Effect of Alpha-Lipoic acid on Pancreatic Optic Atrophy 1 (OPA1) Gene Expression in Male Rat Model of Obstructive Cholestasis and Cirrhosis

Khosrobakhsh Farnoosh[1]., Moloudi Mohammad Raman[2]., Shoja Khatere[3]., Mohammadi Sahel[3]

1. Assistant Professor, Department of Biological Sciences, Faculty of Sciences, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran.,Tel: +98-87-33664600, f.khosrobakhsh@uok.ac.ir, ORCID CD:0000-0002-7250-4537

2. Assistant Professor, Liver & Digestive Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran.

3. MSc Molecular biology, Department of Biological Sciences, Faculty of Sciences, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran.

ABSTRACT

Background and Aim: Cholestasis is characterized by blockade of bile flow from the liver to the intestine, which leads to accumulation of bile acids within liver and plasma; it is associated with metabolic disorders and cause hepatocellular necrosis and apoptosis during cholestatic liver diseases. Mitochondria are critical cellular organelles that produce most of the cellular energy. Mitochondrial morphology varies from an interconnected filamentous network to isolated dots. These processes are called mitochondrial fission and fusion. Disrupted mitochondrial morphology has been observed in cholestatic liver disease. Optic Atrophy 1 (OPA1) is one of the proteins involved in mitochondrial fusion and plays an anti-apoptotic role. The aim of this study was to evaluate the effect of α-lipoic acid (LA) on *OPA1* gene expression in pancreas of rat after bile duct ligation (BDL).

Materials and Methods: Thirty-six male Wistar rats were randomly divided into six groups each containing six rats including: control, sham-operated, cholestatic, cholestatic+LA, cirrhotic, and cirrhotic+LA. After 14 days in cholestasis groups and six weeks in cirrhosis groups, serum samples and liver and pancreas tissue samples prepared for total bilirubin assays, histopathological analysis and pancreatic *OPA1* gene expression evaluation by Real-time PCR technique. Total bilirubin data and gene expression data were analyzed by one-way ANOVA and Kruskal-Wallis statistical tests.

Results: The results revealed that serum levels of total Bilirubin were significantly increased in BDL groups as compared with the control and sham operation groups (P<0.0001). Concerning histology, the inflammation Symptoms and tissue necrosis were noted with BDL group. These symptoms were reduced by lipoic acid treatment in the cholestatic group. The result of pancreatic *OPA1* gene expression showed the significant increase in cholestatic rats and significant decrease in cirrhotic groups as compared with other groups (P<0.05). In cholestatic group, restoring the expression of *OPA1* gene was shown in the presence of lipoic acid.

Conclusion: Changing *OPA1* gene expression in obstructive rat suggest the causal role of mitochondrial dynamics in pathogenesis of cholestatic disease. In this study, the effect of lipoic acid in OPA1 mRNA level reflects implications of oxidative stress in signaling pathway of cholestasis.

Keywords: Pancreas, Bile Duct Ligation, Mitochondrial dynamics, *OPA1* gene, Lipoic acid

Received:April7,2019 **Accepted:Aug26,2019**

How to cite the article: Khosrobakhsh Farnoosh., Moloudi Mohammad Raman., Shoja Khatere, Mohammadi Sahel. Effect of Alpha-Lipoic acid on Pancreatic Optic Atrophy 1 (OPA1) Gene Expression in Male Rat Model of Obstructive Cholestasis and Cirrhosis. SJKU 2019; 24 (5): 120-134

Copyright © 2018 the Author (s). Published by Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBY-NC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.29252/sjku.24.5.120]

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان / دوره بیست و چهارم / آذر و دی ۱۳۹۸-۱۳۴/۱۲۰

اثر لیپوئیک اسید بر بیان ژن پروتئین آتروفی بینایی نوع ۱ پانکراس در مدل انسدادی کلستاز و سیروزی موش صحرایی نر

فرنوش خسروبخش[۱]، محمد رامان مولودی[۲]، خاطره شجاع [۳]، ساحل محمدی گرگوندی[۳]

۱. استادیار گروه علوم زیستی، دانشکده علوم، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران. تلفن ثابت: ۳۳۶۶۴۶۰۰-۰۸۷، f.khosrobakhsh@uok.ac.ir

۲. استادیار مرکز تحقیقات گوارش و کبد، پژوهشکده توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران.

۳. کارشناسی ارشد زیست‌شناسی سلولی-مولکولی، گروه علوم زیستی، دانشکده علوم، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: در بیماری کلستاز انسداد جریان صفرا از کبد به روده منجر به تجمع اسیدهای صفراوی در کبد و بروز نارسایی‌های متابولیکی شده و در نهایت منجر به مرگ نکروزی و آپوپتوزی سلول‌های کبدی می‌شود. میتوکندری‌ها اندامک‌های درون سلولی هستند که بیشترین منبع تولید انرژی سلولی بوده و به‌طور پیوسته تقسیم و مجدداً با هم ترکیب می‌شوند. در این مطالعه اثر لیپوئیک اسید بر تغییرات بیان ژن *OPA1* پس از انسداد مجرای صفراوی در پانکراس موش‌های صحرایی مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: در این مطالعه ۳۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در شش گروه به ترتیب زیر تقسیم شدند: گروه کنترل (بدون جراحی)، گروه شم (جراحی بدون انسداد مجرای صفراوی)، دو گروه کلستاز (جراحی همراه با انسداد مجرای صفراوی) بدون تزریق لیپوئیک اسید و با تزریق لیپوئیک اسید و دو گروه سیروز (جراحی همراه با انسداد مجرای صفراوی) بدون تزریق لیپوئیک اسید و با تزریق لیپوئیک اسید. در روز چهاردهم پس از جراحی، موش‌های گروه‌های کنترل، شم و کلستاز و در هفته ششم پس از جراحی، موش‌های گروه‌های سیروز، کشته شده و به منظور بررسی سطح بیلی روبین از آن‌ها خون گیری انجام شد. سپس نمونه‌گیری از بافت‌های کبد و پانکراس جهت بررسی شاخص‌های هیستوپاتولوژیک و همچنین ارزیابی سطح بیان ژن *OPA1* در بافت پانکراس انجام شد. داده‌های کمی بیلی‌روبین و بیان ژن با آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون کروسکال_والیس مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: نتایج این مطالعه افزایش سطوح سرمی بیلی‌روبین کل را در گروه‌های کلستاز و سیروز نسبت به گروه‌های شم و کنترل نشان داد ($P<۰/۰۰۱$). نتایج بررسی شاخص‌های بافتی در گروه‌های کلستاز و سیروز، وجود التهاب و نکروز بافتی را نشان داد. این نشانه‌ها در گروه کلستاز دریافت کننده لیپوئیک اسید تقلیل یافت. نتایج Real-time PCR افزایش معنادار بیان ژن *OPA1* را در گروه کلستاز دریافت کننده سالین نسبت به گروه‌های سیروزی نشان داد ($P<۰/۰۵$). تزریق لیپوئیک اسید در گروه کلستاز منجر به بازگشت طبیعی سطح بیان ژن *OPA1* در موش‌های کلستازی شد.

نتیجه‌گیری: تغییر بیان ژن *OPA1* در بافت پانکراس موش‌های صحرایی با انسداد مجرای صفراوی می‌تواند نقش پویایی میتوکندری را در آسیب‌شناسی این عارضه نشان دهد. اثر لیپوئیک اسید در تغییرات بیان ژن *OPA1* نشان دهنده تأثیر استرس اکسیداتیو در مسیر سیگنالی عارضه کلستاز است.

