مقاله تحقیقی | مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۷، دوره ۷۳، شماره ۴، ۴۸۲-۴۷۵ | Original Article
DOI: 10.22059/jvr.2019.228023.2592

بررسی اثرات نانوذره سلنیم و سلنیت سدیم بر بیان ژن لپتین در میش‌های آبستن

پدرام معیری[۱] غلامعلی کجوری[۱] افشین جعفری[۱] علی‌محمد احدی[۲]

[۱]گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهر کرد، شهر کرد، ایران

[۲]گروه ژنتیک، دانشکده علوم، دانشگاه شهر کرد، شهر کرد، ایران

(دریافت مقاله: ۴ اردیبهشت ماه ۱۳۹۷، پذیرش نهایی: ۲۲ مرداد ماه ۱۳۹۷)

چکیده

زمینه مطالعه: لپتین به‌عنوان یکی از هورمون‌های شبه سیتوکینی، حاصل از ژن *ob* (یکی از ژن‌های بزرگ اثر بر وزن تولد و صفات رشد) بوده و عمدتاً توسط بافت چربی ترشح می‌شود. این هورمون با اتصال به گیرنده‌های خود در هیپوتالاموس، جذب غذا را مهار و مصرف انرژی را افزایش می‌دهد.

هدف: در حال حاضر گزارشی در خصوص بیان ژن لپتین در پاسخ به تجویز خوراکی سلنیم در دام‌های اهلی در دسترس نمی‌باشد. در این مطالعه برای اولین بار، تأثیر نانوذره سلنیم و سلنیت سدیم بر میزان نسخه‌برداری ژن لپتین در دوره انتقالی در بافت جفت مورد مطالعه قرار گرفت.

روش کار: ۲۰ رأس میش ۴ ماه آبستن، به‌صورت تصادفی انتخاب گردید و در زمان ۲۱ روز منتهی به زایمان، هر روز تجویز خوراکی مکمل‌های سلنیت سدیم (به میزان ۰/۱ mg به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و نانوذره سلنیوم (در دو دوز ۰/۰۵ و ۰/۱ mg به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) صورت گرفت و در دوره زمانی مذکور نیز به گروه شاهد آب مقطر با حجم مشابه خورانده شد. پس از زایمان با نمونه‌برداری از جفت میزان نسخه‌برداری از ژن لپتین به روش Real-time RT-PCR و بر اساس روش مقایسه‌ای $2^{-\Delta\Delta Ct}$ تعیین شد.

نتایج: تجویز خوراکی مکمل‌های سلنیت سدیم و نانوذره سلنیم نسبت به تیمار شاهد، موجب افزایش معنی‌دار بیان ژن مذکور شد. اختلاف معنی‌داری نیز بین مکمل‌های مورد مطالعه مشاهده شد؛ به‌گونه‌ای که بالاترین بیان ژن لپتین در جفت، در تیمار نانوذره سلنیوم با دوز ۰/۱ mg مشاهده شد و پس از آن مکمل نانوذره سلنیوم با دوز ۰/۰۵ mg قرار داشت.

نتیجه گیری نهایی: سلنیم موجب افزایش بیان ژن لپتین در بافت جفت می‌شود.

واژه‌های کلیدی: تجویز خوراکی، لپتین، میش‌های آبستن، نانوذره سلنیم

کپی رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله تحقیقات دامپزشکی محفوظ است.

*) نویسنده مسئول: تلفن: ۰۳۸-۳۲۳۲۴۴۰۱، نمابر: ۰۳۸-۳۲۳۲۴۴۰۱ Email: Dr.moayeri@hotmail.com

How to Cite This Article

Moayeri, P., Kojouri, G., Jafari dehkordi, A., Ahadi, A. (2019). Study of Selenium Nanoparticles and Sodium Selenite Supplementation Effects on Expression of Leptin Gene in Pregnant Ewes Placenta, Iran. J Vet Res, 73(4), 475-482. doi: 10.22059/jvr.2019.228023.2592

