ORIGINAL ARTICLE

Effect of Trehalose on the Expression of Heat Shock Protein 70 Gene in PC12 Cells Treated with Hydrogen Peroxide

Mahdieh Nazari-Robati[1],
Akram Norouzi[2],
Roya Nasouti[3]

[1] Assistant Professor, Department of Clinical Biochemistry, Afzalipour School of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
[2] MSc in Clinical Biochemistry, Afzalipour School of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
[3] MSc Student in Clinical Biochemistry, Afzalipour School of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

(Received October 5, 2018 ; Accepted February 5, 2019)

Abstract

Background and purpose: Oxidative stress is implicated in the pathogenesis of various diseases, including neurological disorders. In such stressful conditions, heat shock protein 70 (HSP70) protects cells, thus its pharmacological induction can be protective. The disaccharide trehalose exhibits various beneficial effects, including antioxidative effect. However, its impact on HSP70 is not obvious. This study was conducted to investigate the effect of trehalose on HSP70 gene expression in rat pheochromocytoma PC12 cells treated with hydrogen peroxide.

Materials and methods: PC12 cells were pretreated with trehalose (12.5, 25, 50 mM) for 24 hours, and then were treated with hydrogen peroxide (100 μM) for 24 hours. Cell viability was determined via MTT assay and HSP70 gene expression was measured using Real-time polymerase chain reaction.

Results: Trehalose pretreatment increased viability of PC12 cells exposed to hydrogen peroxide in a dose dependent manner. Furthermore, HSP70 gene expression upregulated in cells that were pretreated with trehalose. The highest gene expression was at 50 mM trehalose.

Conclusion: Current study showed that terhalose protects PC12 cells against hydrogen peroxide by increasing the expression of HSP70 gene.

Keywords: trehalose, heat shock protein 70, oxidative stress

J Mazandaran Univ Med Sci 2019; 29 (172): 1-9 (Persian).

*** Corresponding Author: Mahdieh Nazari-Robati**- Afzalipour School of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran (E-mail: mnazari@kmu.ac.ir)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-03]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و نهم شماره ۱۷۲ اردیبهشت سال ۱۳۹۸ (۹-۱)

اثر ترهالوز بر بیان ژن پروتئین شوک حرارتی ۷۰ در سلول های PC12 تیمار شده با پراکسید هیدروژن

مهدیه نظری رباطی[۱]
اکرم نوروزی[۲]
رویا ناسوتی[۳]

چکیده

سابقه و هدف: استرس اکسیداتیو در پاتوژنز بیماری‌های مختلفی از جمله اختلالات عصبی دخیل می‌باشد. در این شرایط استرس‌زا، پروتئین شوک حرارتی ۷۰ (HSP70) از سلول‌ها مراقبت می‌کند. لذا، القاء فارماکولوژیک آن می‌تواند اثر محافظتی داشته باشد. دی ساکارید ترهالوز دارای اثرات مفید متعددی از جمله اثر آنتی اکسیدانی است. اما اثر آن بر روی HSP70 مشخص نمی‌باشد. بنابراین، این مطالعه به منظور بررسی اثر ترهالوز بر بیان ژن HSP70 در سلول‌های PC12 فئوکروموسیتومای موش صحرایی که با پراکسید هیدروژن تیمار شدند صورت گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، سلول‌های PC12 با ترهالوز (۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ میلی مولار) به مدت ۲۴ ساعت پیش تیمار شدند. سپس، با پراکسید هیدروژن (۱۰۰ میکرومولار) به مدت ۲۴ ساعت تیمار شدند. سپس، میزان بقای سلول‌ها به روش MTT بررسی شد. علاوه براین، بیان ژن HSP70 به روش Real-time polymerase chain reaction اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که پیش تیمار با ترهالوز به صورت وابسته به دوز، بقای سلول‌های PC12 را که با پراکسید هیدروژن مواجهه یافتند افزایش می‌دهد. علاوه بر این، بیان ژن HSP70 در این سلول‌ها که با ترهالوز پیش تیمار شدند افزایش یافت. همچنین، حداکثر مقدار بیان این ژن در غلظت ۵۰ میلی مولار ترهالوز به دست آمد.

استنتاج: مطالعه حاضر نشان داد که ترهالوز از طریق افزایش بیان ژن HSP70 ، از سلول‌های PC12 در برابر پراکسید هیدروژن محافظت می‌کند.

