بررسی اثر تیروتوكسیکوز بر بیان زن آنژیم‌های تولیدکننده سولفید

هیدروژن در بافت چربی اپیدیمیال موش صحرایی نر

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
دوره پیست و پیمایش، ۲ سطح‌های ۱۰۱-۲۴ (خرداد-تیر ۱۳۹۸)

چکیده

مقدمه: هورمون‌های تیروئودینی در تنظیم بیوستر سولفید هیدروژن (H₂S) و اندوز گیری یافته‌های سیستماتیکی نیازمندی متاستاز (CSE) می‌باشند. سولفید به عنوان یکی از مواد محلولی موثر در تشکیل گروه‌های مولکولی می‌باشد. در حالی که تیروتوكسیکوز به عنوان یکی از علل تنفسی در نوره‌ها، آمریکا، ایران و همچنین دیگر نقاط جهان مطرح است، تحقیقاتی در این زمینه بسیار کم است.

در این مقاله، تأثیر تیروتوكسیکوز بر بیان زن آنژیم‌های تولیدکننده سولفید در موش به‌عنوان یکی از خانه‌های مورد تحقیق قرار گرفته است. در این مطالعه، تیروتوكسیکوز با استفاده از ترکیبی از تیروکین و تیروکسرین در مراکز مختلف طراحی و در بافت چربی اپیدیمیال موش صحرایی نر در حیات ع鱈 درون‌زایی و در نهایت در حیات حیوانات فیزیولوژیک مورد بررسی قرار گرفت.

واژگان کلیدی: بیان زن آنژیم‌های تولیدکننده سولفید، تیروتوكسیکوز، زن آنژیم‌های تولیدکننده سولفید

iii - Cystathionine-β-synthase

i - Hydrogen sulfide

ii - Thyrotoxicosis
مواد و روش‌ها

حیوانات
موش‌های صحراویی نر از تازه ویستار در حیوان‌خانه پژوهشکده علم غذ درون ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی در دمای 24 ± 1 درجه سیلسیوس و تغذیه حیوان‌های استانداردهایی لازم اخلاق در مورد روش کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید و مطالعه به تایید کمیته‌ی سازمان بهداشت در پژوهشی در درون ریز و آزمایشگاهی (کد IR.SBMU.ENDORCINE.REC.1397.117) اخلال: 117

الگی تیروتروپکوئین و کرومبانپینی حیوانات
در این مطالعه، موش‌های صحراویی نر (2 تا 3 ماهه) به کروگ تغییر شدند. اگر آب آتشامیدنی معقولی دربافت کردن. تغییرات گزارشی تیروتروپکوئین که آب آتشامیدنی حاوی 12 میلی‌گرم در لیتر

توجه مراحل اجرای مطالعه
در هر 1 نمای کلی از مراحل اجرایی مطالعه‌ی نشان‌داده شده است. در روز صفر، حیوانات با تغذیه قدیمی به کروگ تغییر شدند. از ابتدا مطالعه تجویز تیروتروپکوئین در گروه تیروتروپکوئین با دوز 12 میلی‌گرم در لیتر به مدت 21 روز انجام گرفت. و در دو روز بعدی (گرم) به صورت هفتگی در 5 زمان و همچنین آب در می‌توانست ریز، در روز به 1 و 24 روز مطالعه

یک بیو‌سیر مصرف غذا در هر هفته در هر موش بینیان گردید. در انتها مطالعه، نمونه‌ی خون به منظور اندازه‌گیری سطح سرمی هورمون‌های تیروتروپید (فرم آزاد و تیروتروپکوئین ۳۸ و تیروتروپکوئین ۳۹) هورمون تین‌مارک

