

“Research article”

DOI: 10.30495/JVCP.2020.1865659.1228

Effects of selenium nanoparticles on stearoyl-CoA desaturase gene transcription rate in adipose tissue of prepubertal male lambs

Esmaeeli Najafabadi H.^{1*}, Kojouri, G.A.², Ahadi, A.³

1- PhD Student, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.

2- Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.

3- Associate Professor, Department of Genetics, Faculty of Basic Sciences, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.

*Corresponding author's email: Yaali86veterinarian@yahoo.com

(Received: 2019/5/13 Accepted: 2020/4/19)

Abstract

Selenium plays a crucial role in the formation of selenoprotein and hormones. The stearoyl-CoA desaturase enzyme (SCD) is present in many tissues of the body and its activity leads to the formation of a single-stranded fatty acid from saturated fatty acids. The present study was carried out on fat tail weaning male lambs to evaluate the effect of oral selenium nanoparticles administration on tail fat transcription rate of stearoyl-CoA desaturase enzyme. For this purpose, 14 male lambs were selected at weaning time and divided into three groups: treatment 1 (5 lambs), treatment 2 (5 lambs) and control (4 lambs). Selenium nanoparticles were administered for 20 consecutive days at a dose of 0.05 and 0.1 mg/kg to treatment groups 1 and 2, respectively and distilled water to the control ones. Tail fat tissue samples were collected at days 0, 20 and 30 via core biopsy needle. Transcription rate of stearoyl-CoA desaturase (SCD) enzyme gene was determined by RT-PCR method and data were analyzed statistically using ANOVA test at the level of $p < 0.05$. Due to obtained results the transcription rate of SCD gene in treatment group 2 was significantly higher than that in group 1 at day 20. According to the results, oral supplementation of selenium nanoparticles at dose of 0.1 mg/kg for 20 days, increased the transcription rate of SCD gene and enhanced the quality of fatty acids of weaning lambs. These findings explain the beneficial effects of Se-NPs on unsaturated fatty acid formation for the first time.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: Selenium nanoparticles, Stearoyl CoA enzyme, Tail fat tissue, Lamb.

DOI: 10.30495/JVCP.2020.1865659.1228

"مقاله پژوهشی"

تأثیر افزودن نانوذره سلنیوم بر بیان ژن آنزیم استئارویل کوانزیم آ اشباع‌زدا در بافت چربی بره‌های نر قبل از بلوغ جنسی

حمید اسماعیلی نجف‌آبادی^{۱*}، غلامعلی کجوری^۲، علی محمد احدی^۳

۱- دانشجوی دکتری تخصصی بیماری‌های داخلی دام‌های بزرگ، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

۲- استاد بخش داخلی دام‌های بزرگ، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

۳- دانشیار گروه ژنتیک، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات: Yaali_86veterinarian@yahoo.com

(دریافت مقاله: ۹۸/۲/۲۳ پذیرش نهایی: ۹۹/۱/۳۱)

چکیده

سلنیوم در ساختمان سلنوپروتئین و هورمون‌ها نقش حیاتی دارد. فعالیت آنزیم استئارویل کوانزیم آ اشباع‌زدا منجر به شکل‌گیری اسیدچرب غیراشباع تک‌رشته‌ای از اسیدچرب اشباع می‌شود. مطالعه حاضر جهت بررسی اثر تجویز خوراکی نانوذرات سلنیوم بر میزان نسخه‌برداری ژن آنزیم استئارویل کوانزیم آ اشباع‌زدا بافت چربی دنبه بره‌های نر قبل از بلوغ جنسی انجام شد. بدین منظور چهارده رأس بره نر تازه از شیر گرفته انتخاب شده و در گروه‌های تیمار ۱ و ۲ (هر یک ۵ رأس) و شاهد (۴ رأس) تقسیم شدند. نانوذره سلنیوم طی ۲۰ روز متوالی با دوز ۰/۰۵ و ۰/۱ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن به ترتیب به گروه‌های تیمار ۱ و ۲ و آب مقطر با حجم مساوی به گروه شاهد خوراندند. نمونه‌برداری از بافت چربی دنبه در روزهای صفر (قبل از خوراندن نانوذره)، ۲۰ و ۳۰ صورت گرفت و میزان بیان ژن آنزیم استئارویل کوانزیم آ اشباع‌زدا به روش RT-PCR تعیین شده و داده‌های حاصله با بهره‌گیری از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه در سطح $p < 0/05$ مورد تحلیل قرار گرفت. نتایج نشان داد که قبل از تجویز مقادیر مشخص شده نانوذرات سلنیوم و آب مقطر، اختلاف آماری معنی‌داری بین گروه‌ها در میزان نسخه‌برداری ژن آنزیم استئارویل کوانزیم آ اشباع‌زدا وجود نداشت، اما در روز ۲۰ آزمایش بین گروه‌های تیمار ۱ و ۲ اختلاف معنی‌داری شکل گرفت ($p < 0/05$). نتیجه این‌که تجویز نانوذرات سلنیوم با دوز ۰/۱ میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۲۰ روز متوالی موجب افزایش بیان ژن آنزیم استئارویل کوانزیم آ اشباع‌زدا و بهبود کیفیت اسیدهای چرب موجود در بافت دنبه می‌شود. به عبارت دیگر برای اولین بار نقش تأثیرگذار نانوذره سلنیوم بر شکل‌گیری اسیدچرب غیراشباع توضیح داده شد.