واژه های کلیدی: ترهالوز، پروتئین شوک حرارتی ۷۰، استرس اکسیداتیو

مقدمه

بیماری‌های نورودژنراتیو مانند آلزایمر و پارکینسون، بیماری‌های دژنراتیو مزمن سیستم عصبی مرکزی هستند. ویژگی مهم این بیماری‌ها، آسیب پیشرونده نورون‌ها است که باعث کاهش عملکرد مغز می‌شود. با وجود تظاهرات بالینی متفاوت، بیماری‌های نورودژنراتیو دارای علائم مشترکی مثل نقص سیناپسی، سطح بالای استرس اکسیداتیو و التهاب می‌باشند. استرس اکسیداتیو به دنبال افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن‌دار (ROS یا Reactive oxygen species) مثل پراکسید هیدروژن، رادیکال‌های سوپراکسید و هیدروکسیل و کاهش دفاع

مولف مسئول: مهدیه نظری رباطی- کرمان: انتهای بلوار ۲۲ بهمن، دانشگاه شهید باهنر، دانشکده پزشکی افضلی پور E-mail: mnazari@kmu.ac.ir
۱. استادیار، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی افضلی پور، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران
۲. کارشناس ارشد بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی افضلی پور، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران
۳. دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی افضلی پور، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۷/۷/۱۳ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۷/۹/۵ تاریخ تصویب : ۱۳۹۷/۱۱/۱۷

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-03]

آنتی‌اکسیدانی ایجاد می‌شود. این گونه‌ها می‌توانند باعث آسیب به DNA، اکسیداسیون پروتئین‌ها، پراکسیداسیون لیپیدها و در نهایت آپوپتوز سلول‌های عصبی گردند(۲،۱). H_2O_2 یکی از گونه‌های فعال اکسیژن‌دار است که به عنوان یک محصول جانبی در فرایندهایی مثل اکسیداسیون دوپامین، تجمع آمیلوئید و ایسکمی مغزی ایجاد می‌شود. این ترکیب باعث القای استرس اکسیداتیو و آپوپتوز در سلول‌های مختلف از جمله نورون‌ها می‌شود(۴،۳).

تحت شرایط استرس زا مانند شوک حرارتی، التهاب، استرس اکسیداتیو، هیپوکسی و عفونت، بیان پروتئین‌های شوک حرارتی (Heat shock protein, HSP) افزایش پیدا می‌کند. به طور کلی، HSPها در پستانداران براساس وزن مولکولی به شش خانواده تقسیم می‌شوند. در بین آن‌ها، خانواده HSP70 از نظر تکاملی بسیار حفظ شده و معروف می‌باشد. این خانواده به صورت وابسته به ATP به عنوان چاپرون در تاخوردن، تخریب، ایجاد کمپلکس و جابجایی پروتئین‌ها نقش ایفا می‌کند و مانع از تجمع پروتئین‌ها می‌شود(۵).

نوع قابل القا این خانواده که به HSP70i و HSP72 یا به طور کلی HSP70 معروف است توسط انواعی از محرک‌های استرس زا القا می‌شود. در سیستم عصبی، بیان HSP70 در انواعی از شرایط پاتولوژیک مثل بیماری های نورودژنراتیو، ایسکمی مغزی، ضربه و صرع افزایش می‌یابد(۷،۶). مطالعات نشان می‌دهند که افزایش HSP70 در این شرایط از طریق دو مکانیسم باعث محافظت از سلول‌های عصبی می‌شود. اول این که، به علت داشتن خاصیت چاپرونی مانع از تجمع پروتئین‌های آسیب دیده در سلول می‌شود. دوم این که، باعث کاهش التهاب و مهار آپوپتوز در سلول‌های عصبی می‌گردد. بنابراین، استراتژی‌های درمانی که باعث افزایش HSP70 شوند می‌توانند برای بهبود آسیب‌های عصبی به کار برده شوند(۹،۸).

ترهالوز، یک دی‌ساکارید غیراحیا کننده است که از دو مولکول گلوکز تشکیل شده است. این ترکیب در بسیاری از ارگانیسم‌ها مثل مخمرها، قارچ‌ها، باکتری‌ها و گیاهان وجود دارد و از آن‌ها در برابر استرس‌های محیطی محافظت می‌کند(۱۰). مطالعات نشان دادند که ترهالوز به عنوان چاپرون شیمیایی عمل می‌کند و با پایدار کردن پروتئین‌ها در برابر عوامل دناتوره کننده مثل شوک حرارتی و استرس اکسیداتیو، مانع از تجمع آن‌ها می‌شود(۱۱). از طرف دیگر، ترهالوز دارای اثرات ضد التهابی است. به‌عنوان مثال، ترهالوز می‌تواند پاسخ‌های التهابی و به دنبال آن آسیب اکسیداتیو را در سلول‌های ماکروفاژ تحریک شده با لیپوپلی ساکاریدکاهش دهد(۱۲). همچنین، بررسی اثر ترهالوز بر سطح آپوپتوز در سلول‌های عصبی PC12 نشان داد که ترهالوز در شرایط نوروتوکسیک ایجاد شده توسط برخی از فاکتورهای التهابی، مرگ سلول‌ها را کاهش می‌دهد(۱۳).