تیروتروپکوئین ۳س (میکرو‌سیر) سطح سرمی هورمون‌های تیروتروپید (فرم آزاد و

تیروتروپکوئین ۳۸ و تیروتروپکوئین ۳۹) هورمون تین‌مارک

تیروتروپکوئین ۳س (میکرو‌سیر) سطح سرمی هورمون‌های تیروتروپید (فرم آزاد و

تیروتروپکوئین ۳۸ و تیروتروپکوئین ۳۹) هورمون تین‌مارک

تیروتروپکوئین ۳س (میکرو‌سیر) سطح سرمی هورمون‌های تیروتروپید (فرم آزاد و

تیروتروپکوئین ۳۸ و تیروتروپکوئین ۳۹) هورمون تین‌مارک

تیروتروپکوئین ۳س (میکرو‌سیر) سطح سرمی هورمون‌های تیروتروپید (فرم آزاد و

تیروتروپکوئین ۳۸ و تیروتروپکوئین ۳۹) هورمون تین‌مارک

تیروتروپکوئین ۳س (میکرو‌سیر) سطح سرمی هورمون‌های تیروتروپید (فرم آزاد و

تیروتروپکوئین ۳۸ و تیروتروپکوئین ۳۹) هورمون تین‌مارک

تیروتروپکوئین ۳س (میکرو‌سیر) سطح سرمی هورمون‌های تیروتروپید (فرم آزاد و

تیروتروپکوئین ۳۸ و تیروتروپکوئین ۳۹) هورمون تین‌مارک

تیروتروپکوئین ۳س (میکرو‌سیر) سطح سرمی هورمون‌های تیروتروپید (فرم آزاد و

تیروتروپکوئین ۳۸ و تیروتروپکوئین ۳۹) هورمون تین‌مارک

تیروتروپکوئین ۳س (میکرو‌سیر) سطح سرمی هورمون‌های تیروتروپید (فرم آزاد و

تیروتروپکوئین ۳۸ و تیروتروپکوئین ۳۹) هورمون تین‌مارک

تیروتروپکوئین ۳س (میکرو‌سیر) سطح سرمی هورمون‌های تیروتروپید (فرم آزاد و

تیروتروپکوئین ۳۸ و تیروتروپکوئین ۳۹) هورمون تین‌مارک

تیروتروپکوئین ۳س (میکرو‌سیر) سطح سرمی هورمون‌های تیروتروپید (فرم آزاد و

تیروتروپکوئین ۳۸ و تیروتروپکوئین ۳۹) هورمون تین‌مارک

تیروتروپکوئین ۳س (میکرو‌سیر) سطح سرمی هورمون‌های تیروتروپید (فرم آزاد و

تیروتروپکوئین ۳۸ و تیروتروپکوئین ۳۹) هورمون تین‌مارک

تیروتروپکوئین ۳س (میکرو‌سیر) سطح سرمی هورمون‌های تیروتروپید (فرم آزاد و

تیروتروپکوئین ۳۸ و تیروتروپکوئین ۳۹) هورمون تین‌مارک

تیروتروپکوئین ۳س (میکرو‌سیر) سطح سرمی هورمون‌های تیروتروپید (فرم آزاد و

تیروتروپکوئین ۳۸ و تیروتروپکوئین ۳۹) هورمون تین‌مارک

تیروتروپکوئین ۳س (میکرو‌سیر) سطح سرمی هورمون‌های تیروتروپید (فرم آزاد و

تیروتروپکوئین ۳۸ و تیروتروپکوئین ۳۹) هورمون تین‌مارک

تیروتروپکوئین ۳س (میکرو‌سیر) سطح سرمی هورمون‌های تیروتروپید (فرم آزاد و

تیروتروپکوئین ۳۸ و تیروتروپکوئین ۳۹) هورمون تین‌مارک

تیروتروپکوئین ۳س (میکرو‌سیر) سطح سرمی هورمون‌های تیروتروپید (فرم آزاد و

تیروتروپکوئین ۳۸ و تیروتروپکوئین ۳۹) هورمون تین‌مارک

تیروتروپکوئین ۳س (میکرو‌سیر) سطح سرمی هورمون‌های تیروتروپید (فرم آزاد و

تیروتروپکوئین ۳۸ و T

i-Cystathionine-γ-lyase
ii-3-mercaptopuruvate sulfurtransferase
iii-Feng
iv-Triiodothyronine
v-Paraventricular nucleus
vi-Thyrotropin
vii-Wistar
viii-Free and total thyroxine
ix-Free and total triiodothyronine
x-Thyroid-Stimulating Hormone

i- Cystathionine-γ-lyase
ii-3-mercaptopuruvate sulfurtransferase
iii-Feng
iv-Triiodothyronine
v-Paraventricular nucleus
vi-Thyrotropin
اندازه‌گیری وزن بدن، مصرف آب و دریافت غذا

