Investigation of the effect of hydroalcoholic mumie extract on expression of osteoprotegerin (OPG) and receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand (RANKL)

Yosra Azizpour[1], Monireh Azizi[2], Khairollah Asadollahi[3], Naser Abbasi[4], Ali Aidy[5], Elahe Karimi [6]

1. MSc of Epidemiology, Department of Epidemiology, Faculty of Health, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran. ORCID ID: 0000-0002-3875-3871
2. Assistant Professor, Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran, (Corresponding Author), Tel: 084-32235716, Email: azizi-m@medilam.ac.ir. ORCID ID: 0000-0003-3090-867X
3. Professor, Department of Social Medicine, Faculty of Medicine, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran. ORCID ID: 0000-0003-2797-2814
4. Associate Professor, Biotechnology and Medicinal Plants Research Center, Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran. ORCID ID: 0000-0003-4457-3997
5. MSc of Biochemistry, Biotechnology and Medicinal Plants Research Center, Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran. ORCID ID: 0000-0001-5624-4184
6. Assistant Professor, Biotechnology and Medicinal Plants Research Center, Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran. ORCID ID: 0000-0003-0482-1554

ABSTRACT

Background and Aim: Osteoporosis is one of the most common bone diseases that is caused by an imbalance between the activity of osteoblasts and osteoclasts. Osteoprotegerin (OPG) plays an active role in inhibiting osteoclasts by binding to the receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand (RANKL). The balance in the OPG/RANKL ratio is important in bone remodeling. The current study investigated and compared the effects of mumie extract and chemical drugs on cell proliferation, expression of OPG and RANKL in MG63 cells.

Materials and Methods: The effects of 100, 200 and 300 µg/ml of mumie extract on cell proliferation, expression of OPG and RANKL in MG63 cells were investigated in experimental groups, positive and negative control groups. Data were analyzed by ANOVA test.

Results: Significant increases were observed in the proliferation of MG63 cells after exposure to 100 and 200 µg/ml concentrations of mumie extract. 200 µg/ml concentration of the extract significantly decreased the expression of RANKL and increased the expression of OPG. It also increased OPG/RANKL ratio significantly in the experimental groups, compared to those in the negative control groups. Although the effects of 100 µg/ml and 200 µg/ml concentrations were similar to each other, they showed no significant effects on the variables. 300 µg/ml concentration of the extract showed a reverse and insignificant effect.

Conclusion: 200 µg/ml concentration of mumie extract had a significant effect on the expression of two important factors in bone remodeling. Therefore, individuals susceptible to osteoporosis can use mumie extract as an alternative to chemical drugs.

Keywords: Mumie extract, Osteoporosis, Osteoblasts

Received: July 7, 2019 **Accepted: Oct 26, 2019**

How to cite the article: Yosra Azizpour, Monireh Azizi, Khairollah Asadollahi, Naser Abbasi, Ali Aidy, Elahe Karimi. Investigation of the effect of hydroalcoholic mumie extract on expression of osteoprotegerin (OPG) and receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand (RANKL). SJKU 2020; 24 (6): 120-129

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 2025-12-16]

[DOI: 10.29252/sjku.24.6.120]

بررسی تأثیر عصاره هیدروالکلی مومیایی (Mumie) بر بیان استئوپروتگرین (OPG) و گیرنده فعال فاکتور هسته ای کاپا بتا لیگاند (RANKL)

یسری عزیزپور [۱]، منیره عزیزی [۲]، خیراله اسدالهی [۳]، ناصر عباسی [۴]، علی ایدی [۵]، الهه کریمی [۶]

۱. کارشناسی ارشد اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران. کد ارکید: ۳۸۷۱- ۳۸۷۵-۰۰۰۲-۰۰۰۰

۲. استادیار، گروه آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران. (مؤلف مسئول)، تلفن ثابت: ۳۲۲۳۵۷۱۶-۰۸۴، پست الکترونیک: azizi-m@medilam.ac.ir. کدارکید: ۰۰۰۰-۰۰۰۳-۳۰۹۰-۸٦۷ X

۳. استاد، گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران. کد ارکید:۲۸۱۴-۲۷۹۷-۰۰۰۳-۰۰۰۰

۴. دانشیار، مرکز تحقیقات زیست‌شناسی و گیاهان دارویی، گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران. کد ارکید: ۳۹۹۷-۴۴۵۷-۰۰۰۳-۰۰۰۰

۵. کارشناسی ارشد بیوشیمی، مرکز تحقیقات زیست‌شناسی و گیاهان دارویی ،گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران. کد ارکید: ۰۰۰۰-۰۰۰۱-۵۶۲۴-۴۱۸۴

۶. استادیار، مرکز تحقیقات زیست‌شناسی و گیاهان دارویی، گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران. کد ارکید: ۱۵۵۴-۰۴۸۲-۰۰۰۳-۰۰۰۰

.

چکیده

زمینه و هدف: پوکی استخوان از رایج‌ترین بیماری‌های استخوانی است که به‌دلیل عدم تعادل فعالیت سلول‌های استئوبلاست و استئوکلاست ایجاد می‌گردد. استئو پروتگرین (OPG) با اتصال به گیرنده فعال فاکتور هسته‌ای کاپا بتا لیگاند (RANKL) سبب مهار سلول‌های استئو کلاست می‌گردد. تعادل در نسبت OPG/RANKL نقش مهمی در بازسازی استخوان دارد. در مطالعه حاضر، تأثیر مومیایی بر میزان تکثیر سلولی، بیان OPG و RANKL در سلول‌های شبه استئوبلاست MG63 در مقایسه با داروهای شیمیایی مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، تأثیر غلظت‌های ۲۰۰،۱۰۰ و ۳۰۰ μg/ml عصاره مومیایی بر تکثیر سلولی، بیان OPG و RANKL در سلول‌های MG63 در گروه‌های آزمایش، کنترل مثبت و منفی بررسی گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده روش آماری ANOVA انجام شد.

