مجلـــه‌ی علمـــی، پژوهشـــی دانشـــگاه علـــوم پزشـــکی زنجـــان
دوره‌ی ۲۳، شماره‌ی ۹۷، خرداد و تیر ۱۳۹٤، صفحات ۱۰۳ تا ۱۱۱

بررسی تاثیر اسیدالائیدیک بر بیان ژن استئونکتین در سلول‌های عضله‌ی صاف دیواره‌ی رگ‌ها

دکتر کیهان قطره سامانی[۱]، دکتر عفت فرخی[۲]، ندا مهندس سامانی[۳]

نویسنده‌ی مسوول: شهرکرد، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی e_farrokhi_k@yahoo.com

دریافت: ۹۲/۱۱/۱۵ پذیرش: ۹۳/۷/۳۰

چکیده

زمینه و هدف؛ *بیان پروتئین‌های ماتریکس استخوان و فاکتورهای تنظیمی از جمله استئونکتین در دیواره‌ی رگ‌ها باعث تشکیل آتروم و پیشرفت آترواسکلروز می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که مصرف اسیدهای چرب ترانس سبب افزایش و بروز بیماری‌های قلبی عروقی می‌گردند. در این مطالعه تاثیر اسید الائیدیک بر بیان ژن استئونکتین یکی از فاکتورهای موثر بر کلسیفیه شدن عروق مورد بررسی قرار گرفت.*

روش بررسی؛ *سلول‌های عضله صاف عروق با غلظت‌های ۵و ۱۰ و ۲۰ میکرومولار اسید الائیدیک به‌مدت ۴۸ ساعت در برابر گروه کنترل، تیمار گردیدند. بعد از استخراج RNA و سنتز cDNA میزان بیان ژن استئونکتین با روش Real Time PCR مورد سنجش قرار گرفت.*

یافته‌ها؛ *اسید الائیدیک در غلظت‌های ۱۰و ۲۰ میکرومولار میزان بیان ژن استئونکتین را در مقایسه با گروه کنترل به ترتیب ۴/۳۴ و ۶/۵۸ برابر افزایش داد. ($P<۰/۰۵$). غلظت ۵ میکرومولار اسید الائیدیک تاثیر معنی‌داری بر بیان ژن استئونکتین نداشت.*

نتیجه‌گیری؛ *اسید الائیدیک بیان ژن استئونکتین را افزایش می‌دهد. لذا به نظر می‌رسد این اسید چرب ترانس با تاثیر بر روند کلسیفیه شدن عروق، در تشکیل آتروم و افزایش ریسک بیماری های قلبی موثر باشد.*

واژگان کلیدی: ***سلول‌های عضله صاف دیواره‌ی رگ‌ها، اسیدالائیدیک، استئونکتین، آترو اسکلروز***

مقدمه

آترواسکلروز یک بیماری التهابی، مزمن و چند عاملی است که به عنوان علت قابل توجه مرگ و میر و ناتوانی زودرس در جوامع پیشرفته مطرح می‌باشد. علی رغم آشنایی با این بیماری، اطلاعات کمی درباره‌ی برخی ویژگی‌های اصلی آن وجود دارد. این بیماری درانسان طی سال‌های متمادی پدید می‌آید (۱). کلسیفیه شدن دیواره‌ی رگ‌ها در آترواسکلروز همواره به عنوان یک ریسک فاکتور برای پارگی پلاک آتروم (Plaque rupture) مطرح می باشد (۲و۱). مدت‌ها تصور می‌شد کلسیفیه شدن دیواره‌ی رگ‌ها مرحله‌ی انتهایی آترواسکلروز است، اما مطالعات نشان می‌دهد کلسیفیه شدن آتروم از همان ابتدا و در دهه‌ی دوم زندگی پس از تشکیل رگه‌های لیپیدی با یک فرایند فعال و تنظیم شده آغاز می‌شود (۴و ۳). علت کلسیفیه شدن رگ‌ها، تمایز سلول‌های عروقی به دنبال تحریک با سایتوکاین ها،