مدت زمان مطالعه (روز)

- اندازه‌گیری سطح سرمی هورمون‌های تیروئید و هورمون محرك تیروئید
- اندازه‌گیری سطح H₂S در سرم و بافت چربی
- اندازه‌گیری بیان زن‌ها

اندازه‌گیری سطح سرمی هورمون‌های تیروئید و هورمون محرك تیروئید در انتهای مطالعه پس از 12 نهایت ناشیاتی، نمونه‌ها خون از مسیر حالی محمری در هر دو گروه جمع آوری گردید. نمونه‌های چربی این گروه از محور های صحرایی گرفته شد و سپس بافت‌های قشر برش داده شده و در بافتهای هرمز (فسته‌های باف سالین) PBS (pH 7.4) با نسبت وزنی-حجیم 1:100 میلی مولار، pH میلی مولار. 

iii - Methylene blue
iv - Zinc acetate dihydrate
v - N,N-Dimethyl-p-phenylenediamine sulfate salt (DMPD)
vi - FeCl₃

i - Epididymal fat
ii - Phosphate buffered saline
طول موج ۷۰۰ نانومتر خوانده (خوانشگر آپرا، مدل BioTek,MQX2000R2) استفاده کرده و با ۲۰۰ میکرو مول در هر لیتر سالن شده از سیدم هیدروسلامی میلی‌گرم و غلظت نمونه‌ها بر حسب میکرومول در لیتر بیان گردید. ضریب تغییرات درون آزمونی کمتر از ۴ درصد بود.

اندازه‌گیری بیان زن‌های آنژیم هیالونیک تولیدکننده در انتهای مطالعه، باعث چربی دخل اپیدیمیال موی های صحرایی پس از بیهوشی کامل با کامیون و رایلزین، جدا شد. برای جاده‌سازی چربی اپیدیمیال حفره شکم باش و پس از کارن اهدای دستگاه گوارش، قسمت مکانیکی از یافته آنژیم اپیدیمیال موی صحرا، هر دو را در دستگاه‌های جدا و بلع‌نگه‌ای تهیه می‌کردند. ۳۵-دیش سانتری، گردید. رطوبه RNA و RNAcDNA، جاستای گردید. تا سطح Bonferroni اندیشگیری زن‌های یا جزییات کامل در مطالعه‌های پیشین ارائه شده است. ۳۱ به طور خلاصه، به کم مхаک ۵۰۰ RNAX (شکرک‌پنای، ایران) مایکس استخراج گردید و RNA (PLUS) به دنبال آن روندها RNA از آنگزیم‌های تصاوص شکل تا، آن و آنژیم های رونده‌و بسیریاب مکسوس (شکرک‌پنای، آمریکا) ساخته شد.

CSE.CBS شال mRNA Real Time PCR با استفاده از دستگاه استرالیا (کوربنت – Rotor gene 6000 سایپیکراین (شکرک‌پنای آمریکا) اندازه‌گیری گردید. همه ی مرحله‌های دسترسی عمل ساختار شکله‌ای آنها انجام شد.

