ORIGINAL ARTICLE

Effects of Ellagic Acid on Sirt1 and AMPK Gene Expression and Oxidative Stress in Aged Rat Hearts

Mahdieh Nazari-Robati[1,2]
Niloufar Naghibi[3]
Asie Sadeghi[4]
Hanieh Qaderipour[5]

[1] Associate Professor, Applied Cellular and Molecular Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
[2] Department of Clinical Biochemistry, Afzalipour Medical School, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
[3] MSc in Clinical Biochemistry, Department of Clinical Biochemistry, Afzalipour Medical School, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
[4] Associate Professor, Department of Clinical Biochemistry, Afzalipour Medical School, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
[5] BSc Student in Laboratory Sciences, Faculty of Allied Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

(Received Febrary 24, 2026; Accepted July 19, 2026)

Abstract

Background and purpose: Impaired energy metabolism and oxidative stress contribute to structural and functional changes in ageing tissues, including the heart. Sirtuin 1 (SIRT1) and adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK) play important roles in regulating metabolic pathways and antioxidant responses. Ellagic acid is a natural polyphenolic compound with antioxidant properties. This study investigated the effects of ellagic acid on Sirt1 and AMPK-related gene expression, as well as oxidative stress markers, in the hearts of aged rats.

Materials and methods: In this experimental study, 14 male 25-month-old rats were randomly assigned to two groups: a control group and an ellagic acid-treated group. Ellagic acid was dissolved in normal saline containing 0.1% DMSO. The control group received the vehicle solution, whereas the treatment group received ellagic acid (30 mg/kg) by oral gavage for one month. After the treatment period, the animals were deeply anaesthetised, and heart tissues were collected. The expression levels of Sirt1 and AMPK-related genes were evaluated using real-time PCR. Additionally, oxidative stress markers, including malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and total antioxidant capacity (TAC), were measured in heart tissue.

Results: Ellagic acid treatment significantly increased the expression of Sirt1 and AMPK-related genes in the heart tissue of aged rats ($P< 0.05$). In addition, SOD, CAT, and TAC levels were significantly increased ($P< 0.05$), whereas MDA levels were significantly decreased ($P< 0.001$) compared with the control group.

Conclusion: Ellagic acid may exert protective effects on the aged heart by enhancing the expression of genes involved in metabolic regulation, including Sirt1 and AMPK-related pathways, while reducing oxidative stress.

Keywords: ellagic acid, ageing, heart, oxidative stress, Sirt1, AMPK

J Mazandaran Univ Med Sci 2026; 36 (259): 30-40 (Persian).

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

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-10]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و ششم شماره ۲۵۹ مرداد سال ۱۴۰۵ (۴۰-۳۰)

اثر الاژیک اسید بر بیان ژن های *SIRT1* و *AMPK* و استرس اکسیداتیو در قلب موش های پیر

مهدیه نظری رباطی[۱،۲]
نیلوفر نقیبی[۳]
آسیه صادقی[۴]
هانیه قادری پور[۵]

چکیده

سابقه و هدف: اختلال در متابولیسم انرژی و استرس اکسیداتیو باعث ایجاد تغییرات ساختاری و عملکردی در بافت‌های پیر مثل قلب می شود. سیرتوئین ۱ (SIRT1) و پروتئین کیناز فعال شده با آدنوزین مونوفسفات (AMPK) در تنظیم مسیرهای متابولیکی و پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی نقش دارند. الاژیک اسید یک ترکیب پلی فنولی طبیعی است که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد. این مطالعه با هدف بررسی، اثر الاژیک اسید بر بیان ژن‌های *SIRT1* و *AMPK* و استرس اکسیداتیو در قلب موش‌های پیر، انجام پذیرفت.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی، ۱۴ سر موش صحرایی نر ۲۵ ماهه به‌طور تصادفی به ۲ گروه کنترل و تیمار با الاژیک اسید تقسیم شدند. الاژیک اسید در نرمال سالین که دارای DMSO ۰/۱ درصد بود حل شد. گروه اول، حلال الاژیک اسید و گروه دوم، الاژیک اسید (30 mg/kg) به مدت یک ماه به صورت گاواژ دریافت کردند. بعد از یک ماه، قلب حیوانات تحت بیهوشی عمیق جدا شد. سپس بیان ژن‌های *SIRT1* و *AMPK* به روش Real-Time PCR (Real-time polymerase chain reaction) بررسی شد. علاوه براین، شاخص‌های استرس اکسیداتیو شامل مالون‌دی‌آلدهید (MDA)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (TAC) در بافت قلب اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: تیمار با الاژیک اسید باعث افزایش معنی‌دار بیان ژن‌های *SIRT1* و *AMPK* در بافت قلب موش‌های پیر شد (P <۰/۰۵). هم‌چنین، مقادیر SOD، CAT و TAC افزایش معنی‌داری نشان دادند (P <۰/۰۵) و مقدار MDA کاهش معنی‌داری (P <۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه کنترل نشان داد.

استنتاج: الاژیک اسید با افزایش بیان ژن‌های *SIRT1* و *AMPK* و کاهش استرس اکسیداتیو می‌تواند اثرات محافظتی برای قلب پیر داشته باشد.