یافته‌ها: افزایش معنی‌داری در تکثیر سلول‌ها بعد از مواجهه با دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ μg/ml مومیایی مشاهده شد. دوز ۲۰۰ μg/ml سبب کاهش معنی‌دار بیان RANKL و افزایش معنی‌دار بیان OPG و نسبت OPG/RANKL در مقایسه با گروه کنترل منفی گردید. دوز ۱۰۰ μg/ml مومیایی اگر چه همانند دوز ۲۰۰ μg/ml عمل نمود؛ اما میزان تأثیر بر هیچ‌کدام از متغیرها معنی‌دار نبود. دوز ۳۰۰ μg/ml نیز تأثیر معکوس غیر معنی‌داری را نشان داد.

نتیجه‌گیری: غلظت ۲۰۰ μg/ml مومیایی تأثیر قابل‌توجهی بر بیان دو عامل مهم بازسازی استخوان دارد، لذا به نظر می‌رسد افرادی که در معرض پوکی استخوان قرار دارند می‌توانند از این ماده به‌عنوان جایگزین داروهای شیمیایی استفاده نمایند.

کلمات کلیدی: مومیایی، پوکی استخوان، استئو بلاست

وصول مقاله: ۹۸/۴/۱۶ اصلاحیه نهایی:۹۸/۷/۲۸ پذیرش:۹۸/۸/۴

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-12-16]

[DOI: 10.29252/sjku.24.6.120]

مقدمه

بیماری پوکی استخوان با کاهش حجم توده استخوان و تغییرات در ساختار استخوان همراه است که سبب افزایش خطر شکستگی به خصوص در ناحیه ستون فقرات و ران می‌گردد(۱). در کاهش توده استخوانی توازن فعالیت بین سلول‌های استئوبلاست و استئوکلاست به هم خورده و میزان فعالیت سلول‌های استئوکلاست افزایش می‌یابد(۲). سلول‌های استرومال/ استئوبلاست سبب بیان گیرنده فعال فاکتور هسته‌ای کاپا بتا لیگاند(RANKL) می‌شوند. اتصال RANKL به گیرنده خود (RANK) در سطح سلول-های استئوکلاست، سبب فعال‌شدن این سلول‌ها و شروع عملیات تخریب استخوان می‌گردد. از طرف دیگر اتصال استئوپروتگرین (OPG) بیان شده توسط سلول‌های استئوبلاست به RANKL ، مانع از فعال‌شدن بیش از حد استئوکلاست می‌شود. حفظ نسبت OPG/RANKL برای استحکام استخوان ضروری است(۳). پوکی استخوان می‌تواند به‌صورت اولیه و یا ثانویه باشد. نوع اولیه در افراد سالخورده (هر دو جنس) و زنان یائسه رخ می‌دهد؛ اما شرایط خاص بالینی باعث ایجاد پوکی استخوان ثانویه می‌گردد و حتی می‌تواند گروه‌های جوان را نیز درگیر نماید(۲). شیوع پوکی و کاهش تراکم استخوان در ایران در زنان و مردان بالای ۵۰ سال به ترتیب ۷۰ و ۵۰ درصد ذکر شده است، که عمر مفید از دست رفته به دلیل این بیماری در ایران ۳۴ هزار سال بوده است(۴)، دامنه شیوع این بیماری در ناحیه کمری- لگنی و لگن در جهان در زنان از ۹ تا ۳۸ درصد و در مردان از ۱تا ۸ درصد متغیر بوده است(۵). تجربه شکستگی استخوان در زنان و مردان بالای ۵۰ سال مبتلا به این بیماری تقریبا به ترتیب ۵۰ و ۲۲ درصد بوده است(۶). برآورد شده است که سالانه حدود ۲۰-۱۷ بیلیون دلار صرف هزینه‌های پزشکی این بیماری می‌شود(۷).

بیسفسفونات‌ها از جمله داروهای مورد استفاده در درمان پوکی استخوان می‌باشند(۸). البته در زنان یائسه از هورمون تراپی نیز استفاده می‌شود(۹)؛ اما روش‌های ذکر شده به‌طور یقین دارای عوارض جانبی برای بیماران هستند(۱۰). استفاده از روش‌های سنتی، از جمله استفاده از داروهای گیاهی جزو روش‌هایی است که به لحاظ طبیعی‌بودن می‌توانند خطرات کمتری برای بدن داشته باشند، از جمله‌ی این مواد می‌توان ماده مومیایی را نام برد. ماده مومیایی در زبان هندی(Shilajit, ral-yahudi)، در زبان عربی(Hajar-ul-musa)، در زبان روسی(Myemu and mumie)، در زبان فارسی(Momiai-faqurul-yahud)، در زبان آلمانی(Mumie or salhumin)، در زبان انگلیسی(jews pitch, ,Asphalt, mineral pitch bitumen) و در زبان لاتین(Asphaltum punjabinum) خوانده می‌شود(۱۱). مومیایی در کوه‌های سرتاسر جهان به خصوص هیمالیا به شکل عصاره چسبناک از میان سنگ‌های رسوبی به آرامی نفوذ می‌کند و دارای رنگ سیاه –قهوه ای یا قهوه ای رنگ پریده است(۱۲). از درهم آمیختن مواد معدنی و فیبرهای گیاهی با ماتریس چسبنده (آدامس مانند) یک توده‌ی فشرده شده معدنی – گیاهی با نام مومیایی ایجاد می‌شود که در ترکیبات خود به عنوان یک ضد التهاب دارای عناصر کلسیم، منیزیم، آهن، فسفر، پتاسیم، سیلیسیم، صمغ، رطوبت، نیتروژن، اسید تاننیک، اسید بنزوئیک، آدامس، آلبومینوید، گوگرد، آهن، کلرید، گلیکوزید، تعدادی از ویتامین ها، آنزیم‌ها و ید است(۱۴و۱۳). مومیایی در طب سنتی برای درمان امراض مختلف از جمله بیماری‌های استخوانی استفاده می‌شود(۱۵).

