

اثر روغن زیتون بر بیان ژن Nrf2 در قلب موش‌های صحرایی سالخورده القا شده با D-گالاکتوز

کوثر آرمین^۱، فرناز فریبا^۲، محمد زارعی^۳، علیرضا کمکی^۴، فاطمه رضوانی علی اکبری^۵

تاریخ دریافت ۱۴۰۳/۰۳/۱۲ تاریخ پذیرش ۱۴۰۳/۰۴/۱۱

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: قلب پیر در ساختار و عملکرد میتوکندری اختلال دارد. با این حال، هنوز یافتن ترکیب قدرتمندی برای بهبود ناهنجاری‌های عملکرد قلبی در افراد سالخورده یک چالش است. روغن زیتون (OLO)، به‌عنوان روغن با اسیدهای چرب اشباع‌نشده، اثرات محافظتی متنوعی بر روی سیستم قلبی عروقی از جمله اثرات ضد التهابی و ضد دیابتی دارد و فشارخون را کاهش می‌دهد. در مطالعه حاضر، اثرات محافظتی OLO بر اختلال عملکرد قلب ناشی از پیری بررسی شد. **مواد و روش کار:** موش‌های صحرایی ویستار نر به‌طور تصادفی به سه گروه: کنترل، موش‌های صحرایی پیر القا شده با D-گالاکتوز (D-GAL) و موش‌های سالخورده تحت درمان با OLO (OLO + D-GAL) تقسیم شدند. پیری در موش‌ها با تزریق داخل صفاقی D-GAL با دوز ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت هشت هفته القا شد و گروه D-Gal+ OLO به مدت هشت هفته با OLO خوراکی تحت درمان قرار گرفت. نسبت وزن قلب به وزن بدن به‌عنوان شاخص هایپرتروفی قلبی در نظر گرفته شد. بافت‌های قلب برای سنجش پارامترهای مولکولی برداشته شدند.

یافته‌ها: موش‌های پیر، هایپرتروفی قلبی ($p < 0.01$) و کاهش در بیان ژن nuclear factor E2 related factor2 (Nrf2) ($p < 0.001$) را در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند. درمان با OLO هایپرتروفی قلبی ($p < 0.01$) و بیان ژن Nrf2 ($p < 0.001$) را بهبود بخشید.

بحث و نتیجه‌گیری: به‌طور کلی، OLO ممکن است نقش محافظتی در پیری و هایپرتروفی قلبی داشته باشد، و اثرات مفید آن ممکن است با بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی مرتبط باشد. پیشنهاد می‌شود OLO در رژیم غذایی افراد سالمند و بیماران قلبی قرار داده شود.

کلیدواژه‌ها: پیری، آنتی‌اکسیدان، قلب، هایپرتروفی، روغن زیتون

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و پنجم، شماره سوم، ص ۱۹۱-۱۸۲، خرداد ۱۴۰۳

آدرس مکاتبه: گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران، تلفن: ۰۹۳۵۰۶۶۹۴۹۴

Email: framezani@umsha.ac.ir

مقدمه

آنجائی که گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)؛ به لبیده‌ها، پروتئین‌ها و DNA آسیب می‌رسانند؛ وجود ROS می‌تواند ایجادکننده پیری و مرگ سلولی باشد. مطالعات زیادی نشان داده‌اند که استرس اکسیداتیو و ROS در ایجاد بیماری‌های ناشی از پیری نقش دارد (۳-۵). یکی از ارگان‌هایی که تحت تأثیر استرس اکسیداتیو قرار دارد؛ قلب است که سلول‌های عضله آن دچار آسیب می‌شوند؛ بنابراین؛ استرس اکسیداتیو، نقش مهمی را در طی روند پیری قلب ایفا می‌کند و مقاومت در برابر استرس اکسیداتیو؛ شاید یک روش درمانی امیدوارکننده برای به تأخیر انداختن و یا درمان بیماری‌های

جمعیت سالخورده در سراسر جهان؛ روز به روز در حال افزایش است و بیماری‌های قلبی-عروقی؛ از دلایل اصلی مرگ در افراد پیر بشمار می‌رود (۱). پیری؛ یک فرآیند پیشرونده از دست دادن عملکرد فیزیولوژیک است که یک فاکتور خطر اصلی برای بروز بیماری‌های قلبی-عروقی محسوب می‌گردد (۲)؛ از این جهت؛ درک مکانیسم‌های درگیر در بروز بیماری‌های قلبی-عروقی مرتبط با پیری حائز اهمیت است. استرس اکسیداتیو در پاتوفیزیولوژی بسیاری از بیماری‌ها همچون فرآیند پیری، دارای اهمیت است. از

^۱ دانشجوی دکتری عمومی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

^۲ دانشیار بیماری‌های قلب و عروق، گروه قلب و عروق، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

^۳ دانشیار فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

^۴ استاد فیزیولوژی، گروه علوم اعصاب، دانشکده علوم و فناوری پیشرفته در پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

^۵ استادیار فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران (نویسنده مسئول)

مطالعات قبلی نشان داد که درمان موش‌ها با د-گالاکتوز منجر به هایپرتروفی قلبی می‌شود که از تغییر مورفولوژی، و افزایش نسبت وزن بطن چپ به وزن بدن مشهود است (۲۰).