کلیدواژه‌ها: نانوذرات سلنیوم، آنزیم استئارویل کوانزیم آ اشباع‌زدا، بافت چربی دنبه، بره نر نابالغ.

مقدمه

در سال‌های اخیر به بافت چربی و یاخته‌های آن به عنوان بخشی از سیستم آندوکراین پرداخته شده است، چراکه بافت مذکور با تولید و ترشح بسیاری از فاکتورهای آندوکرینی همچون لپتین، رزیستین، ایترلوکین ۶، فاکتور نکروزکننده توموری آلفا و ادیونکتین نقشی ویژه را در تنظیم متابولیسم انرژی در بدن برعهده گرفته است. از این‌رو مشخص شده که بافت چربی علاوه بر مداخله در رهاسازی فاکتورهای پیش التهابی، نقشی ویژه را در مقاومت انسولینی بر عهده دارد (Kojouri, 2019). به عبارتی دیگر چاقی و تجمع چربی‌های اشباع در بافت‌های مختلف نقش مهمی را در ارتباط با برخورد مداوم با متابولیت‌های پیش التهابی و کاهش ظرفیت مقاومت بدن نسبت به بیماری‌ها دارد. از این رو تلاش در جهت افزایش تولید چربی‌های غیراشباع، ضمن بهبود کیفیت لاشه به پایداری غشاء سلول و محافظت آن در برابر حملات اکسیدانی کمک خواهد کرد (Rahman et al., 2004).

چنین اعلام داشتند که اسیدهای چرب غیراشباع در ساختار فسفولیپیدی غشاء سلول، استرهای کلسترول و تری‌گلیسرید شرکت نموده و تغییر در نسبت چربی اشباع به غیراشباع را مؤثر در شکل‌گیری بیماری‌های قلبی عروقی، چاقی، دیابت، بیماری‌های پوست، سرطان و بیماری‌های عصبی دانستند. گوشت بره مملو از چربی‌های اشباع به‌ویژه اسید استئاریک است که توسط آنزیم استئارویل کوآنزیم آ اشباع‌زدا (stearoyl-CoA desaturase; SCD) به اسید اولئیک (oleic acid) تبدیل می‌شود (Chen et al., 1996). این آنزیم پروتئینی است که توسط ژن SCD کد شده و در این بین-stearoyl-

1-CoA desaturase آنزیمی کلیدی در متابولیسم اسیدهای چرب به‌شمار می‌آید. این آنزیم مسئول ایجاد اتصالی دوگانه در استئارویل CoA است و فعالیت آن منجر به شکل‌گیری اسید چرب غیراشباع تک‌رشته‌ای به‌نام اسید اولئیک از اسید چرب اشباع اسید استئاریک (stearic acid) می‌شود. همچنین آنزیم مذکور حاوی آهن بوده و ساخت محدود اسیدهای چرب غیراشباع را تسریع می‌بخشد (Ben-David et al., 2013; Ide et al., 2013; Zhang et al., 2014; Rahimi et al., 2015). وارد و همکاران در سال ۱۹۹۸ چنین اعلام کردند که تنها یک ژن به بیان SCD در گوسفند می‌پردازد (Ward et al., 1998) و میزان بیان آن وابسته به سطح اسید اولئیک موجود در بافت چربی می‌باشد (Barber, et al., 2000). از این رو افزایش بیان ژن استئارویل کوآنزیم آ اشباع‌زدا منجر به افزایش کیفیت غذایی گوشت بره به جهت کاستن از اسیدهای چرب اشباع و درعین حال افزایش میزان اسید اولئیک در بافت‌ها می‌شود. همچنین گزارش شده که به‌دنبال هیدروژن‌دار شدن ناقص اسید لینولئیک در داخل شکمبه، اسید لینولئیک الحاقی (conjugated linoleic acids; CLA) شکل می‌گیرد که نقش مهمی در سلامت بره داشته و ایزومرهای آن تحت تأثیر SCD از اسید واکسنیک (vaccenic acid) ساخته می‌شوند (Griinari et al., 2000). در این ارتباط نشان داده شده که مصرف اسید لینولئیک الحاقی باعث کاهش واسطه‌های التهابی و افزایش عوامل آنتی‌اکسیدانی در موش‌های صحرایی مبتلا به سرطان کولورکتال می‌شود. بنابراین، اسید لینولئیک الحاقی یک عامل بسیار مؤثر در پیشگیری و درمان سرطان کولو رکتال محسوب می‌شود (Beheshti et al., 2016).

آسیب‌های کبدی و کلیوی ناشی از آن هم بسیار کمتر است (Yilmaz *et al.*, 1999). همچنین تحقیقات نشان داده است که نانوذره سلنیوم قادر به افزایش رشد بره زیر یک ماهه در مقایسه با گروه شاهد (دریافت کننده آب مقطر) است و همچنین بهره‌گیری از نانوذره سلنیوم منجر به افزایش میزان فاکتور شبه انسولینی ۱ در بره‌های نر نابالغ نسبت به گروه شاهد می‌شود (Chahardoli, 2017).