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

ژن‌هـای کاندیدا بـرای یک صفت خاص عبارت‌انـد از ژن‌های توالی‌یابی شده‌ای که فعالیت بیولوژیکی آن‌ها شناخته شده و در تکامل یا فیزیولوژی آن صفـت دخالت دارنـد (۸). ژن لپتین که از طریـق روش‌های کلونینگ کشـف شده اسـت (۴۱)، بر روی کروموزوم شـماره ۴ گوسفند واقع شده و دارای ۳ اگزون و ۲ اینترون می‌باشد (۱۸). ناحیه کدکننده ژن لپتین (توالی ۵۰۱ نوکلئوتیـدی) بر روی اگزون‌هـای ۲ و ۳ قرار دارد (۱۴). محصول ژن مذکور هورمونی پروتئینی به نام لپتین اسـت که دارای ۱۴۷ اسید آمینه و وزن مولکولی ۱۶ kDal می‌باشـد و پس از جدا شـدن ۲۱ اسـیدآمینه، به داخل خون رها می‌شـود (۳). این هورمون عمدتاً از سلول‌های بافت چربی به‌خصوص چربی سفید ترشح شده و به‌عنوان یک عامل ضد اشتها و لاغر کننده در نظر گرفته می‌شود (۱۵،۱۶،۲۰). مطالعات اخیر حاکی از آن است کـه ژن لپتین در بافت‌های دیگری از جمله جفـت، موکوس معدی، غدد پستانی، عضلات اسکلتی، مخاط معده، مغز و غده هیپوفیز نیز بیان می‌شود و احتمـالاً در این جایگاه‌ها عملکرد اتوکرین/پاراکرین دارد (۲۶). مطالعات فیلوژنتیکی نیز نشـان داده اسـت که توالی ژن لپتیـن در گونه‌هایی نظیر انسان، شـامپانزه، خوک، موش، سـگ و گاو دارای حدود ۶۷٪ همسانی می‌باشد (۴۲).

لپتین در دام‌های اهلی به‌عنوان یک هورمون شـناخته شده در تنظیم صفات تولیدی، تولید مثلی و فعالیت‌های مختلف شامل مصرف غذا، تعادل انرژی، رشد و تکامل جنین، تولید شیر، شکل‌گیری استخوان‌ها و عملکرد سیستم ایمنی ایفاء نقش می‌نماید (۵،۱۰،۱۱،۲۷،۳۳،۳۶،۳۸). گیرنده لپتین اساساً در نواحی‌ای از مغز شامل نورون‌های هسته‌های آرکوئت و ونترامدیال هیپوتالاموس بیان می‌شـود که در تنظیـم رفتار خوردن نقش دارند. لپتین حامل پیام مبنی بر کافی بودن ذخایر چربی و کاهش مصرف مواد سوختی و افزایش مصرف انرژی است (۲۱). مطالعات انجام شده بر روی موش نشان می‌دهند که موتاسـیون در ژن لپتین و پذیرنده (رسـپتور) آن، با نشانه‌های چاقی و دیابت نوع ۲ آشکار می‌گردد (۲۲).

سـلنیوم یکی از عناصر کمیاب بوده که جزء کلیدی تعدادی از سـلنو پروتئین‌هـای کاربردی اسـت و در عملکردهای طبیعی بـدن دخالت دارد (۳۴). یکـی از مهم‌ترین نقش‌هـای این عنصر، در سـاختمان آنزیم‌های آنتی‌اکسـیدانی از قبیل گلوتاتیون پراکسیداز و تیوردوکسین ردوکتاز است که عملکـرد آن‌ها حـذف رادیکال‌هـای آزاد و گونه‌های اکسـیژن فعال (۳۲) و حفاظت بافت‌ها در قبال تخریب اکسـیداتیو است. غشاء سلول‌ها و اورگانل‌های داخل سلولی از سطوح نسبتاً بالایی از چربی‌های پیچیده غیر اشباع تشکیل شده‌اند و اگر به‌خوبی در برابر اکسیدان‌ها محافظت نشوند، در معرض اکسیداسـیون قرار خواهند گرفت. عدم کنترل پراکسیداسـیون غشـاءها به‌واسـطه حضور برخـی کمبودها و یا عملکرد ضعیف سیسـتم حفاظت‌کننده، می‌تواند مخاطراتی را برای سلامت حیوان به دنبال داشته باشـد. نقش سـلنیوم در همین زمان آشـکار گشـته و با تحکیم عملکرد گلوتاتیون پراکسـیداز در انهدام پراکسیدازها، هیدروپراکسیدها و پراکسید هیدروژن و احیاء آن‌ها به الکل‌ها، از خسارات ناشی از اکسیداسیون غشائی جلوگیری می‌نمایـد (۱۷). امروزه لپتین به عنوان هورمون مؤثر بر بالانس انـرژی که اثرات محیطـی در بافت‌هایی نظیر ماهیچه، بافت چربی و کبد دارد، شناخته می‌شود (۲۵). همچنین لپتین اثرات گوناگونی در فرآیندهای بیولوژیکـی نظیر عملکردهای ایمنی و بلوغ دارد (۱۹). این هورمون ارتباط نزدیکی بـه محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- آدرنال (HPA) داشـته و این محور را در بخش مرکزی مهار می‌نماید (۳۷). منابع اطلاعاتی موجود تأیید می‌نمایند که کمبود سلنیوم می‌تواند موجب تنش اکسیداتیو و متعاقب آن اختلال در فرآیند استروئیدوژنز غده آدرنال و تولید لپتین شود (۲).