در سال‌های اخیر برای جلوگیری از بیماری‌های قلبی عروقی خوردن میوه‌های تازه، سبزی یا گیاهان غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی توصیه می‌شود. اثر حفاظتی گیاهان می‌تواند از طریق فلاونوئیدها، آنتوسیانیدها و دیگر ترکیبات فنولیک باشد (۲۱). روغن‌زیتون که از میوه درخت زیتون به دست می‌آید، دارای اسیدهای چرب غیراشباع و آنتی‌اکسیدان بوده که موجب افزایش طول عمر می‌گردد و در بین اجزای آن؛ اسیدهای چرب اولئیک، لینولئیک و پالمیتیک از نظر کمی، بالاترین درصد را دارا هستند که مقدار زیاد اسید اولئیک، منبع ایدئالی برای تولید انرژی و عامل جلوگیری از بروز بیماری‌های قلبی عروقی است. روغن‌زیتون از آسیب رادیکال‌های آزاد حاصل از چربی‌ها و روغن‌ها به سیستم قلبی عروقی جلوگیری می‌کند. از مفیدترین مواد تشکیل‌دهنده روغن‌زیتون، پلی‌فنول‌ها هستند که پلی‌فنول‌ها و فلاونوئید موجود در روغن‌زیتون، به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در نظر گرفته می‌شوند (۲۲-۲۴). از آنجائی که بیماری‌های قلبی عروقی؛ با یک سبک زندگی سالم، قابل پیشگیری هستند و مطالعات زیادی بر فواید غذاهای گیاهی از جمله روغن‌زیتون؛ بر سلامت قلب و عروق تأکید کرده‌اند و نیز؛ با توجه به اینکه تاکنون مطالعه‌ای جهت بررسی اثر روغن‌زیتون بر بیان ژن Nrf2 در بافت قلب موش‌های صحرایی سالخورده با د-گالاکتوز صورت نگرفته است؛ به نظر می‌رسد تحقیق حاضر، به‌منظور یافتن پاسخ این فرضیه، حائز اهمیت باشد.

مواد و روش کار

در این مطالعه؛ تعداد ۱۵ سر موش نر، نژاد ویستار با وزن ۳۰۰-۲۵۰ گرم مورد استفاده قرار گرفت که یک هفته پیش از شروع کار به حیوان‌خانه منتقل شده و دوره ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی را تجربه کردند و نیز؛ دست‌یابی آن‌ها به آب و غذا، آزادانه بود. این مطالعه توسط کمیته اخلاق حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی همدان (IR.UMSHA.AEC.1403.008) تأیید شد. حیوانات به‌طور تصادفی به ۳ گروه و هر گروه، شامل ۵ رت تقسیم شدند که گروه‌های آزمایش عبارت‌اند از:

۱- کنترل (دریافت‌کننده نرمال سالیین به مدت هشت هفته)

۲- سالخورده القاشده با د-گالاکتوز (با دوز ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت هشت هفته)

۳- سالخورده القاشده با د-گالاکتوز (با دوز ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت هشت هفته) و دریافت‌کننده روغن‌زیتون (با دوز ۰/۳ سی‌سی به مدت هشت هفته)

مرتبط با افزایش سن باشد (۶). هایپرتروفی قلبی یکی از ویژگی‌های اصلی پیری قلب است. همچنین پیری باعث افزایش استرس اکسیداتیو و کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در بافت قلب می‌شود (۷)، (۸). استرس اکسیداتیو، یکی از مشخصه‌های پیری و عامل ایجاد بیماری‌های قلبی عروقی از جمله فشارخون بالا، دیابت و چاقی است. همچنین مداخلاتی باهدف کاهش استرس اکسیداتیو از طریق مصرف مکمل‌های آنتی‌اکسیدان در جهت بهبود دفاع آنتی‌اکسیدانی درون‌زا انجام شده است. به‌طور خاص، بهبود دفاع آنتی‌اکسیدانی از طریق فعال کردن مسیر عامل هسته‌ای مربوط به فاکتور Nrf2 (۲) به‌عنوان یکی از بهترین مولکول‌های مطالعه شده در تعادل ردوکس سلولی و تنظیم‌کننده اصلی پاسخ آنتی‌اکسیدانی انجام شده است (۹). تعادل ردوکس، تعادل بین اکسیدان‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها در یک محیط درون سلولی است. به‌طور کلی، سلول‌های انسانی دائماً تحت واکنش‌ها و تغییرات شیمیایی متعددی قرار می‌گیرند که نیازمند اکسیژن و سایر ترکیبات مغذی است. مصرف اکسیژن می‌تواند ROS را در سلول تولید کند که در صورت کنترل نشدن منجر به استرس اکسیداتیو می‌شود (۱۰). شایان‌ذکر است، سن به‌عنوان یک عامل مستقل برای ایجاد بیماری‌های قلبی عروقی و نارسایی قلبی شناخته شده است (۱۱). Nrf2 نقش مهمی در کاهش استرس اکسیداتیو دارد (۱۲). سطح خفیف تا متوسط ROS باعث فعال شدن Nrf2 و سیستم آنتی‌اکسیدانی می‌شود. همچنین Nrf2 مکانیسم‌های سم‌زدایی را در عروق حیوانات جوان به‌عنوان یک پاسخ تطبیقی افزایش می‌دهد (۱۳، ۱۴). از سوی دیگر، یک وضعیت اکسیداتیو مزمن در یک مدل هیپرگلیسمی مزمن ۵ ماهه، Nrf2 و پاسخ آنتی‌اکسیدانی را در قلب موش‌ها در مقایسه با مدل هیپرگلیسمی ۲ ماهه کاهش داد (۱۵). همچنین سطح Nrf2 در بافت قلب بیماران دیابتی در مقایسه با افراد سالم کاهش یافت (۱۵). ژن Nrf2 یک فاکتور اصلی رونویسی است که تنظیم‌کننده چندین آنتی‌اکسیدان است و موش‌های فاقد Nrf2 (16)، به دلیل کمبود شدید روش‌های تنظیم ژن؛ حساسیت زیادی نسبت به آسیب اکسیداتیو دارند؛ بنابراین؛ Nrf2، نقش مهمی را در سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی ایفا می‌کند که بیان و فعالیت آن نیز در پستانداران سالخورده کاهش یافته و فعال‌سازی آن؛ به‌عنوان یک هدف درمانی بالقوه در پیری پیشنهاد شده است (۱۷، ۱۸).