لذا در این پژوهش تأثیر عصاره هیدروالکلی ماده مومیایی بر میزان تکثیر سلولی، بیان استئوپروتگرین(OPG) و گیرنده فعال فاکتور هسته ای کاپا بتا لیگاند(RANKL) در سلول‌هایMG63 در مقایسه با داروهای شیمیایی زولدرونیک اسید (بیسفسفونات) و استرادیول والرات به‌عنوان گروه‌های کنترل مثبت مورد بررسی قرار گرفته است.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-12-16]

[DOI: 10.29252/sjku.24.6.120]

روش بررسی

جمع‌آوری و عصاره گیری: در این مطالعه تجربی، ماده گیاهی – معدنی مومیایی با حالت جامد و رنگ قهوه‌ای متمایل به سیاه، پس از جمع آوری از کوه‌های استان ایلام توسط متخصص فارماکوگنوزی تائید گردید. مومیایی جمع‌آوری شده پس از تقسیم به قطعات کوچک، به وسیله دستگاه آسیاب گردید، سپس ۴۰ گرم از پودر حاصل برای عصاره‌گیری با روش استخراج پیوسته با دستگاه سوکسوله (شامل ۵۰٪ حلال الکل و ۵۰٪ حلال آب به میزان ۲۵۰ میلی‌لیتر) جدا و عصاره‌گیری در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد. جهت حذف آب و الکل، حلال به دست آمده به دستگاه تبخیر در خلأ (روتاری مدل IKA RV 10 digital) با دور ثابت ۴۰ و دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ دقیقه منتقل شد. سپس عصاره مورد نظر با انتقال به آون با دمای ۴۰ درجه به مدت دو ساعت خشک گردید و به صورت پودر در ظروف شیشه‌ای دربسته در یخچال نگهداری شد، در نهایت از ۴۰ گرم از ماده مومیایی اولیه حدود ۱۳/۴ گرم عصاره مومیایی به دست آمد(۱۷و۱۶).

کشت سلولی: رده‌های سلول های شبه استئوبلاست انسانی MG63 با کد خریداری c-555 از انستیتو پاستور به روش زیر کشت داده شدند. ابتدا محیط کشت رویی سلول‌های خریداری شده دور ریخته شد و جداسازی سلول-ها از کف فلاسک با اضافه نمودن 0.25% (Gibco)Trypsin_EDTA صورت گرفت. سپس با اضافه نمودن سرم جنین گوساله (FBS) ۱۰٪ (Gibco) خنثی سازی تریپسین انجام شد. پس از آن، سلول‌ها در ۳ سی‌سی محیط کشت DMEM (Dulbecco's modified Eagle medium)(Gibco) به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۵۰۰ سانتریفیوژ گردیدند. سپس با دور ریختن محلول رویی، سلول ها به سه فلاسک حاوی ۵ سی سی محیط کشت،۱۰٪ FBS (Gibco)، ۱۰۰U/mL پنی سیلین(Gibco) و۱۰۰ µg/mL استرپتومایسین(Gibco) منتقل شده و درنهایت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و دی اکسید کربن ۵٪ انکوبه گردیدند. لازم به ذکر است که هر ۳ روز یک بار محیط کشت تعویض گردید و در نهایت جدا-سازی سلول‌ها از کف فلاسک و پاساژ آن‌ها با استفاده از 0.25%.Trypsin_EDTA (Gibco) انجام شد(۱۶).

گروه‌های آزمایش و کنترل: در این بخش تعداد ۵۰۰۰۰ سلول MG63 به داخل هریک از چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه منتقل شد. شش گروه آزمایشی مورد بررسی قرار گرفت. در ۳ گروه آزمایشی عصاره هیدروالکلی مومیایی، به ترتیب دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ µg/ml و در دو گروه کنترل مثبت، داروهای زولدرونیک اسید و استرادیول والرات با غلظت 1 mg/ml به چاهک‌های حاوی سلول‌های MG63 اضافه شد و در گروه کنترل منفی، چاهک‌ها فقط حاوی سلول‌های MG63 بود و هیچ ماده‌ای به آن‌ها اضافه نشد. لازم به ذکر است که در همه گروهای آزمایشی، تعداد چاهک‌ها و سلول‌های MG63 موجود در آن‌ها مشخص و مساوی بود. سپس پلیت های حاوی گروه های آزمایش و کنترل به انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و 5% CO_2 جهت بررسی زمان های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت منتقل شدند، در نهایت پس از بررسی نتایج، زمان ۴۸ ساعت به عنوان زمان مناسب برای ادامه آزمایش‌های مورد تائید قرار گرفت(۱۶).