واژه های کلیدی: پیری، قلب، الاژیک اسید، *SIRT1*، *AMPK*، استرس اکسیداتیو

مولف مسئول: مهدیه نظری رباطی- کرمان، انتهای بلوار ۲۲ بهمن، دانشگاه شهید باهنر، دانشکده پزشکی افضلی پور، گروه بیوشیمی بالینی **E-mail:**mnazari@kmu.ac.ir

۱. دانشیار، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی کاربردی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران
۲. دانشیار، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی افضلی پور، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران
۳. کارشناس ارشد بیوشیمی بالینی، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی افضلی پور، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران
۴. دانشیار، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی افضلی پور، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران
۵. دانشجوی کارشناسی، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

تاریخ دریافت : ۱۴۰۴/۱۲/۵ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۴۰۴/۱۲/۶ تاریخ تصویب : ۱۴۰۵/۴/۲۸

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-10]

مقدمه

پیری یک فرایند زیستی طبیعی است که با کاهش تدریجی عملکرد اندام‌های مختلف بدن مثل قلب مشخص می شود. تغییرات وابسته به سنی که در ساختار قلب و مسیرهای انتقال پیام مولکولی آن ایجاد می گردد، باعث اختلال در عملکرد قلب و افزایش حساسیت این عضو به بیماری می‌شود(۱، ۲). کاهش عملکرد میتوکندری، عدم تعادل در متابولیسم سلولی، التهاب مزمن و استرس اکسیداتیو از جمله تغییراتی است که در قلب پیر ایجاد می‌شود. این تغییرات می‌توانند در بروز بیماری‌های قلبی عروقی نقش داشته باشند(۳، ۴).

استرس اکسیداتیو در اثر عدم تعادل بین تولید گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive oxygen species, ROS) و حذف این ترکیبات توسط سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی ایجاد می‌شود. این فرایند، نقش مهمی در پیری قلب ایفا می کند. افزایش سطح ROS باعث اکسیداسیون لیپیدها و پروتئین‌ها و آسیب به DNA می‌شود که در نهایت منجر به ایجاد تغییرات ساختاری و اختلال در عملکرد میوکارد می گردد(۵). سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی که شامل عوامل مختلفی از جمله آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مثل سوپراکسید دیسموتاز (Superoxide dismutase, SOD) و کاتالاز (Catalase, CAT) است نقش مهمی در حفظ تعادل ردوکس ایفا می کند.

اما توانایی این سیستم با افزایش سن کاهش می‌یابد. در نتیجه، ترکیبات حاصل از آسیب اکسیداتیو مثل مالون‌دی‌آلدهید (Malondialdehyde, MDA) در بافت‌های پیر تجمع پیدا می کند(۶). علاوه‌بر افزایش استرس اکسیداتیو، پیری با اختلال در متابولیسم انرژی و مسیرهای پاسخ به استرس سلولی همراه است. سیرتوئین ۱ (Sirtuin 1, SIRT1) یک نوع آنزیم داستیلاز وابسته به نیکوتین‌آمید آدنین دی‌نوکلئوتید (Nicotinamide adenine dinucleotide, NAD^+) است که در تنظیم عملکرد میتوکندری، ترمیم آسیب‌های DNA، تغییر بیان ژن‌ها، کاهش استرس اکسیداتیو و در نتیجه بقاء سلول نقش دارد.

به طور مشابه، پروتئین کیناز فعال شده با آدنوزین مونوفسفات (Adenosine monophosphate-activated protein kinase, AMPK) که یک حسگر مرکزی انرژی سلولی است می تواند مسیرهای متابولیکی، بیوژنز میتوکندری و پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی را تنظیم کند(۷). مطالعات نشان داده اند که AMPK با SIRT1 تعامل دارد و محور پیام رسان AMPK/SIRT1 نقش مهمی در تنظیم استرس اکسیداتیو و حفظ تعادل انرژی سلولی ایفا می کند(۸). در حالی که، کاهش عملکرد این محور باعث نارسایی قلبی عروقی وابسته به سن می‌شود(۷، ۹).

امروزه ترکیبات پلی فنولی طبیعی به علت داشتن اثرات آنتی‌اکسیدانی و محافظت قلبی توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند. الاژیک اسید یک ترکیب پلی فنول است که به‌طور طبیعی در میوه‌هایی مانند انار، توت فرنگی، تمشک و مغزهایی مثل گردو و بادام وجود دارد(۱۰). مطالعات نشان داده‌اند که این ترکیب دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی قوی‌ای است و می‌تواند اثرات محافظتی در برابر بیماری‌های متابولیکی و اختلالات مرتبط با استرس اکسیداتیو داشته باشد(۱۱). در مطالعه انجام گرفته قبلی مشخص شد که الاژیک اسید باعث کاهش استرس اکسیداتیو در بافت کلیه پیر می‌شود. همچنین، این ترکیب با تنظیم محور AMPK/SIRT1 باعث کاهش تجمع چربی در کبد پیر می گردد(۱۲، ۱۳).

با توجه به نقش محوری استرس اکسیداتیو در پیری قلب و بیماری‌های آن، بررسی اثرات بالقوه الاژیک اسید بر سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و مسیر پیام رسان مرتبط با طول عمر از اهمیت قابل توجهی برخوردار است. نتایج این بررسی می‌تواند دیدگاه ارزشمندی درباره مکانیسم محافظتی الاژیک اسید در پیری قلب ارائه دهد. باوجود مطالعات انجام گرفته درباره اثرات آنتی‌اکسیدانی الاژیک اسید، تاکنون اثر این ترکیب بر بیان ژن‌های *SIRT1* و *AMPK* و استرس اکسیداتیودر قلب موش‌های پیر صورت نگرفته است. لذا، در این مطالعه به بررسی اثرات الاژیک اسید بر بیان ژن‌های *SIRT1* و *AMPK* و همچنین، تاثیر آن

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-10]

بر وضعیت استرس اکسیداتیو در بافت قلب موش‌های پیر، پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، از ۱۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار که سن آن ها ۲۵ ماه بود استفاده شد. موش‌ها از مرکز نگهداری حیوانات دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران خریداری و در شرایط مناسب دمایی، ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد، و چرخه‌های تاریکی/روشنایی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. همه حیوانات دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. تمام دستورالعمل‌های آزمایش بر روی حیوانات توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کرمان (کد اخلاق: IR.KMU.AH.REC.۱۴۰۰,۰۴۱) تایید شد.