د-گالاکتوز باعث افزایش هایپرتروفی، التهاب و هایپرپلازی بافت قلب می‌شوند. از طرفی د-گالاکتوز می‌تواند باعث افزایش استرس اکسیداتیو از طریق افزایش اکسیداسیون گالاکتوز و تولید ROS درگیر در هایپرتروفی قلبی شود (۱۹). Chang و همکاران نشان دادند که د-گالاکتوز باعث ایجاد هایپرتروفی قلبی، و افزایش استرس اکسیداتیو در بافت قلب موش‌های صحرایی می‌شود. همچنین نتایج

القای سالخوردگی:

مقایسه با ژن کنترل b-actine با روش Real-time PCR Quantification مورد بررسی قرار گرفت. تعداد سیکل‌ها برای تکثیر ژن کنترل و ژن هدف، ۴۰ در نظر گرفته شد و پس از پایان کار، با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ ؛ اندازه بیان ژن‌ها؛ به‌طور نسبی محاسبه شد (۲۸).

قلب‌های جدا شده حیوانات توسط نرمال سالین شسته و با گاز استریل خشک شدند. سپس وزن قلب‌ها با ترازو سنجیده و نسبت وزن قلب به وزن بدن به‌عنوان شاخص هایپرتروفی قلبی در نظر گرفته شد.

آنالیز آماری:

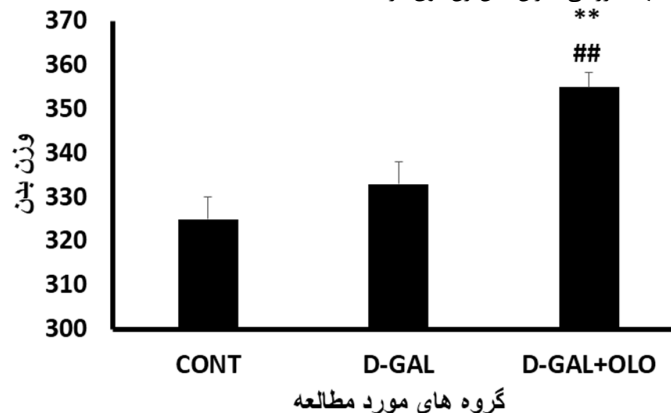
از آزمون One-Way ANOVA و تست تعقیبی توکی برای مقایسه بین گروه‌ها استفاده شد. از نرم‌افزار SPSS نیز جهت محاسبه آماری استفاده گردید. داده‌ها به‌صورت $Mean \pm SEM$ محاسبه و $P < 0.05$ معنی‌دار تلقی شد.

یافته‌ها

موش‌های پیر، هایپرتروفی قلبی و کاهش در بیان ژن Nrf2 را در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند. درمان با روغن زیتون تمام این پارامترها را بهبود بخشید.

هایپرتروفی قلبی:

وزن بدن در گروه پیر درمان شده با روغن زیتون افزایش معناداری نسبت به سایر گروه‌ها نشان داد. گروه پیر القا شده با د-گالاکتوز افزایش معناداری در نشانگر هایپرتروفی قلب، وزن قلب به وزن بدن (HW/BW) نسبت به گروه کنترل نشان داد و این نسبت در گروه پیر درمان شده با روغن زیتون به‌طور معناداری نسبت به گروه پیر القا شده با د-گالاکتوز کاهش یافت (شکل ۱ و ۲).



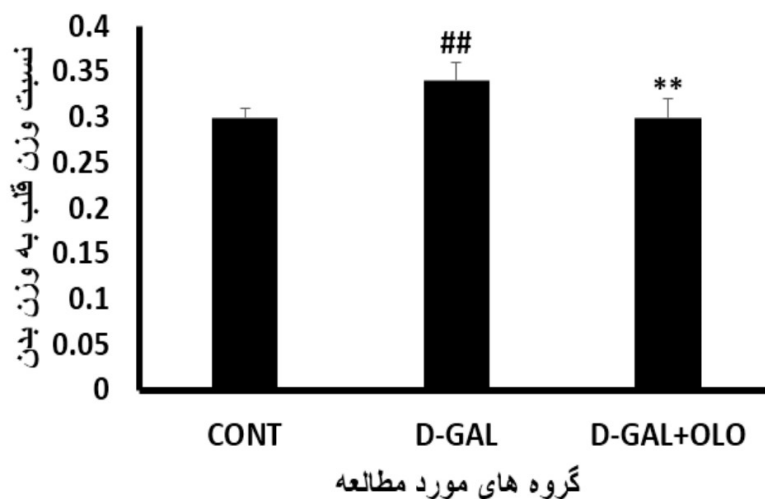
شکل (۱): برای مقایسه بین گروه‌ها از One-Way ANOVA و تست تعقیبی توکی استفاده شد. یافته‌ها به‌صورت میانگین \pm خطای

استاندارد در کنترل CONT، موش‌های پیر القا شده با د-گالاکتوز D-GAL، موش‌های پیر تحت درمان با روغن زیتون D-GAL + OLO، تعداد موش Δ ، $p < 0.01$ در مقایسه با گروه کنترل، $p < 0.01$ در مقایسه با گروه پیر القا شده با د-گالاکتوز

د-گالاکتوز با دوز ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم؛ حل شده در نرمالین سالین، برای یک بار در روز به مدت هشت هفته؛ به‌صورت داخل صفاقی، به حیوانات تزریق شد (۲۵). در طی این هشت هفته، حیوانات گروه دریافت‌کننده روغن زیتون؛ این روغن را به میزان ۰/۳ سی‌سی بر کیلوگرم، روزانه به‌صورت گاواژ دریافت کردند (۲۶). منبع روغن زیتون مورد استفاده در این تحقیق؛ شهرستان رودبار از استان گیلان بود. وزن حیوانات نیز در ابتدا و انتهای پروتکل اندازه‌گیری شد.