تست حیات زیستی: میزان تأثیر عصاره مومیایی (در گروه‌های آزمایش) و زولدرونیک اسید و استرادیول والرات (در گروه‌های کنترل مثبت) بر میزان تکثیر سلول‌های MG63 در مقایسه با گروه کنترل منفی، با استفاده از تست-[3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl) 2, 5-diphenyltetrazolium bromide] MTT (Sigma Aldrich) مورد بررسی قرار گرفت. تعداد سلول‌های استفاده شده در هر چاهک (۵۰.۰۰۰) سلول بود. جهت انجام آزمایش MTT 20µL, 5 mg/mL به هر چاهک اضافه نموده و به مدت ۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و 5% CO2 انکوبه گردیدند. سپس با خارج

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-12-16]

[DOI: 10.29252/sjku.24.6.120]

نمودن مایع رویی، µL ۱۵۰ محلول DMSO (Sigma Aldrich) به چاهک‌ها اضافه شد و جهت مخلوط شدن محلول با نمونه‌ها از دستگاه شیکر استفاده گردید. سپس پلیت‌ها برای خوانش توسط دستگاه الایزا (Biotek-ELX 800) در طول موج ۵۷۰ نانومتر مورد ارزیابی قرار گرفتند(۱۸و۱۶).

بررسی بیان زمانی استئوپروتگرین (OPG) و گیرنده فعال فاکتور هسته ای کاپا بتا لیگاند (Srank1): ابتدا محلول استاندارد را توسط رقیق کننده استاندارد Human OPG diluents Bioassay Technology Laboratory, China رقیق نموده و از آن غلظت‌های ۰/۵-۱-۲-۴-۸-۱۶ng/ml تهیه گردید. پس از قرار دادن پلیت‌های چاهک دار حاوی غلظت‌های استاندارد و نمونه‌های مورد آزمایش بر روی دستگاه شیکر، انکوبه نمودن در دمای۳۷ درجه به مدت یک ساعت انجام شد. سپس چاهک‌ها ۵ بار با محلول مخصوص شستشوی کیت شستشو داده شدند و در پایان میزان بیانOPG پلیت‌ها با استفاده از دستگاه الایزا (Biotek- ELX 800) در طول موج ۴۵۰ نانو متر قرائت گردید. هم‌چنین جهت بررسی بیان sRANKL ابتدا محلول استانداردsRANKL توسط رقیق کننده استاندارد Human sRANKL diluents Bioassay Technology Laboratory, China رقیق گردید و از آن غلظت‌های ۵۰-۱۰۰-۲۰۰-۴۰۰-۸۰۰-۱۶۰۰ ng/ml تهیه شد. پلیت های حاوی غلظت‌های استاندارد و نمونه های مورد آزمایش را ابتدا بر روی دستگاه شیکر قرار داده، سپس به انکوباتور با دمای۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت منتقل گردیدند. پس از ۵ بار شستشوی چاهک‌ها با محلول مخصوص شستشوی کیت، میزان بیان sRANKL نمونه‌ها توسط دستگاه الایزا (Biotek- ELX 800) در طول موج ۴۵۰ نانومتر ارزیابی گردید(۱۹).

روش‌های آماری: در این مطالعه آزمایش‌های مربوط به OPG و RANKL هر کدام ۳ بار تکرار گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از تست آماری ANOVA انجام شد و ۰/۰۵ >P به عنوان سطح اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

تست حیات زیستی: بر اساس نتایج به دست آمده از تست MTT، عصاره هیدروالکلی مومیایی با غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ µg/ml سبب افزایش معنی‌دار تکثیر سلول‌های MG63 شد؛ اما غلظت ۳۰۰ µg/ml عصاره سبب کاهش معنی‌دار تکثیر سلول‌ها در مقایسه با گروه کنترل منفی گردید (P<۰/۰۵). گروه‌های کنترل مثبت زلدرونیک اسید و استرادیول والرات نیز سبب افزایش معنی‌دار تکثیر سلولی نسبت به گروه کنترل منفی شدند (P<۰/۰۵) (نمودار ۱).