با توجه به مطالب ذکر شده و نظر براین‌که تاکنون تحقیقی مدون در مورد چگونگی متابولیسم چربی‌ها در بافت ذخیره‌ساز (دنبه) صورت نگرفته است، از این رو در مطالعه حاضر به اثرات تجویز نانوذره سلنیوم در دوزهای مختلف بر میزان بیان ژن آنزیم استئارویل‌کو-آنزیم‌آ اشباع‌زدا در بافت چربی پرداخته شد، تا برای اولین بار به چگونگی تأثیر سلنیوم بر متابولیسم چربی در بره‌های نر نابالغ پی برده شود.

مواد و روش‌ها

برای انجام این مطالعه در اردیبهشت سال ۹۷ از ۱۴ رأس بره نر نژاد دورگه ژال-افشار تازه از شیر گرفته شده با محدوده وزنی ۲۵ کیلوگرم در یکی از دامداری‌های اطراف شهر نجف‌آباد استان اصفهان استفاده شد. بره‌ها به گروه‌های تیمار ۱ و ۲ (هریک ۵ رأس) و شاهد (۴ رأس) تقسیم شدند. قبل از شروع مطالعه، میانگین سطح سلنیوم جیره و سرم توسط دستگاه جذب اتمی (Aurora Company, Canada Trace AII200) مستقر در دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد و نیز میزان بیان ژن استئارویل‌کوآنزیم

سلنیوم جزئی از آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (glutathione peroxidase) است که در حذف پراکسید هیدروژن (H_2O_2) به عنوان کاتالیزور عمل می‌کند (Battin and Brumaghim, 2009). در موارد کمبود سلنیوم، عوارض ماهیچه‌ای مشهودی شکل گرفته و نشخوارکنندگان در حال رشد به درجات مختلف دچار بیماری عضله سفید، درگیری میوکارد، خشک راه رفتن و ضعف سیستم ایمنی می‌شوند، لذا خسارات اقتصادی فراوانی بر گله تحمیل می‌شود و نیاز به مکمل نمودن سلنیوم در جیره غذایی بیش از پیش مشهود می‌شود (Ward *et al.*, 2008). نقش زیستی و نیز میزان سمیت سلنیوم به ترکیب و فرمول شیمیایی آن بستگی دارد. نانوذره سلنیوم، ذره‌ای قرمز رنگ است که خواص جدیدی مثل اثرات کوانتومی و واکنش‌پذیری بالا در محدوده‌ای وسیع‌تر را آشکار می‌کند. امروزه استفاده از نانوذرات سلنیوم به دلیل قابلیت بالای زیستی، کم بودن عوارض جانبی، بالا بودن سطح مقطع و فعالیت سطحی، قابلیت جذب زیاد، اثر بخشی بالا و سمیت کمتر در دستور کار قرار گرفته است (Kam and Dai, 2005). نانوذرات سلنیوم موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز (superoxide dismutase) سرم می‌شود. همچنین فعالیت آنزیم گلوتاتیون S ترانسفراز (glutathione S transferase) کبد توسط نانوذره سلنیوم قدرت بیشتر و طولانی‌تری را از خود نشان می‌دهد. از طرف دیگر چون نانوذره سلنیوم یک آنتی‌اکسیدان قوی است، بنابراین مالون‌دی‌آلدئید بسیار کمتری تولید خواهد شد. با توجه به این‌که میزان مسمومیت با نانوذره سلنیوم، بسیار کمتر از سایر ترکیبات سلنیوم می‌باشد، در نتیجه

شاهد طی ۲۰ روز متوالی شد. پس از اتمام دوره مذکور، نمونه‌برداری از بافت چربی دنبه توسط سوزن بیوپسی شماره ۱۴ (core biopsy needle gauge 14) انجام و نمونه‌ها به سرعت در ازت مایع به آزمایشگاه زیست فناوری دانشگاه شهرکرد منتقل شده و تا زمان انجام آزمایش‌ها در برودت منفی ۷۰ درجه سلسیوس نگهداری شدند. سپس با استفاده از محلول RNX PLUS شرکت سیناکلون، RNA آن‌ها استخراج شد. تمام مراحل کار طبق پروتکل ویژه کیت استخراج RNA شرکت سیناژن (CinnaGen, Iran) انجام شد. پس از استخراج RNA، با استفاده از آنزیم ترانس کریپتاز معکوس، cDNA (complementary DNA) تولید و با بهره‌گیری از ژل آگارز و مشاهده باندهای مورد نظر از کیفیت آن‌ها اطمینان حاصل شد. در مرحله بعد با روش Real Time PCR (Applied Biosystems StepOne, USA) و بهره‌گیری از سایرگرین و پرایمرهای اختصاصی تکثیر انجام گرفت (جدول ۱) که در این روش نوعی ژن مرجع به نام GAPDH نیز تکثیر شد تا به عنوان یک ژن کنترل داخلی جهت نرمال‌کردن ژن‌های دیگر استفاده شود (Kamyab *et al.*, 2010).

اشباع‌زدا به روش RT-PCR سنجیده شده و به عنوان مبنا در نظر گرفته شد.