گرچه، مطالعات حاکی از اثرات محافظتی ترهالوز از سلول در شرایط استرس زا هستند اما اثر ترهالوز بر HSP70 که یک فاکتور تنظیم کننده پاسخ سلول به استرس‌های محیطی می‌باشد مشخص نشده است. بنابراین، این مطالعه با هدف بررسی اثر ترهالوز بر بیان ژن HSP70 در شرایط نوروتوکسیک ایجاد شده بوسیله پراکسید هیدروژن در سلول‌های PC12 ، به عنوان مدلی از سلول‌های عصبی، انجام شد.

مواد و روش ها

کشت سلول

سلول‌های فئوکروموسیتومای موش صحرایی (PC12) به شماره ATCC CRL-1721 از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران تهیه شد. سلول‌ها در محیط کشت DMEM دارای ۱۰ درصد FBS و ۱ درصد آنتی‌بیوتیک‌های پنی سیلین و استرپتومایسین، در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵ درصد دی‌اکسیدکربن کشت داده شدند. محیط کشت سلول‌ها هر دو روز یک بار عوض شد تا سلول‌ها از نظر تعداد به تراکم مناسب (Confluent) حدود ۸۰ درصد برسند.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-03]

سپس، سلول‌ها از کف فلاسک توسط آنزیم Trypsin/EDTA ۱ درصد جدا و پاساژ داده شدند. از این سلول‌ها برای مراحل بعدی مطالعه استفاده شد.

سنجش بقای سلولی

برای تعیین غلظت‌های سیتوتوکسیک مواد به کار رفته جهت تیمار سلول‌ها از روش MTT (3,(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5 diphenyltetrazolium bromide) استفاده شد. در این روش، نمک تترازولیوم توسط آنزیم سوکسینات دهیدروژناز میتوکندری در سلول‌های زنده به بلورهای نامحلول فورمازان تبدیل می‌شود که پس از افزودن حلال DMSO حل شده و رنگ ارغوانی ایجاد می‌کند. با سنجش جذب نوری می‌توان میزان سلول‌های زنده را تعیین کرد. برای انجام این آزمایش، محلول ذخیره MTT با حل کردن ۵۰ میلی‌گرم پودر آن در ۱۰ میلی‌لیتر بافر فسفات سالین (Phosphate buffer saline, PBS) تهیه شد. سپس، محلول کاری با رقیق کردن ۱ میلی لیتر از محلول ذخیره با ۹ میلی لیتر محیط کشت آماده شد. تعداد ۵×۱۰^{۳} سلول در هر چاهک از پلیت ۹۶ خانه کشت داده شد. سپس، تیمار سلول‌ها با غلظت‌های مختلف ترهالوز و پراکسید هیدروژن به صورت جداگانه و همزمان صورت گرفت. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، محیط کشت سلول‌ها تخلیه شد و ۲۰۰ میکرولیتر از محلول کاری MTT به هر چاهک اضافه شد. سپس، پلیت به مدت ۲ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد. پس از برداشتن محلول رویی، ۲۰۰میکرولیتر DMSO اضافه شد تا بلورهای فورمازان حل شوند. جذب محلول در طول موج ۴۹۰ نانومتر قرائت و درصد بقای سلول‌ها نسبت به شاهد محاسبه شد.

تیمار سلول ها

جهت بررسی بیان ژن HSP70، تعداد ۲×۱۰^{۵} سلول در هر چاهک از پلیت ۶ خانه کشت داده شد. پس از ۱۶ ساعت انکوباسیون در انکوباتور، سلول‌ها با غلظت‌های مختلف ترهالوز (۵۰، ۲۵، ۱۲/۵ و ۰ میلی‌مولار) به مدت ۲۴ ساعت تیمار شدند. سپس، سلول‌ها در معرض پراکسید هیدروژن با غلظت ۱۰۰ میکرومولار به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند. پس از جدا کردن سلول‌ها از کف پلیت و سانتریفیوژ، سلول‌ها برای انجام مراحل بعدی جمع‌آوری شدند.