کلید واژه‌ها: پانکراس، انسداد مجرای صفراوی، پویایی میتوکندری، ژن *OPA1*، لیپوئیک اسید

وصول مقاله: ۹۸/۱/۱۸ اصلاحیه نهایی: ۹۸/۶/۴ پذیرش:۹۸/۶/۴

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.29252/sjku.24.5.120]

مقدمه

کلستاز تجمع غیرطبیعی اسیدهای صفراوی است که در اثر نقص در فرایند انتقال اسیدهای صفراوی از کبد به روده ایجاد می‌شود و منجر به باقی ماندن و تجمع اسیدهای صفراوی بالقوه سمی در کبد و گردش خون سیستمیک می‌شود. این عارضه می‌تواند در اثر عوامل مختلفی از جمله: التهاب، عفونت ویروسی، بیماری‌های خودایمنی، سنگ صفرا یا تومورهای پانکراس، کبد یا درخت صفراوی ایجاد شود(۱). این بیماری موجب تجمع داخل سلولی اسیدهای صفراوی می‌شود که به تغییر در تعادل اکسیدان/آنتی‌اکسیدان به نفع افزایش فعالیت رادیکال‌های آزاد و آسیب بافت‌های مختلف از جمله کبد و روده می‌انجامد(۲). در کلستاز، پاسخ التهابی، افزایش آپوپتوز، استرس اکسیداتیو، تغییرات متابولیکی عمیق، تغییر عملکرد میتوکندری، کاهش اکسیداسیون اسیدهای چرب و افزایش گلیکولیز و سرانجام فیبروز دیده می‌شود. میتوکندری نقش مهمی در گسترش این بیماری کبدی بازی می‌کند زیرا این اندامک درون سلولی، پیام‌رسانی گیرنده‌ی مرگ (که به واسطه‌ی سیتوکین‌های التهابی یا اسیدهای صفراوی به راه می‌افتد) را میانجی‌گری می‌کند و در آسیب اکسیداتیو، اختلال متابولیکی و آغاز فیبروز شرکت می‌کند(۳). قرارگیری پانکراس در معرض اسیدهای صفراوی یکی از دلایل احتمالی بروز التهاب حاد پانکراس (پانکراتیت حاد) است. زمانی که به واسطه انسداد مجرای صفراوی، آمپول واتر مسدود شود، صفرا وارد پانکراس شده و سرآغازی برای پانکراتیت حاد می‌گردد و توانایی اسیدهای صفراوی برای شروع پانکراتیت حاد در مطالعات بسیاری تائید شده است(۶-۴).

آلفا لیپوئیک اسید[1] یا تیوکتیک اسید[2] یک ترکیب دی تیول طبیعی است که به‌عنوان کوفاکتور در کمپلکس میتوکندریایی آلفا-کتواسید دهیدروژناز شناخته می‌شود و خواص آنتی‌اکسیدانی دارد. اثرات محافظتی و آنتی‌اکسیدانی این ماده در کاهش آسیب‌های ناشی از انسداد مجرای صفراوی در کبد، روده و سیستم عصبی موش‌های BDL نشان داده شده است(۷و۲).

نقش میتوکندری در آسیب‌شناسی کلستاز حائز اهمیت است و در مطالعات گذشته نقش شکافت[3] غشایی میتوکندری در مسیر آسیب کبدی ناشی از کلستاز نشان داده شده است(۹و۸). فرآیند هم‌جوشی[4] غشای داخلی و حفظ ساختار تیغه‌های میانی درون میتوکندری[5] (فرآیندی مهم در حفظ پویایی و تمامیت عملکرد میتوکندری) را پروتئینی به‌نام OPA1 به عهده دارد. این پروتئین متعلق به خانواده پروتئین‌های دینامین است که دارای فعالیت GTPase بوده و به‌وسیله یک ژن هسته‌ای کد می‌شود. جهش‌های ژن کد کننده این پروتئین مسئول ایجاد بیماری نوروپاتی آتروفی بینایی غالب نوع ۱ (ADOA1[6]) است (۱۰). ژن *OPA1* به‌طور دائمی و با سطح بیان mRNA بالا در بافت‌های رتین، مغز، کبد، قلب و پانکراس بیان می‌شود(۱۳-۱۱). در سطح پروتئین نیز، فرم پیش‌ساز آن و فرم‌های کوتاه و بلند آن در هر بافتی به‌صورت اختصاصی بیان می‌شوند(۱۴و۱۳). از آنجایی که این پروتئین در حفظ ساختار تیغه‌های میانی درون میتوکندری دخالت دارد، جهش‌های ژن *OPA1* و تولید پروتئین ناقص منجر به تخریب ساختار این تیغه‌ها می‌شود؛ این عیب ساختاری در میتوکندری باعث عدم اتصال صحیح DNA میتوکندریایی به این تیغه‌ها و عدم همانندسازی صحیح آن‌ها و در نهایت تخریب واکنش‌های فسفریلاسیون اکسیداتیو و نقص انرژتیکی شود(۱۵). عملکرد

[1] Alpha-lipoic acid

[2] Thioctic acid
[3] fission
[4] fusion
[5] Cristae
[6] Type 1 dominant optic atrophy

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.29252/sjku.24.5.120]

دیگری که در سلول به پروتئین OPA1 نسبت داده شده است اثر ضد آپوپتوزی است که در حقیقت با کنترل ساختار منسجم غشاء داخلی میتوکندری و تیغه‌های میانی از آزاد شدن سیتوکروم C و بروز آپوپتوز جلوگیری می‌کند(۱۶).

مطالعات متعددی درگیر بودن پویایی میتوکندری را در ترشح انسولین سلول‌های پانکراس و بروز دیابت نوع ۲ نشان داده‌اند. در یکی از این مطالعات نشان داده شده که دست‌کاری بیان ژن اصلی درگیر در شکافت غشای میتوکندری (*Drp1*) در سلول‌های ترشح کننده انسولین پانکراس موش صحرایی و موش سوری منجر به تغییر سطح پروتئین‌های هم‌جوشی میتوکندری مانند میتوفیوژن ۱ و ۲ و OPA1 و تغییر ساختار و همچنین کاهش عملکرد میتوکندری می‌شود. این تغییر عملکرد، به‌صورت تغییر پتانسیل غشاء سلول و کاهش تولید انرژی نمایان می‌شود که در نهایت بر میزان ترشح انسولین این سلول‌ها تأثیر می‌گذارد(۱۷). در سلول‌های پانکراس در عدم حضور پروتئین OPA1 کاهش قابل توجه فعالیت کمپلکس IV زنجیره انتقال الکترون دیده می‌شود که این امر منجر به کاهش تولید انرژی در این سلول‌ها می‌شود (۱۸). با توجه به نقش پروتئین OPA1 در عملکرد زنجیره انتقال الکترون و تولید گونه‌های فعال اکسیژن توسط این زنجیره، برای شناخت جایگاه بیان این ژن در آسیب اکسیداتیو کلستاز در بافت پانکراس که نقش متابولیکی حساسی را به عهده دارد، در این پژوهش با انجام عمل جراحی انسداد مجرای صفراوی مشترک بر روی موش صحرایی، مدل حیوانی بیماری کلستاز ایجاد شد؛ سپس تغییرات پاتولوژیکی و بیان ژن *OPA1* در موش‌های کلستازی و سیروزی تیمار شده با لیپوئیک اسید مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

حیوانات: در این تحقیق تجربی از ۳۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵ ± ۳۴۵ گرم و محدوده سنی ۱۰ ماه به صورت تصادفی استفاده شده است. حیوانات در حیوان‌خانه دانشکده علوم دانشگاه کردستان با دسترسی کافی به آب و غذا، درجه حرارت ۲ ± ۲۴ درجه سانتی‌گراد، درجه رطوبت وزنی۵ ± ۶۰ درصد و دوره روشنایی-تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. حیوانات به صورت تصادفی به شش گروه (n=۶)(۹) کنترل(بدون جراحی) ، شم(عمل جراحی بدون انسداد مجرای صفراوی) ، تیمار شده با سالین، کلستاز تیمار شده با سالین، کلستاز تیمارشده با لیپوئیک اسید، سیروز تیمارشده با سالین و سیروز تیمارشده با لیپوئیک اسید تقسیم شدند.