- نحوه سنتز نانوذرات سلنیوم: نانوذره سلنیوم به روش شیمیایی و با احیاء اکسید سلنیوم توسط افزودن آسکوربیک اسید به محلول تهیه شد. در ادامه به تدریج ذرات قرمز رنگ نانوذره سلنیوم در محلول کلوتیدی آشکار و رسوب به دست آمده پس از گذشت چندین ساعت جداسازی و استفاده شد (Ward *et al.*, 2008). اندازه نانوذرات تولیدشده در بررسی حاضر توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (TESCAN MIRA3 FEG-SEM, Brno, Czech Republic) دانشگاه شهرکرد تعیین و میزان نانوذره سلنیوم موجود در هر میلی‌لیتر از محلول بر اساس روش توضیح داده شده توسط کجوری و همکاران سنجیده شد (Kojouri *et al.*, 2012). نانوذرات تهیه شده در لوله آزمایش جمع‌آوری و در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند.

- روش کار تجربی انجام گرفته بر روی حیوانات مورد آزمایش: پس از توزین دقیق بره‌ها اقدام به خوراندن نانوذره سلنیوم به بره‌های گروه‌های تیمار ۱ و تیمار ۲ به ترتیب با مقادیر ۰/۰۵ و ۰/۱ میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن و آب مقطر با حجم مساوی به بره‌های گروه

جدول ۱- توالی پرایمرهای بکاررفته در مطالعه

شماره دستیابی توالی هدف در بانک اطلاعات ژنومی	طول قطعه	توالی پرایمرها	نام پرایمر	نقش پرایمر در واکنش
NM_001190390.1	119bp	5-CACCATCTCCAGGAGCGAG-3 5- CCTTCAGGTGAGCCCCAGC -3	F GPDeO R GPDeO	کنترل داخلی یا ژن مرجع
NM_001009254	119bp	5-CTGGGTGTTTACTACTATGTG-3 5-TGGCGATGATCAGGAAGACC-3	F SCDe1 R SCDe1	ژن مورد بررسی یا ژن هدف

یافته‌ها

تغییرات وزن بره‌های گروه‌های مختلف به‌طور اختصار در جدول ۲ ارائه شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، بین ارقام به‌دست‌آمده در گروه شاهد هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری طی روزهای صفر، ۲۰ و ۳۰ مطالعه مشاهده نشد ($p > 0/05$)، اما وزن کشتار گروه شاهد به‌طور معنی‌داری بیش از روز صفر بود ($p = 0/039$). در گروه تیمار ۱ (دریافت‌دارنده ۰/۰۵ میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن نانوذره سلنیوم) وزن زمان کشتار به‌طور معنی‌داری به‌ترتیب بیش از روزهای صفر ($p = 0/001$)، ۲۰ ($p = 0/022$) و ۳۰ ($p = 0/001$) بود. در گروه تیمار ۲ (دریافت‌دارنده ۰/۱ میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن نانوذره سلنیوم) نیز وزن زمان کشتار به‌طور معنی‌داری بیش از روزهای صفر ($p = 0/005$)، ۲۰ ($p = 0/022$) و ۳۰ ($p = 0/026$) مطالعه بود.

پس از انجام واکنش PCR و همچنین بهینه‌سازی شرایط تکثیر سایر ژن‌ها، برای بررسی میزان بیان ژن استریول کوآ اشباع‌زدا، واکنش Real-time RT-PCR بر روی تمام نمونه‌ها انجام شد. سپس نتایج با استفاده از نرم‌افزار Lin Reg PCR تجزیه و تحلیل گردید و با استفاده از روش 1 Pfaff مقادیر نسبی ژن‌ها محاسبه شد (Ahmadipour et al., 2015).

لازم به ذکر است که همه گوسفندان مورد آزمایش در پایان دوره تحقیق کشتار شدند و وزن لاشه و دنبه گروه‌های سه گانه به دقت و به‌طور جداگانه ثبت و مورد مقایسه قرار گرفت.

-تحلیل آماری داده‌ها: با بهره‌گیری از برنامه نرم‌افزار آماری سیگما استات (version 3.1) اقدام به تحلیل داده‌ها به روش آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) شد و با بهره‌گیری از آزمون‌های تعقیبی توکی (Tukey test) و روش دانت (Dunnett's method) به مقایسه میانگین‌ها و میانه‌ها در سطح معنی‌داری $p < 0/05$ شد.

جدول ۲- تغییرات وزن گوسفندان گروه شاهد و تیمارهای ۱ و ۲ به‌دنبال خوراندن نانوذره سلنیوم برحسب کیلوگرم (میانگین \pm خطای استاندارد)

گروه	زمان (روز)		
	صفر	۲۰	۳۰
شاهد	۲۰/۲۵ \pm ۰/۸۵	۲۵/۲۵ \pm ۳/۹۴	۲۷/۳۷ \pm ۳/۳۷
تیمار ۱	۳۲/۲ \pm ۲/۴۷	۲۸/۵ \pm ۲/۲۹	۲۹ \pm ۲/۲۹
تیمار ۲	۲۲ \pm ۳/۴۱	۲۷/۳ \pm ۳/۴۴	۲۷/۸ \pm ۳/۴۴

a: تغییرات نسبت به زمان صفر معنی‌دار است ($p < 0/05$).

b: تغییرات نسبت به زمان ۲۰ معنی‌دار است ($p < 0/05$).

c: تغییرات نسبت به زمان ۳۰ معنی‌دار است ($p < 0/05$).