از سوی دیگر، مشخص شده زمانی که اندازه ذرات به مقیاس نانومتر کاهش می‌یابد، خواص جدیدی مانند اثرات کوانتومی و واکنش‌پذیری بالا در محدوده‌ای وسیع‌تر را آشکار می‌نمایند. از این رو، نانوذره سلنیوم قابلیت زیستی مشابهی با سلنیت دارد، در حالی که خواص توکسیک نانوسلنیوم ۷ برابر کمتر از سلنیت است (۴۰). بر این اساس، هدف از انجام تحقیق حاضر آن بود که با بهره‌گیری از ترکیبات مختلف سلنیوم (سلنیت سدیم و نانوذره سـلنیوم) در دوره انتقالی به مقایسه اثرات آن‌ها بر میزان نسخه‌برداری ژن لپتین در جفت، پرداخته شود.

مواد و روش کار

اعمال تیمارهای آزمایشـی و نمونه‌گیری: در پژوهش حاضر ۲۰ رأس میش متعلق به واحد دامپروری دانشـکده کشـاورزی دانشگاه شهرکرد در محدوده سنی یکسـان که ۴ ماه آبستن بودند، به‌صورت تصادفی انتخاب شدند. تمامی مراحل آزمایش در دانشگاه شهرکرد به انجام رسید. تعیین سن میش‌هـا با توجه به فرمول دندانی و پرونده‌ی موجـود از آن‌ها در دامداری انجام شـد. تعیین آبستنی نیز بر اساس پرونده‌ی آن‌ها و انجام سونوگرافی صورت پذیرفت. قبل از شروع تحقیق، میانگین سطح سلنیوم جیره تعیین و پس از خون‌گیری سطح سرمی سلنیوم میش‌ها سنجیده شد. از زمان ۲۱ روز منتهی به زایمان، تجویز خوراکی مکمل‌های سلنیت سدیم (Na_2SeO_3) (به میزان ۰/۱ mg به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و نانوذره سلنیوم (در دو دوز ۰/۰۵ و ۰/۱ mg به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به‌وسیله‌ی سرنگ و به مدت ۱۰ روز متوالی صورت گرفت و در دوره مذکور به گروه شاهد به حجم مساوی آب مقطر خورانده شد. شایان ذکر است که تا زمان زایمان، میش‌ها از نظر درمانگاهی و آزمایشـگاهی (بررسـی علایم حیاتی و اخذ و بررسی گسترش خونی به طور روزانه) مورد پایش دقیق قرار گرفتند. نمونه‌برداری از جفت در هنگام زایمان صورت پذیرفت. به منظور جلوگیری از اضمحلال RNA، نمونه‌ها سـریعاً به پاکت آلومینیومی منتقل و بر روی ازت مایع به

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱. توالی و خصوصیات پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه.

نام ژن	نوع پرایمر	توالی	دمای ذوب (°C)	اندازه محصول PCR (bp)
ob	F	۳-AGGAAGCACCTCTACGCTC-۵	۵۷/۲	۴۷۵
	R	۳-CTTCAAGGCTTCAGCACC-۵	۵۷/۰	
ACTB	F	۳-TCAGAGCAAGAGAGGCATC-۵	۵۶/۶۷	۲۷۷
	R	۳-GCTCGTTGTAGAAGGTGTG-۵	۵۶/۶۷	

آزمایشگاه انتقال یافته و در فریزر ۷۰- °C جهت استفاده در مراحل بعدی نگهداری شدند.

استخراج RNA و واکنش RT-PCR: جداسازی RNA با استفاده از کیت تجاری RNAX Plus، ساخت شرکت سیناکلون و بر اساس دستورالعمل شرکت انجام شد. به‌منظور حذف DNA، تمام نمونه‌های RNA به مدت ۱ ساعت با آنزیم DNase (Fermentase، امریکا) و مطابق روش ارایه شده توسط شرکت تیمار شدند. کیفیت و کمیت RNA استخراج شده با استفاده از ژل آگارز و روش اسپکتوفتومتری با استفاده از دستگاه بیوفتومتر ساخت شرکت اپندورف آلمان سنجیده شد. برای سنتز cDNA از کیت Two-step cDNA Synthesis ساخت شرکت VIVANTIS طبق دستور کار کیت با استفاده از Oligo-dt استفاده شد. به منظور بهینه‌سازی شرایط PCR، RT PCR استاندارد بر روی cDNA سنتز شده با استفاده از پرایمرهای اختصاصی انجام شد. طراحی پرایمرها با استفاده از نرم‌افزار Vector NTI صورت گرفت. توالی پرایمرها، دمای اتصال آن‌ها و طول اندازه محصول PCR در جدول ۱ نشان داده شده است.

آزمون PCR در زمان حقیقی: برای ارزیابی تغییرات بیان ژن لپتین PCR در زمان حقیقی به روش مقایسه‌ای ΔΔCt و با استفاده از کیت SYBR Premix Ex Taq ساخت شرکت Takara و و دستگاه Rotor gene ۶۰۰۰ انجام شد. بررسی کمی نتایج حاصل از روش Real-time PCR با استفاده از نرم‌افزار Gene Expression Relative Quantitation ساخت شرکت بایورد (Biorad) در مقایسه با نمونه کنترل، انجام گرفت. از ژن ACTB گوسفندی به‌عنوان کنترل داخلی استفاده شد و همه نمونه‌ها به‌صورت تکرار سه تایی ارزیابی شدند.