اخلاق: تمام آزمایش‌ها بر اساس موازین اخلاقی رفتار با حیوانات، مصوبه کمیته رعایت اخلاق پزشکی در مطالعات تجربی معاهده هلسینکی انجام شد.

جراحی: در ابتدا، گروه‌های شم، کلستاز و سیروز با تزریق داخل صفاقی کتامین ـ زایلازین(به ترتیب به میزان ۵۰ و ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بی‌هوش و ناحیه شکمی تراشیده و ضدعفونی شد. پوست حفره شکمی را باز کرده و بعد از پیدا کردن مجرای مشترک صفراوی، این مجرا در گروه شم بدون ایجاد انسداد، به سر جای خود برگردانده شد و در گروه کلستاز و سیروز، قسمت بالا و پایین مجرای صفراوی توسط دو گره به فاصله‌ی حدود نیم سانتی‌متر از هم مسدود شد. سپس جدار شکم در دو لایه عضله و پوست با نخ مخصوص جراحی بخیه شد و پس از اتمام عمل جراحی، میزان یک میلی‌لیتر سرم فیزیولوژیک داخل صفاق تزریق گردید. در این مطالعه موش‌های کلستازی، ۱۴ روز بعد از جراحی(۷) و موش‌های سیروزی، شش هفته بعد از جراحی مورد ارزیابی قرار گرفتند(۱۹).

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.29252/sjku.24.5.120]

تائید مدل: جهت اطمینان از القاء مدل کلستاز و سیروز، ۴۸ ساعت بعد از جراحی، حیوانات از نظر رنگ ادرار، پوست و سطح بیلی روبین خون (نمونه خونی از ورید شکمی که در مجاورت آئورت شکمی و در خلف صفاق قرار دارد، گرفته شد) بررسی شدند. به منظور تائید القاء مدل سیروز و مشاهده شاخص‌های سیروز در بافت کبد، نمونه برداری از بافت کبد گروه‌های کنترل، کلستاز و سیروز جهت مطالعه هیستوپاتولوژی به عمل آمد و نمونه‌ها در فرمالین ده درصد تثبیت شدند.

مداخله درمانی: به مدت ۱۴ روز بعد از شروع عمل جراحی به صورت روزانه و بر اساس وزن هریک از موش‌ها مقدار ۲۵ mg/kg لیپوئیک اسید محلول در نرمال سالین به گروه کلستار تحت تیمار و همین مقدار حلال به گروه کلستاز کنترل (بدون دریافت لیپوئیک اسید) به‌صورت زیر جلدی تزریق شد(۷). همچنین به مدت شش هفته بعد از شروع عمل جراحی گروه سیروز تحت تیمار، محلول لیپوئیک اسید و گروه سیروز کنترل (بدون دریافت لیپوئیک اسید)، حلال را به صورت زیر جلدی و روزانه دریافت کردند.

جمع‌آوری داده‌ها: در روز ۱۴ پس از عمل جراحی گروه‌های شم و کلستاز و همچنین پس از شش هفته بعد از عمل جراحی گروه‌های سیروز، موش‌ها با ترکیب کتامین(۵۰ mg/kg) و زایلازین(۵ mg/kg) بی‌هوش شده و دیواره شکمی برش داده شد. سپس از ورید شکمی که در مجاورت آئورت شکمی و در خلف صفاق قرار دارد دو میلی‌لیتر خون برای سنجش سطح سرمی بیلی‌روبین گرفته شد. برای سنجش سطح سرمی بیلی‌روبین از کیت تشخیص طبی (شرکت پارس آزمون، ایران) استفاده شد. قبل از نمونه‌گیری، یک میلی‌لیتر محلول RNAlater (شرکت کیاژن، آمریکا) به داخل بافت کامل پانکراس تزریق شد و سپس از این بافت قطعاتی به وزن ۵±۲۵ میلی‌گرم برداشته شد. نواحی جدا شده به داخل میکروتیوب‌های عاری از نوکلئاز که حاوی محلول RNAlater بود، منتقل گردید. بافت‌های استخراج شده در محلول RNAlater بلافاصله به فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند و بعد از ۲۴ ساعت نگهداری در این دما استخراج RNA انجام شد(۲۰). برای بررسی تغییرات بافتی قسمتی از بافت پانکراس گروه‌های آزمایشی شم، دو گروه کلستاز و دو گروه سیروز جدا شده و در فرمالین ده درصد تثبیت شدند.

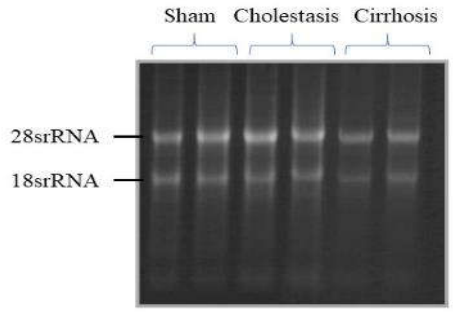
استخراج RNA از بافت پانکراس: استخراج RNA کل از نمونه‌های پانکراس با استفاده از محلول innuSOLV RNA(شرکت آنالیتیک‌ژنا، آلمان) و با استفاده از روش به کار برده شده در مطالعه پیشین ما انجام شد(۲۱). روش استخراج RNA به این صورت بود که میکروتیوب حاوی بافت در ازت ۱۹۶- قرار داده شد. سپس به کمک پستل بافت خرد شده و به میکروتیوب عاری از نوکلئاز حاوی یک میلی‌لیتر محلول innuSOLV RNA منتقل شد و به کمک دستگاه هموژنایزر (مدل Silent Crusher S، شرکت هایدولف، آلمان) به‌طور کامل هموژن شد. سپس با اضافه کردن کلروفرم و انجام مراحل سانتریفیوژ میکروتیوب‌ها، سه لایه شفاف، سفید و کدر تشکیل شد. فاز آبکی شفاف توسط سمپلر به میکروتیوب جدید منتقل گردید و در ادامه ایزوپروپانول سرد و اتانول به منظور رسوب دهی RNA و جداسازی RNA ی کل اضافه شد. در نهایت خشک کردن رسوب و حل کردن رسوب با آب تیمار شده با دی اتیل پیروکربنات[7] و مهار کننده آنزیم RNase[8] انجام شد و در نهایت RNA ی استخراج شده در فریزر ۷۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد.

[7] Diethyl Pyrocarbonate (DEPC)
[8] RNase inhibitor

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.29252/sjku.24.5.120]

سنجش کیفی و کمی RNA: به منظور بررسی کیفیت RNA ی کل استخراج شده، از الکتروفورز آن بروی ژل آگارز دناتوره کننده یک درصد استفاده شد. از فرمالدهید بعنوان دناتوره کننده در ژل آگارز استفاده شد. بعلاوه برای دناتوراسیون RNA پیش از الکتروفورز به نمونه‌ها فرمالدهید و همچنین فرم‌آمید اضافه شدند. باندهای واضح RNAهای ریبوزومی ۲۸S و ۱۸S و نسبت تقریبی دو به یک باندها، به عنوان ملاک سالم بودن RNA ی کل استخراج شده در نظر گرفته شد(شکل ۱).