گروه‌های تیمار ۱ و ۲ در زمان کشتار به‌طور معنی‌داری کمتر از وزن دنبه گروه شاهد بود ($p < 0/001$).

همچنین تغییرات وزن دنبه بره‌های گروه‌های مختلف در زمان کشتار به‌طور اختصار در جدول ۳ ارائه شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود وزن دنبه

جدول ۳- تغییرات وزن دنبه (کیلوگرم) در زمان کشتار در سه گروه شاهد، تیمارهای ۱ و ۲ به دنبال خوراندن نانوذره سلنیوم

گروه			
تیمار ۲	تیمار ۱	شاهد	زمان کشتار
۱/۱۴ ± ۰/۲۹ ^a	۱/۲۹ ± ۰/۲۱ ^a	۳/۵۲ ± ۰/۱۶	

a: تغییرات نسبت به زمان کشتار گروه شاهد معنی‌دار است (p < ۰/۰۵).

شد و با مشاهده باندهای مورد نظر از کیفیت آن‌ها اطمینان حاصل شد که شکل ۱ نمونه‌ای از این بررسی را نشان می‌دهد.

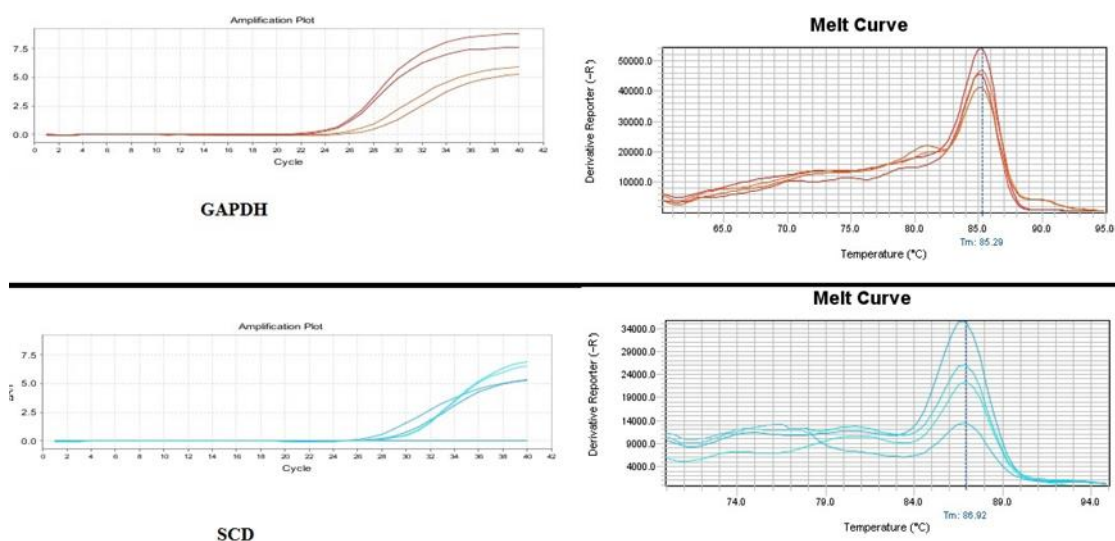
لازم به ذکر است که بعد از استخراج RNA و به منظور بررسی کیفیت RNAهای استخراج‌شده، یک میکرولیتر از نمونه RNA بر روی ژل آگارز انتقال داده



شکل ۱- ژل الکتروفورز شده نمونه‌های RNA استخراج شده. در این عکس چاهک M نشان‌دهنده اندازه DNA و چاهک‌های ۱ تا ۲، مربوط به نمونه‌های RNA (باند مربوط به جزء 28s rRNA) می‌باشد.

ژن هدف استریول کوآ اشباع‌زدا (SCD) در آزمایش Real Time PCR را نشان می‌دهد.

شکل ۲ نیز منحنی‌های مربوط به نقطه ذوب و تکثیر ژن GAPDH به عنوان کنترل داخلی و همچنین



شکل ۲- نمودار تکثیر و منحنی ذوب ژن مرجع (GAPDH) و ژن هدف (SCD)

اشباع‌زدا در روز ۲۰ مطالعه در گروه تیمار ۲ (دریافت- دارنده نانوذره سلنیوم با دوز ۰/۱ میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن) به‌طور معنی‌دار بیشتر از گروه تیمار ۱ بود ($p=0/008$).