استخراج RNA، سنتز cDNA و انجام Real-time PCR

استخراج RNA از سلول‌های جمع آوری شده با استفاده از معرف ترایزول (Korea و Geneall) صورت گرفت(۱۴). پس از بررسی کمی و کیفی RNA استخراج شده، با استفاده از کیت سنتز cDNA (Japan و Takara) و براساس دستورالعمل موجود در کیت، سنتز cDNA از روی RNA انجام گرفت. پرایمرها با استفاده از نرم افزار Oligo Analyzer طراحی شدند و برای اطمینان از اختصاصی بودن پرایمرها BLAST صورت گرفت. پرایمرها از شرکت پیشگام تهیه شدند. توالی پرایمرها برای ژن HSP70 و ژن گلیسرآلدهید ۳-فسفات دهیدروژناز (GAPDH) که به عنوان ژن کنترل داخلی مورد استفاده قرار گرفت به صورت زیر بود:

توالی رفت ژن HSP70: 5′-TCAAGGGCAAGATCAGCGAG-3′
توالی برگشت ژن HSP70: 5′-TCAGCCAGCGTGTTAGAGTC-3′
توالی رفت ژن GAPDH: 5′-AACCCATCACCATCTTCCAG-3′
توالی برگشت ژن GAPDH: 5′-GTGGTTCACACCCATCACAA-3′

سپس، واکنش‌ها با استفاده از کیت Master mix SYBR green (Denmark و Amplicon) و دستگاه Mic Real-time PCR انجام گرفت. سیکل دمایی به کار برده شده برای انجام Real-time PCR شامل یک مرحله دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه و ۴۰ سیکل شامل مراحل دناتوراسیون در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه، اتصال پرایمر در دمای ۶۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۵ ثانیه و طویل شدن در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-03]

مدت ۱۵ ثانیه بود. نتایج هم با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ به منظور تعیین میزان تغییر بیان ژن HSP70 در گروه تیمار شده با ترهالوز نسبت به گروه شاهد آنالیز شد.

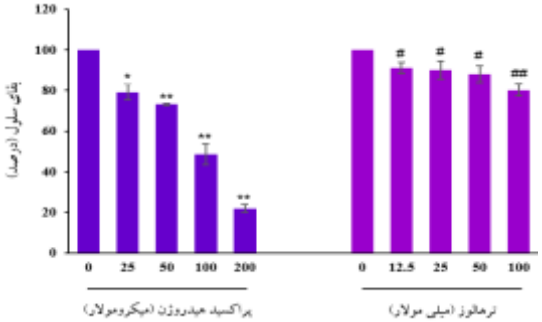
بررسی آماری

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ و آزمون‌های آماری One-way ANOVA و Tukey's Post-hoc مورد بررسی قرار گرفت. مقدار P کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد. نتایج به صورت میانگین± انحراف معیار گزارش شد.