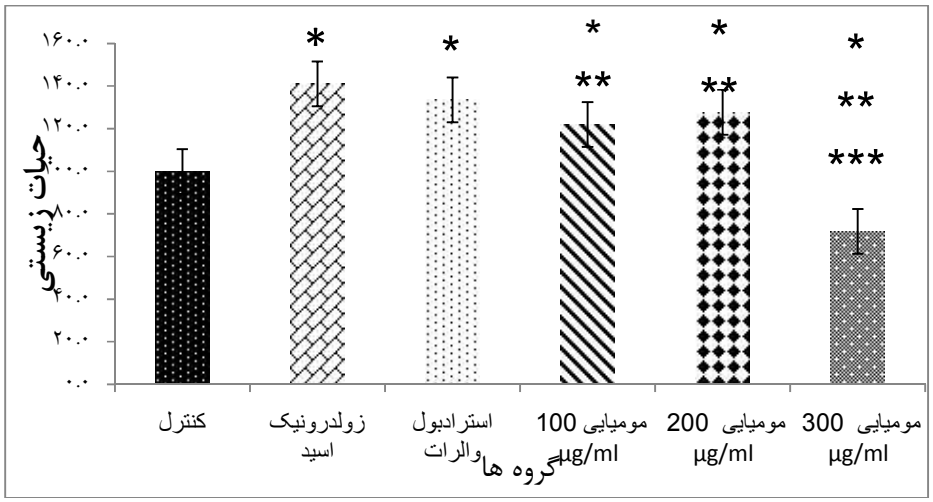
بررسی بیان زمان استئوپروتگرین (OPG) و گیرنده فعال فاکتور هسته ای کاپا بتا لیگاند (sRANKL): همان‌طور که نمودار ۲ نشان می‌دهد غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ µg/ml عصاره مومیایی به ترتیب سبب افزایش غیر معنی‌دار و افزایش معنی‌دار بیان استئوپروتگرین(OPG) در مقایسه با گروه کنترل منفی می‌گردد که در این خصوص مشابه با استرادیول والرات عمل نموده است (P<۰/۰۵). درحالی‌که غلظت ۳۰۰ µg/ml عصاره مومیایی در مقایسه با گروه‌های کنترل منفی و کنترل مثبت به ترتیب به‌صورت غیر معنی‌دار و معنی‌دار سبب کاهش بیان استئوپروتگرین گردیده است. غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰µg/ml عصاره مومیایی به ترتیب سبب کاهش غیر معنی‌دار (p=۰/۲۲۶) و معنی‌دار (p=۰/۰۴۶) بیان RANKL در مقایسه با گروه کنترل منفی شده‌اند. در حالی که این کاهش بیان برای هر دو غلظت مذکور در مقایسه با گروه های کنترل مثبت، معنی‌دار نبودند (P>۰/۰۵). غلظت ۳۰۰ µg/ml عصاره مومیایی نیز به صورت غیر معنی‌دار سبب افزایش بیان RANKL نسبت به گروه کنترل منفی شده بود (نمودار۳).

بررسی نسبت OPG/RANKL: غلظت ۱۰۰ µg/ml عصاره مومیایی در مقایسه با گروه‌های کنترل منفی و مثبت سبب افزایش غیر معنی‌دار در نسبت OPG/RANKL

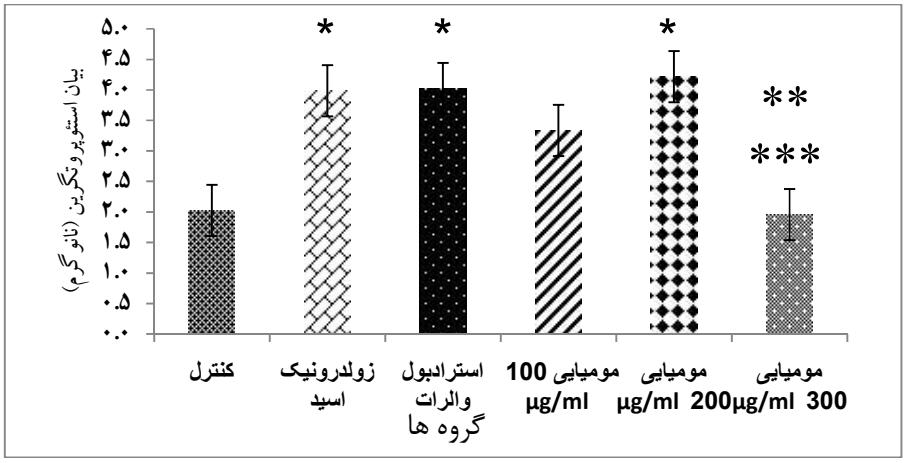
[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-12-16]

[DOI: 10.29252/sjku.24.6.120]

گردید در حالی که برای دوز ۲۰۰ μg/ml عصاره این افزایش نسبت فقط در مقایسه با گروه کنترل منفی معنی‌دار بود (p=۰/۰۲۲). غلظت ۳۰۰ μg/ml عصاره مومیایی نیز سبب کاهش غیر معنی‌دار نسبت OPG/RANKL در مقایسه با همه‌ی گروه‌های کنترل مثبت و منفی گردید (نمودار ۴).



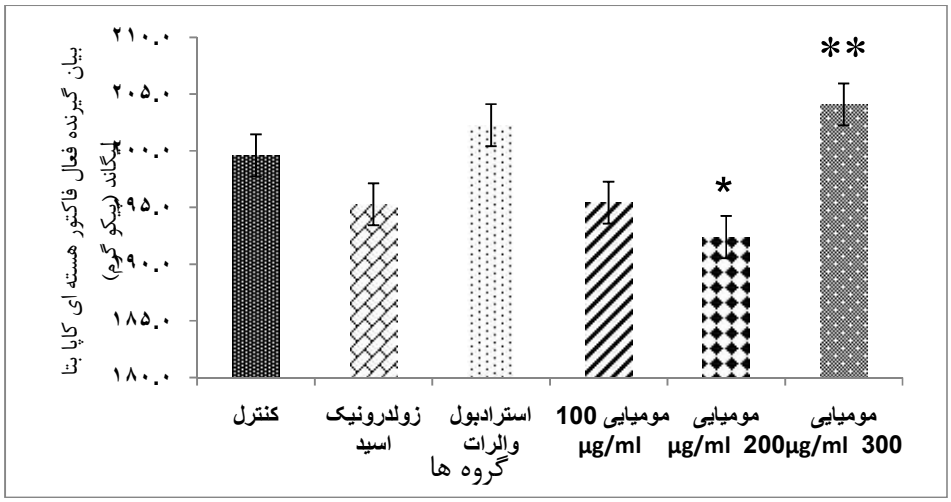
نمودار ۱. بررسی حیات سلولی در گروه‌های مختلف مورد مطالعه بعد از ۴۸ ساعت. در این نمودار گروه‌های آزمایش (غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ μg/ml مومیایی) با گروه‌های کنترل مثبت (استرادیول والرات و زولدورونیک اسید) و گروه کنترل منفی (سلول به تنهایی) مقایسه گردیده اند.* P <۰/ ۰۱ در مقایسه با گروه کنترل منفی، ** P <۰/۰۱ در مقایسه با گروه زولدرونیک اسید و*** P<۰/ ۰۱ در مقایسه با گروه استرادیول والرات انجام شده است.