شکل ۱. تصویر ژل آگاروز فرمالدهیدی مربوط به RNA های استخراج شده از بافت پانکراس موش‌های صحرایی در گروه آزمایشی تحت مطالعه. در ژل بالا از هر گروه آزمایشی یک یا دو نمونه تصادفی RNA بارگذاری شده است. در هر نمونه، باندهای نشان داده شده مربوط به RNA ی ریبوزومی ۲۸S و ۱۸S است.

سنجش کمی برای تعیین غلظت RNA ی کل، به روش اسپکتروفوتومتری انجام شد و از میزان جذب به‌دست آمده در طول موج ۲۶۰ نانومتر برای تعیین غلظت RNA ی کل استخراج شده از نمونه‌ها استفاده شد. میزان جذب این نمونه‌ها در طول موج‌های ۲۸۰ و ۲۳۰ نیز اندازه‌گیری شدند. نتایج نسبت جذب ۲۶۰ به ۲۸۰ نانومتر و نسبت جذب ۲۶۰ به ۲۳۰ نانومتر میزان خلوص RNA های استخراج شده را نشان داد.

ساخت cDNA: غلظت RNA ی استفاده شده برای ساختن cDNA در تمام نمونه‌ها یکسان‌سازی شد و از غلظت یک میکروگرم استفاده شد. ساخت cDNA توسط کیت PrimeScript™ RT reagent (شرکت تاکارا، ژاپن) و مطابق روش کار پیشنهادی موجود در کیت انجام گرفت. کلیه مراحل روی یخ و در زیر هود و در شرایط استریل انجام گرفت.

بررسی تغییرات بیان ژن *OPA1*: در این تحقیق برای بررسی کمی میزان بیان mRNA ژن‌های مورد مطالعه از روش Real-Time PCR استفاده شد. با این روش میزان بیان mRNA ژن *OPA1* با روش کمی نسبی و با استفاده از رنگ سایبرگرین و میزان تکثیر در چرخه‌ای که بیان ژن قابل ردیابی است (Ct[9]) نسبت به Ct مربوط به ژن بتا اکتین، به عنوان ژن کنترل با استفاده از روش $۲^{-\Delta\Delta Ct}$ مورد بررسی قرار گرفت. این آزمایش با استفاده از دستگاه لایت سایکلر ۹۶[10] (شرکت رش، آلمان) و مستر میکس سایبرگرین[11] (شرکت تاکارا، ژاپن) انجام شد.

[9]Cycle Threshold
[10]LightCycler® 96 Real Time PCR System
[11]SYBR™ Green Master Mix

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-13]
[DOI: 10.29252/sjku.24.5.120]

توالی mRNA ی ژن‌های *OPA1* (NM_۱۳۳۵۸۵/۳) و بتا اکتین (NM-۰۳۱۱۴۴) و نواحی اتصال اگزون‌ها از پایگاه داده‌ای NCBI به دست آمد. جهت طراحی پرایمر ژن‌های تحت مطالعه از نرم‌افزار ژن‌رانر[12] استفاده شد. سپس با استفاده از ابزار بلاست و پایگاه داده‌ای NCBI از یکتا بودن محل اتصال جفت پرایمرها و ساختمان فضایی آن‌ها اطمینان حاصل شد. برای جلوگیری از تکثیر احتمالی DNA ژنومیک، یکی از پرایمرهای رفت و معکوس مربوط به هر یک از ژن‌های مورد نظر در نواحی اتصال دو اگزون طراحی گردید که توالی آن‌ها در جدول ۱ آورده شده است. ساخت پرایمرها توسط شرکت سیناژن صورت گرفت. به علاوه برای اطمینان از عدم تکثیر احتمالی قطعات DNA ژنومی در هنگام انجام PCR، کنترل NRT[13] (کنترلی که در واکنش تبدیل RNA به cDNA از آنزیم نسخه‌بردار معکوس استفاده نشده بود) و کنترل NTC[14] (کنترل بدون اضافه کردن نمونه cDNA) در انجام PCR استفاده شد. عدم تکثیر قطعات مورد انتظار و قطعات دیگر در PCR این نمونه‌های کنترل، حاکی از عدم آلودگی نمونه‌های RNA استخراج شده با DNA ژنومیک بود.

بررسی هیستوپاتولوژی پانکراس: برای بررسی تغییرات بافتی، برش‌های بافتی پانکراس گروه‌های آزمایشی پس از شستشو در فرمالین ده درصد فیکس شده و بعد از آبگیری و شفاف‌سازی، نمونه‌ها در داخل پارافین مذاب قالب‌گیری شدند و با استفاده از میکروتوم روتاری (مدل ۸۴۰۲ DS شرکت دید سبز، ایران) برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرون تهیه و با هماتوکسیلین–ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. سپس با میکروسکوپ نوری اینورت(IX71 Inverted, Olympus) با بزرگنمایی ۴۰۰x، بافت‌های کبد و پانکراس و تغییرات ایجاد شده به‌صورت مقایسه بین گروه‌های آزمایشی مورد بررسی قرار گرفت.

تحلیل آماری: نتایج داده‌های بیان ژن به صورت میانگین±خطای استاندارد (SEM) شاخص‌ها در هر گروه بیان شد. نتایج آزمون کولموگروف–اسمیرنوف[15] مربوط به اندازه‌گیری میزان بیان ژن نشان داد که توزیع این داده‌ها نرمال نبود، بنابراین برای تحلیل آن‌ها از آزمون کروسکال-والیس استفاده گردید. پس از اینکه معنی‌دار بودن نتایج با این آزمون نشان داده شد، به منظور انجام مقایسات زوجی از آزمون تعقیبی و به منظور انجام مقایسات زوجی از آزمون تعقیبی Dunn's test استفاده گردید. برای شاخص بیلی‌روبین از آزمون واریانس یک‌طرفه و آزمون تکمیلی توکی[16] استفاده شد. در همه تحلیل‌ها $P< ۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

[12]Gene Runner
[13]No Reverse Transcriptase
[14]No Template Control
[15]Kolmogorov-Smirnov
[16] Tukey

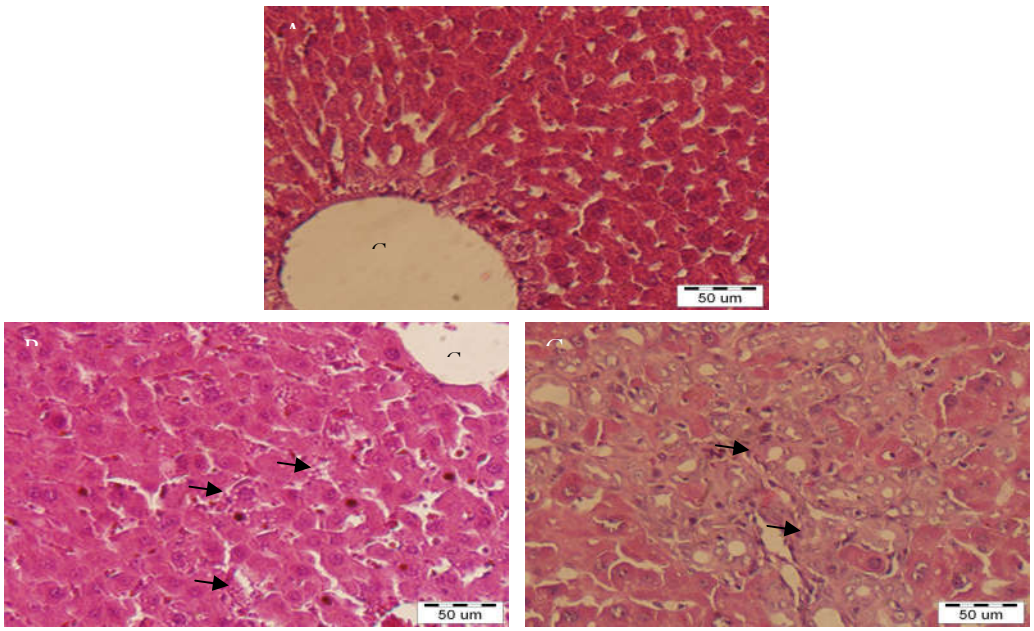
[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-13]
[DOI: 10.29252/sjku.24.5.120]