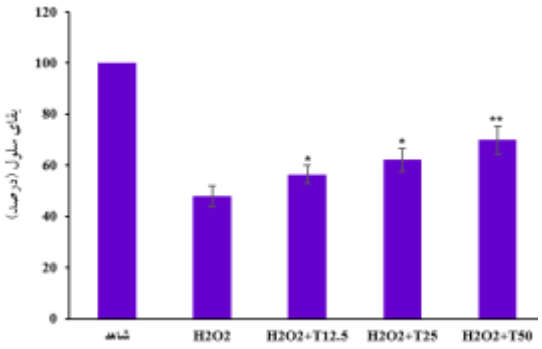
یافته ها

بررسی بقای سلولی

نتایج نشان داد که بقای سلول‌ها پس از ۲۴ ساعت تیمار با ترهالوز به غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار حدود ۸۰ درصد گروه شاهد بود. همچنین، با کاهش غلظت ترهالوز به ۵۰ میلی‌مولار، درصد سلول‌های زنده افزایش یافت. اما تفاوت قابل توجهی در بقای سلول‌ها بین غلظت‌های ۵۰، ۲۵ و ۱۲/۵ میلی مولار که به ترتیب ۸۸، ۹۰ و ۹۱ درصد بود مشاهده نشد (P>۰/۰۵). از طرف دیگر، میزان بقای سلول‌های PC12 که به مدت ۲۴ ساعت با پراکسید هیدروژن تیمار شدند نسبت به گروه شاهد کاهش یافت. این کاهش وابسته به غلظت پراکسید هیدروژن بود. به طوری که در غلظت های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار پراکسید هیدروژن به ترتیب ۷۹، ۷۳، ۴۹ و ۲۲ درصد سلول‌ها باقی مانده بود (نمودار شماره ۱). برای بررسی بقای سلول‌ها که با ترهالوز پیش تیمار شده و سپس در معرض پراکسید هیدروژن قرار گرفتند از غلظت ۱۰۰ میکرومولار پراکسید هیدروژن استفاده شد. نتایج نشان داد که ترهالوز باعث افزایش بقای سلول‌ها در حضور پراکسید هیدروژن می‌شود. همچنین، درصد سلول‌های زنده با افزایش غلظت ترهالوز افزایش می‌یابد. به طوری که میزان بقای سلول‌ها در غلظت‌های ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ میلی‌مولار ترهالوز به ترتیب ۵۶، ۶۲ و ۷۰ درصد نسبت به گروه شاهد بود (نمودار شماره ۲).



نمودار شماره ۱: میزان بقای سلول های PC12 پس از تیمار با پراکسید هیدروژن (سمت چپ) و ترهالوز (سمت راست) به مدت ۲۴ ساعت. * P<۰/۰۵ و** P<۰/۰۱ در گروه تیمار شده با پراکسید هیدروژن نسبت به گروه شاهد (غلظت صفر). # P<۰/۰۵ و ## P<۰/۰۱ در گروه تیمار شده با ترهالوز در مقایسه با گروه شاهد (غلظت صفر).



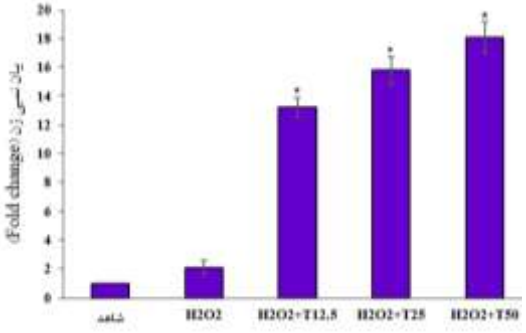
نمودار شماره ۲: اثر غلظت های مختلف ترهالوز (۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ میلی مولار) بر میزان بقای سلول های PC12 تیمار شده با پراکسید هیدروژن (۱۰۰ میکرومولار) به مدت ۲۴ ساعت. * P<۰/۰۵ و ** P<۰/۰۱ نسبت به گروهی که فقط با پراکسید هیدروژن تیمار شده است.

بررسی بیان ژن HSP70

نتایج نشان داد که میزان بیان ژن HSP70 در گروه تیمار شده با پراکسید هیدروژن به غلظت ۱۰۰ میکرومولار به ۲/۱ برابر گروه شاهد افزایش یافت (p<۰/۰۱). همچنین، در گروه‌های تیمار شده با ترهالوز و پراکسید هیدروژن، بیان نسبی ژن HSP70 افزایش معنی‌داری نسبت به گروه‌های شاهد و پراکسید هیدروژن

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-03]

نشـان داد (p<۰/۰۰۱). بـه طـوری کـه مقـدار بیـان ژن HSP70 در گروه‌های تیمار شـده بـا غلظـت‌هـای ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ میلی‌مولار از ترهالوز بـه ترتیـب ۱۳/۲، ۱۵/۸ و ۱۸/۱ برابـر آن در گـروه شـاهد بـود. همچنـین تفـاوت معنی‌داری در بیان ژن HSP70 بین سه گروه تیمـار شـده بـا ترهالوز درحضور پراکسید هیدروژن مشاهده شد(p<۰/۰۱) که نشان داد ترهالوز به صورت وابسته به غلظـت باعـث القای بیان ژن HSP70 شده است (نمودار شماره ۳).



نمودار شماره ۳: اثر غلظت های مختلـف ترهـالوز (۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ میلی مولار) بر میزان بیـان ژن HSP70 در سـلول هـای PC12 تیمـار شده با پراکسید هیدروژن (۱۰۰ میکرومولار) به مدت ۲۴ ساعت که بـه روش Real-time polymerase chain reaction انـدازه گیـری شد. * P<۰/۰۰۱ نسبت به گروهی کـه فقـط بـا پراکسـید هیـدروژن تیمار شده است.