گروه‌های مورد مطالعه و روش تیمار حیوانات

در این تحقیق، حیوانات ابتدا شماره‌گذاری شدند و سپس با استفاده از جدول اعداد تصادفی به صورت تصادفی به دو گروه شامل گروه کنترل و گروه الاژیک اسید تقسیم شدند (n=۷ در هر گروه). الاژیک اسید (Sigma, USA) در نرمال سالین که دارای DMSO ۰/۱ درصد بود حل شد. گروه کنترل، حلال الاژیک اسید (نرمال سالین حاوی DMSO ۰/۱ درصد) را به صورت گاواژ دریافت کرد. گروه دیگر با الاژیک اسید (30 mg/kg) به صورت گاواژ تیمار گردید. تیمار هر دو گروه، یک بار در روز و به مدت یک ماه صورت گرفت. دوز الاژیک اسید مورد استفاده و مدت تیمار براساس مطالعات قبلی بود(۱۲، ۱۳). بعد از یک ماه، حیوانات تحت بیهوشی با کتامین (50 mg/kg) و زایلازین (5 mg/kg) قرار گرفتند. سپس قلب حیوانات جدا شد و برای انجام آزمایش‌های بعدی در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد.

بررسی بیان ژن‌های SIRT1 و AMPK در بافت قلب

برای اندازه گیری بیان ژن‌های *SIRT1* و *AMPK* از روش Real-Time PCR استفاده شد. ابتدا، ۵۰ میلی‌گرم از بافت قلب در محلول ترایزول (GeneAll، کره جنوبی) هموژن شد. سپس استخراج RNA صورت گرفت(۱۲). در مرحله بعد، غلظت و خلوص RNA استخراج شده با استفاده از اسپکتروفتومتر نانودراپ ND-1000 (Thermo Scientific، آمریکا) تعیین شد. سپس سنتز cDNA با استفاده از کیت (پارس طوس، ایران) و براساس دستورالعمل کیت صورت گرفت. در مرحله بعد، با استفاده از دستگاه mic PCR (BMS، استرالیا)، مسترمیکس سایبرگرین (Ampliqon، دانمارک)، cDNA سنتز شده و پرایمرها، تکثیر ژن‌ها انجام شد. توالی پرایمرها در جدول شماره ۱ آورده شده است. مراحل PCR شامل دناتوراسیون اولیه، ۹۵ °C به مدت ۱۰ دقیقه، سپس ۴۰ سیکل از دناتوراسیون ۹۵ °C به مدت ۴۰ ثانیه، اتصال پرایمر ۶۲ °C به مدت ۲۵ ثانیه و طویل سازی ۷۲ °C به مدت ۱۵ ثانیه بود. برای بررسی عدم وجود آلودگی و اختصاصی بودن تکثیر ژن‌ها از کنترل منفی (No-template control, NTC) در هر واکنش استفاده شد. پس از انجام Real-Time PCR، تحلیل منحنی ذوب جهت بررسی اختصاصی بودن تکثیر و اطمینان از عدم وجود محصولات غیر اختصاصی انجام گرفت. از ژن *GAPDH* هم به عنوان کنترل داخلی برای نرمال کردن داده‌ها استفاده شد و بیان نسبی ژن‌ها به روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ محاسبه گردید. بررسی هر نمونه به صورت سه بار تکرار انجام گرفت.

جدول شماره ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده

Gene name	Sequence 5′→3′	Product size (bp)
SIRT1	Forward: GGTAGTTCCTCGGTGTCCT Reverse: ACCCAATAACAATGAGGAGGTC	152
AMPK	Forward: CTCAGTTCCTGGAGAAAGATGG Reverse: CTGCCGGTTGAGTATCTTCAC	174
GAPDH	Forward: AGGTTGTCTCCTGTGACTTC Reverse: CTGTTGCTGTAGCCATATTC	130

اندازه گیری سطح استرس اکسیداتیو در قلب

برای ارزیابی سطح استرس اکسیداتیو، فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (Total antioxidant capacity, TAC) و MDA در بافت قلب موش‌های پیر و با کیت (کیازیست، ایران)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-10]

اندازه گیری شد. بدین منظور، ابتدا بافت قلب در بافر موجود در کیت هموژن شد و پس از سانتریفیوز در ^{o}C ۴، محلول رویی جدا و براساس دستورالعمل کیت‌ها اندازه‌گیری صورت گرفت. جذب نوری در طول موج مشخص شده توسط کیت با دستگاه الایزا ریدر (BioTek Epoch، آمریکا) اندازه گرفته شد.

اندازه‌گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی کل

اندازه گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (TAC) به روش رنگ سنجی در طول موج ۴۵۰ نانومتر و براساس توانایی آنتی‌اکسیدان‌ها در احیا کردن یون Cu^{+2} به یون Cu^{+1} اندازه گرفته شد. از Trolox به عنوان استاندارد استفاده شد و نمودار استاندارد براساس رقت‌های مختلف Trolox به دست آمد. سپس مقدار TAC بافت‌ها براساس نمودار استاندارد محاسبه شد.