جدول ۱. توالی پرایمرهای طراحی شده برای ژن‌های *OPA1* و *β-act*

ژن	پرایمر	توالی (5’-3’)	قطعه تکثیر شده (bp)
OPA1	رفت	ACGGGTTGTTGTGGTTGGAG	۲۰۹
	معکوس	ACGCTGCAAGATCTTCCTCC	
β-act	رفت	CTGGGTATGGAATCCTGTGG	۲۰۱
	معکوس	AGGAGGAGCAATGATCTTGATC	

یافته‌ها

در این پژوهش، در مقایسه ظاهر موش‌های صحرایی گروه کلستاز و سیروز با موش‌های گروه شم تغییر رنگ گوش‌ها، دُم و زرد شدن ادرار مشاهده شد. همچنین سطح بیلی‌روبین کل در گروه‌های کلستازی و سیروزی در مقایسه با گروه‌های کنترل تفاوت معنی‌داری نشان داد ($F(5, 30)=28.008$, $P=.000$). نتایج مطالعه میکروسکوپی بافت کبد گروه کلستاز در مقایسه با گروه کنترل، پرولیفریشن مجاری صفراوی و آرایش نامنظم سلول‌ها را نشان داد(شکل۲ A و B) . همچنین بررسی هیستوپاتولوژی بافت کبد موش‌های گروه سیروز حضور مهم‌ترین شاخص سیروز کبدی یعنی هیپرپلازی شدید مجاری صفراوی و نفوذ بافت همبند که نشان دهنده رشته‌های کلاژن و تشکیل بافت فیبروز است را نشان داد(شکل ۲ C).



شکل ۲. مقایسه نمونه بافت کبد در گروههای آزمایشی کنترل، کلستاز و سیروز. (A) نمونه بافت کبد گروه کنترل سالم. ورید مرکزی (CV) و هپاتوسیتهای اطراف آن به‌صورت منظم دیده می‌شوند. (B) نمونه بافت کبد گروه کلستاز. پرولیفریشن مجاری صفراوی و آرایش نامنظم سلولها در مجاورت ورید مرکزی دیده می‌شود. (C) نمونه بافت کبد گروه سیروز. هیپرپلازی شدید مجاری صفراوی و نفوذ بافت همبندی به صورت خطوط نامنظم (پیکان) که نشان دهنده رشته‌های کلاژن و تشکیل بافت فیبروز می‌باشد (مهمترین شاخص سیروز کبد)، دیده می‌شود.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.29252/sjku.24.5.120]

ایـن مشـاهدات موفقیـت آمیـز بـودن پروتکـل القـایی را در گروه‌های آزمایشی نشان مـی‌دهـد. تغییـر رنـگ ظـاهری و زرد شدن ادرار در موش‌های تیمار شده با لیپوئیـک اسـید نیـز دیـده شد. هیچ‌گونه تفاوتی در سطح بیلی‌روبین گروه‌های کلستازی و سیروزی تیمار شده با لیپوئیک اسید در مقایسـه بـا گـروه‌هـای کلسـتازی و سـیروزی تیمـار شـده بـا محلـول سـالین مشـاهده نشد(P=۱/۰۰۰)(جدول ۲).

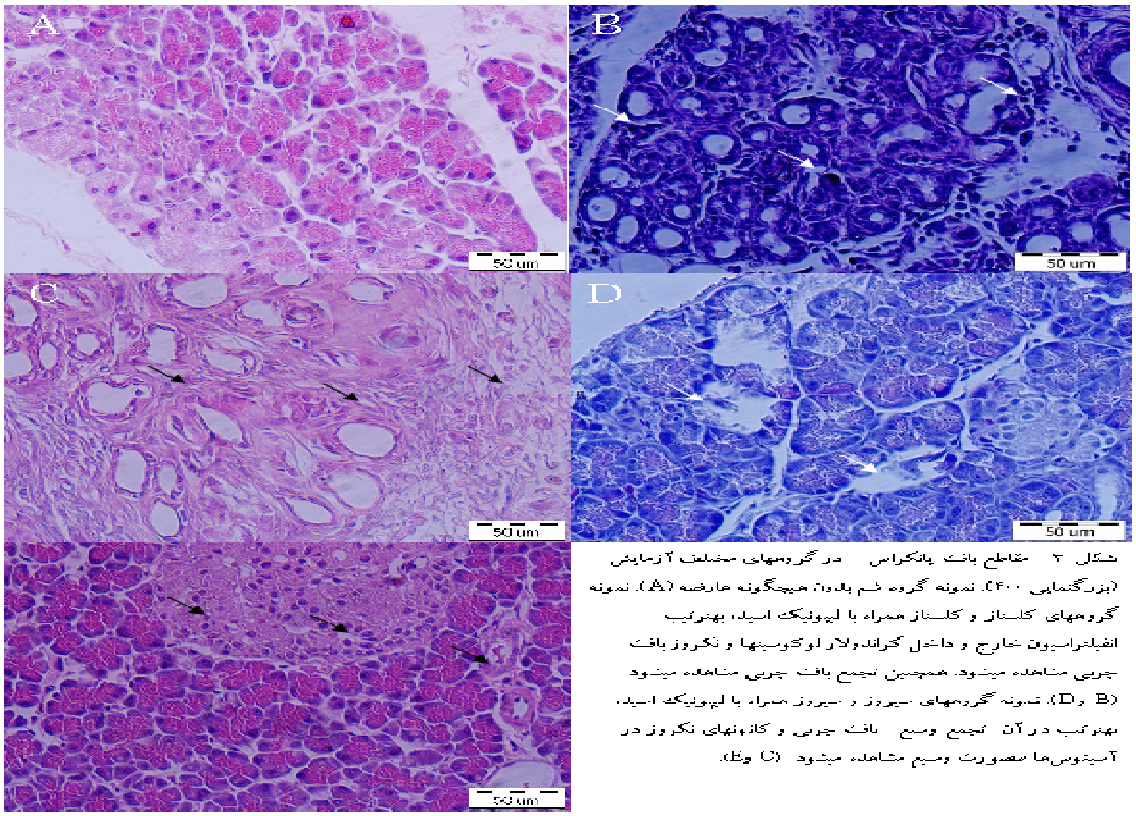
جدول ۲- نتایج آنالیز آماری داده‌های مربوط به سطح بیلی‌روبین خون. ستون‌های اول و دوم، مقادیر میانگین و انحراف معیار مربوط به داده‌های گروه های آزمایشی را نشان می‌دهد. ستون‌های چهارم الی نهم مقادیر p-value مقایسات زوجی حاصل از آزمون توکی را نشان می‌دهد (n=۳۶)