تغییرات میزان بیان ژن استریول کوآنزیم‌آ اشباع‌زدا بافت چربی دنبه بره‌های گروه‌های مختلف هم به‌طور اختصار در جدول ۴ ارائه شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود میزان بیان ژن استریول کوآنزیم‌آ

جدول ۴- تغییرات میزان بیان ژن استریول کوآنزیم‌آ اشباع‌زدا (SCD) بافت چربی دنبه بره‌های نر طی تجویز خوراکی نانوذرات سلنیوم (میانگین \pm خطای استاندارد)

زمان خوردن نانوذره سلنیوم (روز)			گروه
۳۰	۲۰	۰	
$2/52 \pm 1/037$	$2/29 \pm 0/37^a$	$3/81 \pm 1/014$	شاهد
$2/094 \pm 0/61$	$1/74 \pm 0/96$	$1/97 \pm 0/047$	تیمار ۱
$2/87 \pm 0/901$	$3/21 \pm 0/52^b$	$2/04 \pm 1/16$	تیمار ۲

^a اختلاف نسبت به گروه تیمار ۱ در همان روز معنادار است ($p \leq 0/001$)
^b اختلاف نسبت به گروه تیمار ۱ در همان روز معنادار است ($p = 0/008$)

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به کاربرد روز افزون نانوذرات در علوم زیستی، هدف از انجام این مطالعه، بررسی اثر احتمالی تجویز خوراکی نانوذره سلنیوم بر میزان نسخه‌برداری ژن آنزیم استریول کوآنزیم آ اشباع‌زدا (SCD) و در نهایت مشخص ساختن چگونگی روند تأثیر آن بر تولید اسیدهای چرب غیراشباع در بافت دنبه بود. بدین منظور با خوراندن نانوذره سلنیوم در دو دوز ۰/۰۵ و ۰/۱ میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن به بره‌های نر نابالغ طی مدت ۲۰ روز، پارامترهایی نظیر میزان وزن لاشه و دنبه در زمان کشتار و میزان نسخه‌برداری ژن SCD دنبه مورد پایش قرار گرفتند. مطالعه حاضر اولین مطالعه در زمینه تأثیر تجویز خوراکی نانوذرات سلنیوم بر تغییرات نسخه‌برداری ژن آنزیم استریول کوآنزیم آ اشباع‌زدا (SCD) در بافت چربی دنبه بره‌های نر نابالغ محسوب می‌شود.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که در حضور مکمل نانوذره سلنیوم اضافه وزن بسیار برجسته (جدول ۱) و کاهش حجم دنبه (جدول ۲) بسیار مشهود می‌شود. همچنین مکمل کردن نانوذره سلنیوم به صورت خوراکی منجر به افزایش میزان نسخه‌برداری آنزیم استریول کو-آنزیم آ اشباع‌زدا در آخرین روز دریافت نانوذره سلنیوم می‌شود که با افزایش دوز دریافتی این تغییر مشهودتر است.

رایمن و همکاران در سال ۲۰۰۰ اهمیت سلنیوم را در سلامت انسان این‌گونه بیان کردند که سلنیوم جهت عملکرد مناسب سیستم ایمنی، غده تیروئید و حرکت اسپرم لازم بوده و در کاهش پیشرفت HIV، کاهش احتمال سرطان، کاهش سطح کلسترول و تسکین علائم

آرتريت مؤثر است (Rayman et al., 2000). ماشک و همکاران هم در سال ۲۰۰۵ گزارش کردند که از بین اسیدهای چرب، تجویز اسید لینولئیک روند گلوکونئوژنز را بیشتر تحریک کرده و نقش مناسب‌تری در تأمین انرژی مورد نیاز دارد (Mashek et al., 2005). در همین ارتباط مطالعه چهاردولی و همکاران نیز نشان داد که تجویز نانوذره سلنیوم موجب بهبود روند رشد از طریق افزایش میزان فاکتور رشد شبه انسولینی ۱ در بره‌های نر نابالغ می‌شود. به عبارتی دیگر تجویز نانوذره سلنیوم نقش مهمی در بهبود متابولیسم انرژی و در نهایت افزایش نسخه برداری ژن SCD و شکل‌گیری اسیدهای چرب غیراشباع دارد (Chahardoli et al., 2017). محمدزاده و همکاران در سال ۲۰۱۴ چنین اعلام داشتند که در بافت سرطانی میزان اسیدهای چرب غیراشباع و اسید آراشیدونیک بیشتر از بافت سالم بوده و برعکس میزان اسید لینولئیک آن کمتر است (Mohammadzadeh et al., 2014).

بهره‌گیری از مهارگر (SCD1) stearoyl-CoA desaturase 1 با عنوان CAY10566 در محیط کشت سلول‌های سرطانی و سالم، افزایش تولید اسید لینولئیک را گزارش کردند. دنیل و همکاران هم در سال ۲۰۰۴ تغذیه بره با جیره سرشار از مواد دانه‌ای را عاملی بر افزایش بیان ژن SCD در بره دانستند (Daniel et al., 2004). وارد و همکاران در سال ۱۹۹۸ اعلام کردند که تنها یک ژن به بیان آنزیم SCD در گوسفند می‌پردازد و میزان بیان آن وابسته به سطح اسید اولئیک موجود در بافت چربی است (Ward et al., 1998). همچنین گزارش شده که مولکول‌های چربی به بیان و ترشح برخی هورمون‌ها و پروتئین‌ها می‌پردازند و به همین

الحاقی، منجر به کاهش وزن چربی می‌شود. از سوی دیگر SCD ساخت اسید اولئیک را افزایش می‌دهد که نقشی مؤثر در بهبود کیفیت گوشت بره خواهد داشت. در مجموع چنین برداشتی می‌شود که دریافت نانوذره سلنیوم با دوز ۰/۱ میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن تأثیر بیشتری در افزایش میزان نسخه‌برداری ژن آنزیم استریول کوآنزیم‌آ اشباع‌زدا (SCD) در بره‌های نر نابالغ دارد و با قطع تجویز نانوذره، میزان نسخه‌برداری روندی ثابت را طی کرده و از این‌رو عملکرد نانوذره وابسته به دوز است. با توجه به نتایج یادشده، توصیه می‌شود برای افزایش میزان اسید لینولئیک الحاقی و اثرات سلامتی‌بخش آن و دستیابی به کیفیت بالاتر گوشت بره، از نانوذره سلنیوم خوراکی در جیره استفاده شود.