اندازه گیری مالون‌دی‌آلدهید

سنجش مقدار مالون‌دی‌آلدهید براساس واکنش آن با تیوباربیتوریک اسید در دمای جوش صورت گرفت. مقدار محصول تولید شده به روش رنگ‌سنجی در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه گیری شد. از تترا اتوکسی پروپان برای رسم نمودار استاندارد استفاده گردید و سپس غلظت MDA براساس نمودار استاندارد محاسبه شد.

اندازه گیری فعالیت کاتالاز

اساس این روش، تبدیل متانول به فرمالدهید توسط کاتالاز در حضور پراکسید هیدروژن بود. فرمالدهید تولید شده با ترکیب کروموژن Purpald واکنش داد و کمپلکس بنفش رنگی ایجاد کرد که در طول موج ۵۴۰ نانومتر جذب داشت. از فرمالدهید برای رسم نمودار استاندارد استفاده شد. سپس فعالیت آنزیم براساس نمودار استاندارد به دست آمد.

اندازه گیری فعالیت سوپراکسید دیسموتاز

در این روش از سیستم زانتین/زانتین اکسیداز که تولید کننده رادیکال سوپراکسید است استفاده شد. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز رادیکال‌های سوپراکسید را به آب اکسیژنه و اکسیژن تبدیل می کند. کاهش رادیکال‌های سوپراکسید تولید شده توسط SOD مانع از تبدیل شدن ترکیب resazurin به resorufin و کاهش جذب آن می گردد. در این روش، میزان جذب در ۵۸۰ نانومتر اندازه گرفته شد.

اندازه گیری غلظت پروتئین

سنجش مقدار پروتئین به روش بردفورد و با استفاده از رنگ کوماسی آبی G-250 صورت گرفت. جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه گرفته شد و غلظت پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد به دست آمد.

تجزیه و تحلیل آماری

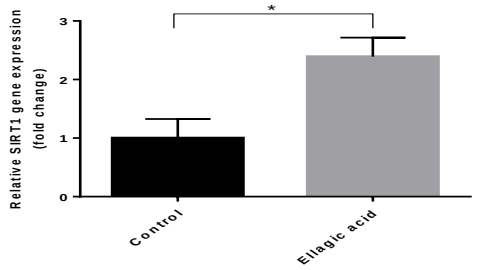
از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲,۰ (IBM، آمریکا) برای تحلیل داده‌ها استفاده شد. برای بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون Shapiro-Wilk و برای بررسی همگن بودن واریانس‌ها از آزمون Levene استفاده شد. برای مقایسه میانگین دو گروه از آزمون t مستقل استفاده شد. داده‌ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد گزارش شدند. همچنین، مقادیر کم‌تر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

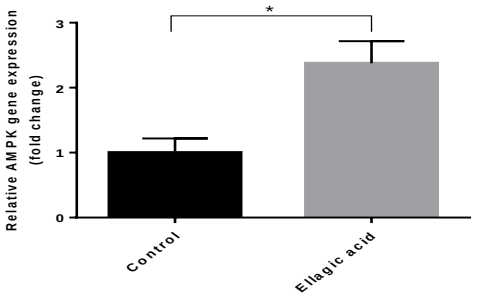
اثر الاژیک اسید بر بیان ژن‌های SIRT1 و AMPK در بافت قلب

بررسی بیان نسبی ژن *SIRT1* در بافت قلب موش‌های پیر نشان داد که بیان این ژن در موش‌هایی که با الاژیک اسید تیمار شدند افزایش یافته و ۲/۴ برابر بیان این ژن در گروه کنترل است ($P<0/05$) (نمودار شماره ۱). به طور مشابه، میزان بیان نسبی ژن *AMPK* در موش‌های تیمار شده با الاژیک اسید نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری نشان داد و ۲/۵ برابر بیان نسبی ژن *AMPK* در گروه کنترل بود ($P<0/05$) (نمودار شماره ۲).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-10]



نمودار شماره ۱: میزان بیان نسبی ژن *SIRT1* در گروه‌های کنترل و تحت تیمار با الاژیک اسید (30 mg/kg)، *: P<۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل (n=۷)



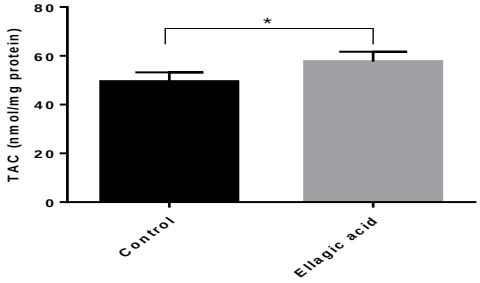
نمودار شماره ۲: میزان بیان نسبی ژن *AMPK* در گروه‌های کنترل و تحت تیمار با الاژیک اسید (30 mg/kg)، *: P<۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل (n=۷)

اثر الاژیک اسید بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در بافت قلب

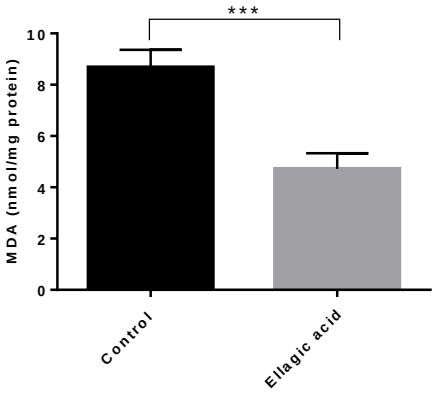
نمودار شماره ۳، نتایج مربوط به میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل را در بافت قلب موش‌های پیر نشان می دهد. مقدار این شاخص در موش‌های تیمار شده با الاژیک اسید نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری افزایش یافته است (به ترتیب، ۵۷/۶±۴/۰ و ۴۹/۴±۳/۸ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین) (P<۰/۰۵).