بیان ژن Nrf2 در بافت قلب به روش Real-time PCR:

۲۴ ساعت بعد از آخرین تیمار، حیوانات در گروه‌های مختلف؛ با استفاده از پنتوباریتال (با دوز ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت داخل صفاقی) بی‌هوش شدند سپس قلب از بدن جدا شد (۲۷). قبل از آزمایش؛ بافت‌ها هموژنیزه شد. بدین منظور بافت مورد نظر وزن و حداکثر ۵۰ میلی‌گرم برداشته شد و یک سی‌سی از محلول RNX PLUS- (شرکت آزمایشگاه، ایران) به آن اضافه شد. سپس توسط دستگاه هموژنایزر و طی چندین مرحله خرد و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، دور ۱۲۰۰۰ و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. مایع رویی جدا و RNA از بطن چپ قلب بر اساس پروتکل شرکت سازنده استخراج شد. در این مطالعه از بافت بطن چپ استفاده گردید به این دلیل که در پیری هایپرتروفی قلبی در بطن چپ ایجاد می‌شود و هایپرتروفی قلبی و همچنین مشکلات قلبی در سمت چپ اهمیت بیشتری دارند. بعد از استخراج RNA؛ کمیت و کیفیت آن با استفاده از اطلاعات نانودراپ بررسی شد. نهایتاً RNA با استفاده از کیت پارس طوس (شرکت کیمیا رهاورد، ایران) به cDNA تبدیل شد. در پایان؛ cDNA مذکور جهت بررسی میزان بیان ژن فوق در

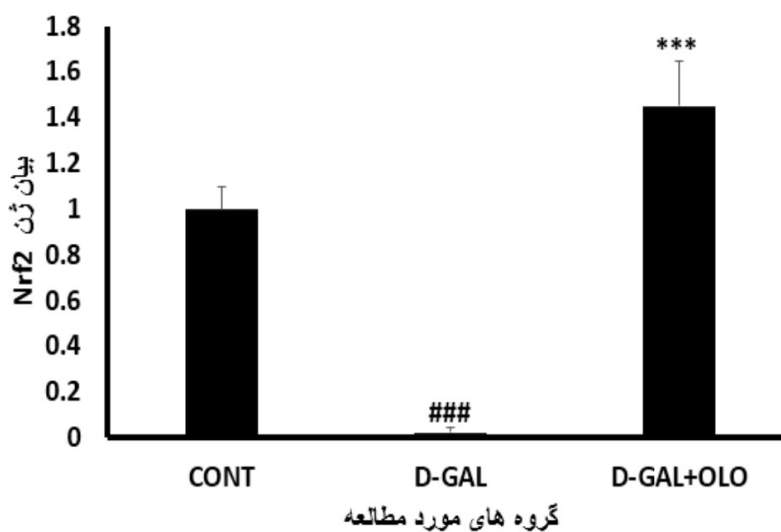


شکل (۲): برای مقایسه بین گروه‌ها از One-Way ANOVA و تست تعقیبی توکی استفاده شد. یافته‌ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد در کنترل CONT، موش‌های پیر القاشده با د-گالاکتوز D-GAL، موش‌های پیر تحت درمان با روغن زیتون D-GAL + OLO، تعداد موش=۵، $p < 0.01$ در مقایسه با گروه کنترل، $p < 0.01$ در مقایسه با گروه پیر القاشده با د-گالاکتوز

و بیان این ژن در گروه پیر درمان شده با روغن زیتون به طور معناداری نسبت به گروه پیر القاشده با د-گالاکتوز افزایش یافت (شکل ۳).

بیان ژن Nrf2 به روش Real-time PCR

گروه پیر القاشده با د-گالاکتوز کاهش معناداری در بیان ژن Nrf2 به روش Real-time PCR نسبت به گروه کنترل نشان داد



شکل (۳): برای مقایسه بین گروه‌ها از One-Way ANOVA و تست تعقیبی توکی استفاده شد. یافته‌ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد در کنترل CONT، موش‌های پیر القاشده با د-گالاکتوز D-GAL، موش‌های پیر تحت درمان با روغن زیتون D-GAL + OLO، تعداد موش=۵، $p < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل، $p < 0.001$ در مقایسه با گروه پیر القاشده با د-گالاکتوز

بحث و نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که موش‌های پیر القا شده با د-گالاکتوز، هایپرتروفی قلبی و کاهش در بیان ژن Nrf2 را در بافت قلب نشان دادند. درمان با روغن زیتون به مدت هشت هفته از راه خوراکی تمام این پارامترها را بهبود بخشید. قلب نسبت به روند پیری بسیار حساس است. در پیری، قلب مستعد هایپرتروفی است و هایپرتروفی قلبی یکی از ویژگی‌های اصلی پیری قلب است. نتایج این مطالعه نشان داد که پیری ناشی از د-گالاکتوز باعث افزایش نسبت وزن قلب به وزن بدن به عنوان شاخص هایپرتروفی در موش‌های مسن شد. این داده‌ها نشان می‌دهد که تزریق د-گالاکتوز باعث هایپرتروفی قلبی ناشی از پیری می‌شود. به علاوه، مطالعات قبلی ما وجود هایپرتروفی قلبی را در موش‌های تزریق شده با د-گالاکتوز نشان دادند (۲۷، ۲۹، ۳۰).

