291. doi: 10.3390/cancers14092291
9. Qiu B, Yuan P, Du X, Jin H, Du J, Huang Y. Hypoxia inducible factor-1 α is an important regulator of macrophage biology. *Heliyon* 2023;9(6):e17167. doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e17167
10. Nosrati Hashi A, Bolboli L, Anoushiravani S, Farzizadeh R. The effect of a period of resistance training with blood flow restriction on the level of IL-6, IGA and TNF- α in judokas. *Stud Med Sci* 2022;33(9):661-75. URL: <http://umj.umsu.ac.ir/article-1-5877-fa.html>
11. Qu Y, Zhao G, Li H. Forward and reverse signaling mediated by transmembrane tumor necrosis factor-alpha and TNF receptor 2: Potential roles in an immunosuppressive tumor microenvironment. *Front Immunol* 2017;8:1675. doi: 10.3389/fimmu.2017.01675.
12. Takabatake N, Nakamura H, Abe S, Inoue S, Hino T, Saito H, et al. The relationship between chronic hypoxemia and activation of the tumor necrosis factor-alpha system in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161(4 Pt 1):1179-84. doi: 10.1164/ajrccm.161.4.9903022
13. Sethi JK, Hotamisligil GS. Metabolic Messengers: Tumour necrosis factor. *Nat Metab* 2021;3(10):1302-1312. doi: 10.1038/s42255-021-00470-z.
14. Perry SW, Dewhurst S, Bellizzi MJ, Gelbard HA. Tumor necrosis factor-alpha in normal and diseased brain: Conflicting effects via intraneuronal receptor crosstalk? *J Neurovirol* 2002;8(6):611-24. doi: 10.1080/13550280290101021
15. Liu FQ, Liu Y, Lui VC, Lamb JR, Tam PK, Chen Y. Hypoxia modulates lipopolysaccharide induced TNF-alpha expression in murine macrophages. *Exp Cell Res* 2008; 314(6):1327-36. doi: 10.1016/j.yexcr.2008.01.007
16. de Kloet AD, Pacheco-López G, Langhans W, Brown LM. The effect of TNF α on food intake and central insulin sensitivity in rats. *Physiol Behav* 2011;103(1):17-20. doi: 10.1016/j.physbeh.2010.11.037.
17. Plata-Salamán CR, Oomura Y, Kai Y. Tumor necrosis factor and interleukin-1 beta: suppression of food intake by direct action in the central nervous system. *Brain Res* 1988;448(1):106-14. doi: 10.1016/0006-8993(88)91106-7
18. Banks WA. Anorectic effects of circulating cytokines: role of the vascular blood-brain barrier. *Nutrition* 2001;17(5):434-7. doi: 10.1016/s0899-9007(01)00507-x
19. Patel HJ, Patel BM. TNF- α and cancer cachexia: Molecular insights and clinical implications. *Life Sci* 2017;170:56-63. doi: 10.1016/j.lfs.2016.11.033
20. Tisdale MJ. Mechanisms of cancer cachexia. *Physiol Rev.* 2009;89(2):381-410. doi: 10.1152/physrev.00016.2008
21. Arruda AP, Milanski M, Romanatto T, Solon C, Coope A, Alberici LC, et al. Hypothalamic actions of tumor necrosis factor alpha provide the thermogenic core for the wastage syndrome in cachexia. *Endocrinology* 2010;151(2):683-94. doi: 10.1210/en.2009-0865
22. Bazzoni F, Beutler B. The tumor necrosis factor ligand and receptor families. *N Engl J Med* 1996;334(26):1717-25. doi:10.1056/NEJM199606273342607
23. Mahony SM, Beck SA, Tisdale MJ. Comparison of weight loss induced by recombinant tumour necrosis factor with that produced by a cachexia-inducing tumour. *Br J Cancer* 1988;57(4):385-9. doi: 10.1038/bjc.1988.87
24. Abidkanjo F, Soleimani N, Hosseini S M, Zanotti G. Immunological effects of FLGE2 recombinant protein in helicobacter pylori on TNF- α cytokine production in macrophage cells in vitro. *Stud Med Sci* 2022;33(1):45-53. URL: <http://umj.umsu.ac.ir/article-1-5786-fa.html>
25. la Fleur SE, Akana SF, Manalo SL, Dallman MF. Interaction between corticosterone and insulin in