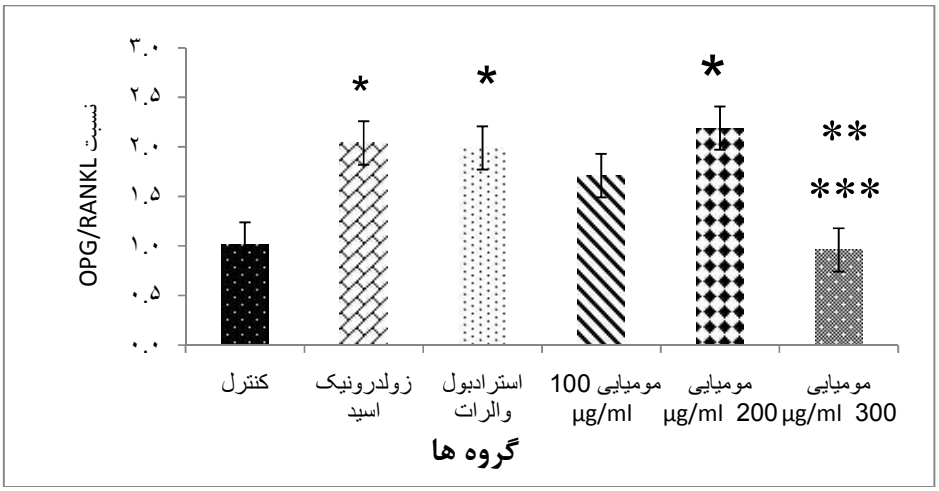
نمودار ۲. بررسی بیان استئوپروتگرین در گروه‌های مختلف مورد مطالعه بعد از ۴۸ ساعت. در این نمودار گروه‌های آزمایش (غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ μg/ml مومیایی) با گروه‌های کنترل مثبت (استرادیول والرات و زولدورونیک اسید) و گروه کنترل منفی (سلول به تنهایی) مقایسه گردیده اند.* P <۰/ ۰۵ در مقایسه با گروه کنترل منفی، ** P <۰/۰۵ در مقایسه با گروه زولدرونیک اسید و *** P<۰/ ۰۵ در مقایسه با گروه استرادیول والرات انجام شده است.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-12-16]

[DOI: 10.29252/sjku.24.6.120]



نمودار ۳. بررسی بیان گیرنده فعال فاکتور هسته‌ای کاپا بتا لیگاند در گروه‌های مختلف مطالعه بعد از ۴۸ ساعت. در این نمودار گروه‌های آزمایش (غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ µg/ml مومیایی) با گروه‌های کنترل مثبت (استرادیول والرات و زولدورونیک اسید) و گروه کنترل منفی (سلول به تنهایی) مقایسه شده اند.* P <۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل منفی، ** P <۰/۰۱ در مقایسه با گروه زولدرونیک اسید انجام شده است.



نمودار ۴. بررسی بیان نسبت OPG/RANKL در گروه‌های مختلف مطالعه بعد ۴۸ ساعت تیمار. در این نمودار گروه‌های آزمایش (غلظت های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ µg/ml مومیایی) با گروه‌های کنترل مثبت (استرادیول والرات و زولدورونیک اسید) و کنترل منفی (سلول به تنهایی) مقایسه شده‌اند.* P <۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل منفی، ** P <۰/۰۵ در مقایسه با گروه زولدرونیک اسید، *** P <۰/۰۵ در مقایسه با گروه استرادیول والرات هست.

بحث

سلول‌های استئوبلاست علاوه بر نقش داشتن در استخوان‌سازی، با القا RANKL و همچنین عامل تحریک‌کننده تشکیل کلنی (CSF) سبب تحریک و تشکیل سلول‌های استئوکلاست می‌گردند و به عنوان عامل کلیدی در روند استخوان‌سازی شناخته می‌شوند(۲۰). از

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-12-16]

[DOI: 10.29252/sjku.24.6.120]

طرف دیگر استئوپروتگرین بیان شده توسط استئوبلاست‌ها / سلول‌های استرومال از طریق اتصال به RANKL از پیوند RANK با RANKL جلوگیری می‌نماید(۲۱). در مطالعه ما دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ μg/ml مومیایی سبب افزایش معنی‌دار تکثیر سلول‌های استئوبلاست گردید، همچنین دوز ۲۰۰ μg/ml عصاره به صورت معنی‌دار سبب افزایش نسبت OPG/RANKL در سلول های MG63 شد درحالی‌که دوز ۳۰۰ μg/ml آن نسبت OPG/RANKL را به‌صورت غیر معنی‌دار کاهش داد. این نتیجه بیانگر آن است که با افزایش دوز عصاره (بیش از ۲۰۰ μg/ml) میزان سمیت عصاره بر روی سلول‌های استئوبلاست افزایش یافته و به تبع آن میزان بیان OPG در این سلول‌ها کاهش می‌یابد. در تائید این نتیجه، مطالعه عباسی و همکاران (۲۰۱۹) است که نشان دادند غلظت‌های پایین لوتئولین که فراوان‌ترین فلاونوئید موجود در مومیایی می‌باشد سبب کاهش و غلظت‌های بالای آن سبب افزایش مرگ سلول‌های استئوبلاست (IC50,34±2/33μM) در شرایط گلوکز نرمال می‌گردد(۱۶).