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه شهرکرد و در قالب پایان‌نامه دکترای تخصصی در بخش بیماری‌های داخلی دام‌های بزرگ دانشکده دامپزشکی انجام شده است که بدین‌وسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را اعلام می‌داریم.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافی ندارند.

دلیل بافت چربی را یک عضو آندوکراین واقعی می‌دانند. بافت چربی از سویی باعث تولید و ترشح بسیاری از پروتئین‌ها می‌شود که از طریق خون بر سایر عضوهای دور دست اثر می‌گذارد و از سوی دیگر آنزیم‌هایی را در بر دارد که در متابولیسم هورمون‌های استروئیدی درگیر می‌شوند (Flier *et al.*, 1987; Chen *et al.*, 1996; Lee *et al.*, 1996; Friedman *et al.*, 2000; Margetic *et al.*, 2002; Fain *et al.*, 2004).

مطالعات متعددی ثابت کرده است که اسید لینولئیک کانژوگه (conjugated linoleic acid; CLA) اثرات سلامتی بخشی بر روی انسان و حیوان داشته است که در این مورد می‌توان به خواصی نظیر ضدیت با ساخت چربی (anti-adipogenic effects)، ضد سرطانی بودن، ضدیت با رسوب چربی در عروق (antiatherogenesis)، ضد دیابت و ضدالتهابی بودن و همچنین تحریک مکانیسم‌های آپوپتوزیس و تنظیم متابولیسم چربی‌ها اشاره کرد. در برخی مطالعات پیشنهاد شده است که CLA از طریق کاهش اندازه سلول‌های چربی و تغییر تکامل سلول‌های چربی منجر به کاهش وزن می‌شود (Esmaili, 2015).

بر اساس نتایج تحقیق حاضر، افزایش رشد و کاهش حجم دنبه بره‌ها در زمان کشتار رخ می‌دهد که این مهم نشانگر تأثیر مثبت تجویز خوراکی نانوذره سلنیوم است. به عبارت دیگر نانوذره منجر به افزایش میزان نسخه‌برداری ژن آنزیم استریول کوآنزیم‌آ اشباع‌زدا (SCD) شده و با دخالت در شکل‌گیری اسید لینولئیک

منابع

- Ahmadipour, B., Hassanpour, H., Asadi, E., Khajali, F., Rafiei, F. and Khajali, F. (2015). *Kelussia odoratissima* Mozzaf-A promising medicinal herb to prevent pulmonary hypertension in broiler chickens reared at high altitude. *Journal of Ethnopharmacology*, 159(15): 49-54.
- Barber, M.C., Ward, R.J., Richards, S.E., Salter, A.M., Buttery, P.J., Vernon, R.G., *et al.* (2000). Ovine adipose tissue monounsaturated fat content is correlated to depot-specific expression of the stearoyl-CoA desaturase gene. *Journal of Animal Sciences*, 78(1): 62-68.
- Battin, E.E. and Brumaghim, J.L. (2009). Antioxidant activity of sulfur and selenium: are view of reactive oxygen species scavenging, glutathione peroxidase and metal binding antioxidant mechanisms. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 55(1): 1-23.
- Beheshti, N., Ajami, M., Kamal, Z., Abdollahi, M. and Davoodi, S.H. (2016). The effect of dietary conjugated linoleic acid and assessment of anti-oxidant factors on the risk of developing colorectal cancer. *Teb va Tazkiye*, 25(4): 169-182. [In Persian]
- Ben-David, U., Gan, Q.F., Golan-Lev, T., Arora, P., Yanuka, O., Oren, Y.S., *et al.* (2013). Selective elimination of human pluripotent stem cells by an oleate synthesis inhibitor discovered in a high-throughput screen. *Cell Stem Cell*, 12(2): 167-79.
- Chahardoli, A., Kojouri, G.A. and Ahadi, A.M. (2017). Effect of oral administration of selenium nanoparticles on the Insulin-like Growth Factor1 (IGF-1) in prepubertal male lambs. *Iranian Journal of Veterinary Clinical Sciences*, 11(1): 49-56. [In Persian]
- Chen, H., Charlat, O., Tartaglia, L.A., Woolf, E.A., Weng, X., Ellis, S.J., *et al.* (1996). Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice. *Cell*, 84(3): 491-495.
- Christie, W.W. (1981). The composition structure and function of lipids in the tissues of ruminant animals. *Lipid Metabolism in Ruminant Animals*, 1st ed., Pergamon; Elsevier Ltd, pp: 95-191.
- Daniel, Z.C.T.R., Wynn, R.J., Salter, A.M. and Buttery, P.J. (2004). Linoleic acid content of sheep tissues: The role of stearoyl-CoA desaturase differing effects of forage and concentrate diets on the oleic acid and conjugated. *Journal of Animal Sciences*, 82(3): 747-758.
- Esmaeili Shahmirzadi, F. and Ghavamzadeh, S. (2015). Conjugated linoleic acid supplementation, a new approach against obesity in infants and childhoods. *International congress of maternal and childhood obesity*, Urmia, Iran. [In Persian]
- Fain, J.N., Madan, A.K., Hiler, M.L., Cheema, P. and Bahouth, S.W. (2004). Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissues of obese humans. *Endocrinology*, 145(5): 2273-2282.
- Flier, J.S., Cook, K.S., Usher, P. and Spiegelman, B.M. (1987). Severely impaired adipin expression in genetic and acquired obesity. *Sciences*, 237(4813): 405-408.
- Friedman, J.M. and Halaas, J.L. (1998). Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature*, 395(6704): 763-770.
- Griinari, J.M., Corl, B.A., Lacy, S.H., Chouinard, P.Y., Nurmela, K.V.V. and Bauman, D.E. (2000). Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by 9-desaturase. *Journal of Nutrition*, 130(9): 2285-2291.
- Ide, Y., Waki, M., Hayasaka, T., Nishio, T., Morita, Y., Tanaka, H., *et al.* (2013). Human breast cancer tissues contain abundant phosphatidylcholine with high stearoyl-CoA desaturase-1 expression. *PLOS ONE*, 8(4): 61204.
- Kam, N.W.S. and Dai, H. (2005). Carbon nanotubes as intracellular protein transporters: generality and biological functionality. *Journal of American Chemistry Society*, 127(16): 6021-6026.
- Kamyab, A.R. (2010). Polymerase chain reaction technique using SYBR green I in the diagnosis of Down syndrome. *Medical Science*, 19(2): 93-96.
- Kojouri, G.A. (2019). *Metabolic Diseases of Large Animals*. First ed., Shahrekord; Shahrekord University Publication, pp: 143, 242. [In Persian]