کمبود و/یا فعالیت ناکافی Nrf2 در طول پیری منجر به اختلال در توانایی سلول برای مقابله با ROS می‌شود که بر تعادل ردوکس تأثیر می‌گذارد و منجر به حساسیت اکسیداتیو در میوکارد و نارسایی قلبی می‌شود (۳۱-۳۳). علاوه بر این، اختلال در تعادل ردوکس باعث القای آپوپتوز و/یا نکروز سلول‌های عضله قلب و کاهش تعداد آن‌ها می‌شود. کاهش تعداد سلول‌های عضله قلب به عنوان نشانه‌ای از پیری قلب منجر به هایپرتروفی قلبی می‌شود (۳۴). ترکیبی از دو علت افزایش ROS در پیری و وجود میزان بالای میتوکندری در قلب به عنوان محل متابولیسم اکسیداتیو برای تولید ROS می‌تواند اهمیت تنظیم Nrf2 در کنترل بار اکسیداتیو در پیری قلب را نشان دهد. بنابراین واضح است که اختلال در تنظیم Nrf2 در تقاطع آسیب‌شناسی پیری و بیماری‌های قلبی عروقی است که در آن، کاهش مسیر آنتی‌اکسیداتیو Nrf2 در طول پیری، بافت قلب را مستعد بیماری‌های مختلف می‌کند (۳۵، ۳۶).

نتایج ما این فرضیه را تأیید می‌کند که روغن زیتون می‌تواند ویژگی‌های ساختاری و مولکولی پیری قلب را بهبود بخشد. روغن زیتون هایپرتروفی قلبی و اختلال عملکرد قلب ناشی از انفارکتوس میوکارد را از طریق اثرات ضد اکسیداتیو و ضدالتهابی تنظیم می‌کند (۳۷). مصرف روغن زیتون، تولید ROS در میتوکندری را کاهش می‌دهد و از طرفی عملکرد زنجیره انتقال الکترون را در مدل‌های مختلف استرس اکسیداتیو افزایش می‌دهد (۳۸). مصرف روغن زیتون، هایپرتروفی قلبی و نارسایی قلبی ناشی از انفارکتوس میوکارد را از طریق کاهش استرس اکسیداتیو و سطح فاکتورهای التهابی در قلب بهبود می‌دهد (۳۷). گوریل و همکاران نشان دادند که مصرف روغن زیتون باعث بهبود آسیب DNA، استرس اکسیداتیو، فعالیت‌های آنتی‌اکسیداتیو و تغییرات بافت‌شناسی قلب

در مدل موش صحرایی در معرض آکریل آمید و آلومینیوم می‌شود (۳۹). همچنین، مصرف روغن زیتون باعث افزایش تعداد و عملکرد میتوکندری در موش‌های صحرایی می‌شود (۴۰). نتایج مطالعه قبلی نشان داد که تیروزول، هیدروکسی تیروزول و پینورزینول، فراوان‌ترین ترکیبات فنولی در روغن زیتون هستند. ظرفیت آنتی‌اکسیداتیو روغن زیتون به‌طور قابل توجهی به غلظت تیروزول، هیدروکسی تیروزول و همچنین غلظت اولئوروپتین نسبت داده می‌شود. هیدروکسی تیروزول که بیش از ۴۰ درصد از کل فنول‌های روغن زیتون را تشکیل می‌دهد، عمدتاً فعالیت آنتی‌اکسیداتیو روغن زیتون را تعیین می‌کند (۴۱). در یک مطالعه تجربی روی موش‌های مستعد به پیری تغذیه شده با روغن زیتون با میزان کم و بالای فنولیک نشان داده شد که روغن زیتون با میزان بالای فنولیک به‌طور قابل توجهی کمتری از نشانگرهای آسیب اکسیداتیو در بافت قلب را نسبت به روغن زیتون با مقادیر پایین فنولیک نشان داد. همچنین سطح بیان ژن Nrf2 و همچنین آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو در بافت قلب موش‌های مستعد به پیری تغذیه شده با روغن زیتون با میزان بالای فنولیک در مقایسه با گروه دریافت کننده روغن زیتون با مقادیر پایین فنولیک به‌طور قابل توجهی بالاتر بود. هیدروکسی تیروزول موجود در روغن زیتون با مقادیر بالای فنولیک ممکن است مسئول افزایش بیان ژن Nrf2 و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیداتیو در بافت قلب باشد. در نتیجه، یک رژیم غذایی غنی از فنولیک روغن زیتون ممکن است با تعدیل بیان ژن Nrf2 از استرس اکسیداتیو در قلب موش‌های مستعد به پیری جلوگیری کند (۴۲). نتایج یک مطالعه تجربی روی موش‌های مستعد به پیری نشان داد که مصرف روغن زیتون ممکن است نقش محافظتی در پیری و یادآوری حافظه نداشته باشد، اما اثرات مفید آن ممکن است به بهبود متابولیسم لیپید از طریق کاهش تری‌گلیسرید خون مربوط باشد (۴۳). کاهش سطح عوامل آنتی‌اکسیدان و افزایش سطح عوامل اکسیدان‌ها رابطه بسیار نزدیکی با اختلال متابولیسم لیپید دارد (۴۴). می‌توان پیشنهاد کرد که روغن زیتون با بهبود فعالیت آنتی‌اکسیداتیو از طریق افزایش بیان ژن Nrf2 باعث بهبود هایپرتروفی قلبی در پیری می‌شود. به‌طور کلی، روغن زیتون ممکن است نقش محافظتی در پیری و هایپرتروفی قلبی داشته باشد، و اثرات مفید آن ممکن است با بهبود وضعیت آنتی‌اکسیداتیو مرتبط باشد. پیشنهاد می‌شود روغن زیتون در رژیم غذایی افراد سالمند و بیماران قلبی قرار بگیرد. در این مطالعه به بررسی‌های بافت‌شناسی، الکتروفیزیولوژی و عملکردی قلب شامل بررسی قدرت انقباضی قلب پرداخته نشده است و این موارد جزو محدودیت‌های این مطالعه است. بنابراین مطالعات بیشتری برای تأیید اثر

پزشکی همدان صورت گرفت.