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که پراکسید هیدروژن در غلظت‌های به کار رفته دارای اثرات سیتوتوکسیک بوده و باعث کاهش بقای سلول‌هـای رده PC12 شـده اسـت. این ترکیب در غلظت ۱۰۰ میکرومولار باعث مهار رشد سلول تا میزان ۴۹ درصد نسبت به گروه شـاهد شـد. اثـر سیتوتوکسیک پراکسید هیدروژن در ایـن غلظـت‌هـا در مطالعات دیگر هم تایید شده اسـت(۱۶،۱۵). بـه‌طـور طبیعـی، مقـدار انـدکی پراکسـید هیـدروژن در سـلول از منـابع مختلف تولید می‌شود. اما، افزایش غلظت آن می‌تواند از طریق آسیب به غشـای سـلول و هسـته، کـاهش پتانسـیل غشا میتوکندری، کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسـیدان و افزایش فعالیـت عوامـل مسـیر آپوپتـوز سـلولی باعـث کاهش بقای سلول‌ها شود. بنابراین، از این ترکیب اغلب به عنوان مدل تجربی برای مطالعه آسیب‌های سلولی مثل استرس اکسیداتیو و یا برای بررسی اثر درمانی ترکیبـات جدید استفاده می‌شود(۱۸،۱۷).

در بررسی حاضـر، میـزان بقـای سـلول‌هـای PC12 تیمار شده بـا ترهـالوز بـه غلظـت ۱۰۰ میلـی مـولار، ۸۰ درصد و غلظت ۵۰ میلی مولار، ۸۸ درصد به دست آمد. Lan و همکاران هـم در مطالعـه خـود نتـایج مشـابهی را گزارش کردند و احتمال دادنـد کـه غلظـت‌هـای بـالای ترهالوز از طریق تغییر اسمولالیته محیط باعـث کـاهش بقای سلول‌ها شده است(۱۹).

در این مطالعـه مشـخص شـد کـه ترکیـب ترهـالوز دارای اثـر نوروپروتکتیـو اسـت و باعـث افـزایش بقـای سـلول‌هـای عصـبی PC12 در برابـر پراکسـید هیـدروژن می‌شود. این در حالی اسـت کـه ترهـالوز بـه تنهـایی در غلظـت‌هـای ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ میلـی‌مـولار میـزان بقـای سلول‌ها را به حدود ۹۰ درصد کاهش داد. ممکن اسـت این تفاوت، مربوط به اثر آنتی اکسـیدانی ترهـالوز باشـد که به صورت وابسته به دوز باعث کاهش اثـر پراکسـید هیدروژن شـده اسـت. ترهـالوز، یـک قنـد دی‌سـاکارید است اما بـه علـت داشـتن عملکردهـای متعـدد مثـل اثـر محافظتی در برابر استرس‌ها از جمله اسـترس اکسـیداتیو از سایر دی ساکاریدها متمـایز مـی‌باشـد. همچنـین، ایـن ترکیب باعث کاهش پاسخ‌های التهابی شده و مـی‌توانـد در درمان بیماری‌های التهابی به کـار رود. اخیـرا، مـا در مطالعه‌ای نشـان دادیـم کـه ترهـالوز مـی توانـد اسـترس اکسیداتیو و التهاب ناشـی از ضـربه نخـاعی را در محـل آسیب کاهش دهد(۲۰). همچنین ترهالوز از طریـق فعـال کردن پروتئازم مانع از تجمع پـروتئین‌هـا در سـلول‌هـای عصـبی پـس از ایسـکمی مـی‌شـود(۲۱). عـلاوه بـر ایـن، ترهالوز برای حفظ ساختار و فعالیت ماکرومولکول‌هـای بیولوژیکی، ویتامین‌ها، واکسن‌ها و سـلول‌هـای زنـده در غلظت مناسب استفاده می‌شود(۱۲).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-03]

بررسی بیان ژن HSP70 در این مطالعه نشان داد که بیان این ژن در گروه مواجهه یافته با پراکسید هیدروژن افزایش یافته است.HSP ها نقش مهمی در دفاع سلول در برابر استرس‌های مختلف ایفا می‌کنند. این پروتئین‌ها براساس وزن مولکولی به انواع HSP100، HSP90، HSP70، HSP60، HSP40 و HSPهای کوچک تقسیم می‌شوند(۲۲). خانواده HSP70 از اعضای مهمی شامل HSP70 یا HSP73 که دارای بیان پایه است، GRP78/Bip که در شبکه اندوپلاسمی قرار دارد، mtHSP70 که در میتوکندری وجود دارد و HSP72 یا به‌طور کلی HSP70 که نوع قابل القا می‌باشد تشکیل شده است. تحت شرایط استرس زا مثل استرس اکسیداتیو مقدار HSP70 افزایش می‌یابد. HSP70 به عنوان چاپرون مولکولی عمل می‌کند و مانع از بد تاخوردن پروتئین‌ها و تجمع آن‌ها می‌شود(۲۳). احتمالا افزایش بیان ژن HSP70 پس از تیمار سلول ها با پراکسید هیدروژن به منظور مقابله با استرس ایجاد شده و تجمع پروتئین‌های آسیب دیده صورت گرفته است.