در مطالعه Ren و همکاران (۲۰۱۲)، ترکیب ۱۰۰ μmol/L آناسترازول و ۱۲ mg/ml گیاه سنتی چینی با نام shuganjiangu بر سلول‌های MG63، سبب افزایش بیان OPG گردید در حالی که دوز mg/ml۱۲ این گیاه به تنهایی سبب کاهش بیشتر بیان RANKL در مقایسه با گروه کنترل شد(۲۲). نتایج مطالعه‌ی Li و همکاران (۲۰۱۲) در مورد بررسی اثر اچیناکوسید در بیان OPG و RANKL سلول‌های استئوبلاست MC3T3-E1 افزایش معنادار بیان استئوپروتگرین را در غلظت‌های۰/۰۱ 1-nmol /L تا ۱۰ nmol /L-1 اچیناکوسید بعد از ۳ و ۵ روز نسبت به گروه کنترل نشان داد. درحالی‌که فقط غلظت-های۱ nmol /L-1 و ۱۰ nmol /L-1 اچیناکوسید در طی ۵ روز سبب کاهش معنادار بیان RANKL گردیدند(۹). نتایج مطالعه این محققین، نتایج حاصل از پژوهش حاضر را تائید می‌نماید. لازم به ذکر است با افزایش نسبت OPG/RANKL عمل استخوان‌سازی بیشتر از جذب استخوان شده که این امر در افراد مبتلا به پوکی استخوان حائز اهمیت می‌باشد. زیرا در افراد مبتلا به پوکی به علت کاهش تکثیر استئوبلاست‌ها میزان ترشح OPG نیز کاهش یافته، در نتیجه RANKL به گیرنده خود بر روی سلول‌های استئوکلاست (RANK) متصل گردیده و سبب فعال‌شدن این سلول‌ها و در نتیجه افزایش میزان استخوان خواری می‌گردد؛ بنابراین بدن توانایی کمتری برای ساخت استخوان جایگزین خواهد داشت. ماده گیاهی-معدنی مومیایی سبب افزایش تکثیر استئوبلاست و به دنبال آن افزایش بیان OPG می شود و با افزایش نسبت OPG/RANKL کفه ترازو به سمت استخوان سازی تغییر پیدا می‌کند. از طرف دیگر در این مطالعه از دو داروی شیمیایی استرادیول والرات و زولدرونیک اسید (بیسفسفونات) به عنوان گروه کنترل مثبت استفاده گردید. بیسفسفونات‌ها سبب مهار فعالیت استئوکلاست می-شوند(۲۳). در زنان یائسه به علت نبود استروژن فعالیت استئوکلاست‌ها به میزان قابل توجهی افزایش‌یافته و حجم توده استخوانی کاهش می‌یابد. هورمون تراپی با مکانیسم مهار کردن فعالیت استئوکلاست از کاهش حجم استخوان جلوگیری می‌کند. استرادیول والرات که دارویی استروژنی است نیز برای درمان پوکی استخوان در بعد از یائسگی زنان کاربرد دارد(۲۴). زولدرونیک اسید نیز برای درمان استئوپروز در زنان یائسه به کار می‌رود(۲۵).

در مطالعه‌ی حاضر دوز ۲۰۰ μg/ml مومیایی سبب افزایش معنی‌دار بیان OPG و همچنین نسبت OPG/RANKL در مقایسه با گروه کنترل منفی شده است و دارای عملکرد مشابه با گروه‌های کنترل مثبت است. لذا نتایج به دست آمده نشان می‌دهد، غلظت ۲۰۰ μg/ml مومیایی تأثیر قابل‌توجهی بر بیان دو عامل مهم در بازسازی استخوان دارد و به نظر می‌رسد افرادی که در معرض پوکی استخوان قرار

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-12-16]

[DOI: 10.29252/sjku.24.6.120]

دارند با مصرف این ماده بتوانند از گسترش روند پوکی و متعاقباً ایجاد شکستگی‌های متعدد و مکرر جلوگیری نمایند.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه که به‌صورت برون‌تنی انجام شده است مؤید این نکته است که ماده گیاهی معدنی مومیایی می‌تواند در درمان پوکی استخوان جایگزین مناسبی برای داروهای شیمیایی با عوارض جانبی بالا و مورد استفاده ی حال حاضر باشد؛ اما از آنجایی که این مطالعه فقط به‌صورت برون‌تنی انجام شده است، لذا جهت اثبات بیشتر این مدعا، انجام آزمایش‌های درون‌تنی در حیوانات آزمایشگاهی و سپس در انسان ضروری به نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از حمایت‌های مالی دانشگاه علوم پزشکی ایلام از طرح تحقیقاتی با کد ۹۴۱۰۲۷/۱۶۳ و کد اخلاق (ir.medilam.rec.1394.167) تشکر و قدردانی می‌نمایند. لازم به ذکر است محل انجام آزمایش‌ها، مرکز تحقیقات زیست‌شناسی و گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی ایلام بوده است.

