

التأثير الوقائي لفيتامين د على الموت المبرمج لعضلة القلب في فئران مصابة بالسمنة

اعداد

خديجة مسعد سعد السلمي
ماجستير علم وظائف الأعضاء

بإشراف

الأستاذ الدكتور

زينب عبدالحفيظ الرفاعي
الأستاذ بقسم علم وظائف الأعضاء

المستخلص العربي

تعتبر نوعية الغذاء ومستوى فيتامين (د) من أهم الأسباب المصاحبة للعديد من أمراض القلب والأوعية الدموية. ويستدل على ذلك من خلال الموت المبرمج لخلايا القلب والتي تكون مرتبطة بالسيتوكينات المحرصة للالتهاب والإجهاد التأكسدي. ولقد تمت دراسات سابقة على التأثير طويل المدى للغذاء مرتفع الدهون على موت الخلايا القلبية بصورة مبرمجة. ولكن لم يدرس تأثير طويل المدى للغذاء مرتفع الدهون على البروتينات الفاصلة وعلاقتها بموت الخلايا المبرمج.

لذلك فإن هذه الدراسة تهدف إلى تحديد مدى تأثير الاستهلاك طويل المدى للغذاء مرتفع الدهون على علامات تحديد الإصابة بأمراض القلب، وعلى طرق موت الخلايا، والإجهاد الالتهابي والتأكسدي، والبروتينات الفاصلة للميتوكوندريا، وكذلك دراسة دور فيتامين د مع الغذاء مرتفع الدهون وتأثيره على نشاط الجينات المسؤولة عن الموت المبرمج لخلايا القلب.

تمت هذه الدراسة على ستون (60) فأر وقسمت إلى مجموعتين رئيسيتين كل منها ثلاثون (30) فأر، المجموعة الرئيسية الأولى لمدة ثلاث شهور والمجموعة الرئيسية الثانية لمدة 6 شهور. وقسمت كل مجموعة رئيسية إلى أربع مجموعات فرعية كالتالي:

المجموعة الفرعية الأولى: المجموعة الضابطة والتي تناولت غذاء بنسبة دهون 10% (عدد=5)

المجموعة الفرعية الثانية: والتي تناولت غذاء بنسبة دهون 10% مصحوب بفيتامين (د) بجرعات قدرها 400 وحدة دولية / كجم / يوم بالفم (عدد = 5)

المجموعة الفرعية الثالثة: والتي تناولت غذاء بنسبة دهون 45% (عدد=10)

المجموعة الفرعية الرابعة: والتي تناولت غذاء بنسبة دهون 45% مصحوب بجرعات من فيتامين (د) قدرها 400 وحدة دولية / كجم / يوم بالفم (عدد=10).

في بداية التجارب تم قياس وزن الجسم، ومؤشر كتلة الجسم، وتكرر ذلك كل 45 يوم وفي نهاية التجارب. في نهاية التجارب تم أخذ عينات من الدم من جميع الفئران، وتم قياس مستوى الكوليسترول الكلي، والكوليسترول منخفض الكثافة، والكوليسترول مرتفع الكثافة، والدهون الثلاثية، ومستوى الكالسيوم، والكورتيزول.

ثم تم أخذ عينات من أنسجة القلب ووضعها في الحمض النووي الريبوزي (RNA) لاحقاً وذلك لإجراء التقييم الكمي الزمني (RT-PCR).

وقد أظهرت النتائج في نسيج القلب لجميع الفئران التي تناولت الغذاء مرتفع الدهون زيادة في نشاط كل من الجين $TNF-\alpha$ والجين MDA بصورة ملحوظة احصائياً بينما أدى تناول فيتامين د إلى منع نشاط هذه الجينات وذلك بمقارنتها بالمجموعات الضابطة.

كما أن تغذية فئران التجارب بالغذاء مرتفع الدهون أدى إلى زيادة نشاط الجينات في كل من (Fas) و (Fas-L) في أنسجة القلب وكانت هذه الزيادة ملحوظة احصائياً. وأظهرت النتائج ان تناول فيتامين د أدى إلى منع نشاط هذه الجينات.

بالإضافة إلى ذلك، فقد نشط الجين الوراثي (BAX) بصورة ملحوظة احصائيا في فئران التجارب التي خضعت للغذاء مرتفع الدهون لمدة ٦ أشهر ، كما لوحظ أيضا زيادة نشاط في جين (BCL2) ، ومنع نشاط الجين (BAX) في فئران التجارب التي تناولت الغذاء مرتفع الدهون مع فيتامين (د).

