

Research Article**Effect of Harmine in Regulating the Apoptosis Pathway through the Activation of the Antioxidant Pathway Control of FOXO1 Protein Expression in Wistar Male Rats with Non-alcoholic Fatty Liver Disease****Nazanin Lotfizadeh, Hanieh Jafary*, Nasim Hayati Roudbari**

Department of Biology, SR.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran

*Corresponding author: h-jafary@iau.ac.ir

Received: 7 November 2024

Accepted: 12 June 2025

DOI: 10.60833/ascij.2025.1189035

Abstract

The liver is one of the most important and vital organs in the body, and non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is one of the most common liver disorders, and the number of people suffering from it is increasing. The aim of this study is to investigate harmine on the serum levels of liver index enzymes, lipid profile and the amount of FOXO1 transcription factor in rats suffering from non-alcoholic fatty liver disease. For this purpose, 18 Wistar male rats were considered and divided into three control groups, model group and model group + Harmin (20 mg/kg). Two model groups and treated with harmine with a special diet were affected with fatty liver and then the third group was gavage with harmine for 4 weeks. Total oxidant (TOS), total antioxidant (TAC), malone dialdehyde (MDA) and hepatic superoxide dismutase (SOD) activity were measured. The activities of alkaline phosphatase (ALP), alanine aminotransferase (SGPT), aspartate aminotransferase (SGOT) enzymes were measured in serum. Lipid profile (LDL, HDL, VLDL, cholesterol, triglyceride), glucose and apoptosis were also measured. The results indicate that apoptosis in the sample model treated with harmine showed a significant decrease compared to the fatty liver model group. The amount of LDL, VLDL, TOS, MDA, triglyceride, cholesterol, glucose and the activity of ALP, SGOT, SGOT, FOXO1 protein and apoptosis in the group treated with harmine showed a significant decrease compared to the fatty liver model group. The level of SOD enzyme activity, TAC and HDL levels in the models treated with harmine showed a significant increase compared to the model group. It seems that harmine can be a good potential for further investigations to introduce a fatty liver controlling factor using the FOXO1 regulatory pathway.

Keywords: Harmine, Fatty liver, Apoptosis, Antioxidant, FOXO1 protein.



بررسی تاثیر هارمین در تنظیم مسیر آپوپتوز از طریق فعال شدن مسیر آنتی‌اکسیدانی و کنترل بیان پروتئین FOXO-1 در رت نر نژاد ویستار مبتلا به کبد چرب

نازنین لطفی‌زاده، هانیه جعفری*، نسیم حیاتی رودباری

گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
*مسئول مکاتبات: h-jafary@iau.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۲۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۸/۱۷

DOI: 10.60833/ascij.2025.1189035

چکیده

کبد از جمله ارگان‌های مهم و حیاتی در بدن می‌باشد و بیماری کبد چرب غیرالکلی (NAFLD) یکی از شایع‌ترین اختلالات کبدی می‌باشد که امروزه مبتلایان به آن رو به افزایش هستند. هدف از پژوهش حاضر، بررسی هارمین، بر سطوح سرمی آنزیم‌های شاخص کبدی، پروفایل لیپیدی و میزان فاکتور رونویسی FOXO1 در رت‌های مبتلا به کبد چرب غیرالکلی می‌باشد. بدین منظور ۱۸ سر رت نر نژاد ویستار در نظر گرفته و به سه گروه کنترل، گروه مدل و گروه مدل + هارمین (۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) تقسیم شدند. دو گروه مدل و تحت تیمار با هارمین با رژیم غذایی مخصوص، مبتلا به کبد چرب شدند و سپس گروه سوم با هارمین به مدت ۴ هفته گاوآژ شد. میزان اکسیدان کل (TOS)، آنتی اکسیدان کل (TAC)، میزان مالون دی آلدئید (MDA) و میزان فعالیت آنزیم کبدی سوپراکسید دیسموتاز (SOD) کبدی اندازه‌گیری شد. همچنین پروفایل لیپیدی (LDL، HDL، VLDL، کلسترول، تری‌گلیسرید) و آپوپتوز نیز سنجیده شدند. نتایج حاکی از آن است که آپوپتوز در مدل نمونه تحت تیمار با هارمین، کاهش معنی‌داری نسبت به گروه مدل کبد چرب نشان داد. میزان LDL، VLDL، TOS، MDA، تری‌گلیسرید، کلسترول، گلوکز و میزان فعالیت آنزیم‌های ALP، SGOT، SGOT، پروتئین FOXO1 و آپوپتوز در گروه تحت تیمار با هارمین، کاهش معنی‌داری نسبت به گروه مدل کبد چرب نشان داد. میزان فعالیت آنزیم SOD، میزان TAC و HDL در مدل‌های تحت تیمار با هارمین، افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه مدل نشان داد. به نظر می‌رسد هارمین می‌تواند پتانسیل مناسبی برای بررسی‌های بیشتر جهت معرفی برای یک فاکتور کنترل کننده کبد چرب با استفاده از مسیر تنظیمی FOXO1 باشد.

کلمات کلیدی: هارمین، کبد چرب، آپوپتوز، آنتی‌اکسیدانت، پروتئین FOXO1

مقدمه

کبد سم‌زدایی می‌باشد (۱). برای انجام صحیح همه عملکردهای کبدی، حضور و فعالیت‌های آنزیم‌های کبدی و نیز چندین فاکتور رونویسی نظیر FOXO1 لازم می‌باشد (۲). NAFLD شایع‌ترین بیماری مزمن کبدی در سراسر

کبد یک عضو حیاتی در بدن انسان است که مسئول مجموعه‌ای از عملکردها است که در متابولیسم دارو، متابولیسم بیلیروبین، تولید صفرا، ایمنی، هضم، سم‌زدایی و ذخیره ویتامین کمک می‌کند. یکی از مهم‌ترین نقش‌های