	میانگین	انحراف معیار	مقدار p					
			کنترل	شم	کلستاز تیمار شده با سالین	کلستاز تیمار شده با لیپوئیک اسید	سیروز تیمار شده با سالین	سیروز تیمار شده با لیپوئیک اسید
کنترل	۲/۲۱	۰/۶۰۶						
شم	۱/۸۷	۰/۶۴۲	۰/۹۹۹					
کلستاز تیمار شده با سالین	۸/۳۱	۲/۰۰۷	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰				
کلستاز تیمار شده با لیپوئیک اسید	۸/۴۴	۱/۴۸	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۱/۰۰۰			
سیروز تیمار شده با سالین	۸/۷۳	۱/۹۶	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۹۹۷	۰/۹۹۹		
سیروز تیمار شده با لیپوئیک اسید	۸/۶۱	۳/۴۲	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۹۹۹	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	

بررسـی بـافتی: بررسـی مقـاطع میکروسـکوپی بافـت پـانکراس گروه کلستازی حضور انفیلتراسیون خارج و داخل گرانـدولار لوکوسیت‌ها و نکروز بافت چربی را نشـان داد(شـکل۳ B). در بافت پانکراس گروه کلسـتاز دریافـت کننـده لیپوئیـک اسـید، التهـاب و ادم بافـت اگزوکـرین پـانکراس مشـاهده نشـد ولـی نکروز سلولی و بافت چربی در این بافت‌ها مشاهده شد(شکل۳ D). مقاطع بافت پانکراس در گروه سیروز و در گـروه سـیروز همراه با لیپوئیک اسید تفاوت زیادی را نشـان نـداد. در هـر دو گروه نکروز بافت چربی و کانون‌هـای نکـروز در آسـینوس‌هـا به‌صورت وسیع مشاهده شد. در موش‌های سیروزی حوضـچه-های آسینوسی همراه با تعداد کم سـلول‌هـای آسـینی مشـاهده گردید(شکل۳ C و E).

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.29252/sjku.24.5.120]

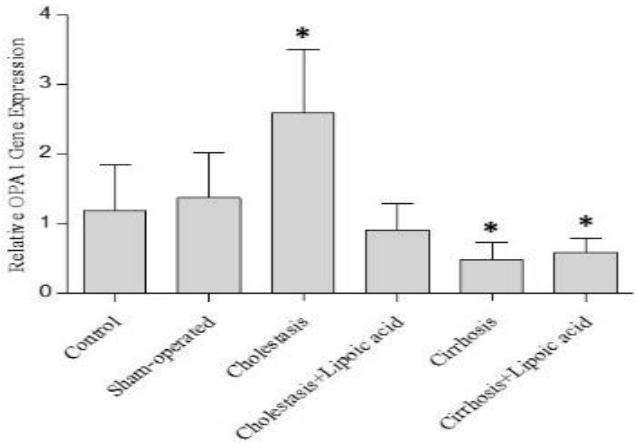


شکل ۲ مقاطع بافت پانکراس در گروههای مختلف آزمایش (بزرگنمایی ۴۰۰). نمونه گروه شم بادی هیچگونه عارضه (A). نمونه گروههای کلستاز و کلستاز همراه با لیپوئیک اسید، بهترتیب انفیلتراسیون خارج و داخل گرانولار لوکوسیتها و نکروز بافت چربی مشاهده میشود. همچنین تجمع بافت چربی مشاهده میشود (B و D). نمونه گروههای سیروز و سیروز همراه با لیپوئیک اسید، بهترتیب در آن تجمع وسیع بافت چربی و کانونهای نکروز در آسینوس‌ها بصورت وسیع مشاهده میشود (C و E).

بررسی بیان ژن *OPA1*: نتایج آزمون کروسکال-والیس مربوط به داده‌های بیان ژن *OPA1* نشان داد که بین گروه‌های آزمایشی تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($X^2(5)=22.965$, P=0.000). نتایج آزمون تعقیبی من -ویتنی با اصلاح بونفرنی تفاوت معنی‌داری را بین هر یک از گروه‌های کنترل با گروه کلستاز تیمار شده با سالین نشان داد(P<۰/۰۵). این تغییر بیان در نمودار ستونی رسم شده به‌صورت افزایش بیان ژن *OPA1* در گروه کلستاز تیمار شده با سالین دیده می‌شود(شکل ۴). اما نتایج آنالیز بیان ژن در گروه کلستاز تیمار شده با لیپوئیک اسید در مقایسه با گروه‌های سیروزی تیمار شده با سالین و سیروزی تیمار شده با لیپوئیک اسید تفاوت معنی‌داری را نشان نداد(P=1.000). سطح معنی‌داری تعدیل شده بین دو گروه سیروزی نیز معنی‌داری نیست (P=1.000).

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.29252/sjku.24.5.120]



شکل ۴ – نمودار میزان بیان ژن *OPA1* در بافت پانکراس گروه‌های آزمایشی کنترل، شم، کلستاز، کلستاز تیمارشده با لیپوئیک اسید، سیروز و سیروز تیمارشده با لیپوئیک اسید. هر یک از ستون‌ها نشانگر Mean±SEM داده‌های بیان ژن اندازه‌گیری شده با روش Real time PCR در بافت پانکراس شش موش صحرایی در هر گروه آزمایشی است. $P<۰/۰۵$ تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل را نشان می‌دهد.

بحث

تعدادی از محققین عامل ایجاد تخریب در سلول‌های آسینار پانکراس بیماران مبتلا به زردی انسدادی را به اثر سیستمیک اسیدهای صفراوی مونوهیدروکسیله مانند TLC-S[17] در داخل سرم و فضای بین بافتی نسبت می‌دهند(۲۲و۶و۵). در مطالعه‌ای که بر روی مدل حیوانی صاریغ آمریکایی انجام شده است، شدت بیماری پانکراتیت القا شده با بستن مجرای پانکراس، در صورت همراه شدن با انسداد مجرای صفراوی شدت بیشتری را نشان داده است(۲۳)؛ بنابراین نشانه‌های التهابی مشاهده شده در بافت پانکراس موش‌های کلستازی و سیروزی مطالعه حاضر می‌تواند در اثر تجمع اسیدهای صفراوی ایجاد شده باشد.

لیپوئیک اسید به عنوان یک آنتی اکسیدان کوفاکتور در کمپلکس‌های چند آنزیمی همچون پیرووات دهیدروژناز وجود دارد و به طور قابل توجهی غلظت گلوتاتیون احیاءشده را در کبد حیوانات BDL افزایش می‌دهد. علاوه بر آن، یون‌های فلزی انتقالی را شلاته کرده و پراکسیداسیون لیپیدها را مهار می‌کند. لیپوئیک اسید سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز را در کبد، روده و مغز موش‌های BDL افزایش می‌دهد(۷و۲). نتایج پاتولوژی مطالعه حاضر نشان می‌دهد که نشانه‌های التهابی ایجاد شده در بافت پانکراس موش‌های کلستازی در اثر تیمار با لیپوئیک اسید بهبود می‌یابد و این مطالعه برای اولین بار است که بر روی بافت پانکراس انجام شده است. کاهش اثرات التهابی بافتی به‌دست آمده در این مطالعه با مطالعات دیگر که بر روی بافت‌های کبد و روده انجام شده است، هم‌خوانی دارد(۲). تجویز خوراکی و یا تزریق لیپوئیک اسید منجر به تسریع مصرف گلوکز و افزایش حساسیت بافت به انسولین در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ شده است(۲۴). مطالعات انجام شده بر روی مدل حیوانی بیماری دیابت نیز افزایش مصرف گلوکز و کاهش غلظت لاکتات و پیرووات خون را با مصرف لیپوئیک اسید نشان می‌دهد. در این مطالعات در حضور لیپوئیک اسید کاهش فرایندهای التهابی در سلول‌های جزایر

[17] Taurolithocholic acid 3 sulfate

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.29252/sjku.24.5.120]

پانکراس مشاهده شده است(۲۵). همچنین اثرات بهبود بخش لیپوئیک اسید بر روی مدل حیوانی پانکراتیت حاد نشان داده شده است(۲۶). نتایج ما نشان می‌دهد در مراحل پیشرفته، اثرات بهبود بخش لیپوئیک اسید در التهاب ایجاد شده‌ی ناشی از انسداد مجرای صفراوی دیده نمی‌شود.