مشخصات و اکتشاف استفاده شده در این مطالعه با این صورت بود که سطح آسیب‌زا اولیه (۱۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد) و به دنبال آن ۴۰ چرخش تکیپی به ترتیب، ۵۰ دقیقه در دمای ۶۵ درجه‌سانتی‌گراد (اسپرینت) و ۴۰ دقیقه در دمای ۵۵ درجه‌سانتی‌گراد (پرسه‌بند) (یره) برای عبور Real time PCR کرده. به منظور انزایزی شکل قرار در نمونه به صورت دو تایی انجام شد. همچنین یک کنتور منفی برای هر زن، برای بررسی آوردگی در نظر گرفته شد. کنترل منفی حاوی تمام مواد شکل‌کننده در واکنش به استناتی منفی DNA می‌باشد. دن آکینه به عضو زن مرعی در نظر گرفته شد. در نهایت میزان بیان نسبی زن‌های آنژیم‌های

---

i - Shapiro-Wilk  
ii - Independent Samples t Test  
iii - Mixed two-way (between-within) ANOVA  
v - Mann–Whitney
جدول ۱- توایی پرایمرهای مورد استفاده در مطالعه

<table>
<thead>
<tr>
<th>ژن</th>
<th>توالی پرایمر (تعداد ۳-۵)</th>
<th>PCR سایز‌باند محصول</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>CBS</td>
<td>Forward: TGGTGACTCTTCGGAACATG Reverse: AGGTGGATCTGGTAAGCTTG</td>
<td>۱۰۰</td>
</tr>
<tr>
<td>CSE</td>
<td>Forward: TTGTATACACGCGTCCCTGGA Reverse: CGAACGAAAGCTGCAACAGTG</td>
<td>۹۶</td>
</tr>
<tr>
<td>۳-MST</td>
<td>Forward: F:GGATCGAACTCCGACACATC R: ACTCGGCTGTCCTTCTCTG</td>
<td>۱۰۳</td>
</tr>
<tr>
<td>β-actin</td>
<td>Forward: GCCTACCCGTCATGACACGCA Reverse: CGACGACTTAGCTGACGATA</td>
<td>۱۰۰</td>
</tr>
</tbody>
</table>

جدول ۲- اثر تیروتکوکسیز بر وزن بدن، مصرف آب و دریافت گذا در موش های صحرایی نر

<table>
<thead>
<tr>
<th>پارامتر</th>
<th>شاهد (تعداد ۸-سال)</th>
<th>شاهد (تعداد ۸-سال)</th>
<th>شاهد (تعداد ۸-سال)</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>مصرف آب</td>
<td>۳۱/۴۸۹/۶۷/۴۷۹/۷</td>
<td>۳۱/۴۸۹/۶۷/۴۷۹/۷</td>
<td>۳۱/۴۸۹/۶۷/۴۷۹/۷</td>
</tr>
<tr>
<td>دیروئس خاک</td>
<td>۳۱/۴۸۹/۶۷/۴۷۹/۷</td>
<td>۳۱/۴۸۹/۶۷/۴۷۹/۷</td>
<td>۳۱/۴۸۹/۶۷/۴۷۹/۷</td>
</tr>
</tbody>
</table>

موش های صحرایی نر. همان طور که در جدول ۲ نشان داد، در موش های صحرایی نر به افزایش سطح سرمی هورمونهای تیروئیدی و کاهش سطح سرمی هورمون محرک تیروئیدی منجر شده است. تیروتکوکسیز در اندوکرینی و هورمون محرک تیروئیدی از جمله افرادی که تجویز لوزومتگسیس به مدت ۲۱ روز با دوز ۱۲ میلی‌گرم در لیتر بنابر ایجاد تیروتکوکسیز در جدول ۳- اثر تیروتکوکسیز بر سطح سرمی هورمونهای تیروئیدی و هورمون محرک تیروئیدی