جهان است که یکی از مکانیسم‌های ایجاد آن، مصرف رژیم پرچرب و استرس اکسیداتیو می‌باشد. استرس اکسیداتیو حاصل از عدم تعادل بین گونه‌ای شیمیایی پرواکسیدان و آنتی‌اکسیدان می‌باشد که باعث آسیب اکسیداتیو ماکرومولکول‌های سلولی می‌شود (۳). ترکیبات پرواکسیدان غالب در کبد چرب شامل مولکول‌های منفرد اکسیژن، آنیون‌های سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های هیدروکسیل می‌باشند که در مجموع به عنوان گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) به آنها اشاره می‌شود. اکسیداسیون اسیدهای چرب یک منبع مهمی از ROS در کبد چرب می‌باشد (۴). در NAFLD تجمع تری‌گلیسیرید (TG) بیش از ۵ تا ۱۰ درصد وزن کبد اتفاق می‌افتد. بیماران NAFLD شیوع بالاتری از لحاظ دیابت، فشار خون بالا دارند (۵). هم چاقی و هم چاقی شکمی همراه با مقاومت به انسولین نیز در بیماران NAFLD شایع است. این بیماری با افزایش سطح آنزیم‌های کبدی از جمله SGPT، SGOT، ALP و فاکتورهای التهابی شناسایی می‌شود (۶). در سال‌های اخیر مطالعات نشان داده است که فاکتورهای مختلفی نظیر FOXO1 می‌توانند از طریق تنظیم چند مسیر متابولیکی مانند گلیکولیز، گلوکونئوز و لیپوژنز در عملکرد سلول‌های کبدی دخالت داشته باشند. FOXO1 از تنظیم کننده‌های کلیدی مهم پایین دست مسیر سیگنالینگ IGF-1 می‌باشد (۷). نقش این پروتئین در التهاب و پاسخ ایمنی مقداری پیچیده می‌باشد. در شرایط طبیعی بیان پروتئین FOXO1 در بافت‌ها و اندام‌های حساس به انسولین اتفاق می‌افتد و بسیاری از مسیرهای مهم متابولیکی در اندام‌های حساس به انسولین را می‌تواند تنظیم نماید. FOXO1 در آترواسکلروزیس و دیابت نیز نقش دارد. به نظر می‌رسد که کاهش بیان FOXO1 می‌تواند نقش مهمی در بهبود فرآیندهای متابولیکی مرتبط با چاقی و اضافه وزن داشته باشد. تعدادی از ژن‌های دخیل در بیوسنتز اسیدهای چرب

و کلسترول توسط FOXO1 تنظیم می‌شود. اختلال در تنظیم FOXO1 می‌تواند سبب اختلال متابولیکی می‌شود. به نظر می‌رسد که شاید بتوان با تنظیم میزان FOXO1 گام موثری جهت بهبود افراد مبتلا به NAFLD برداشت. یکی از روش‌هایی که امروزه به آن بسیار توجه می‌شود استفاده از گیاهان برای درمان بیماری‌های متابولیکی نظیر کبدچرب می‌باشد (۸). آکالوئیدها به عنوان یکی از گروه‌های مهم ترکیبات گیاهی به دست آمده از منابع طبیعی، گزارش شده‌اند (۹). آکالوئیدها دارای فعالیت ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و ضدانگلی هستند. در برخی موارد، آکالوئیدهای به دست آمده از گیاهان ممکن است باعث بیماری جدی، آسیب یا حتی مرگ شوند. هارمین با فرمول $C_{13}H_{12}N_{2}O$ یک آکالوئید فعال سه حلقه‌ای است که برای اولین بار در سال ۱۸۴۷ از دانه‌ها و ریشه هارمالا اسپند جدا می‌شود (۱۰). هارمین دارای فعالیت‌های دارویی بسیاری از جمله فعالیت‌های ضد التهابی، محافظت کننده عصبی، ضد دیابت و ضد تومور است (۱۱). علائم معمول مسمومیت هارمین شامل بی‌قراری، لرزش، تشنج، آتاکسی و مرگ است (۱۲). سمیت حاد هارمین به طور قابل توجهی وابسته به دوز است و دوز کشنده متوسط آن LD_{50} ۲۶۷/۹ میلی‌گرم/کیلوگرم است (۱۳). در این پژوهش از هارمین که یکی از مواد موثره اسپند می‌باشد برای بررسی میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی، پروفایل لیپیدی و میزان پروتئین FOXO1 در مدل‌های کبد چرب رت‌های نر نژاد ویستار استفاده شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از رت‌های نر نژاد ویستار استفاده شد. تعداد ۱۸ رت با میانگین وزنی 220 ± 20 گرم از مرکز حیوانات آزمایشگاهی موسسه پاستور خریداری شد. شرایط نگهداری برای همه رت‌ها یکسان و به صورت ۱۲ ساعت روشنائی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای ۲۰ تا

۲۲ درجه سانتی‌گراد در نظر گرفته شد. حیوانات بصورت تصادفی به ۳ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. گروه اول که آب و غذای معمولی دریافت کردند (کنترل)، گروه مدل (فقط غذای معمولی به همراه حلال نرمال سالین و امولسیون پر چرب به مدت ۴ هفته دریافت کردند) و گروه سوم رت‌های مبتلا به کبد چرب به همراه هارمین (مدل + هارمین) تقسیم شدند. به منظور سازگاری حیوانات با شرایط جدید، پس از یک هفته آزمایشات عملی آغاز شد. غذای پرچرب استفاده شده برای گروه رت‌های نر نژاد ویستار شامل غذای استاندارد جوندگان به اضافه ۴۵ درصد چربی حیوانی و ۴ درصد کلسترول و ۱ درصد اسیدکولیک بود که بصورت نامحدود به مدت ۴۵ روز در اختیار گروه دوم و سوم قرار داده شد. پس از القاء کبد چرب که با آزمایشات بیوشیمیایی و هیستولوژیکی تایید شد، هارمین با غلظت ۲۰ میلی-گرم/کیلوگرم وزن بدن به مدت ۵ روز در هفته برای ۴ هفته گاوژ شد. پس از پایان ۴ هفته، بررسی‌های بیوشیمیایی و هیستولوژیکی در حیوانات انجام شد. تحقیق انجام شده با رعایت شرایط استاندارد مطابق اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام شد (شناسه اخلاق IR.IAU.SRB.REC.1402.029). پس از تمام شدن مدت تیمار با هارمین، حیوانات بیهوش و توسط سرنگ ۲/۵ سی‌سی خونگیری از قلب صورت گرفته شد. به منظور بررسی میزان فعالیت آنزیم‌های ALP، SGPT، SGOT و پروفایل لیپیدی (LDL، HDL، VLDL، تری‌گلیسرید، گلوکز و کلسترول) از کیت‌های پارس آزمون استفاده شد. نمونه‌های خون داخل اپندورف پلاستیکی ریخته شد و پس از مکث ۳۰ دقیقه‌ای جهت انعقاد خون، نمونه‌ها با ۳۵۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند تا سرم از خون جدا شود. سپس سرم‌ها به کمک سمپلر جدا و درون