تعارض منافع:

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند هیچ گونه تضادی در منافع وجود ندارد.

ملاحظات اخلاقی:

در اجرای این پژوهش، ملاحظات اخلاقی مطابق با شیوه‌نامه کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی همدان در سال ۱۴۰۳ با کد اخلاق IR.UMSHA.AEC.1403.008 در نظر گرفته شده است.

روغن زیتون بر فرآیند پیری و عوارض قلبی عروقی همراه با پیری در آینده مورد نیاز است.

تشکر و قدردانی:

تأمین مالی این مطالعه توسط معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم پزشکی همدان (شماره ۱۴۰۳۰۲۱۸۱۱۶۴) تأمین شد. نویسندگان مایلند از دانشگاه علوم پزشکی همدان برای تأمین مالی تشکر کنند.

حمایت مالی:

این مطالعه با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم

References:

- Sacco RL, Roth GA, Reddy KS, Arnett DK, Bonita R, Gaziano TA, et al. The heart of 25 by 25: achieving the goal of reducing global and regional premature deaths from cardiovascular diseases and stroke: a modeling study from the American Heart Association and World Heart Federation. *Circulation* 2016;133(23): e674-e90. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000395>
- Niccoli T, Partridge L. Ageing as a risk factor for disease. *Curr Biol* 2012;22(17): R741-R52. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.07.024>
- Louch WE, Hougen K, Mørk HK, Swift F, Aronsen JM, Sjaastad I, et al. Sodium accumulation promotes diastolic dysfunction in end-stage heart failure following Serca2 knockout. *J Physiol* 2010;588(3): 465-78. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2009.183517>
- Nakajima-Takenaka C, Zhang G-X, Obata K, Tohne K, Matsuyoshi H, Nagai Y, et al. Left ventricular function of isoproterenol-induced hypertrophied rat hearts perfused with blood: mechanical work and energetics. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009;297(5): H1736-H43. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00672.2009>
- Tasatargil A, Kuscun N, Dalaklioglu S, Adiguzel D, Celik-Ozenci C, Ozdem S, et al. Cardioprotective effect of nesfatin-1 against isoproterenol-induced myocardial infarction in rats: role of the Akt/GSK-3 β pathway. *Peptides* 2017;95: 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2017.07.003>
- Cadenas E, Davies KJ. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radic Biol Med* 2000;29(3-4): 222-30. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(00\)00317-8](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(00)00317-8)
- Mehranfard N, Salimi R, Saranjam A, Naderi R. Protective effect of prazosin on oxidative stress in the heart of aged male rats. *STUD MED SCI* 2024;34(12): 772-80. <https://doi.org/10.61186/umj.34.12.772>
- Gohari H, Fariba F, Zarei M, Komaki A, Ramezani-Aliakbari F. Effects of oral administration of Gallic acid on lipid profile changes and markers of cardiac damage (Lactate dehydrogenase and cardiac creatine kinase) in aged male rats induced with D-galactose. *STUD MED SCI* 2024;35(2): 126-35.
- Silva-Palacios A, Koenigsberg M, Zazueta C. Nrf2 signaling and redox homeostasis in the aging heart: A potential target to prevent cardiovascular diseases? *Ageing Res Rev* 2016;26: 81-95. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2015.12.005>
- Uttara B, Singh AV, Zamboni P, Mahajan R. Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. *Curr Neuropharmacol* 2009;7(1): 65-74. <https://doi.org/10.2174/157015909787602823>
- Gounder SS, Kannan S, Devadoss D, Miller CJ, Whitehead KJ, Odelberg SJ, et al. Correction: Impaired Transcriptional Activity of Nrf2 in Age-