روش تهیه نانوذره سلنیوم: نانوذرات سلنیوم به روش شیمیایی و با احیا نمودن اکسید سلنیوم با بهره‌گیری از محلول آسکوربیک اسید تهیه شد. بر این اساس، ذرات قرمزرنگ نانو سلنیوم در محلول کلوئیدی آشکار و ترسیب حاصله پس از گذشت ۷۲ ساعت جداسازی و مورد استفاده قرار گرفت. ترسیب قرمز رنگ در لوله آزمایش جمع‌آوری و دور از نور در دمای ۴ °C نگهداری شد. سپس طی سه مرحله اقدام به حرارت‌دهی ۱ ml از محلول یکنواخت و قرمز رنگ نانوذره بر صفحه داغ در دمای ۴۵ °C گردید تا میزان ماده مؤثر توزین و تعیین گردد. بدین ترتیب میانگین ماده مؤثر نانوذره در هر میلی لیتر مشخص شد و از آن پس ملاک عمل قرار گرفت (۳۹).

آنالیز آماری: با بهره‌گیری از نرم‌افزار سیگمااستات اقدام به آنالیز داده‌ها به روش آنالیز واریانس و مقایسه میانگین با استفاده از آزمون توکی در سطح $P<۰/۰۵$ شد.

نتایج

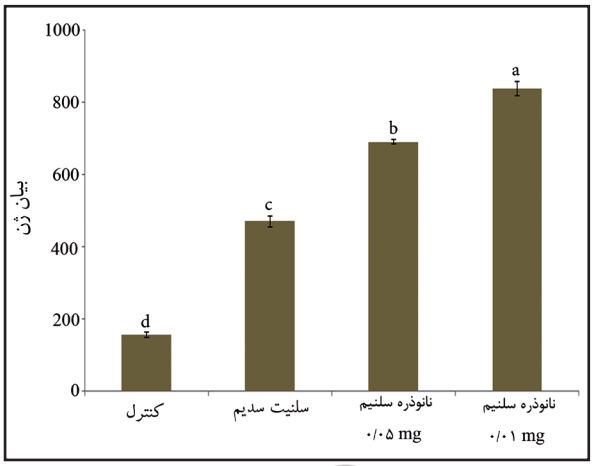
نمودار ۱ بیان ژن لپتین در تیمارهای حاوی تجویز خوراکی نانوذره سلنیم و سلنیت سدیم به همراه گروه شاهد را نشان می‌دهد. بر اساس نتایج به‌دست آمده، ژن لپتین در کلیه تیمارهای مورد مطالعه بیان شد و گروه شاهد که دارای کمترین مقدار بود، دارای اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها بود ($P<۰/۰۵$)؛ بنابراین افزودن مکمل‌های سلنیومی به جیره غذایی میش‌های آبستن، موجب افزایش بیان ژن لپتین شده است. با مقایسه تیمارهای حاوی سلنیم مشخص شد که افزودن نانوذره سلنیم در هر دو دوز مورد مطالعه، نسبت به سلنیت سدیم در افزایش معنی‌دار بیان ژن لپتین نقش چشمگیری داشته است. در خصوص نانوذره سلنیم نیز می‌توان بیان داشت که تأثیرگذاری آن وابسته به دوز مصرفی می‌باشد؛ به‌گونه‌ای که در پژوهش حاضر، بین دوزهای ۰/۰۵ mg و ۰/۱ نانوذره سلنیم، اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). بیشترین مقدار بیان ژن لپتین در بافت جفت در میش‌های آبستنی مشاهده شد که در جیره غذایی آن‌ها مکمل نانوذره سلنیم در غلظت ۰/۱ mg به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، افزوده شده بود.

بحث

در تحقیق حاضر نقش مکمل‌های سلنیمی بر بیان ژن لپتین در جفت میش‌های آبستن مورد بررسی قرار گرفت. به دنبال این هدف از بافت جفت در هنگام زایمان نمونه‌برداری انجام شد و پس از استخراج RNA، با استفاده از تکنیک PCR در زمان واقعی، بیان ژن لپتین در آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به مطالعات صورت گرفته در خصوص بیان ژن لپتین در بافت جفت (۲۷)، انتظار می‌رفت که این ژن در کلیه تیمارهای مورد مطالعه نیز بیان شود. در تحقیق حاضر، در میش‌هایی که مکمل غذایی سلنیومی دریافت نکرده بودند (تیمار شاهد) بیان ژن لپتین مشاهده شد و با تجویز خوراکی سلنیوم، افزایش معنی‌داری در بیان این ژن وجود داشت. این موضوع نشان می‌دهد سلنیوم روی بیان ژن لپتین در میش‌های آبستن مؤثر است و موجب Up-Regulation ژن آن‌ها می‌شود.