اثر الاژیک اسید بر سطح مالون‌دی‌آلدهید در بافت قلب

مقدار MDA که یک نوع شاخص پراکسیداسیون لیپیدها محسوب می شود در بافت قلب موش‌های پیر اندازه گیری شد. براساس نمودار شماره ۴، تیمار با الاژیک اسید باعث کاهش سطح MDA نسبت به گروه کنترل شد (به ترتیب، ۴/۷±۰/۶ و ۸/۷±۰/۷ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین) که اختلاف آن بین دو گروه از نظر آماری معنی‌دار بود (P<۰/۰۰۱).



نمودار شماره ۳: میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (TAC) در گروه‌های کنترل و تحت تیمار با الاژیک اسید (30 mg/kg)، *: P<۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل (n=۷)

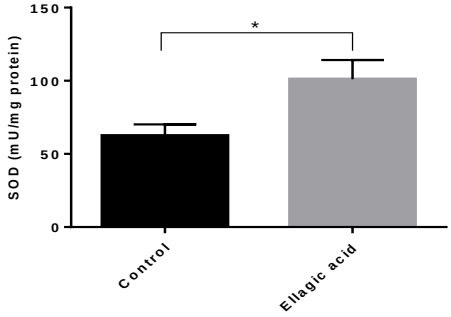


نمودار شماره ٤: میزان مالون‌دی‌آلدهید (MDA) در گروه‌های کنترل و تحت تیمار با الاژیک اسید (30 mg/kg)، ***: P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه کنترل (n=۷)

اثر الاژیک اسید بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در بافت قلب

فعالیت آنزیم SOD که یکی از اجزاء سیستم آنتی‌اکسیدانی است در بافت قلب موش‌های پیر اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که الاژیک اسید می‌تواند فعالیت این آنزیم را در بافت قلب پیر به طور قابل توجهی نسبت به گروه کنترل افزایش دهد (به ترتیب، ۱۰۱/۱±۱۳/۰ و ۷/۸ ± ۶۲/۴ میلی‌یونیت بر میلی‌گرم پروتئین) (P<۰/۰۵) (نمودار شماره ۵).

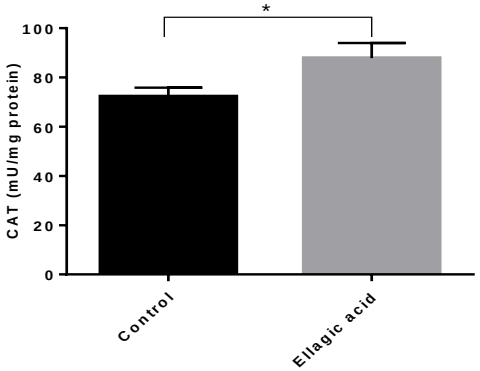
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-10]



نمودار شماره ۵: میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در گروه‌های کنترل و تحت تیمار با الاژیک اسید (30 mg/kg)، *: P<۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل (n=۷)

اثر الاژیک اسید بر فعالیت آنزیم کاتالاز در بافت قلب

نمودار شماره ۶، فعالیت آنزیم CAT را در بافت قلب موش‌های پیر نشان می‌دهد. فعالیت این آنزیم در گروه تیمار شده با الاژیک اسید بیش‌تر از گروه کنترل بود (به‌ترتیب، ۸۷/۸±۶/۲ و ۷۲/۲±۳/۶ میلی‌یونیت بر میلی‌گرم پروتئین) و اختلاف بین دو گروه از نظر آماری معنی‌دار بود (P<۰/۰۵).



نمودار شماره ٦: میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) در گروه‌های کنترل و تحت تیمار با الاژیک اسید (30 mg/kg)، *: P<۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل (n=۷)

در مجموع، تغییرات مشاهده شده در بیان ژن‌های *SIRT1* و *AMPK* با بهبود شاخص‌های بیوشیمیایی استرس اکسیداتیو از جمله افزایش TAC، SOD و CAT و کاهش MDAهمراه بود که نشان دهنده وجود یک ارتباط همسو بین تنظیم مسیرهای مولکولی مرتبط با متابولیسم سلولی و وضعیت آنتی‌اکسیدانی بافت قلب است.

بحث

در مطالعه حاضر اثر الاژیک اسید بر بیان ژن‌های *SIRT1* و *AMPK* و وضعیت آنتی‌اکسیدانی در قلب موش‌های پیر بررسی شد. نتایج نشان داد که الاژیک اسید باعث افزایش بیان این ژن‌ها و بهبود شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی در بافت قلب می‌شود. این یافته‌ها نشان می‌دهند که اثرات محافظتی این ترکیب احتمالا از طریق تنظیم همزمان مسیرهای مرتبط با همئوستاز انرژی و کاهش استرس اکسیداتیو سلولی اعمال می‌شود.