در مطالعه حاضر مشخص شد که پیش تیمار سلول‌ها با غلظت‌های مختلف ترهالوز و سپس مواجهه آن‌ها با غلظت ثابتی از پراکسید هیدروژن هم باعث افزایش قابل توجهی در بیان ژن HSP70 به صورت وابسته به دوز ترهالوز می‌شود که نشان می دهد ترهالوز باعث القای بیان ژن HSP70 شده است. علاوه بر این، نتایج آزمایش MTT نشان داد که میزان بقای سلولی در این گروه ها افزایش یافته است. بنابراین، احتمال دارد که ترهالوز از طریق افزایش سطح HSP70 باعث کاهش آسیب سلولی القا شده توسط پراکسید هیدروژن و افزایش بقای سلول شده باشد. برای توجیه این مطلب می‌توان به نقش دیگر HSP70 اشاره کرد که می‌تواند آپوپتوز یا مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی را مهار کند. مطالعات نشان می‌دهند که افزایش بیان HSP70 در انواعی از مدل‌های استرس سلولی مانع از فعال شدن کاسپازها (Caspases) و آپوپتوز می‌شود. در حالی که، کاهش سطح HSP70 باعث افزایش حساسیت سلول‌ها به عوامل تحریک کننده آپوپتوز می‌گردد(۲۵،۲۴).

علاوه براین، نتایج این مطالعه نشان داد که اثر ترهالوز بر بیان ژن HSP70 و بقای سلول‌هایی که در معرض پراکسید هیدروژن قرار گرفتند وابسته به غلظت ترهالوز است. He و همکاران هم نشان دادند که ترهالوز به صورت وابسته به دوز باعث افزایش بقای سلول‌های BV-2 که در معرض لیپوپلی ساکارید قرار گرفته‌اند می‌شود(۱۳).

به طور کلی، در این مطالعه مشخص شد که ترهالوز باعث افزایش بیان ژن HSP70 و بقای سلول‌های PC12 که در معرض پراکسید هیدروژن قرار گرفتند می‌شود. اثرات مشاهده شده وابسته به غلظت ترهالوز می باشد، اما تعیین مکانیسم اثر ترهالوز بر بیان ژن HSP70 و آپوپتوز سلول های عصبی مشخص نیست و بررسی آن‌ها در مطالعات بعدی پیشنهاد می‌شود.

سپاسگزاری

مقاله حاضر از طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی کرمان به شماره ۹۳/۶۳ استخراج شده است. بدین وسیله از همکاری تمام افرادی که در اجرای این مطالعه همکاری داشته‌اند سپاسگزاری می‌کنیم.

References

1. Halliwell B. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? J Neurochem 2006; 97(6): 1634-1658.
2. Jellinger KA. Basic mechanisms of neurodegeneration: a critical update. J Cell Mol Med 2010; 14(3): 457-487.
3. Hu XL, Niu YX, Zhang Q, Tian X, Gao LY, Guo LP, et al. Neuroprotective effects of Kukoamine B against hydrogen peroxide-induced apoptosis and potential mechanisms

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-03]

in SH-SY5Y cells. Environ Toxicol Pharmacol 2015; 40(1): 230-240.