<table>
<thead>
<tr>
<th>پارامتر</th>
<th>شاهد (تعداد ۸-سال)</th>
<th>شاهد (تعداد ۸-سال)</th>
<th>شاهد (تعداد ۸-سال)</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>تری‌تیروتیروئین تام (ناموجود در لیتر)</td>
<td>۳۱/۴۸۹/۶۷/۴۷۹/۷</td>
<td>۳۱/۴۸۹/۶۷/۴۷۹/۷</td>
<td>۳۱/۴۸۹/۶۷/۴۷۹/۷</td>
</tr>
<tr>
<td>تری‌تیروتیروئین آزاد (ناموجود در لیتر)</td>
<td>۳۱/۴۸۹/۶۷/۴۷۹/۷</td>
<td>۳۱/۴۸۹/۶۷/۴۷۹/۷</td>
<td>۳۱/۴۸۹/۶۷/۴۷۹/۷</td>
</tr>
<tr>
<td>نتایج مطالعاتی حاضر نشان داد که سطح اسید و بافتی اسید در روزه تیروتکوکسیز به نوع معمولی از گروه H۲S</td>
<td>۱۰۰</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>پرایمر است (نمودار ۱)</td>
<td>داده کننده است. &quot;مقدار P کمتر از ۰/۰۵ در مقایسه با گروه شامل را نشان می‌دهد.</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>
همچنین، همان‌طور که در جدول ۴ قابل مشاهده است، نتایج آزمون همبستگی پیرسون نشان داد که بین سطح سرمی H۲S و هورمون‌های تیروئیدی ارتباط منفی و معنی‌داری با دارد.

نمودار ۱: اثر تیروئوتکسیکوز بر تغییرات سطح سولفید هیدروژن در سرم (الف) و بات فرچ پری درمان (ب) باق‌ها به‌صورت میانگین±انحراف استاندارد از میانگین بیان شده‌اند. مقیاس Pکمتر از ۰/۵ در مقایسه با گروه شاهد و نشان می‌دهد. تعداد موضع صحراپی در هر گروه ۸ سر می‌باشد.

جدول ۲: همبستگی بین سطح سرمی H۲S با سطح سرمی هورمون‌های تیروئیدی و هورمون محیط تیروئیدی

<table>
<thead>
<tr>
<th>P value</th>
<th>ضریب همبستگی (r)</th>
<th>پارامتر</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>۰/۳۲</td>
<td>-۰/۱۶۶</td>
<td>تریپیدروتون نام</td>
</tr>
<tr>
<td>۰/۳۴</td>
<td>-۰/۱۸۲</td>
<td>تریپیدروتون آزاد</td>
</tr>
<tr>
<td>۰/۴۰</td>
<td>-۰/۷۸۹</td>
<td>تیروکستین نام</td>
</tr>
<tr>
<td>۰/۴۶</td>
<td>-۰/۷۹۲</td>
<td>تیروکستین آزاد</td>
</tr>
<tr>
<td>۰/۳۷</td>
<td>-۰/۷۶۱</td>
<td>هورمون محیط تیروئیدی</td>
</tr>
</tbody>
</table>

هر پارامتر در ۱۲ سر موش صحراپی (مجموع گروه شاهد و تیروئوتکسیکوز) پری‌سنجیده شد.

جدول ۳: آث تیروئوتکسیکوز بر بین ژن آنزیم‌های تولیدکننده H۲S

| بیان CSE | موجب کاهش ۶۲ درصدی (۰/۰۱) برای ژن ۱۱۶ درصدی (۰/۰۲) در مقابل ۱ برای ژن ۱۱۶ درصدی (۰/۰۱) در مقابل ۱ برای ژن ۱۱۶ درصدی (۰/۰۲) |
(Fold change) 3-MST بیان زن