پیری یک فرایند زیستی پیچیده است که باعث کاهش عملکرد بدن می‌شود. اختلال در عملکرد اندام‌های مختلف عامل خطرساز اصلی در بروز بیماری‌هایی مثل سرطان، دیابت، بیماری‌های قلبی عروقی و نورودژنراتیو می‌باشد. چندین مسیر مولکولی مرتبط با هم در بروز پیری نقش دارند که از جمله آن ها می توان به اختلال در کنترل همئوستاز انرژی سلول و کاهش مقاومت در برابر استرس اشاره کرد. SIRT1 و AMPK تنظیم‌کنندگان اصلی تعادل انرژی سلولی و ردوکس محسوب می‌شوند که در فرایند پیری کاهش یافته و باعث اختلال در عملکرد میتوکندری و افزایش تولید ROS می‌شوند(۱۴). کاهش بیان و فعالیت *SIRT1* در بافت‌هایی از جمله قلب و عروق خونی پیر گزارش شده که می‌تواند در کاهش انتقال پیام AMPK نقش داشته باشد(۷). به طور طبیعی، SIRT1 از طریق داستیلاسیون و فعال‌کردن پروتئین کیناز LKB1 باعث فسفریلاسیون و فعال شدن AMPK می‌شود. در مقابل، فعال شدن AMPK باعث افزایش NAD^+ سیتوزولی و فعال شدن SIRT1 می‌گردد(۱۵، ۱۶). مطالعات نشان می‌دهند که افزایش بیان *SIRT1* و *AMPK* می‌تواند اثرات محافظتی از قلب و عروق داشته باشد. لذا، این پروتئین‌ها اهداف درمانی بیماری‌های قلبی عروقی مثل

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-10]

ایسکمی، نارسایی و میوپاتی قلبی محسوب می‌شوند(۷). در تحقیق Tian و همکاران نشان داده شد که فلاوونوئید Tilianin با فعال‌کردن مسیر AMPK/SIRT1/PGC1-α و بهبود عملکرد میتوکندری‌ها باعث کاهش آسیب بافت قلب پس از ایسکمی می‌شود(۱۷). در مطالعه دیگری، Gu و همکاران به بررسی اثر رزوراترول که فعال کننده مهم SIRT1 است پرداختند و نشان دادند که این ترکیب باعث افزایش فعالیت SIRT1 و AMPK در کاردیومیوسیت ها می‌شود. همچنین، بازیابی بیان این دو پروتئین باعث بهبود عملکرد قلب در موش‌های مبتلا به نارسایی قلبی می‌گردد(۱۸). از سوی دیگر، مطالعات نشان داده‌اند که نقص عملکرد میتوکندری و افزایش استرس اکسیداتیو در کاردیومیوسیت‌های پیر می‌تواند باعث کاهش سطح انرژی در این سلول‌ها و در نتیجه، ایجاد فیبروز در میوکارد و نارسایی قلبی گردد. لذا، فعال‌کردن فاکتورهای متابولیکی مانند SIRT1 و AMPK می‌تواند در جلوگیری از نارسایی قلبی به علت پیری مفید باشد(۱۹). در مطالعه حاضر مشخص شد که تیمار با الاژیک اسید باعث افزایش بیان *SIRT1* و *AMPK* در بافت قلب موش‌های پیر می‌شود. با توجه به نقش SIRT1 و AMPK در تنظیم عملکرد میتوکندری، همئوستاز انرژی و پاسخ‌های سلولی به استرس اکسیداتیو، افزایش بیان این دو ژن در مطالعه حاضر می‌تواند در بهبود وضعیت متابولیکی و کاهش استرس اکسیداتیو کاردیومیوسیت‌ها نقش داشته باشد. با این حال، برای تأیید دقیق این مکانیسم، انجام مطالعات تکمیلی ضروری است.

پیری قلب با تغییرات مولکولی، بیوشیمیایی، ساختاری و عملکردی مشخص می‌شود که در ایجاد آن ها، استرس اکسیداتیو نقش مهمی ایفا می‌کند. استرس اکسیداتیو به علت عدم تعادل بین تولید عوامل اکسیدکننده و دفاع آنتی‌اکسیدانی ایجاد می‌شود. قلب جوان دارای سیستم آنتی‌اکسیدانی کارآمدی برای حذف عوامل اکسید کننده است که در این سیستم، آنزیم های آنتی‌اکسیدانی مثل SOD، CAT و گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) اهمیت دارند. با افزایش سن، عملکرد این سیستم ضعیف‌تر می‌شود و باعث تجمع عوامل اکسید کننده در قلب و بروز آسیب‌های قلبی می‌گردد(۵). امروزه کاربرد ترکیبات آنتی‌اکسیدانی طبیعی برای محافظت از قلب در برابر استرس اکسیداتیو رو به افزایش است. این ترکیبات معمولا دارای ساختارهای شیمیایی غنی از الکترون هستند و می‌توانند بر فعالیت آنزیم‌هایی مثل SOD، CAT و GPX تاثیر بگذارند. میزان سمیت بسیار کم ترکیبات طبیعی در کنار ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی، اهمیت بالینی آن‌ها را دو چندان کرده است(۲۰). مطالعات متعددی نشان داده‌اند که الاژیک اسید یک ترکیب آنتی‌اکسیدانی طبیعی است و می‌تواند اثرات محافظتی از قلب در بیماری‌های مختلف داشته باشد. اخیرا، Wang و همکاران در مطالعه ای که بر روی موش‌های دیابتی انجام دادند گزارش کردند که الاژیک اسید می‌تواند مانع از هیپرتروفی قلب و آسیب‌های میوکارد شود. همچنین، این ترکیب باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD، CAT و گلوتاتیون ردوکتاز و کاهش MDA در بافت قلب می‌گردد. نتایج این مطالعه نشان داد که تغییرات ایجاد شده با افزایش مقدار SIRT1 و کاهش آپوپتوز ارتباط دارد(۲۱). در مطالعه مشابهی، Altamimi و همکاران گزارش کردند که الاژیک اسید با افزایش بیان *SIRT1* و مهار استیلاسیون فاکتور Nrf2 (Nuclear factor erythroid 2-related factor) در قلب موش‌های دیابتی باعث افزایش فعالیت SOD و کاهش MDA و ROS می‌شود(۲۲). همچنین، در مطالعه دیگری مشخص شد که الاژیک اسید می‌تواند آسیب بافتی ناشی از مسمومیت با آدرنالین را در قلب موش‌ها از طریق کاهش فاکتورهای التهابی و سطح استرس اکسیداتیو و افزایش TAC بهبود بخشد(۲۳). نکته قابل توجه آن است که مطالعات قبلی در مدل‌هایی از بیماری های مختلف انجام شده‌اند در حالی که، مطالعه حاضر در مدل پیری طبیعی صورت گرفت. با وجود این تفاوت، بهبود شاخص‌های استرس اکسیداتیو در تمامی این مطالعات