در مطالعه حاضر در موش‌های کلستازی افزایش معنی‌دار ژن *OPA1* در بافت پانکراس دیده می‌شود. مطالعات گذشته اثر مستقیم اسیدهای صفراوی بر روی سلول‌های آسینی پانکراس موش و آزاد شدن نوسانی Ca^{++} از ذخایر داخل سلولی را نشان می‌دهد(۴). افزایش کلسیم سیتوپلاسمی ناشی از اسیدهای صفراوی، در سلول‌های پانکراس رت منجر به فعال شدن سیگنال‌های التهابی ناشی از کینازهای c-Jun و فاکتور رونویسی NF-κB می‌شود(۲۷). در شرایط استرس در سلول‌های پانکراس موش برای جلوگیری از دست دادن بیش‌ازحد میتوکندری‌های سلول و برقراری تعادل و حفظ تمامیت این اندامک، مسیر TNFα-NFκB-OPA1 فعال می‌شود. به این ترتیب با افزایش بیان ژن *OPA1* و هم‌جوشی غشاء میتوکندری، ساختار تیغه‌های میانی آن بهبود یافته و تنفس سلولی با کارایی بهتری انجام می‌شود(۲۸)؛ بنابراین در مطالعه حاضر افزایش بیان ژن *OPA1* و حضور علائم التهاب بافتی در بافت پانکراس موش‌های کلستازی با مطالعات گذشته هم‌خوانی دارد و می‌تواند فعال شدن مسیر سیگنالی فوق را تائید کند. از سوی دیگر در مطالعه‌ای که اخیراً بر روی مسیر پیام‌رسانی تنظیم کننده بیان ژن *OPA1* در شرایط استرس انجام شده، فعال شدن پروتئین[18] STAT۳ و افزایش رونویسی ژن *OPA1* نشان داده شده است. پروتئین STAT۳ با انواع عملکردهای فیزیولوژیک و پاتولوژیک مرتبط است و فسفریله شدن آن در حضور سیتوکین‌ها منجر به انتقال این پروتئین به هسته به منظور ایفای نقش آن به‌عنوان فعال کننده رونویسی می‌شود. در شرایط طبیعی تعدادی از پروتئین‌های STAT۳ در میتوکندری مستقر هستند (mitoSTAT۳) و در کنترل عملکردهای میتوکندری نقش دارند. تحت شرایط استرس اکسیداتیو و تولید مقدار زیاد رادیکال‌های آزاد، پتانسیل غشاء میتوکندری کاهش می‌یابد. این امر باعث ناتوانی ماشین انتقال پروتئین‌ها به داخل میتوکندری شده و منجر به جذب بیشتر پروتئین‌های STAT۳ به طرف هسته برای ایفای نقش دیگر آن‌ها به‌عنوان فاکتور رونویسی می‌شود(۲۹). با توجه به مطالب ذکر شده می‌توان نقش دو فاکتور رونویسی NF-κB و ۳ STAT را در کنترل بیان ژن *OPA1* در بافت پانکراس موش‌های کلستازی پیشنهاد داد. از یک سو در شرایط افزایش استرس اکسیداتیو ناشی از تجمع اسیدهای صفراوی و افزایش پروتئین STAT۳ در هسته و از سوی دیگر فعال شدن مسیر سیگنالی التهابی و افزایش فعالیت فاکتور رونویسی NF-κ می‌تواند منجر به افزایش بیان ژن *OPA1* در سلول‌های پانکراس شود تا این سلول‌ها بتوانند برای حفظ حیات خود، عملکرد و ساختار میتوکندری را ترمیم کنند. در مطالعات گذشته در درون هسته ارتباط فیزیکی بین این دو فاکتور رونویسی نشان داده شده است(۳۰). نتایج این مطالعه برای اولین بار درگیری مسیر سیگنالی مرتبط با بیان ژن *OPA1* را در پانکراتیت ناشی از کلستاز نشان می‌دهد. با کاهش استرس اکسیداتیو در حضور لیپوئیک اسید در موش‌های کلستازی این افزایش بیان دیده نمی‌شود که این نتیجه می‌تواند ناشی از بازگشت طبیعی پتانسیل غشاء میتوکندری و کاهش میزان فاکتور رونویسی STAT۳ باشد. این نتایج نشان می‌دهد که در پاتولوژی کلستاز استرس اکسیداتیو ایجاد شده در اثر تجمع اسیدهای صفراوی می‌تواند مسیر سیگنالی بیان ژن‌های دخیل در پویایی میتوکندری را فعال کند و زمانی که با کمک

[18] Signal Transducer and Activator of Transcription 3

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.29252/sjku.24.5.120]

لیپوئیک اسید این استرس کنترل می‌شود فعال شدن این مسیر سیگنالی مشاهده نمی‌شود. نتایج مربوط به بیان ژن و مطالعات پاتولوژیکی در مرحله سیروز نشان می‌دهد که در مراحل پیشرفته بیماری علائم پاتولوژیکی انسداد صفراوی در بافت پانکراس تشدید شده و حتی در حضور لیپوئیک اسید هم این علائم دیده می‌شوند. همچنین در این شرایط میزان بیان ژن *OPA1* *به صورت غیر معنی دار*کمتر از سطح بیان این ژن در حالت طبیعی است. این نتایج تغییر مسیر سیگنالی فعال شده در روند پیشرفت کلستاز را نشان می‌دهد. نتایج مطالعات گذشته ما فعال شدن بیان ژن *DRP1* را در کبد موش‌های کلستازی نشان می‌دهد(۹). با در نظر گرفتن این یافته‌ها می‌توان نتیجه گرفت که در مراحل اولیه کلستاز با فعال شدن مسیر هم‌جوشی میتوکندری، سلول در صدد مبارزه با افزایش استرس اکسیداتیو و آپوپتوز برمی‌آید اما در مراحل پیشرفته و سیروز، با افزایش آسیب وارده به میتوکندری‌های سلول، مسیر سیگنالی کنترل کننده استرس اکسیداتیو تغییر کرده و احتمالاً افزایش فرایند شکافت غشایی میتوکندری که در تضاد با هم‌جوشی است، سلول را به طرف آپوپتوز هدایت می‌کند. در این مرحله حضور لیپوئیک اسید هم نمی‌تواند جلوی پیشرفت التهاب و مرگ سلولی را بگیرد.

پیشنهاد: برای شناخت بهتر سازوکار سیگنالی درگیر در مسیر کلستاز پیشنهاد می‌شود که در موش‌های کلستازی میزان حضور پروتئین‌های STAT ۳ و NFκB در حضور و عدم حضور لیپوئیک اسید مورد بررسی قرار بگیرد.

محدودیت: بر اساس اهداف طراحی شده در پروپوزال پایان نامه محدودیتی در انجام پروژه به‌وجود نیامد.

نتیجه‌گیری

تغییر بیان ژن *OPA1* در بافت پانکراس موش‌های صحرایی با انسداد مجرای صفراوی می‌تواند نقش پویایی میتوکندری را درآسیب‌شناسی این عارضه نشان دهد. اثر لیپوئیک اسید در تغییرات بیان ژن *OPA1* نشان دهنده تأثیر استرس اکسیداتیو در مسیر سیگنالی عارضه کلستاز است.