- Kojouri, G.A., Jahanabadi, S. Shakibaie, M. Ahadi, A. and Shahverdi, A.R. (2012). Effect of selenium supplementation with sodium selenite and selenium nanoparticles on iron homeostasis and transferrin gene expression in sheep: a preliminary study. *Research in Veterinary Science* 93(1): 275-278.
- Lee, G.H., Proenca, R., Montez, J.M., Carroll, K.M., Darvishzadeh, J.G., Lee, J.I., *et al.* (1996). Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. *Nature*, 379(6566): 632-635.
- Mashek, D.G., Bertics, S.J. and Grummer, R.R. (2005). Effects of intravenous triacylglycerol emulsions on hepatic metabolism and blood metabolites in fasted dairy cows. *Journal of Dairy Sciences*, 88(1): 100-109.
- Margetic, S., Gazzola, C., Pegg, G.G. and Hill, R.A. (2002). Leptin: a review of its peripheral actions and interactions. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders*, 26(11): 1407-1433.
- Mohammadzadeh, F., Mosayebi, G., Montazeri, V., Darabi, M., Fayezi, S., Shaaker, M., *et al.* (2014). Fatty acid composition of tissue cultured breast carcinoma and the effect of stearoyl-coa desaturase 1 inhibition. *Journal of Breast Cancer*, 17(2): 42-136.
- Rahimi, Y., Mehdizadeh, A., Nozad Charoudeh, H., Nouri, M., Valaei, K., Fayezi, S., *et al.* (2015). Hepatocyte differentiation of human induced pluripotent stem cells is modulated by stearoyl-CoA desaturase 1 activity. *Development Growth and Differentiation*, 57(9): 574-667.
- Rahman, S.M., Dobrzyn, A., Lee, S.H., Dobrzyn, P., Miyazaki, M. and Ntambi, J.M. (2005). Stearoyl-CoA desaturase 1 deficiency increases insulin signaling and glycogen accumulation in brown adipose tissue. *American Journal of Physiology and Endocrinology Metabolism* 288(2): 381-387.
- Rayman DPhil, M.P. (2000). The importance of selenium to human health. *The Lancet*, 356(9225): 233-241.
- Ward, M., Newille, T., Reed, J., Tallor, J., Hallford, D., Soto-Navarro, S., *et al.* (2008). Effects of selenium supply and dietary restriction on maternal and fetal metabolic hormones in pregnant ewe lambs. *Journal of Animal Sciences*, 86(5): 1254-1262.
- Ward, R.J., Travers, M.T., Richards, S.E., Vernon, R.G., Salter, A.M., Buttery, P.J., *et al.* (1998). Stearoyl-CoA desaturase mRNA is transcribed from a single gene in the ovine genome. *Biochemical et Biophysical Acta (BBA)*, 1391(2): 145-156.
- Yilmaz, A., Davis, M. and Simmen, R. (1999). Reproductive performance of bulls divergently selected on the basis of blood serum insulin-like growth factor I concentration. *Journal of Animal Sciences*, 77(4): 835-839.
- Zhang, L., Pan, Y., Qin, G., Chen, L., Chatterjee, T.K., Weintraub, N.L., *et al.* (2014). Inhibition of stearoyl-CoA desaturase selectively eliminates tumorigenic Nanog-positive cells: improving the safety of iPS cell transplantation to myocardium. *Cell Cycle*, 13(5): 71-762.