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-10]

نشان می‌دهد الاژیک اسید می‌تواند هم در شرایط پاتولوژیک و هم در فرایندهای فیزیولوژیک مرتبط با افزایش سن اثرات محافظتی داشته باشد. همچنین، تاکنون گزارشی در مورد بررسی همزمان اثر الاژیک اسید بر بیان *SIRT1* و *AMPK* و سیستم آنتی‌اکسیدانی در بافت قلب پیر ارائه نشده است. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که این ترکیب می‌تواند با افزایش فعالیت SOD و CAT و سطح TAC و کاهش MDA اثرات محافظتی از قلب پیر داشته باشد. ایجاد این تغییرات همزمان با افزایش بیان *SIRT1* و *AMPK* در بافت قلب، می‌تواند بیانگر مشارکت این ژن‌ها در تنظیم پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش استرس اکسیداتیو باشد. در مطالعه قبلی نشان داده شدکه الاژیک اسید با افزایش سطح SIRT1 و Nrf2 در بافت کلیه موش‌های پیر باعث کاهش سطح استرس اکسیداتیو و بهبود شاخص‌های عملکردی کلیه می‌شود(۱۲). همچنین، تیمار با الاژیک اسید باعث افزایش بیان *SIRT1* و *AMPK* در کبد موش‌های پیر شد که مشابه نتایج اثر الاژیک اسید بر بافت قلب پیر بود. این تغییرات در کبد پیر با کاهش تجمع چربی و در نتیجه، کاهش آسیب‌های کبدی ناشی از تجمع چربی ارتباط داشت (۱۳). افزایش همزمان بیان *SIRT1* و *AMPK* و بهبود شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی در بافت قلب پیر پس از تجویز الاژیک اسید از نقش این ترکیب در تنظیم مسیرهای کنترل کننده انرژی سلولی وابسته به SIRT1/AMPK و حفظ تعادل ردوکس حمایت می‌کند. با این حال، برای تعیین مکانیسم مولکولی دقیق‌تر، انجام مطالعات تکمیلی ضروری است.

این مطالعه دارای محدودیت‌هایی بود که از جمله می‌توان به این موارد اشاره کرد که میزان *SIRT1* و *AMPK* تنها در سطح mRNA بررسی شد و اندازه‌گیری مقدار پروتئین آن‌ها برای دستیابی به نتیجه‌گیری دقیق‌تر انجام نشد. بررسی تغییرات پروتئین‌ها به روش وسترن بلات دارای اهمیت زیادی است زیرا می‌تواند ارتباط بین تغییرات بیان ژن و سطح پروتئین را تایید کند. همچنین، در این مطالعه تغییرات پس از ترجمه مانند فسفریلاسیون AMPK و فعالیت SIRT1 که می‌توانست در مشخص‌کردن مکانیسم اثر الاژیک اسید مفید باشد ارزیابی نشد. علاوه بر این، عملکرد قلب برای بررسی ارتباط بین تغییرات مولکولی و فیزیولوژیکی آن مورد مطالعه قرار نگرفت. بررسی این موارد در مطالعات آینده پیشنهاد می‌شود.

به طور کلی، تیمار با الاژیک اسید باعث افزایش بیان ژن‌های *SIRT1* و *AMPK* و تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و کاهش استرس اکسیداتیو در قلب موش‌های پیر شد. این نتایج نشان می‌دهند که الاژیک اسید می‌تواند دارای اثرات محافظتی در برابر آسیب‌های اکسیداتیو و اختلالات متابولیکی مرتبط با پیری در مدل حیوانی باشد. با این حال، برای درک دقیق‌تر مکانیسم‌های مولکولی درگیر در این اثرات، انجام مطالعات تکمیلی ضروری است.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از تمام افرادی که در اجرای این مطالعه همکاری داشته اند سپاسگزاری می‌کنیم.

References

1- Gude NA, Broughton KM, Firouzi F, Sussman MA. Cardiac ageing: extrinsic and intrinsic factors in cellular renewal and senescence. Nat Rev Cardiol 2018;15(9):523-542 PMID: 30054574.

2- Paneni F, Diaz Cañestro C, Libby P, Lüscher TF, Camici GG. The Aging Cardiovascular System: Understanding It at the Cellular and Clinical Levels. J Am Coll Cardiol 2017;69(15):1952-1967 PMID: 28408026.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-10]

3- Amorim JA, Coppotelli G, Rolo AP, Palmeira CM, Ross JM, Sinclair DA. Mitochondrial and metabolic dysfunction in ageing and age-related diseases. Nat Rev Endocrinol 2022;18(4):243-258 PMID: 35145250.