- obesity: regulation of lard intake and fat stores. *Endocrinology* 2004;145(5):2174-85. doi: 10.1210/en.2003-1359
26. Xu NY, Chen XQ, Du JZ, Wang TY, Duan C. Intermittent hypoxia causes a suppressed pituitary growth hormone through somatostatin. *Neuro Endocrinol Lett* 2004;25(5):361-7
27. Babri S, Mohaddes G, Alipour M R, Ebrahimi H, Hossenzadeh F. Effects of Ghrelin on Plasma Glucose Levels, Body Weight, Food Intake and Hematocrit in Acute and Chronic Systemic Hypoxia in Adult Male Rats. *IJEM* 2013;15(1):100-6
28. Chen XQ, Dong J, Niu CY, Fan JM, Du JZ. Effects of hypoxia on glucose, insulin, glucagon, and modulation by corticotropin-releasing factor receptor type 1 in the rat. *Endocrinology* 2007;148(7):3271-8. doi: 10.1210/en.2006-1224
29. Webster JM, Kempen LJAP, Hardy RS, Langen RCJ. Inflammation and Skeletal Muscle Wasting During Cachexia. *Front Physiol* 2020;11:597675. doi:10.3389/fphys.2020.597675
30. Tschöp M, Morrison KM. Weight loss at high altitude. *Adv Exp Med Biol* 2001;502:237-47. doi:10.1007/978-1-4757-3401-0_16
31. Tschöp M, Strasburger CJ, Hartmann G, Biollaz J, Bärtsch P. Raised leptin concentrations at high altitude associated with loss of appetite. *Lancet* 1998;352(9134):1119-20. doi:10.1016/S0140-6736(05)79760-9
32. Cartee GD, Douen AG, Ramlal T, Klip A, Holloszy JO. Stimulation of glucose transport in skeletal muscle by hypoxia. *J Appl Physiol* 1991;70(4):1593-600. doi:10.1152/jappl.1991.70.4.1593
33. Boghrabadi V, Piri MA, Sadeghi HE, Sankian M. Effects of aerobic training on leptin, tumor necrosis factor- α and interleukin-6 levels in obese and lean men *Koomesh* 1388;11(1):33-40. URL: http://koomeshjournal.semums.ac.ir/article_1_608_en.html
34. Gholamian S, Attarzadehosseini S, Rashidlamir A, Aghaalienejad H, Shariatzade M. Effect of a period of interval training on expression of the TGF- β cytokine gene inducing the epithelial to mesenchymal transition, tumor volume, and cachexia in mice with breast cancer: An experimental study. *Stud Med Sci* 2019;30(6):502-12. URL: <http://umj.umsu.ac.ir/article-1-4788-fa.html>
35. Hempel SL, Monick MM, Hunninghake GW. Effect of hypoxia on release of IL-1 and TNF by human alveolar macrophages. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1996;14(2):170-6. doi: 10.1165/ajrcmb.14.2.8630267
36. Scannell G, Waxman K, Kaml GJ, Ioli G, Gatanaga T, Yamamoto R, et al. Hypoxia induces a human macrophage cell line to release tumor necrosis factor- α and its soluble receptors in vitro. *J Surg Res* 1993;54(4):281-5. doi: 10.1006/jsre
37. Di Francia M, Barbier D, Mege JL, Orehek J. Tumor necrosis factor- α levels and weight loss in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;150(5 Pt 1):1453-5. doi: 10.1164/ajrcem.150.5.7952575
38. Patsalos O, Dalton B, Leppanen J, Ibrahim MAA, Himmerich H. Impact of TNF- α inhibitors on body weight and BMI: A systematic review and meta-analysis. *Front Pharmacol* 2020;11:481. doi: 10.3389/fphar.2020.00481
39. Briot K, Garnero P, Le Henanff A, Dougados M, Roux C. Body weight, body composition, and bone turnover changes in patients with spondyloarthritis receiving anti-tumor necrosis factor {alpha} treatment. *Ann Rheum Dis* 2005;64(8):1137-40. doi: 10.1136/ard.2004.028670
40. Amaral ME, Barbuio R, Milanski M, Romanatto T, Barbosa HC, Nadruz W, et al. Tumor necrosis factor- α activates signal transduction in hypothalamus and modulates the expression of pro-inflammatory proteins and orexigenic/anorexigenic