تشکر و قدردانی

نتایج چاپ شده در این مقاله از طرح پایان نامه کارشناسی ارشد با شماره ۲۴/۹۵ تصویب شده در تاریخ ۱۳۹۵/۱۰/۵ استخراج شده است. بدینوسیله نویسندگان این مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت پژوهشی دانشکده علوم دانشگاه کردستان و مرکز تحقیقات گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی کردستان اعلام می‌دارند.

References

1. Arduini A, Serviddio G, Tormos AM, Monsalve M, Sastre J. Mitochondrial dysfunction in cholestatic liver diseases. 2012.

2. Somi M, Kalageychi H, Hajipour B, Musavi G, Khodadadi A, Shokri N, et al. Lipoic acid prevents hepatic and intestinal damage induced by obstruction of the common bile duct in rats. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2013;17(10):1305-10.

3. Arduini A, Serviddio G, Escobar J, Tormos AM, Bellanti F, Viña J, et al. Mitochondrial biogenesis fails in secondary biliary cirrhosis in rats leading to mitochondrial DNA depletion and deletions. American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology. 2011;301(1):G119-G27.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.29252/sjku.24.5.120]

4. Voronina S, Longbottom R, Sutton R, Petersen OH, Tepikin A. Bile acids induce calcium signals in mouse pancreatic acinar cells: implications for bile□induced pancreatic pathology. The Journal of physiology. 2002;540(1):49-55.
5. Voronina SG, Barrow SL, Gerasimenko OV, Petersen OH, Tepikin AV. Effects of secretagogues and bile acids on mitochondrial membrane potential of pancreatic acinar cells comparison of different modes of evaluating ΔΨm. Journal of Biological Chemistry. 2004;279(26):27327-38.
6. Voronina SG, Gryshchenko OV, Gerasimenko OV, Green AK, Petersen OH, Tepikin AV. Bile acids induce a cationic current, depolarizing pancreatic acinar cells and increasing the intracellular Na+ concentration. Journal of Biological Chemistry. 2005;280(3):1764-70.
7. Zakaria M, Hajipour B, Taghizadieh M, Mousavi G, Khodadadi A. Lipoic acid attenuates cholestasis induced cerebral injury in rats. Life Science Journal. 2013;10(SUPPL.):539-45.
8. Yu T, Wang L, Lee H, O'Brien DK, Bronk SF, Gores GJ, et al. Decreasing mitochondrial fission prevents cholestatic liver injury. Journal of Biological Chemistry. 2014:jbc. M114. 588616.
9. Khosrobakhsh F, Moloudi MR, Bigdelo M, Rahimmi A. Effect of cholestasis on Dynamin-Related Protein 1 (Drp1) gene expression in rat liver. Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences. 2017;22(4):68-79.
10. Belenguer P, Pellegrini L. The dynamin GTPase OPA1: more than mitochondria? Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research. 2013;1833(1):176-83.
11. Delettre C, Lenaers G, Griffoin J-M, Gigarel N, Lorenzo C, Belenguer P, et al. Nuclear gene OPA1, encoding a mitochondrial dynamin-related protein, is mutated in dominant optic atrophy. Nature genetics. 2000;26(2):207.
12. Delettre C, Griffoin J-M, Kaplan J, Dollfus H, Lorenz B, Faivre L, et al. Mutation spectrum and splicing variants in the OPA1 gene. Human genetics. 2001;10.۹۱-۵۸۴:(۶)۹
13. Akepati VR, Müller EC, Otto A, Strauss HM, Portwich M, Alexander C. Characterization of OPA1 isoforms isolated from mouse tissues. Journal of neurochemistry. 2008;106(1):372-83.
14. Olichon A, Emorine LJ, Descoins E, Pelloquin L, Brichese L, Gas N, et al. The human dynamin□related protein OPA1 is anchored to the mitochondrial inner membrane facing the inter□membrane space. FEBS letters. 2002;523(1-3):171-6.
15. Chen H, Chomyn A, Chan DC. Disruption of fusion results in mitochondrial heterogeneity and dysfunction. Journal of Biological Chemistry. 2005;280(28):26185-92.
16. Frezza C, Cipolat S, De Brito OM, Micaroni M, Beznoussenko GV, Rudka T, et al. OPA1 controls apoptotic cristae remodeling independently from mitochondrial fusion. Cell . .۸۹-۱۷۷:(۱)۱۲۶;۲۰۰۶
17. Reinhardt F, Schultz J, Waterstradt R, Baltrusch S. Drp1 guarding of the mitochondrial network is important for glucose-stimulated insulin secretion in pancreatic beta cells. Biochemical and biophysical research communications. 201.۵۱-۶۴۶:(۴)۴۷۴;۶
18. Zhang Z, Wakabayashi N, Wakabayashi J, Tamura Y, Song W-J, Sereda S, et al. The dynamin-related GTPase Opa1 is required for glucose-stimulated ATP production in pancreatic beta cells. Molecular biology of the cell. 2011;22(13):2235-45.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.29252/sjku.24.5.120]

19. Bosoi CR, Oliveira MM, Ochoa-Sanchez R, Tremblay M, Ten Have GA, Deutz NE, et al. The bile duct ligated rat: A relevant model to study muscle mass loss in cirrhosis. Metabolic brain disease. 2017;32(2):513-8.
20. Dastgheib S, Irajie C, Assaei R, Koohpeima F, Mokarram P. Optimization of RNA extraction from rat pancreatic tissue. Iranian journal of medical sciences. 2014;39(3):282.
21. Ahmadi S, Karami Z, Mohammadian A, Khosrobakhsh F, Rostamzadeh J. Cholestasis induced antinociception and decreased gene expression of MOR1 in rat brain. Neuroscience. 2015;284:78-86.
22. Lerch MM, Aghdassi AA. The role of bile acids in gallstone-induced pancreatitis. Gastroenterology. 2010;138(2):429-33.
23. Senninger N, Moody FG, Coelho JC, Van Buren DH. The role of biliary obstruction in the pathogenesis of acute pancreatitis in the opossum. Surgery. 1986;99(6):688-93.
24. Bilska A, Wlodek L. Lipoic acid-the drug of the future. Pharmacol Rep. 2005;57(5):570-7.
25. Berkson BM. A conservative triple antioxidant approach to the treatment of hepatitis C. Medizinische Klinik. 1999;94(3):84-9.
26. Abdin AA, El-Hamid MAA, El-Seoud SHA, Balaha MF. Effect of pentoxifylline and/or alpha lipoic acid on experimentally induced acute pancreatitis. European journal of pharmacology.۹۶-۲۸۹:(۳-۲)۶۴۳;۲۰۱۰ .
27. Kim JY, Kim KH, Lee JA, Namkung W, Sun AQ, Ananthanarayanan M, et al. Transporter-mediated bile acid uptake causes Ca 2+-dependent cell death in rat pancreatic acinar cells. Gastroenterology. 2002;122(7):1941-53.
28. Baltrusch S .Mitochondrial network regulation and its potential interference with inflammatory signals in pancreatic beta cells. Diabetologia. 2016;59(4):683-7.
29. Meier JA, Hyun M, Cantwell M, Raza A, Mertens C, Raje V, et al. Stress-induced dynamic regulation of mitochondrial STAT3 and its association with cyclophilin D reduce mitochondrial ROS production. Sci Signal. 2017;10(472):eaag2588.
30. Kesanakurti D, Chetty C, Maddirela DR, Gujrati M, Rao JS. Essential role of cooperative NF-κB and Stat3 recruitment to ICAM-1 intronic consensus elements in the regulation of radiation-induced invasion and migration in glioma. Oncogene. 2013;32(43):5144.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-13]

[DOI: 10.29252/sjku.24.5.120]