تاکنون تحقیق در زمینه بررسی اثرات سلنیم بر بیان ژن لپتین صورت نگرفته است. بررسی پژوهش‌های صورت گرفته نشان می‌دهد سلنیم بر

Archive of SID
www.SID.ir



نمودار ۱. بیان ژن لپتین در تیمارهای حاوی مکمل‌های نانوذره سلنیم و سلنیت سدیم در بافت جفت میش‌های آبستن. حروف متفاوت بیان‌گر وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

بیان ژن‌ها دارای تأثیر معنی‌دار است. Mohammadi و همکاران در سال ۲۰۱۱ بیان داشتند که تزریق سلنیوم به موش‌های سوری مسن موجب افزایش معنی‌دار بیان ژن CatSper در مقایسه با گروه کنترل می‌شود (۲۴). Gan و همکاران در سال ۲۰۰۲ بیان داشتند که تجویز دوز ۰/۰۲ mg/kg سلنیوم موجب افزایش بیان ژن گلوتاتیون پراکسیداز در موش شده؛ در حالی که تزریق دوزهای ۰/۰۴ mg/kg و ۰/۰۸ mg/kg باعث کاهش بیان ژن مذکور می‌شود (۹). نتایج این پژوهشگران با یافته‌های پژوهش حاضر مبتنی بر اینکه تأثیرات سلنیوم بر تغییرات بیان ژن وابسته به دوز می‌باشد، مطابقت داشت. Rashidi Pouya و همکاران در سال ۲۰۱۶ افزایش معنی‌دار در بیان ژن کاسپاز ۹ در تیمارهای همراه با سلنیم در مقایسه با گروه کنترل در موش‌های صحرایی را گزارش نمودند. نتایج تحقیق این محققین نشان داد که بیان لپتین در بافت جفت در میش‌های آبستن در پاسخ به جیره‌های مختلف غذایی حاوی سلنیم تغییر می‌کند (۳۱). در خصوص سایر ژن‌های دخیل در تنظیم اشتها می‌توان به پژوهش Jablonska و همکاران در سال ۲۰۱۶ اشاره کرد که در آن با افزودن مکمل‌های سلنیوم در خوراک انسان، شاهد کاهش معنی‌داری در ژن‌های HIF۱AN (hypoxia inducible alpha subunit inhibitor)، MYC (v-myc avian,۱ factor myelocytomatosis viral oncogene homolog) و ادیپونکتین بودند (۱۲). نتایج مطالعه Jamilian و همکاران در سال ۲۰۱۷ نشان داد که تغذیه زنان به مدت شش هفته با استفاده از مکمل‌های سلنیومی موجب افزایش معنی‌دار بیان ژن VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) و کاهش معنی‌دار در بیان ژن‌های TNF-α و TGF-β شد (۱۳).

چنین بیان شده است که بیان و رهاسازی لپتین تحت تأثیر برخی واسطه‌های التهابی همچون TNF-α و LPS است که هریک به نوبه خود میزان حساسیت به انسولین را متأثر می‌سازند. Nuamah و همکاران در سال ۲۰۰۴ اعلام داشتند که TNF و اینترلوکین ۶، منجر به افزایش میزان mRNA لپتین در جفت می‌شوند (۲۸). لپتین همچنین باعث افزایش رهاسازی TRH (هورمون آزادکننده تیروتروپین) و GnRH (هورمون آزادکننده گنادوتروپین‌ها) شده و سیستم سمپاتیک را تحریک می‌نماید و از این طریق باعث افزایش سوخت و ساز و صرف انرژی می‌شود (۳۰). Dessolin و همکاران در سال ۱۹۹۷ بالا بودن سطح سرمی لپتین در نوزاد موش خرما را به افزایش میزان بیان ژن *ob* در بافت چربی قهوه‌ای مرتبط دانسته و از آن به‌عنوان فاکتوری مقابله‌کننده در برابر هیپوترمی یاد نمودند (۴). Masuzaki و همکاران در سال ۱۹۹۷ بیان داشتند که لپتین در جفت انسان بیان شده و پس از تولد، در جریان خون مادر و جنین قرار گرفته و اثرات پاراکرین و اتوکرین خود را بر عملکرد جفت القاء می‌نماید (۲۳). Forhead و همکاران در سال ۲۰۰۲ چنین اعلام داشتند که لپتین را می‌توان قبل از تولد در جریان خون جنین انسان و گوسفند ردیابی و اندازه‌گیری نمود (۷). با توجه به آنکه گیرنده‌های لپتین در بسیاری از بافت‌های جنین وجود دارد؛ لذا محققین بر این باورند که رشد و نمو استخوان‌ها و غضروف‌ها و اصولاً رشد جنین وابسته به حضور لپتین و میزان در دسترس بودن مواد غذایی در رحم است (۱). در زمان تولد جنین و قبل از تثبیت عمل مکیدن، نوزاد با راه‌اندازی روند گلیکوژنولیتیک و گلوکونئوژنیک، گلوکز مورد نیاز خود را تأمین می‌نماید. در حقیقت، در اواخر آبستنی با افزایش سطح سرمی گلوکوکورتیکوئیدها تغییراتی تکاملی در کبد رخ می‌دهد که منجر به جایگزینی گلیکوژن در کبد و افزایش فعالیت آنزیم‌های گلوکونئوژن می‌شود (۲۹).