میکروتیوپ ریخته شده و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند تا برای تعیین فاکتورهای بیوشیمیایی مورد نظر مورد استفاده قرار گیرند. بلافاصله بعد از خونگیری از قلب، کبد از بدن خارج شد و لیز نمونه بافت برای بررسی فعالیت آنزیم SOD، بررسی میزان متابولیت MDA و میزان TAC از کیت‌های شرکت ZellBio GmbH آلمان و برای بررسی میزان TOS از کیت شرکت kiazist ایران و برای سنجش پروتئین FOXO1 از کیت الایزا (MBS266917) استفاده گردید. نمونه‌های لازم برای تست الایزا تا زمان انجام کار در دمای انجماد ۲۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شدند. مراحل لیز بافت به این صورت می‌باشد که حدود ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت کبدی در یک میلی‌لیتر از بافر رپا (Cat no: DB9719) ریخته شد. نمونه‌های کبدی با استفاده از دستگاه هموژنایزر در ۴ درجه سانتی‌گراد هموژنایز شدند. هموژنات به دست آمده ۲۰ دقیقه با دور ۴۰۰۰ سانتریفیوژ شد. مایع رویی جدا شده و با کیت‌های شرکت ZellBio GmbH و شرکت Kiazist مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای بررسی تغییرات تعداد سلول‌های آپوپتوز شده ناشی از هارمین بر روی بافت کبد، بافت کبد برداشته شد و درون پلیت توسط سرم فیزیولوژی شستشو داده شد و سپس بر روی کاغذ فیلتر آب اضافی آن گرفته شد. از رنگ‌آمیزی همتوکسیلین-اوتوزین بعد از تثبیت نمونه‌های کبد حیوانات در فرمالین ۱۰ درصد استفاده شد.

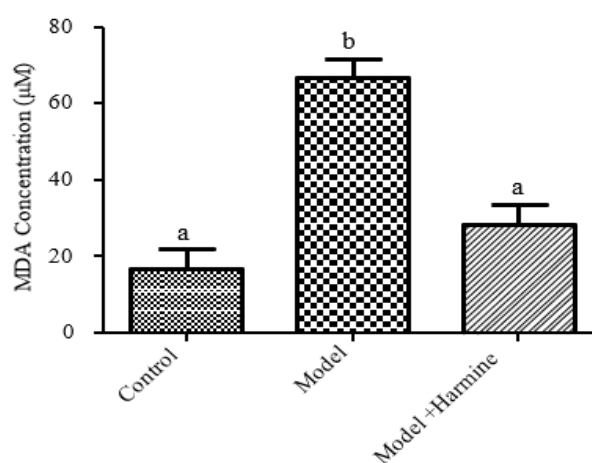
تجزیه و تحلیل آماری: تمامی داده‌ها از نظر آماری با استفاده از آنالیز واریانس یکطرفه (one-way-ANOVA) و آزمون Tukey بررسی شد. نتایج بصورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شد. اختلاف میان گروه‌ها در سطح $p < 0.05$ معنادار در نظر گرفته شد. برای اندازه‌گیری

درصد بیان تصویری آپوپتوز سلول‌های کبدی نیز از نرم-افزار IMAGE J استفاده گردید. عکس‌برداری‌های این پژوهش نیز با میکروسکوپ نوری تهیه گردید.

نتایج

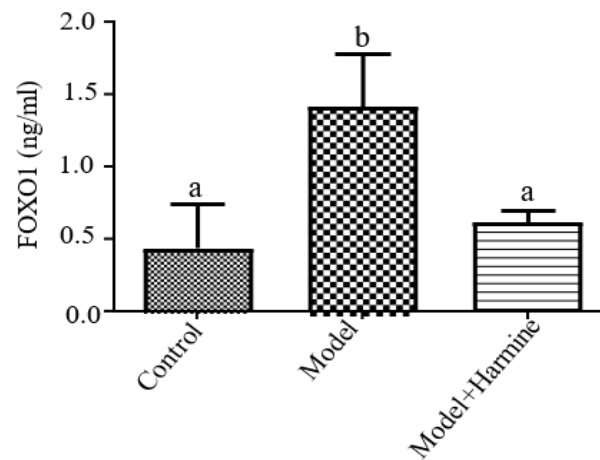
تجزیه و تحلیل آماری پژوهش حاضر، نشان داد که سطح فعالیت آنزیم‌های سرمی SGOT (شکل ۱۱) و SGPT (شکل ۱۲) در موش‌های دریافت‌کننده رژیم پرچرب نسبت به گروه کنترل بطور معنی‌داری افزایش یافته است. هارمین سبب کاهش معنی‌دار سطح آنزیم‌های ALP، SGPT (شکل ۵) و SGOT نسبت به گروه مدل شده است. سطح فعالیت آنزیم SOD (شکل ۳) و میزان TAC (شکل ۴) موجود در کبد گروه مدل نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری از خود نشان دادند در حالیکه بعد از تیمار با هارمین سطح آنزیم آنتی‌اکسیدان بطور معنی‌داری افزایش پیدا کرد. نتایج به دست آمده از پروفایل‌های لیپیدی نشان داد که سطوح کلسترول (شکل ۶)، تری‌گلیسرید (شکل ۱۰)، LDL (شکل ۸) و VLDL (شکل ۹) در گروه مدل بطور معنی‌داری

نسبت به گروه کنترل افزایش پیدا کرده است در حالیکه سطح HDL (شکل ۷) بطور معنی‌داری در این گروه کاهش پیدا کرده است. بعد از تیمار با هارمین، سطح تری‌گلیسرید و VLDL بطور معنی‌داری نسبت به گروه مدل کاهش یافته است و تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل نشان نمی‌دهند. سطح HDL نیز بطور معنی‌داری در گروه تحت تیمار با هارمین نسبت به گروه مدل افزایش پیدا کرده است. میزان LDL و کلسترول در گروه تحت تیمار با هارمین نسبت به گروه مدل کاهش غیرمعنی‌داری نشان می‌دهد. همچنین هارمین موجب کاهش معنی‌دار پروتئین FOXO1 (شکل ۲) و متابولیت MDA (شکل ۱) و اکسیدان کل TOS و میزان فعالیت آنزیم ALP نسبت به گروه مدل و افزایش معنی‌دار نسبت به گروه کنترل شده است. قابل ذکر است که درصد سلول‌های آپوپتوز شده هنگامی که گروه مدل تحت تیمار با داروی هارمین قرار گرفت، کاهش معنی‌داری نسبت به گروه مدل و افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان داد.