- neurotransmitters. *J Neurochem* 2006;98(1):203-12. doi: 10.1111/j.1471-4159.2006.03857.x
41. Romanatto T, Cesquini M, Amaral ME, Roman EA, Moraes JC, Torsoni MA, et al. TNF-alpha acts in the hypothalamus inhibiting food intake and increasing the respiratory quotient--effects on leptin and insulin signaling pathways. *Peptides* 2007;28(5):1050-8. doi: 10.1016/j.peptides.2007.03.006
42. Le Thuc O, Stobbe K, Cansell C, Nahon JL, Blondeau N, Rovère C. Hypothalamic Inflammation and Energy Balance Disruptions: Spotlight on Chemokines. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2017; 8:197. doi: 10.3389/fendo.2017.00197
43. Rydén M, Arvidsson E, Blomqvist L, Perbeck L, Dicker A, Arner P. Targets for TNF-alpha-induced lipolysis in human adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;318(1):168-75. doi: 10.1016/j.bbrc.2004.04.010
44. Zhang Y, Jin W, Zhang D, Lin C, He H, Xie F, et al. TNF- α antagonizes the effect of leptin on insulin secretion through FOXO1-dependent transcriptional suppression of LepRb in INS-1 cells. *Oxid Med Cell Longev* 2022;2022:9142798. doi: 10.1155/2022/9142798
45. Grunfeld C, Zhao C, Fuller J, Pollack A, Moser A, Friedman J, Feingold KR. Endotoxin and cytokines induce expression of leptin, the ob gene product, in hamsters. *J Clin Invest* 1996;97(9):2152-7. doi:10.1172/JCI118653

INVESTIGATING THE ROLE OF TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA IN WEIGHT LOSS IN ACUTE AND CHRONIC SYSTEMIC HYPOXIA MODEL

Fezfeh Hosseinzadeh^{*1}

Received: 22 February, 2024; Accepted: 19 May, 2024

Abstract

Background & Aims: Body weight loss is a common complication in hypoxic conditions. Several studies have reported that hypoxia increases the production of tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) in vitro and in vivo models. The present study investigates the role of circulating TNF- α concentration in body weight loss in acute and chronic systemic hypoxia.

Materials & Methods: In this experimental study, 28 adults male Wistar rats were divided into four acute or chronic control and acute or chronic hypoxia groups. Animals were exposed to room air with 21% oxygen level or hypoxia with 10-11% oxygen level in a normobaric hypoxic chamber for two days (acute) or ten days (chronic). TNF- α concentration was evaluated using the ELISA method. SPSS version 17 software was used for data analysis. The findings related to the weight of rats were used from the paired-sample t-test, and the data related to the concentration of tumor necrosis factor-alpha from the Two-tailed Student's t-test. Differences were considered significant at $p < 0.05$ level.

Results: The results showed that acute ($p < 0.001$) and chronic ($p < 0.05$) hypoxia caused a significant increase in the concentration of TNF- α in the serum, as well as induction of acute ($p < 0.01$) and chronic ($p < 0.001$) systemic hypoxia.) significantly decreased body weight before and after hypoxia induction.

Conclusion: Our findings show that acute and chronic systemic hypoxia is associated with increased serum levels of TNF- α , and acute and chronic systemic hypoxia is associated with weight loss. Due to the association of TNF- α with weight loss, the increase of TNF- α may be the reason for body weight loss in hypoxic conditions.

Keywords: Body Weight, Normobaric, Systemic Hypoxia, TNF- α

Address: Department of Physiology, Sarab Faculty of Medical Sciences, Sarab, Iran

Tel: +984143237981

Email: Hossenazadeh_fez@yahoo.com

SOURCE: STUD MED SCI 2024; 35(2): 125 ISSN: 2717-008X

This is an open-access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, as long as the original work is properly cited.

¹ Assistant Professor of the Department of Physiology, Sarab Faculty of Medical Sciences, Sarab, Iran (Corresponding Author)