4. Chen B, Yue R, Yang Y, Zeng H, Chang W, Gao N, et al. Protective effects of (E)-2-(1-hydroxyl-4-oxocyclohexyl) ethyl caffeine against hydrogen peroxide-induced injury in PC12 cells. Neurochem Res 2015; 40(3): 531-541.
5. He L, Deng T, Luo Hs. Heat shock protein 70 gene polymorphisms and cancer risk: a meta-analysis. Scientific World J 2014; 2014: 540309.
6. Turturici G, Sconzo G, Geraci F. Hsp70 and its molecular role in nervous system diseases. Biochem Res Int. 2011; 2011: 618127.
7. Kim JY, Yenari MA. The immune modulating properties of the heat shock proteins after brain injury. Anat Cell Biol 2013; 46(1): 1-7.
8. Franklin TB, Krueger-Naug A, Clarke D, Arrigo AP, Currie Rw. The role of heat shock proteins Hsp70 and Hsp27 in cellular protection of the central nervous system. Int J Hyperthermia 2005; 21(5): 379-392.
9. Evans CG, Chang L, Gestwicki JE. Heat shock protein 70 (hsp70) as an emerging drug target. J Med Chem 2010; 53(12): 4585-4602.
10. De Virgilio C, Hottiger T, Dominguez J, Boller T, Wiemken A. The role of trehalose synthesis for the acquisition of thermotolerance in yeast: I. Genetic evidence that trehalose is a thermoprotectant. Eur J Biochem 1994; 219(1-2): 179-186.
11. Benaroudj N, Lee DH, Goldberg AL. Trehalose accumulation during cellular stress protects cells and cellular proteins from damage by oxygen radicals. J Biol Chem 2001; 276(26): 24261-24267.
12. Minutoli L, Altavilla D, Bitto A, Polito F, Bellocco E, Laganà G, et al. The disaccharide trehalose inhibits proinflammatory phenotype activation in macrophages and prevents mortality in experimental septic shock. Shock 2007; 27(1): 91-96.
13. He Q, Wang Y, Lin W, Zhang Q, Zhao J, Liu FT, et al. Trehalose alleviates PC12 neuronal death mediated by lipopolysaccharide-stimulated BV-2 cells via inhibiting nuclear transcription factor NF-κB and AP-1 activation. Neurotox Res 2014; 26(4): 430-439.
14. Chomczynski P. A reagent for the single-step simultaneous isolation of RNA, DNA and proteins from cell and tissue samples. Biotechniques 1993; 15(3): 532-534.
15. Jiang B, Liu J, Bao Y, An L .Hydrogen peroxide-induced apoptosis in pc12 cells and the protective effect of puerarin. Cell Biol Int 2003; 27(12): 1025-1031.
16. Lin P, Tian XH, Yi YS, Jiang WS, Zhou YJ, Cheng WJ. Luteolin-induced protection of H2O2-induced apoptosis in PC12 cells and the associated pathway. Mol Med Rep 2015; 12(5): 7699-7704.
17. Clementi ME, Pani G, Sampaolese B, Tringali G. Punicalagin reduces H2O2-induced cytotoxicity and apoptosis in PC12 cells by modulating the levels of reactive oxygen species. Nutr Neurosci 2018; 21(6): 447-454.
18. Lv R, Du L, Lu C, Wu J, Ding M, Wang C, et al. Allicin protects against H2O2-induced apoptosis of PC12 cells via the mitochondrial pathway. Exp Ther Med 2017; 14(3): 2053-2059.
19. Lan DM, Liu FT, Zhao J, Chen Y, Wu JJ, Ding ZT, et al. Effect of trehalose on PC12 cells overexpressing wild-type or A53T mutant α-synuclein. Neurochem Res 2012; 37(9): 2025-2032.
20. Nazari-Robati M, Akbari M, Khaksari M, Mirzaee M. Trehalose attenuates spinal cord

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-03]

injury through the regulation of oxidative stress, inflammation and GFAP expression in rats. J Spinal Cord Med 2018; 4:1-8.

21. Li Y, Luo Y, Luo T, Lu B, Wang C, Zhang Y, et al. Trehalose Inhibits Protein Aggregation Caused by Transient Ischemic Insults Through Preservation of Proteasome Activity, Not via Induction of Autophagy. Mol Neurobiol 2017; 54(9): 6857-6869.
22. San Gil R, Ooi L, Yerbury JJ, Ecroyd H. The heat shock response in neurons and astroglia and its role in neurodegenerative diseases. Mol Neurodegener 2017; 12(1): 65-85.
23. Wang X, Chen M, Zhou J, Zhang X. HSP27, 70 and 90, anti-apoptotic proteins, in clinical cancer therapy. Int J Oncol 2014; 45(1): 18-30.
24. Sverchinsky D, Nikotina A, Komarova E, Mikhaylova E, Aksenov N, Lazarev V, et al. Etoposide-Induced Apoptosis in Cancer Cells Can Be Reinforced by an Uncoupled Link between Hsp70 and Caspase-3. Int J Mol Sci 2018; 19(9): 2519-2534.
25. Lanneau D, Brunet M, Frisan E, Solary E, Fontenay M, Garrido C. Heat shock proteins: essential proteins for apoptosis regulation. J Cell Mol Med 2008; 12(3): 743-761.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-03]