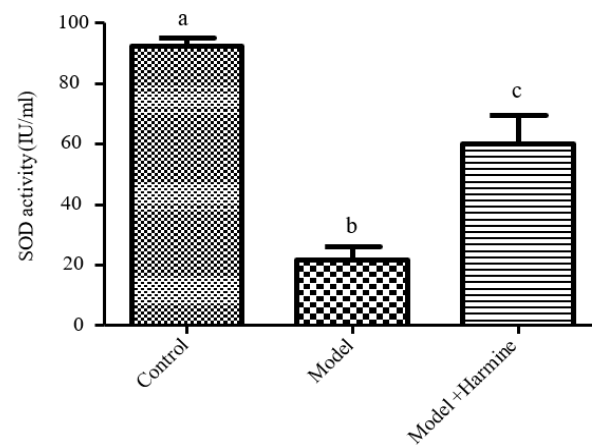
شکل ۱- نمودار حاصل از نتایج MDA در گروه‌های کنترل، مدل و مدل تحت تیمار با هارمین. نتایج حاضر در سطح $p < 0.05$ با سه بار تکرار مورد آزمایش قرار گرفت. حروف شبیه به هم از نظر معنی‌داری با هم تفاوتی نداشته‌اند ولی حروف غیرمشابه از نظر آماری باهم تفاوت معنی‌داری داشتند.

Fig. 1. Graph of MDA results in control, model and harmine-treated groups. The present results were tested at the $p < 0.05$ level with three repetitions. Similar letters were not significantly different from each other, but dissimilar letters were statistically significantly different from each other.



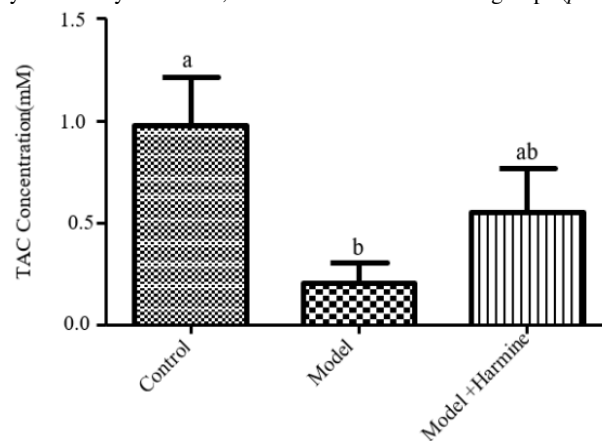
شکل ۲- نتایج میزان پروتئین FOXO1 در گروه‌های کنترل، مدل و مدل تحت تیمار با هارمین ($p < 0.05$ با سه بار تکرار).

Fig. 2. Results of FOXO1 protein levels in the control, model and harmine-treated groups ($p < 0.05$, with three repetitions).



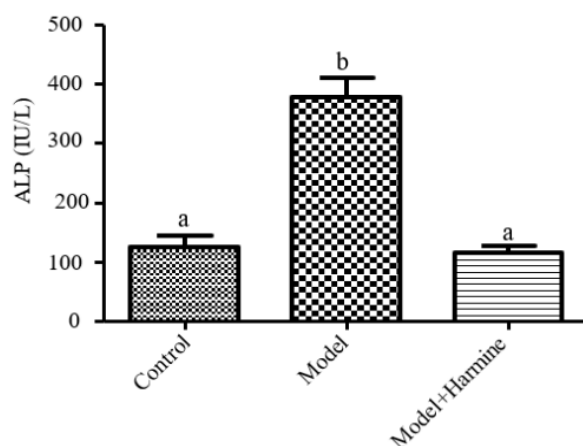
شکل ۳- نتایج میزان فعالیت آنزیم SOD در گروه‌های کنترل، مدل و مدل تحت تیمار با هارمین ($p < 0.05$ با سه بار تکرار).

Fig. 3. Results of SOD enzyme activity in control, model and harmine-treated groups ($p < 0.05$, with three repetitions).

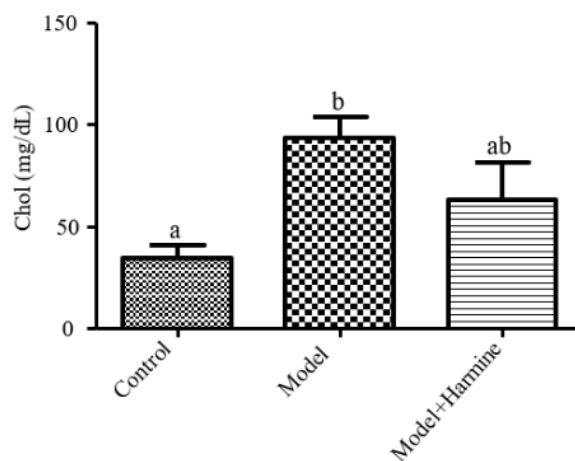


شکل ۴- نتایج میزان TAC در گروه‌های کنترل، مدل و مدل تحت تیمار با هارمین ($p < 0.05$ با سه بار تکرار).

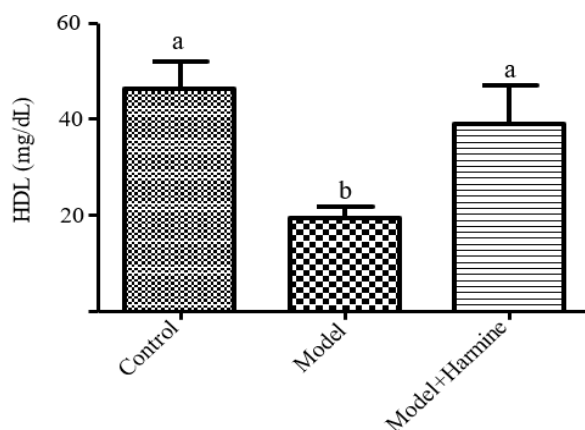
Fig. 4. Results of TAC levels in the control, model and harmine-treated groups ($p < 0.05$, with three repetitions).