مطالعات بسیاری در خصوص افزایش بیان ژن لپتین صورت گرفته است ولی تاکنون هیچ گزارشی مبنی بر تأثیرگذاری تجویز خوراکی سلنیوم روی بیان ژن لپتین در میش‌های آبستن وجود ندارد. بررسی مطالعات مختلف نشان می‌دهد که سلنیوم بر روی بیان ژن‌ها دارای تأثیر معنی‌دار است. Fischer و همکاران در سال ۲۰۰۱ اظهار داشتند که بیان ژن‌های مؤثر در آپوپتوز، سیکل سلولی و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی در نتیجه کمبود سلنیوم و ویتامین E، کاهش می‌یابد (۶). پژوهش Shalini و همکاران در سال ۲۰۰۶ نیز حاکی از آن بود که کمبود سلنیم دارای تأثیر معنی‌داری بر روی ژن‌های cJun و cFos در سلول‌های ژرم بیضه داشته و کاهش بیان آن‌ها را در پی دارد (۳۵).

درنتیجه گیری نهایی این تحقیق، باید عنوان داشت که سلنیم موجب افزایش بیان ژن لپتین در بافت جفت می‌شود.

تشکر و قدردانی

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

Archive of SID
www.SID.ir

تعارض در منافع

بین نویسندگان هیچ گونه تعارض در منافع گزارش نشده است.

References

1. Buchbinder, A., Lang, U., Baker, R. S., Khoury, J. C., Mershon, J., Clark, K. E. (2001). Leptin in the ovine fetus correlates with fetal and placental size. Am J Obstet Gynecol, 185(4), 786-791.
2. Chanoine, J. P., Wong, A. C., Lavoie, J. C. (2004). Selenium deficiency impairs corticosterone and leptin responses to adrenocorticotropin in the rat. Biofactors, 20(2), 109-118.
3. Cunningham, M. J., Clifton, D. K., Steiner, R. A. (1999). Leptin's actions on the reproductive axis: perspectives and mechanisms. Biol Reprod, 60(2), 216-222.
4. Dessolin, S. O. P. H. I. E., Schalling, M. A. R. T. I. N., Champigny, O., Lönnqvist, F., Ailhaud, G., Dani, C., Ricquier, D. (1997). Leptin gene is expressed in rat brown adipose tissue at birth. FASEB J, 11(5), 382-387.
5. Fantuzzi, G., Faggioni, R. (2000). Leptin in the regulation of immunity, inflammation, and hematopoiesis. J Leukoc Biol, 68(4), 437-446.
6. Fischer, A., Pallauf, J., Gohil, K., Weber, S. U., Packer, L., Rimbach, G. (2001). Effect of selenium and vitamin E deficiency on differential gene expression in rat liver. Biochem Biophy Res Commun, 285(2), 470-475.
7. Forhead, A. J., Thomas, L., Crabtree, J., Hoggard, N., Gardner, D. S., Giussani, D. A., Fowden, A. L. (2002). Plasma leptin concentration in fetal sheep during late gestation: ontogeny and effect of glucocorticoids. Endocrinology, 143(4), 1166-1173.
8. Gallehdari, H., Foroughmand, H., Roshanfekr, V., Nazari, M. (2006). Comprehensive Genetic Engineering (1st ed.). Publication of Paradise Flowers. Tehran, Iran.
9. Gan, L., Liu, Q., Xu, H. B., Zhu, Y. S., Yang, X. L. (2002). Effects of selenium overexposure on glutathione peroxidase and thioredoxin reductase gene expressions and activities. Biol Trace Elem Res, 89(2), 165-175.
10. Harigaya, A., Nagashima, K., Nako, Y., Morikawa, A. (1997). Relationship between concentration of serum leptin and fetal growth. J Clin Endocrinol Metab, 82(10), 3281-3284.
11. Henson, M.C., Castracane, V.D. (2003). Leptin and Reproduction (1st ed.). Kluwer Academic/ Plenum, New York, USA.
12. Jablonska, E., Reszka, E., Gromadzinska, J., Wieczorek, E., Krol, M. B., Raimondi, S., Socha, K., Borawska, M. H., Wasowicz, W. (2016). The effect of selenium supplementation on glucose homeostasis and the expression of genes related to glucose metabolism. Nutrients, 8(12), 772-784.
13. Jamilian, M., Samimi, M., Afshar, E.F., Aghadavod, E., Mohammadbeigi, R., Rahimi, M., Asemi, Z. (2017). Effects of selenium supplementation on gene expression levels of inflammatory cytokines and vascular endothelial growth factor in patients with gestational diabetes. Biol Trace Elem Res, 181(2):199-206.
14. Javanmard, A., Mohammadabadi, M. R., Zarrigabayi, G. E., Gharahedaghi, A. A., Nassiry, M. R., Javadmansh, A., Asadzadeh, N. (2008). Polymorphism within the intron region of the bovine leptin gene in Iranian Sarabi cattle (*Iranian Bos taurus*). Russ J Genet, 44(4), 495-497.
15. Ji, S., Willis, G. M., Scott, R. R., Spurlock, M. E. (2000). Partial cloning and expression of the bovine leptin gene. Anim Biotech, 9(1), 1-14.
16. Jin, L., Zhang, S., Burguera, B. G., Couce, M. E., Osamura, R. Y., Kulig, E., Lloyd, R. V. (2000). Leptin and leptin receptor expression in rat and mouse pituitary cells 1. Endocrinology, 141(1), 333-339.
17. Kojouri, G. A., Shirazi, A. (2007). Serum concentrations of Cu, Zn, Fe, Mo and Co in newborn lambs following systemic administration of vitamin E and selenium to the pregnant ewes. Small Rumin Res, 70(2), 136-139.
18. Kulig, H., Kmiec, M., LUCZAK, I. K., Andziak, G. (2009). Effect of leptin gene polymorphisms on milk production traits of Jersey cows. Turk J Vet Anim Sci, 33(2), 143-146.
19. La Cava, A., Alviggi, C., Matarese, G. (2004). Unraveling the multiple roles of leptin in inflam-