References

1.Shariatzadeh H, Modaghegh BS, Mirzaei A. The Effect of Dynamic Hyperextension Brace on Osteoporosis and Hyperkyphosis Reduction in Postmenopausal Osteoporotic Women. Arch Bone Jt Surg. 2017;5(3):181-5.
2.Johnell O. Advances in osteoporosis: better identification of risk factors can reduce morbidity and mortality. J Intern Med. 1996;239(4):299-304.
3.Boyce BF, Xing L. Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin. Arthritis Res Ther. 2007;9 Suppl 1:S1.doi:10.1186/ar2165.
4.Hemmati F, Sarokhani D, Sayehmiri K, Motadayen M. Prevalence of Osteoporosis in Postmenopausal Women in Iran: A Systematic Review and Meta-Analysis. IJOGI. 2018;21(3):90-102.
5.Wade SW, Strader C, Fitzpatrick LA, Anthony MS, O'Malley CD. Estimating prevalence of osteoporosis: examples from industrialized countries. Arch Osteoporos 2014;9:182.
6.Shuid Nazrun A, Nizam Tzar M, Afian Mokhtar S, Naina Mohamed I. A systematic review of the outcomes of osteoporotic fracture patients after hospital discharge: morbidity, subsequent fractures, and mortality. Ther Clin Risk Manag. 2014;10:937–48.
7.Becker D, Kilgore ML, Morrisey MA. The societal burden of osteoporosis. Curr Rheumatol Rep. 2010;12(3):186-91.
8.Lucinda LM, Vieira BJ, Oliveira TT, Sá RC, Peters VM, Reis JE, et al. Evidences of osteoporosis improvement in Wistar rats treated with Ginkgo biloba extract: a histomorphometric study of mandible and femur. Fitoterapia. 2010;81(8):982-7.
9.Li F, Yang Y, Zhu P, Chen W, Qi D, Shi X, et al. Echinacoside promotes bone regeneration by increasing OPG/RANKL ratio in MC3T3-E1 cells. Fitoterapia. 2012;83(8):1443-50.
10.Leung PC, Siu WS. Herbal Treatment for Osteoporosis: A Current Review. J Tradit Complement Med. 2013;3(2):82–7.
11.Wilson E, Rajamanickam GV, Dubey GP, Klose P, Musial F, Saha FJ, et al. Review on shilajit used in traditional Indian medicine. J Ethnopharmacol. 2011;136(1):1-9.
12.Biswas TK, Pandit S ,Mondal S, Biswas SK, Jana U, Ghosh T, et al. Clinical evaluation of spermatogenic activity of processed Shilajit in oligospermia. Andrologia. 2010;42(1):48-56.
13.Park JS, Kim GY, Han K. The spermatogenic and ovogenic effects of chronically administered Shilajit to rats. J Ethnopharmacol. 2006;107(3):349-53.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-12-16]

[DOI: 10.29252/sjku.24.6.120]

14.Goel RK, Banerjee RS, Acharya SB. Antiulcerogenic and antiinflammatory studies with Shilajit. J Ethnopharmacol. 1990;29(1):95-103.
15.Abbasi Teshnizi M, Akhavan Rezayat A, Zojaji SA, Zirak N, Javadi B, Nami SR, et al. Effect of Mummy on pain and wound healing of midian sternotomy in patients undergoing off-pump coronary artery bypass grafting surgery. The International Congress on Complementary and Alternative Medicine. 2015 Oct. 154-155.Mashhad.Iran.
16.Abbasi N, Azizpour Y, Azizi M, Karimi E, Aidy A, Asadollahi K. The effects of mumie extract on cell proliferation and enzyme expression of human osteoblast-like cells (MG63). JSRM. 2019;15(2):P1-6.
17.Izadpanah E, Hassanzadeh K, Yousefinejad V, Shahveisi K, Fatahi N, M.R M. Effect of selegiline on liver cholestasis induced by bile duct ligation in rat. SJKU. 2016;21(5):20-30.
18.Abbasi N, Khosravi A, Aidy A, Shafie iM. Biphasic Response to Luteolin in MG-63 Osteoblast-Like Cells under High Glucose-Induced Oxidative Stress. Iran J Med Sci. 2016;41(2):118-25.
19.Moloudi MR, Hassanzadeh K, Rouhani S, Zandi F, Ahmadi A, Khalwatian P, et al. Effect of chloroformic extract of Cichorium intybus on liver function tests and serum level of TNF-α in obstructive cholestasis in rat. SJKU. 2014;9(4):10-9.
20.Costa-Rodrigues J, Teixeira CA, Fernandes MH. Paracrine-mediated osteoclastogenesis by the osteosarcoma MG63 cell line: is RANKL/RANK signalling really important? Clin Exp Metastasis. 2011;28(6):505-14.
21.Liu JZ, Ji ZL, Chen SM. [The OPG/RANKL/RANK system and bone resorptive disease]. Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao. 2003;19(6):655-60.
22.Ren Y, Han SY, Li PP. Effects of anastrozole combined with Shuganjiangu decoction on osteoblast-like cell proliferation, differentiation and OPG/RANKL mRNA expression. Chin J Cancer Res. 2012;24(2):151–6.
23.Sun J, Song F, Zhang W, Sexton BE, Windsor LJ. Effects of alendronate on human osteoblast-like MG63 cells and matrix metalloproteinases. Arch Oral Biol. 2012;57(6):728-36.
24.Warren MP, Shu AR, Dominguez JE. Menopause and Hormone Replacement. Endotext [Internet].2015 Feb. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279050./
25.Lambrinoudaki I, Vlachou S, Galapi F, Papadimitriou D, Papadias K. Once-yearly zoledronic acid in the prevention of osteoporotic bone fractures in postmenopausal women. Clin Interv Aging. 2008;3(3):445-51.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2025-12-16]

[DOI: 10.29252/sjku.24.6.120]