وقد تبين من نتائج الدراسة ظهور زيادة ملحوظة احصائيا في نشاط جين البروتينات الفاصلة (UCP2) بعد مرور ٣ أشهر من تناول الغذاء مرتفع الدهون، وبتمديد المدة الى ٦ أشهر من تناول الغذاء مرتفع الدهون أختفى هذا النشاط للجين (UCP2).

على العكس من ذلك، تبين وجود نشاط ملحوظ احصائيا للبروتينات الفاصلة (UPC3) بعد تناول الغذاء مرتفع الدهون في نهاية كلا من ٣ ، ٦ شهور مقارنة بالفئران في المجموعات الضابطة. كما تبين أن تناول فيتامين (د) مع الغذاء مرتفع الدهون ادى الى انخفاض في النشاط الجيني البروتينات الفاصلة (UPC2) ، (UPC3) وذلك بالمقارنة بالمجموعات الضابطة .

ونستنتج من هذه النتائج التأثير السلبي للغذاء مرتفع الدهون وكذلك الدور الوقائي لفيتامين د على الإجهاد التأكسدي والالتهابي وكذلك الموت المبرمج لأنسجة القلب. وأظهرت النتائج اكتشاف تأثير تناول الغذاء مرتفع الدهون على جينات البروتينات الفاصلة (UCP2) و (UCP3) وكذلك اكتشاف دور فيتامين د كمانع لهذا النشاط. وتوصي الدراسة بأجراء مزيد من الأبحاث لتأكيد هذه العلاقة.

POTENTIAL PROTECTIVE EFFECT OF VITAMIN D ON CARDIAC APOPTOSIS IN OBESE RATS.

BY

KHADEEJAH MESAID SAAD ALSOLAMI

Supervised By

Prof. Dr. Zienab Alrefaie

Professor of Physiology, Faculty of Medicine

Abstract

Background: Both diet quality and vitamin D status are important factors associated with many cardiovascular risk factors. Cardiac apoptosis has been associated to proinflammatory cytokines and oxidative stress, while implications of uncoupling proteins (UCPs) in cardiac apoptosis was not much investigated and the effects of long-term high fat diet (HFD) consumption on cardiac uncoupling proteins (UCPs) was not previously examined according to the available literature.

The current work aimed to assess the effect of chronic consumption of HFD on the cardiac markers of; both apoptotic pathways, inflammatory and oxidative stresses and mitochondrial uncoupling and whether vitamin D supplementation with HFD would alter the expression of these markers.

Materials and methods:

30 rats were divided into the following groups: Group I: Control, received the standard diet (10%fat) for 3 months (n= 5). Group II: received the standard diet for 3 months with vitamin D 400 IU/kg/day oral gavage (n=5). Group III: received HFD (45% fat) for 3 months (n=10), Group IV: received HFD for 3 months with vitamin D 400 IU/kg/day oral gavage (n=10).

Another 30 rats were divided into the same previous groups, but the duration was extended to 6 months. Body weight and BMI were assessed at the start, every 45 days and at the end of the experiment. At the end of the experiment, blood samples were collected and sera were used to measure levels of total Cholesterol (TC), LDL, HDL, triglycerides, calcium and cortisol. Rats were sacrificed by decapitation under diethyl

ether and heart specimens were preserved in RNA later for the quantitative real-time RT-PCR assessments.

Results: TNF was highly expressed in the hearts of HFD group and treatment of vitamin D decreased TNF expression towards the control group. MDA was significantly up-regulated in hearts of HFD fed rats while it got significantly down-regulated in response to vitamin D supplementation with the HFD. Also, HFD feeding increased Fas-L expression in the cardiac tissue while, vitamin D supplementation with HFD reduced the expression of both Fas and Fas-L towards control levels. Moreover, the BAX gene was highly expressed in HFD fed rats for 6 months and an up-regulation of BCL2 and down regulation of BAX was observed in rats fed HFD with vitamin D. The present findings revealed significant up-regulation of UCP2 following 3 months of HFD, this up-regulation got reversed after more 3 months of continuous HFD. On the contrary, UCP3 showed persistent up-regulation in response to HFD at the end of both 3 and 6 months compared to control rats. Vitamin D supplementation with HFD brought expression levels of both UCP2 and 3 towards control levels at the end of the experiment.

Conclusion: The present findings confirm the negative impact of HFD ingestion on cardiomyocytes and the beneficial effects of vitamin D supplementation on apoptotic, inflammatory and oxidative markers. The current work highlighted two novel findings; the effect of long term HFD consumption on cardiac expression of UCP 2&3 and their downregulation in response to vitamin D supplementation. The current observations expand our knowledge concerning the cardiac beneficial effects of vitamin D against chronic consumption of HFD. Future studies are required to establish the possible association between vitamin D status and cardiac mitochondrial uncoupling.