Archive of SID
www.SID.ir

mation and autoimmunity. J Mol Med, 82, 4-11.
20. Liefers, S. C. (2004). Physiology and genetics of leptin in periparturient dairy cows. Domest. Anim Endocrinol, 29(1), 227-238.
21. Liefers, S. C., Te Pas, M. F. W., Veerkamp, R. F., Van Der Lende, T. (2002). Associations between leptin gene polymorphisms and production, live weight, energy balance, feed intake, and fertility in Holstein heifers. J Dairy Sci, 85(6), 1633-1638.
22. Mantzoros, C. (2000). Leptin in search of roles in human physiology and phatophisiology. Clin Endocrinol, 49(5), 551-89.
23. Masuzaki, H., Ogawa, Y., Sagawa, N., Hosoda, K., Matsumoto, T., Mise, H., Nakao, K. (1997). Nonadipose tissue production of leptin: leptin as a novel placenta-derived hormone in humans. Nature Med, 3(9), 1029-1033.
24. Mohammadi, Sh., Movahedin, M., Mola, J. (2011). The effects of selenium on gene expression in the testes of mice older CutSper. Medic. J Tabriz Univ Medic Sci, 32(1), 73-79.
25. Muoio, D. M., Lynis Dohm, G. (2002). Peripheral metabolic actions of leptin. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 16, 653-666.
26. Nassiry, M. R., Shahroudi, F. E., Mousavi, A. H., Sadeghi, B., Javadmanesh, A. (2008). The diversity of leptin gene in Iranian native, Holstein and Brown Swiss cattle. Afr J Biotech, 7(15), 2685-2687.
27. Nobari, K., Ghazanfari, S., Nassiry, M. R., Tahmoorespur, M., Jorjani, E. (2010). Relationship between leptin gene polymorphism with economical traits in Iranian Sistani and Brown Swiss Cows. J Anim Vet Adv, 9(22), 2807-2810.
28. Nuamah, M. A., Sagawa, N., Korita, D., Kakui, K., Takemura, M., Ogawa, Y., FUJII, S. (2004). Significant increase in maternal plasma leptin concentration in induced delivery: a possible contribution of pro-inflammatory cytokines to placental leptin secretion. Endocrine J, 51(2), 177-187.
29. O'Connor, D. M., Blache, D., Hoggard, N., Brookes, E., Wooding, F. P., Fowden, A. L., Forhead, A. J. (2007). Developmental control of plasma leptin and adipose leptin messenger ribonucleic acid in the ovine fetus during late gestation: role of glucocorticoids and thyroid hormones. Endocrinology, 148(8), 3750-3757.
30. Perello, M., Scott, M. M., Sakata, I., Lee, C. E., Chuang, J. C., Osborne-Lawrence, S., Zigman, J. M. (2012). Functional implications of limited leptin receptor and ghrelin receptor coexpression in the brain. J Comp Neurol, 520(2), 281-294.
31. Rashidi Pouya, S., Mohsen kuchesfahani, H., Angaji, A. (2016). The Effect of Propiconazole and Protective Effects of Selenium Gene Expression Profile of Caspase 9 in the Testicular Tissue of Male Sprague Dawley (SD) Rats. Armaghanedanesh, 21(5), 435-445.
32. Rayman, M. P. (2000). The importance of selenium to human health. The Lancet, 356(9225), 233-241.
33. Reitman, M. L., Bi, S., Marcus-Samuels, B., Gavrilova, O. (2001). Leptin and its role in pregnancy and fetal development—an overview. Biochem Soc Trans, 29, 68-72.
34. Ren, X. M., Wang, G. G., Xu, D. Q., Luo, K., Liu, Y. X., Zhong, Y. H., Cai, Y. Q. (2012). The protection of selenium on cadmium-induced inhibition of spermatogenesis via activating testosterone synthesis in mice. Food Chem Toxicol, 50(10), 3521-3529.
35. Shalini, S., Bansal, M. P. (2006). Role of selenium in spermatogenesis: differential expression of cjun and cfos in tubular cells of mice testis. Mol Cell Biochem, 292(1), 27-38.
36. Shalitin, S., Phillip, M. (2003). Role of obesity and leptin in the pubertal process and pubertal growth–a review. Int J Obes Relat Metab Disord, 27, 869-874.
37. Spinedi, E., Gaillard, R. C. (1998). A regulatory loop between the hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis and circulating leptin: a physiological role of ACTH. Endocrinology, 139, 4016-4020.
Van der Lende, T., Te Pas, M. F. W., Veerkamp,
38. R. F., Liefers, S. C. (2005). Leptin gene polymorphisms and their phenotypic associations. Vitam Horm, 71, 373-404.
39. Zhang, J., Wang, H., Bao, Y., Zhang, L. (2004).