- Related Myocardial Oxidative Stress Is Reversible by Moderate Exercise Training. *Plos one* 2012;7(10). <https://doi.org/10.1371/annotation/8690bb36-3c5d-48a6-b3be-39a2b50896e1>
12. Mukaigasa K, Nguyen LT, Li L, Nakajima H, Yamamoto M, Kobayashi M. Genetic evidence of an evolutionarily conserved role for Nrf2 in the protection against oxidative stress. *Mol Cell Biol* 2012;32(21): 4455-61. <https://doi.org/10.1128/MCB.00481-12>
 13. Warabi E, Takabe W, Minami T, Inoue K, Itoh K, Yamamoto M, et al. Shear stress stabilizes NF-E2-related factor 2 and induces antioxidant genes in endothelial cells: role of reactive oxygen/nitrogen species. *Free Radic Biol Med* 2007;42(2): 260-9. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2006.10.043>
 14. Wu J, Xia S, Kalionis B, Wan W, Sun T. The role of oxidative stress and inflammation in cardiovascular aging. *Biomed Res Int* 2014;2014. <https://doi.org/10.1155/2014/615312>
 15. Tan Y, Ichikawa T, Li J, Si Q, Yang H, Chen X, et al. Diabetic downregulation of Nrf2 activity via ERK contributes to oxidative stress-induced insulin resistance in cardiac cells in vitro and in vivo. *Diabetes* 2011;60(2): 625-33. <https://doi.org/10.2337/db10-1164>
 16. Erkens R, Kramer CM, Lückstädt W, Panknin C, Krause L, Weidenbach M, et al. Left ventricular diastolic dysfunction in Nrf2 knock out mice is associated with cardiac hypertrophy, decreased expression of SERCA2a, and preserved endothelial function. *Free Radic Biol Med* 2015;89: 906-17. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.10.409>
 17. Liu H, Zhu S, Han W, Cai Y, Liu C. DMEP induces mitochondrial damage regulated by inhibiting Nrf2 and SIRT1/PGC-1 α signaling pathways in HepG2 cells. *Ecotoxicol Environ Saf* 2021;221: 112449. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112449>
 18. Goffart S, von Kleist-Retzow J-C, Wiesner RJ. Regulation of mitochondrial proliferation in the heart: power-plant failure contributes to cardiac failure in hypertrophy. *Cardiovasc Res* 2004;64(2): 198-207. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2004.06.030>
 19. Loboda A, Damulewicz M, Pyza E, Jozkowicz A, Dulak J. Role of Nrf2/HO-1 system in development, oxidative stress response and diseases: an evolutionarily conserved mechanism. *Cell Mol Life Sci* 2016;73(17): 3221-47. <https://doi.org/10.1007/s00018-016-2223-0>
 20. Chang Y-M, Chang H-H, Lin H-J, Tsai C-C, Tsai C-T, Chang H-N, et al. Inhibition of cardiac hypertrophy effects in D-galactose-induced senescent hearts by alpinate oxyphyllae fructus treatment. *Evid Based Complement Alternat Med* 2017;2017(1): 2624384. <https://doi.org/10.1155/2017/2624384>
 21. Peñarrieta JM, Mollinedo P, Aliaga-Rossel E, Vila JL, Bravo JA. Gallic acid and its derivatives: occurrence and identification in high altitude edible and medicinal plants. THOMPSON, MA & COLLINS, PB Handbook on gallic acid: natural occurrences, antioxidant properties and health implications Nova Publishers 2013.
 22. Kiritsakis A, Markakis P. Olive oil: a review. *Adv Food Res* 1988;31: 453-82. [https://doi.org/10.1016/S0065-2628\(08\)60170-6](https://doi.org/10.1016/S0065-2628(08)60170-6)
 23. Covas M-I. Olive oil and the cardiovascular system. *Pharmacol Res* 2007;55(3): 175-86. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2007.01.010>
 24. Gutfinger T. Polyphenols in olive oils. *J Am Oil Chem* 1981;58(11): 966-8. <https://doi.org/10.1007/BF02659771>
 25. Chang Y-M, Chang H-H, Lin H-J, Tsai C-C, Tsai C-T, Chang H-N, et al. Inhibition of cardiac hypertrophy effects in d-galactose-induced senescent hearts by alpinate oxyphyllae fructus treatment. *Evid Based Complement Alternat Med* 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/2624384>
 26. Nakbi A, Tayeb W, Grissa A, Issaoui M, Dabbou S, Chargui I, et al. Effects of olive oil and its fractions

- on oxidative stress and the liver's fatty acid composition in 2, 4-Dichlorophenoxyacetic acid-treated rats. *Nutr Metab* 2010;7: 1-11. <https://doi.org/10.1186/1743-7075-7-80>
27. Shackebaei D, Hesari M, Ramezani-Aliakbari S, Pashaei M, Yarmohammadi F, Ramezani-Aliakbari F. Cardioprotective effect of naringin against the ischemia/reperfusion injury of aged rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2023: 1-10. <https://doi.org/10.1007/s00210-023-02692-2>
 28. Rosner B. *Fundamentals of biostatistics: Cengage learning* 2015.
 29. Shahidi S, Ramezani-Aliakbari K, Komaki A, Salehi I, Hashemi S, Asl SS, et al. Effect of vitamin D on cardiac hypertrophy in D-galactose-induced aging model through cardiac mitophagy. *Mol Biol Rep* 2023;50(12): 10147-55. <https://doi.org/10.1007/s11033-023-08875-7>
 30. Zarei M, Sarihi A, Zamani A, Raoufi S, Karimi SA, Ramezani-Aliakbari F. Mitochondrial biogenesis and apoptosis as underlying mechanisms involved in the cardioprotective effects of Gallic acid against D-galactose-induced aging. *Mol Biol Rep* 2023;50(10): 8005-14. <https://doi.org/10.1007/s11033-023-08670-4>
 31. Valcarcel-Ares MN, Gautam T, Warrington JP, Bailey-Downs L, Sosnowska D, de Cabo R, et al. Disruption of Nrf2 signaling impairs angiogenic capacity of endothelial cells: implications for microvascular aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2012;67(8): 821-9. <https://doi.org/10.1093/gerona/glr229>
 32. Zhou S, Sun W, Zhang Z, Zheng Y. The role of Nrf2-mediated pathway in cardiac remodeling and heart failure. *Oxid Med Cell Longev* 2014;2014: 260429. <https://doi.org/10.1155/2014/260429>
 33. Ungvari Z, Bailey-Downs L, Sosnowska D, Gautam T, Koncz P, Losonczy G, et al. Vascular oxidative stress in aging: a homeostatic failure due to dysregulation of NRF2-mediated antioxidant response. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011;301(2): H363-H72. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01134.2010>
 34. Kajstura J, Cheng W, Sarangarajan R, Li P, Li B, Nitahara JA, et al. Necrotic and apoptotic myocyte cell death in the aging heart of Fischer 344 rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1996;271(3): H1215-H28. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1996.271.3.H1215>
 35. Zhou S, Sun W, Zhang Z, Zheng Y. The role of Nrf2-mediated pathway in cardiac remodeling and heart failure. *Oxid Med Cell Longev* 2014;2014. <https://doi.org/10.1155/2014/260429>
 36. Radak Z, Atalay M, Jakus J, Boldogh I, Davies K, Goto S. Exercise improves import of 8-oxoguanine DNA glycosylase into the mitochondrial matrix of skeletal muscle and enhances the relative activity. *Free Radic Biol Med* 2009;46(2): 238-43. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2008.10.022>
 37. Al-Shudiefat AAR, Ludke A, Malik A, Jassal DS, Bagchi AK, Singal PK. Olive oil protects against progression of heart failure by inhibiting remodeling of heart subsequent to myocardial infarction in rats. *Physiol Rep* 2022;10(15): e15379. <https://doi.org/10.14814/phy2.15379>
 38. Mataix, Ochoa, Quiles. Olive oil and mitochondrial oxidative stress. *Int J Vitam Nutr Res* 2006;76(4): 178-83. https://doi.org/10.1024/0300_9831.76.4.178
 39. Ghorbel I, Elwej A, Jamoussi K, Boudawara T, Kamoun NG, Zeghal N. Potential protective effects of extra virgin olive oil on the hepatotoxicity induced by co-exposure of adult rats to acrylamide and aluminum. *Food Funct* 2015;6(4): 1126-35. <https://doi.org/10.1039/C4FO01128G>
 40. Chen S, Law CS, Grigsby CL, Olsen K, Hong T-T, Zhang Y, et al. Cardiomyocyte specific deletion of the vitamin D receptor gene results in cardiac hypertrophy. *Circulation* 2011;124(17): 1838-47. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.111.032680>