4- Mapuskar KA, London B, Zacharias ZR, Houtman JCD, Allen BG. Immunometabolism in the Aging Heart. J Am Heart Assoc 2025;14(1):e039216 PMID: 39719411.

5- Pagan LU, Gomes MJ, Gatto M, Mota GAF, Okoshi K, Okoshi MP. The Role of Oxidative Stress in the Aging Heart. Antioxidants (Basel) 2022;11(2): PMID: 35204217.

6- Santos DF, Simão S, Nóbrega C, Bragança J, Castelo-Branco P, Araújo IM. Oxidative stress and aging: synergies for age related diseases. FEBS Lett 2024;598(17):2074-2091 PMID: 39112436.

7- Barcena ML, Aslam M, Norman K, Ott C, Ladilov Y. Role of AMPK and Sirtuins in Aging Heart: Basic and Translational Aspects. Aging Dis 2024;16(6):3335-3360 PMID: 39656491.

8- Lan F, Cacicedo JM, Ruderman N, Ido Y. SIRT1 modulation of the acetylation status, cytosolic localization, and activity of LKB1. Possible role in AMP-activated protein kinase activation. J Biol Chem 2008;283(41):27628-27635 PMID: 18687677.

9- Chen S, Xu H, Li X, Tang X, Yang L, Lu J, etal. SIRT1-Mediated Mitochondrial Homeostasis in Cardiac Aging: Molecular Mechanisms and Therapeutic Implications. Aging Dis 2025 PMID: 41135102.

10- Naraki K, Rameshrad M, Hosseinzadeh H. Protective effects and therapeutic applications of ellagic acid against natural and synthetic toxicants: A review article. Iran J Basic Med Sci 2022;25(12):1402-1415 PMID: 36544528.

11- Naraki K, Ghasemzadeh Rahbardar M, Ajiboye BO, Hosseinzadeh H. The effect of ellagic acid on the metabolic syndrome: A review article. Heliyon 2023;9(11):e21844 PMID: 38027887.

12- Naghibi N, Sadeghi A, Movahedinia S, Rahimi Naiini M, Rajizadeh MA, Bahri F, etal. Ellagic acid ameliorates aging-induced renal oxidative damage through upregulating SIRT1 and NRF2. BMC Complement Med Ther 2023;23(1):77 PMID: 36899375.

13- Rahimi Naiini M, Shahouzehi B, Khaksari M, Azizi S, Naghibi N, Nazari-Robati M. Ellagic acid reduces hepatic lipid contents through regulation of SIRT1 and AMPK in old rats. Arch Physiol Biochem 2024;130(6):686-693 PMID: 37814948.

14- Zhou Q, Yu L, Cook JR, Qiang L, Sun L. Deciphering the decline of metabolic elasticity in aging and obesity. Cell Metab 2023;35(9):1661-1671.e6. PMID: 37625407.

15- Ruderman NB, Xu XJ, Nelson L, Cacicedo JM, Saha AK, Lan F, etal. AMPK and SIRT1: a long-standing partnership? Am J Physiol Endocrinol Metab. 2010;298(4):E751-E760 PMID: 20103737.

16- Chen Q, Lesnefsky EJ. A new strategy to decrease cardiac injury in aged heart following ischaemia-reperfusion: enhancement of the interaction between AMPK and SIRT1. Cardiovasc Res 2018;114(6):771-772 PMID: 29596586.

17- Tian L, Cao W, Yue R, Yuan Y, Guo X, Qin D, etal. Pretreatment with Tilianin

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-10]

improves mitochondrial energy metabolism and oxidative stress in rats with myocardial ischemia/reperfusion injury via AMPK/SIRT1/PGC-1 alpha signaling pathway. J Pharmacol Sci 2019;139(4):352-360 PMID: 30910451.

18- Gu XS, Wang ZB, Ye Z, Lei JP, Li L, Su DF, etal. Resveratrol, an activator of SIRT1, upregulates AMPK and improves cardiac function in heart failure. Genet Mol Res 2014;13(1):323-335 PMID: 24535859.

19- Gao M, Finkel T. Metabolic Regulation of Cardiovascular Aging. Curr Cardiol Rep 2025;27(1):128 PMID: 40815457.

20- Rahmani S, Roohbakhsh A, Pourbarkhordar V, Karimi G. The Cardiovascular Protective Function of Natural Compounds Through AMPK/SIRT1/PGC-1α Signaling Pathway. Food Sci Nutr 2024;12(12):9998-10009 PMID: 39723061.

21- Wang Q, Zhang X, Xi L. Ellagic Acid Ameliorates Diabetic Cardiomyopathy by Inhibiting Ferroptosis Through the Modulation of the SIRT1/p53 Pathway in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. Iran J Pharm Res 2025;24(1):e166600 PMID: 41477127.

22- Altamimi JZ, Alfaris NA, Alshammari GM, Alagal RI, Aljabryn DH, Aldera H, etal. Ellagic acid protects against diabetic cardiomyopathy in rats by stimulating cardiac silent information regulator 1 signaling. J Physiol Pharmacol 2020;71(6) PMID: 33901999.

23- Aldayel TS, Haleka SAA, Ebaid HM, El-Fadeal NMA, Abdelrazek HM, Gad El-Hak HN, etal. Ellagic acid mediates cardioprotection against adrenaline-induced toxicity via PI3K/AKT and Keap1-NRF2 axes. Sci Rep 2025;15(1):36489 PMID: 41115931.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-10]