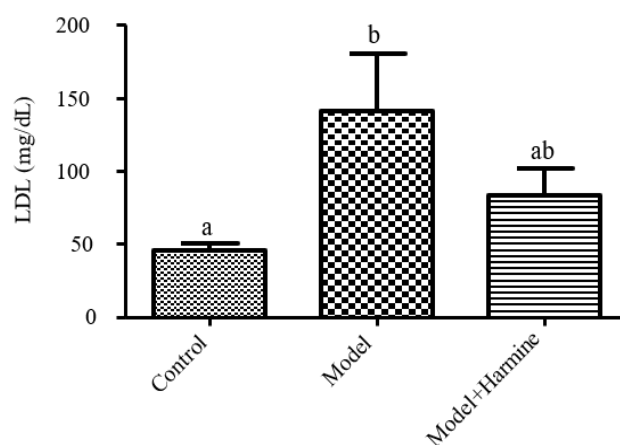
شکل ۵- نتایج میزان فعالیت آنزیم ALP در گروه‌های کنترل، مدل و مدل تحت تیمار با هارمین ($p < 0.05$ با سه بار تکرار).
 Fig. 5. Results of ALP enzyme activity in control, model and harmine-treated groups ($p < 0.05$, with three repetitions).



شکل ۶- نتایج میزان کلسترول در گروه‌های کنترل، مدل و مدل تحت تیمار با هارمین ($p < 0.05$ با سه بار تکرار).
 Fig. 6. Results of cholesterol levels in the control, model and harmine-treated groups ($p < 0.05$, with three repetitions).

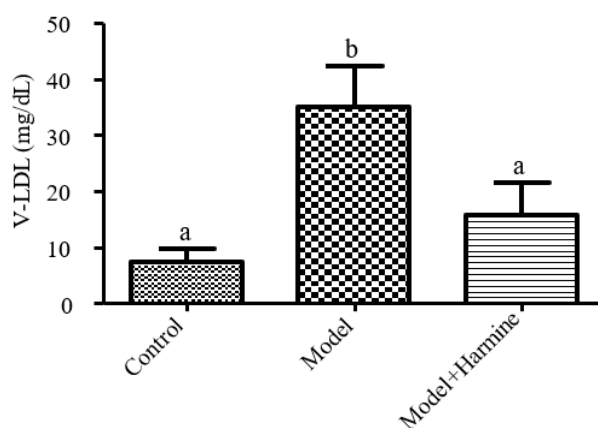


شکل ۷- نتایج میزان HDL در گروه‌های کنترل، مدل و مدل تحت تیمار با هارمین ($p < 0.05$ با سه بار تکرار).
 Fig. 7. Results of HDL levels in the control, model and harmine-treated groups ($p < 0.05$, with three repetitions).



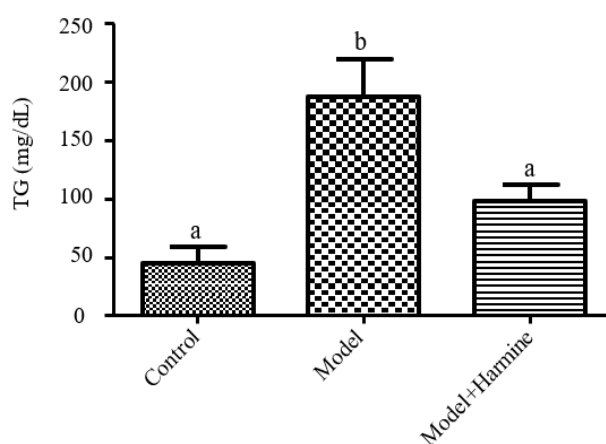
شکل ۸- نتایج میزان LDL در گروه‌های کنترل، مدل و مدل تحت تیمار با هارمین ($p < 0.05$ با سه بار تکرار).

Fig. 8. Results of LDL levels in the control, model and harmine-treated groups ($p < 0.05$, with three repetitions).



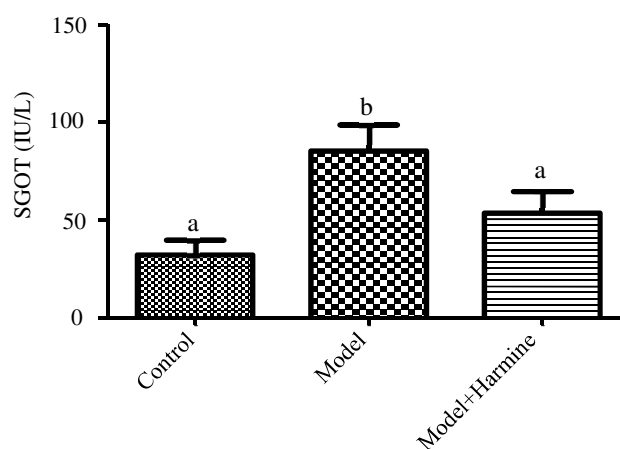
شکل ۹- نتایج میزان VLDL در گروه‌های کنترل، مدل و مدل تحت تیمار با هارمین ($p < 0.05$ با سه بار تکرار).

Fig. 9. Results of VLDL levels in the control, model and harmine-treated groups ($p < 0.05$, with three repetitions).

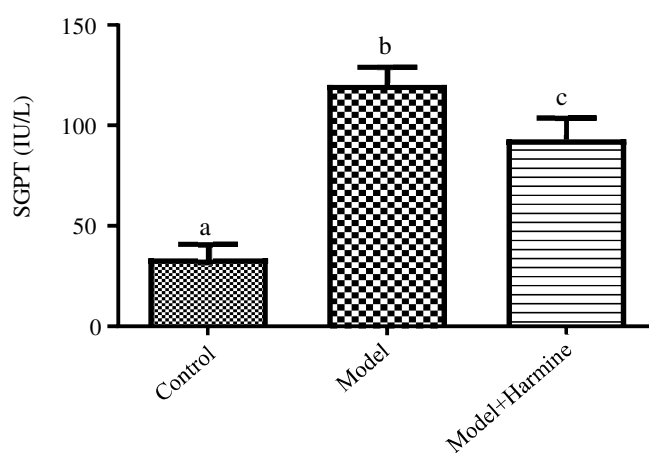


شکل ۱۰- نتایج میزان تری‌گلیسرید در گروه‌های کنترل، مدل و مدل تحت تیمار با هارمین ($p < 0.05$ با سه بار تکرار).