Archive of SID
www.SID.ir

Nano red elemental selenium has no size effect in the induction of seleno-enzymes in both cultured cells and mice. Life Sci, 75(2), 237-244.
40. Zhang, J., Wang, H., Yan, X., Zhang, L. (2005). Comparison of short-term toxicity between Nano-Se and selenite in mice. Life Sci, 76(10), 1099-1109.
41. Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L., Friedman, J. M. (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. Nature, 372(6505), 425-431.
42. Zhou, H., Hickford, J. G., Gong, H. (2009). Identification of allelic polymorphism in the ovine leptin gene. Mol Biotechnol, 41(1), 22-25.

Archive of SID

Study of Selenium Nanoparticles and Sodium Selenite Supplementation Effects on Expression of Leptin Gene in Pregnant Ewes Placenta

Pedram Moayeri[1], Gholamali Kojouri[1], Afshin Jafari[1], Ali Mohammad Ahadi[2]

[1]*Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran*
[2]*Department of Genetics, Faculty of Science, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran*

(Received 24 May 2018, Accepted 13 August 2018)

Abstract:

BACKGROUND: Leptin as a cytokine-like hormone is derived from *ob* gene (one of the major effect genes on birth weight and growth traits) and is secreted by adipose tissue. This hormone with binding to its receptors in the hypothalamus, inhibits food intake and increases energy consumption.

OBJECTIVES: There is not any report about expression of leptin gene in response to oral administration of selenium in livestock. In the present study, the effects of selenium nanoparticle and sodium selenite on the transcription of leptin gene in placenta were studied.

METHODS: Twenty, four-month pregnant ewes within the same age were selected randomly. During the 21 days leading up to birth, oral administration of selenium nanoparticles (Se NPs) with dosages of 0.05 and 0.10 mg/kg B.W. and sodium selenite with dosage of 0.1 mg/kg B.W. was carried out. At the same time the control group was fed distilled water in equal volume. With sampling of the placenta during childbirth, transcription amount of leptin gene was determined by RT PCR Real Time based on a comparison assay of $2^{-\Delta\Delta Ct}$.

RESULTS: The results of this study showed that leptin gene is expressed in placental tissue. The oral administration of selenium nanoparticle and sodium selenite caused a significant increment in terms of expression of mentioned gene in comparison to the control treatment. Also, there was a significant difference between the supplements, so that the highest leptin gene expression in placenta was observed in selenium nanoparticle treatment with dose of 0.1 mg and then supplement with selenium nanoparticles with dose of 0.05 mg.

CONCLUSIONS: Selenium causes an increment of leptin gene expression in placental tissue.

Keyword:

Leptin, Oral administration, Pregnant ewes, Selenium nanoparticles

Archive of SID

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Sequence and properties of the primers used in this study.

Graph 1. Leptin gene expression in treatments containing selenium nanoparticle and sodium selenite supplements in pregnant ewes in placental tissue.

***Corresponding author's email: Dr.moayeri@hotmail.com, Tel: 038-32324401, Fax: 038-32324401**

www.SID.ir