41. Bayram B, Esatbeyoglu T, Schulze N, Ozcelik B, Frank J, Rimbach G. Comprehensive analysis of polyphenols in 55 extra virgin olive oils by HPLC-ECD and their correlation with antioxidant activities. *Plant Foods Hum Nutr* 2012;67: 326-36. <https://doi.org/10.1007/s11130-012-0315-z>
42. Bayram B, Ozcelik B, Grimm S, Roeder T, Schrader C, Ernst IM, et al. A diet rich in olive oil phenolics reduces oxidative stress in the heart of SAMP8 mice by induction of Nrf2-dependent gene expression. *Rejuvenation Res* 2012;15(1): 71-81. <https://doi.org/10.1089/rej.2011.1245>
43. Bando M, Masumoto S, Kuroda M, Tsutsumi R, Sakaue H. Effect of olive oil consumption on aging in a senescence-accelerated mice-prone 8 (SAMP8) model. *J Med Invest* 2019;66(3.4): 241-7. <https://doi.org/10.2152/jmi.66.241>
44. Ezlegini F EA, Firozray M. Evaluation of glutathione peroxide activity and oxidative stress in type 2 diabetic patients and their condition Correlation with serum and blood glucose levels Lipid parameters in a case study. *Stud Med Sci* 2022;33(4): 234-43. <https://doi.org/10.52547/umj.33.4.234>

EFFECT OF OLIVE OIL ON NRF2 GENE EXPRESSION IN THE HEART OF AGED RATS INDUCED BY D-GALACTOSE

Kosar Armin¹, Farnaz Fariba², Mohammad Zarei³, Alireza Komaki⁴, Fatemeh Ramezani-Aliakbari^{5}*

Received: 01 June, 2024; Accepted: 01 July, 2024

Abstract

Background & Aims: The structure and function of mitochondria are impaired in the aged heart. However, it remains a challenge to find a potent compound to improve cardiac function abnormalities in the elderly. Olive oil (OLO), as an oil rich in unsaturated fatty acids, has various protective effects on the cardiovascular system, including anti-inflammatory and anti-diabetic effects, and reduces blood pressure. In the present study, the protective effects of OLO on heart dysfunction caused by aging were investigated.

Materials & Methods: Male Wistar rats were randomly divided into three groups: control, aged rats induced by D-galactose (D-GAL), and aged rats treated with OLO (D-GAL + OLO). Senescence was induced in rats by intraperitoneal injection of D-GAL at a dose of 150 mg/kg for eight weeks, and the D-Gal+OLO group was treated with oral OLO for eight weeks. The ratio of heart weight to body weight was considered as an index of cardiac hypertrophy. Heart tissues were removed to measure molecular parameters.

Results: Aged rats showed cardiac hypertrophy (## $p < 0.01$) and a decrease in nuclear factor E2 related factor 2 (Nrf2) gene expression (### $p < 0.001$) compared to the control group. Treatment with OLO improved cardiac hypertrophy (** $p < 0.01$) and Nrf2 gene expression (***) $p < 0.001$.

Conclusion: In general, OLO may have a protective role in aging and cardiac hypertrophy, and its beneficial effects may be related to the improvement of antioxidant status. It is suggested to include OLO in the diet of elderly people and cardiac patients.

Keywords: Aging, Antioxidant, Heart, Hypertrophy, Olive oil

Address: Department of Physiology, School of medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

Tel: +989350669494

Email: f.ramezani@umsha.ac.ir

SOURCE: STUD MED SCI 2024; 35(3): 191 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 Medical student, Hamedan University of Medical Sciences, Hamedan, Iran

² Associate Professor of Cardiovascular Diseases, Department of Cardiology, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

³ Associate Professor of Physiology, Department of Physiology, School of medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

⁴ Professor of Physiology, Department of Neuroscience, School of Sciences and Advanced Technology in Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

⁵ Assistant Professor of Physiology, Department of Physiology, School of medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran (Corresponding Author)