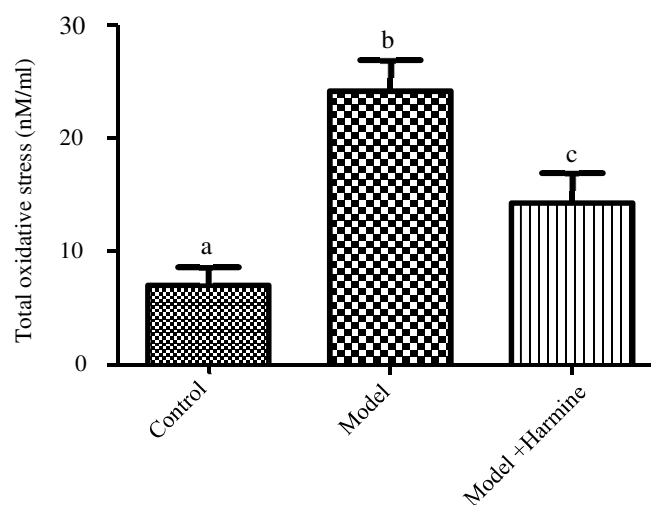
Fig. 10. Results of triglyceride levels in the control, model and harmine-treated groups ($p < 0.05$, with three rep



شکل ۱۱- نتایج میزان فعالیت آنزیم SGOT در گروه‌های کنترل، مدل و مدل تحت تیمار با هارمین ($p < 0.05$ با سه بار تکرار).
 Fig. 11. Results of SGOT enzyme activity in control, model and harmin-treated groups ($p < 0.05$, with three repetitions).

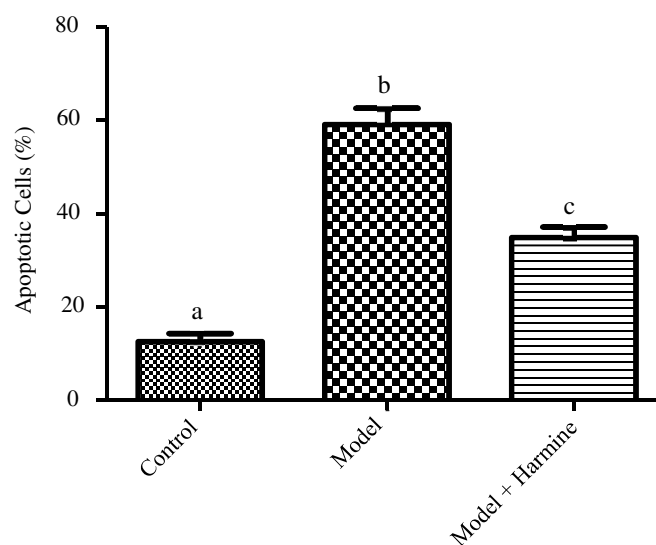


شکل ۱۲- نتایج میزان فعالیت آنزیم SGPT در گروه‌های کنترل، مدل و مدل تحت تیمار با هارمین ($p < 0.05$ با سه بار تکرار).
 Fig. 12. Results of SGPT enzyme activity in control, model and harmin-treated groups ($p < 0.05$, with three repetitions).



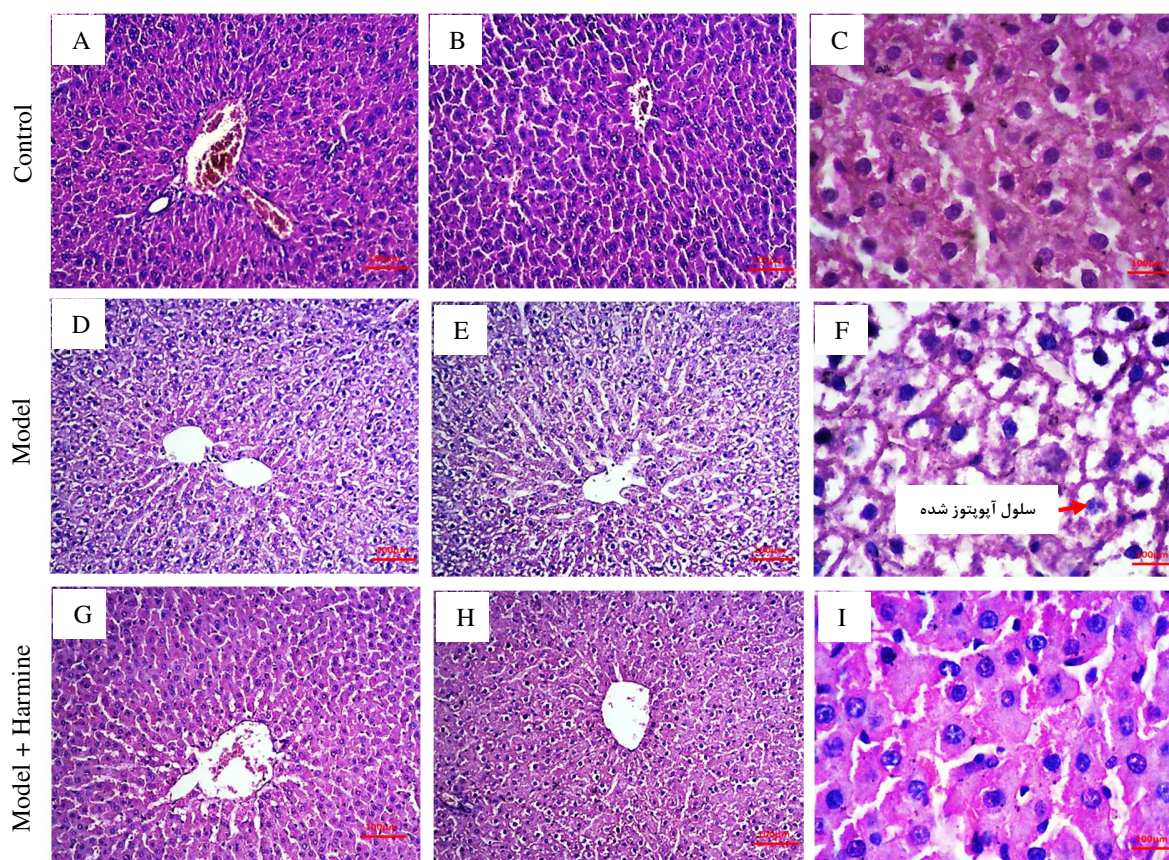
شکل ۱۳- نتایج میزان TOS در گروه‌های کنترل، مدل و مدل تحت تیمار با هارمین ($p < 0.05$ با سه بار تکرار).