(Fold change) CBS بیان زن

(Fold change) CSE بیان زن

---

شاید

*
بحث
نتایج مطالعه حاضر برای اولین بار نشان داد که تریوتورکسیز منجر به کاهش سطح H2S در باتما چربی آیدیپسیلار در موهای صورتی ایجاد می‌گردد. این کاهش همراه با کاهش معنی‌دار بینن CSE و افزاهمی در بینن CNS در باتما چربی مویهای صورتی با تریوتورکسیز CBS نشست در این مطالعه، محقق 21 روز داروی لوتکسین منجر به ایجاد تریوتورکسیز کرده که با فرازی سطح سرمی هورمون‌های تریپتیونی و کاهش سطح سرمی هورمون محور تریپتیونی همراه بود. میزان دریافت راهاندازی دارو توسط هموی صورتی با توجه به میانگین آه مصرفی (حدود 200 میلی‌لیتر در روز) و دوز داروی حل شده در این مطالعه در نظر گرفته شد. در این مطالعه ۲۰۰۰ میلی‌گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن موش (صاریبیِ بود. دوز مورد استفاده برای ایجاد پرکاری تریپتیونی و تریوتورکسیز بسیار وسیع می‌باشد و بین 0 تا 200 میلی‌گرم در هر گرام وزن بدن منعی است. درکررگاه شده است که از دهه‌های بیان در هر ۳۰ و ۶۳ میلی‌گرم در آیجاد پرکاری تریپتیونی شدت این تریوتورکسیز می‌گردد.

در مطالعه حاضر، تریوتورکسیز تاثیری بر وزن بدن موش‌های صاریبی در مدت ۳ ماهه نداشت ولی منجر به افزایش معنی‌دار مصرف آب و غذا گردید. همچنین با مطالعه حاضر، عدم تغییر وزن در موش‌های صاریبی با تریوتورکسیز گزارش شده است. همچنین، مطالعه با موش‌های صاریبی با تریوتورکسیز گزارش شده است از دید جهان ناهم داشت با این منظره مصرف آب در موش‌های صاریبی با تریوتورکسیز گزارش شده است. ۲۱۷۷ می‌گردد.

از سوی دیگر، نتایج ناهم داشت با این منظره مصرف آب در موش‌های صاریبی با تریوتورکسیز گزارش شده است. ۲۱۷۷ می‌گردد.

۱- Homocysteine
۲- Cysteine
Hydrogen sulfide from adipose tissue is a novel insulin

References


CSE


Original Article

Effect of Thyrotoxicosis on Gene Expression of Hydrogen Sulfide-producing Enzymes in Epididymal Adipose Tissue of Male Rats

Jeddi S, Gholami H, Ghasemi A
Endocrine Physiology Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, I.R. Iran.
e-mail: Ghasemi@endocrine.ac.ir

Received: 12/06/2019 Accepted: 19/08/2019

Abstract
Introduction: Thyroid hormones are involved in the regulation of hydrogen sulfide (H$_2$S) biosynthesis. The aim of this study is to determine effects of thyrotoxicosis on H$_2$S levels and mRNA expression of cystathionine-$\beta$-synthase (CBS), cystathionine-$\gamma$-lyase (CSE) and 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase (3-MST) in the adipose tissue of rat. Materials and Methods: Male rats were divided into the control (n=8) and thyrotoxicosis groups (n=8). Thyrotoxicosis was induced by adding L-thyroxine (12 mg/L) in drinking water for 21 days. Serum levels of free triiodothyronine (FT3), free thyroxine (FT4), total T3 (TT3), and total thyroxine (TT4) as well as thyroid stimulating hormone (TSH) were measured on day 21. H$_2$S concentrations in serum and epididymal adipose tissue, as well as mRNA expressions of CBS, CSE, and 3-MST in epididymal adipose tissue were measured on day 21. Results: Serum levels of FT3, FT4, TT3 and TT4 were significantly higher, whereas TSH level was significantly lower in rats with thyrotoxicosis. Compared to controls, H$_2$S levels (µmol/L) were lower in serum (43%, P<0.001) and epididymal adipose tissue (30%, P=0.044) of rats with thyrotoxicosis. Thyrotoxicosis decreased mRNA expression of CSE (62%, P<0.001) and increased mRNA expression of CBS (116%, P=0.013) but not 3-MST in the epididymal adipose tissue. Conclusions: Thyrotoxicosis decreased H$_2$S levels in the serum and epididymal adipose tissue, an effect which can be due to decreased mRNA expression of CSE. Decreased serum and adipose tissue levels of H$_2$S may contribute to the pathophysiology of thyrotoxicosis.

Keywords: Adipose tissue, Hydrogen sulfide, Thyrotoxicosis, Thyroid hormones, Gene expression male rats