Fig. 13. Results of TOS levels in the control, model and harmine-treated groups ($p < 0.05$, with three repetitions).



شکل ۱۴- نتایج درصد بیان سلول‌های آپوپتوز شده در گروه‌های کنترل، مدل و مدل تحت تیمار با هارمین ($p < 0.05$ با سه بار تکرار).

Fig. 14. Results of the percentage of expression of apoptotic cells in the control, model and harmine-treated groups ($p < 0.05$, with three repetitions).



شکل ۱۵- تصاویر رنگ آمیزی هماتوکسیلین و انوزین سه گروه کنترل، مدل و مدل تحت تیمار با هارمین. در تصاویر A تا C، که مربوط به گروه کنترل می‌باشد، سلول‌ها سالم و طبیعی می‌باشند و آپوپتوز در آنها دیده نمی‌شود. تصاویر D تا F مربوط به گروه مدل کبدچرب می‌باشد که بطور شاخصی حضور سلول‌های دچار آپوپتوز دیده می‌شود. تصویر G تا I مربوط به گروه مدل کبدچرب تحت تیمار با هارمین می‌باشد. به نظر می‌رسد که بطور معنی‌داری از تعداد سلول‌های آپوپتوز شده کاسته شده است.

Fig. 15. Hematoxylin and eosin staining images of the three control, model, and harmine-treated groups. In images A to C, which are related to the control group, the cells are healthy and normal and apoptosis is not seen in them. Images D to F are related to the fatty liver model group, which significantly shows the presence of apoptotic cells. Images G to I are related to the fatty liver model group treated with harmine. It seems that the number of apoptotic cells has been significantly reduced.

بحث

که احتمالاً این به دلیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی ماده هارمین می‌باشد. میزان HDL در گروه تیمارشده با هارمین نیز در مقایسه با گروه مدل افزایش معنی‌داری پیدا کرده بود. افزایش آنزیم‌های SGPT، ALP و SGOT که در نتیجه ایجاد کبد چرب دیده شد نشانگر آسیب به بافت کبد می‌باشد. در تایید نتایج به دست آمده، در سایر تحقیقات نشان داده شده است که عصاره الکلی اسپند باعث کاهش

در مطالعه‌ی حاضر گروه تیمار شده با هارمین، در مقایسه با گروه مدل، کاهش معنی‌داری در سطح کلسترول، تری-گلیسرید، گلوکز، LDL، VLDL، آنزیم‌های SGOT، ALP، SGPT همچنین میزان متابولیت MDA، TOS و میزان پروتئین FOXO1 نشان داد، درحالی‌که افزایش معنی‌داری در سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD و میزان TAC در گروه دریافت‌کننده هارمین نسبت به گروه مدل مشاهده شد

ورود اسیدهای چرب آزاد از گردش خون و خارج شدن لیپوپروتئین‌های با چگالی بسیار کم غنی از تری‌گلیسیرید به گردش خون، نقش مهمی در هموستاز تری‌گلیسیرید در بدن دارند (۱۹). در تنظیم لیپوژنز، پروتئین‌های FOXO می‌توانند بیان ژن پروتئین‌های SREBP1 را سرکوب نمایند و در نتیجه، بیان تعدادی از ژن‌های دخیل در بیوسنتز اسیدهای چرب نیز توسط پروتئین‌های FOXO تعدیل می‌شوند، از آن جمله می‌توان به استیل کوآ کربوکسیلاز آلفا، اسید چرب سنتاز، آدنوزین تری فسفات سیترات لیاز، آنزیم مالیک ۱ و گلیسرول-۳-فسفات استیلاز میتوکندریایی اشاره نمود. علاوه بر این، پروتئین‌های FOXO ژن‌های لیپولیز و اکسیداسیون اسیدهای چرب از جمله لیپازتری‌آسیل گلیسرول چربی، لیپاز حساس به هورمون، لیپوپروتئین لیپاز و کارنیتین پالمیتوئیل ترانسفراز ۱ را فعال می‌نمایند (۲۰). پروتئین FOXO1 یک تنظیم کننده بسیار مهم در مسیر گلوکونئوزنیک و متابولیسم چربی محسوب می‌شود و می‌تواند سبب رسوب چربی در سلول‌های کبدی شود. پروتئین FOXO1 می‌تواند تبدیل کلسترول به اسیدهای صفراوی را با تعدیل ژن‌های بیوسنتزی اسیدهای صفراوی از جمله سیتوکروم P450 تنظیم نماید (۲۱).

نتیجه‌گیری

پروتئین FOXO1 نقش پیچیده و دوگانه‌ای در تنظیم افزایش و کاهش تجمع چربی در سلول‌های کبدی و بافت‌های چربی در مراحل مختلف NAFLD دارد. در افراد مبتلا به دیابت مقاوم به انسولین، سبب افزایش رها سازی گلوکز از کبد به داخل خون و بی‌نظمی در متابولیسم لیپید می‌شود. نتایج تحقیق حاضر تایید می‌کند که هارمین با تعدیل میزان FOXO1 قادر به بهبود عملکرد سلول‌های کبدی در مدل‌های حیوانی کبد چرب می‌شود. پروتئین FOXO1 این توانایی بالقوه را دارد که توسط هارمین برای

سطح سرمی تری‌گلیسیرید، کلسترول، LDL، VLDL و افزایش HDL در مدل‌های موش دیابتی می‌شود. با توجه به نتایج حاضر به نظر می‌رسد که آلکالوئید هارمین می‌تواند نقش موثری در بهبود علائم کبدچرب در مدل حیوانی داشته باشد. هارمین یک آلکالوئید بتا-کربولین که در دانه‌های اسپند وجود دارد (۱۴). هارمین فعالیت‌های زیستی بسیار گسترده ای نظیر کاهش التهاب، ضدباکتری، ضد ویروس، مهار تکثیر سلول‌های سرطانی می‌باشد (۱۵). گزارش شده است که هارمین می‌تواند سبب متعادل شدن پراکسیداسیون لیپیدی و همچنین تقویت توانایی آنتی‌اکسیدانی در بافت کلیه شود (۱۶). هارمالین و هارمین دارای ظرفیت بالایی در حذف رادیکال‌های آزاد می‌باشند. علاوه بر این، هارمین، توانایی تنظیم سایتوکاین‌های پیش التهابی و فاکتورهای رونویسی را دارد و آپوپتوز را در سلول‌های سرطانی، از طریق مکانیسم‌های خارجی و داخلی فعال می‌نماید. در مطالعه حاضر اثر هارمین بر میزان پروتئین FOXO1 نیز بررسی شد. ژن‌های خانواده فاکتور رونویسی FOXO بسیار حفاظت شده می‌باشند. پروتئین-های خانواده FOXO از دسته پروتئین‌هایی می‌باشند که توسط ERK، JNK، AMPK، AKT و فسفریله می‌شوند (۱۷). این پروتئین‌ها قابلیت استیلاسیون توسط P300/CBP و داستیلاسیون توسط SIRT1 را نیز دارند. پروتئین‌های FOXO در فرآیندهای مختلفی نظیر استرس اکسیداتیو، اتوفازی و متابولیسم شرکت می‌کنند و دارای ۴ هومولوگ FOXO1، FOXO3، FOXO4 و FOXO6 در پستانداران می‌باشند. در گروه تحت تیمار با هارمین در این پژوهش، مقدار آپوپتوز بطور معنی‌داری نسبت به گروه مدل کبدچرب کاهش یافته است. FOXO1 جزء اهداف پایین دستی مسیر پروتئین کیناز AKT/B می‌باشد، این مسیر برای تکثیر و مهار آپوپتوز لازم می‌باشد (۱۸). پروتئین‌های FOXO با تنظیم لیپوژنز، اکسیداسیون اسیدهای چرب،

7. Guo S, Mangal R, Dandu C, Geng X, Ding Y. Role of forkhead box protein O1 (FoxO1) in stroke: A literature review. *Aging Dis.* 2022; 13(2):521-533.

8. Xu D, Qu X, Yang T, Sheng M, Bian X, Zhan Y, et al. The Foxo1-YAP-Notch1 axis reprograms STING-mediated innate immunity in NASH progression. *Exp Mol Med.* 2024;56: 1843-1855.

9. Lv Y, Liang H, Li J, Li X, Tang X, Gao S, et al. Central inhibition prevents the in vivo acute toxicity of harmine in mice. *J Toxicol Sci.* 2021; 46(6):289-301.

10. Rong L, Zou J, Ran W, Qi X, Chen Y, Cui H, Guo J. Advancements in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Frontiers.* 2023;13:1087260.

11. Ghanbari A, Jalili C, Salahshoor MR, Javanmardy S, Ravankhah S, Akhshi N. Harmine mitigates cisplatin-induced renal injury in male mice through antioxidant, anti-inflammatory and anti-apoptosis effects. *Res Pharmac Sci.* 2022;17(4):417-427.

12. Kim M, Ahn S, Hur N, Oh S, Son C. The additive effect of herbal medicines on lifestyle modification in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *Frontiers.* 2024;15:1362391.

13. Guan Y, Louis ED, Zheng W. Toxicokinetics of tremorogenic natural products, harmane and harmine in male Sprague-Dawley rats. *J Toxicol Environ Health A.* 2001;64(8):645-660.

14. Morsy MHE, Nabil ZI, Darwish S, A-Eisa RA, Mehana AE. Anti-diabetic and anti-adipogenic effect of harmine in high-fat-diet-induced diabetes in mice. *Life.* 2023;13(8): 1693.

15. Zhang L, Dengchang L. Pharmacological effects of harmine and its derivatives: a review. *Arch Pharm Res.* 2020;43(12):1259-1275.

درمان NAFLD و یا حتی چاقی بیشتر مورد مطالعه و بررسی قرار بگیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پژوهش انجام شده در دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران می‌باشد که با حمایت‌های معنوی حوزه معاونت محترم پژوهشی آن واحد به انجام رسیده است. بدین‌وسیله از کمک و یاری این عزیزان قدردانی می‌شود.

منابع

1. Cataldo I, Sarcognato S, Sacchi D, Cacciatore M, Bacciorri F, Mangia, A, et al. Pathology of non-alcoholic fatty liver disease. *Pathologica.* 2021;113(3):194-202.

2. Cheng J, Yang S, Chou D, Chen J, Li Y, Haung C, et al. FOXO1 induced fatty acid oxidation in hepatic cells by targeting ALDH1L2. *Gastroenterol Hepatol.* 2024;39(10): 2197-2207.

3. Paternostro R, Trauner M. Current treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *J Int Med.* 2022;292(2):190-204.

4. Ciardullo S, Muraca E, Vergani M, Invernizzi P, Perseghin G. Advancements in pharmacological treatment of NAFLD/MASLD: a focus on metabolic and liver-targeted interventions. *Gastroenterol Rep.* 2024;12:1-10.

5. Rostamizadeh P, Mazloom Z. The effect of licorice and probiotics on nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD): A systematic review. *Int J Nutr Sci.* 2019;4(4):163-169.

6. Efati M, Khorrami M, Zarei Mahmmudabadi A, Raouf Sarshoori J. Induction of an animal model of non-alcoholic fatty liver disease using a formulated high-fat diet. *J Babol Univ Med Sci.* 2016;18(11):57-62.

19. Ogawa W. Insulin resistance and adipose tissue. *Diabetol Int.* 2023;14(2):117-118.
20. Zachou M, Flevari P, Nasiri-Ansari N, Varytimiadis C, Kalaitzakis E, Kassi E, et al. The role of anti-diabetic drugs in NAFLD. Have we found the Holy Grail? A narrative review. *Eur J Clin Pharmacol.* 2023;80:127-150.
21. Zhang X, Jiang L, Liu H. Forkhead Box Protein O1: Functional diversity and post-translational modification, a new therapeutic target?. *Drug Des Dev Ther.* 2021;15:1851-1860.
16. Salahshoor MR, Roshanak Shiva, Motavalian V, Jalili C. Effect of harmine on nicotine-induced kidney dysfunction in male mice. *Int J Prevent Med.* 2019;10(1):97.
17. Peng S, Li W, Hou N, Huang N. A review of FoxO1-regulated metabolic diseases and related drug discoveries. *Cells.* 2020;9(1):184.
18. Sha X, Zou X, Liu S, Guan C, Shi W, Gao J, Zhong X, Jiang X. Forkhead box O1 in metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: molecular mechanisms and drug research. *Front Nutr.* 2024;11:1426780.