۱- دکترای تخصصی بیوشیمی، مرکز تحقیقات بیو شیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد
۲- دکترای تخصصی پزشکی مولکولی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد
۳- کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشکده ی علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد

فاکتورهای التهابی و لیپوپروتئین‌های تغییر یافته در پلاک‌های آتروم می‌باشد (۵). کلسیفیه شدن آترواسکلروتیک با کلسیفیه شدن و تشکیل استخوان مشابه است (۷و۶). مطالعات نشان می‌دهند عروق کلسیفیه شده و سلول‌های عروقی در محیط کشت، پروتئین‌های ماتریکس استخوان و فاکتورهای تنظیمی از جمله استئونکتین (ON) را بیان می‌کنند (۸و۶). همچنین مشخص شده که با پیشرفت اترواسکلروز، بیان استئونکتین که نوعی پروتئین ماتریکس سلولی غنی از سیستئین است و SPARC (Secreted Protein Acidic and Rich in Cysteine) و یا BM-40 (Basement-Membrane Protein 40) نیز نامیده می‌شود و مواد کانی را به کلاژن متصل می‌کند، در سلول‌های دیواره‌ی عروق افزایش می‌یابد (۹).

اسیدالائیدیک یک اسید چرب ترانس مشتق شده از اولئیک اسید می‌باشد که در روغن‌های هیدروژنه‌ی گیاهی یافت می‌شود (۱۱و۱۰). این اسیدهای چرب به میزان ۲ تا ۵ درصد در شیر گاو و گوسفند وجود دارند و در گوشت قرمز به وفور یافت می‌شوند. مطالعات انجام شده بر مصرف گوشت در رژیم غذایی روزانه نشان داده است که با مصرف موادغذایی حاوی اسیدهای چرب ترانس میزان کلسترول LDL و غلظت لیپوپروتئین‌ها ۲۸ درصد نسبت به مصرف اسیدهای چرب سیس افزایش می‌یابد (۱۵-۱۲). اسیدهای چرب غیر اشباع دارای پیوندی دوگانه بین دو مولکول کربن هستند بنابراین هیدروژن کمتری در ساختار آن‌ها وجود دارد یکی از اولین و مهم‌ترین خطرات ذکر شده در مورد استفاده از این اسیدهای چرب ترانس از جمله اسیدالائیدیک ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی می باشد (۱۶). استفاده از اسیدهای چرب ترانس در رژیم غذایی روزانه باعث افزایش لیپوپروتئین با دانسیته‌ی پایین (VLDL) و کاهش لیپوپروتئین با دانسیته‌ی بالا (HDL) می‌شود(۱۷). از این رو انتظار می رود اسیدالائیدیک با افزایش بیان ژن استئونکتین خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی را با تسریع کلسیفیکاسیون عروقی افزایش دهد. هدف از این مطالعه بررسی اثر اسیدالائیدیک بر بیان ژن استئونکتین به منظور ارایه راهکار جدید جهت معرفی این ترکیب به عنوان یک عامل افزایش دهنده‌ی کلسیفیکاسیون عروقی است، تا تمهیدات لازم جهت کاهش هرچه بیشتر این ترکیب از مواد غذایی صورت گیرد.

روش بررسی

کشت رده‌ی سلولی سلول‌های ماهیچه‌ی صاف عروق آئورت انسانی: در این مطالعه‌ی تجربی از سلول های ماهیچه‌ی صاف عروق آئورت انسانی (Human Aorta Vascular Smooth Muscle Cell, HA/ VSMC) استفاده شد که از انستیتو پاستور تهیه گردید. محیط کشت این سلول F12K بوده که حاوی ۰/۰۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اسکوربیک اسید، ۰/۰۱ میلی گرم بر میلی لیتر انسولین، ۰/۰۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ترانسفرین، ۱۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر سدیم سلنیت، ۰/۰۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مکمل‌های رشد سلول‌های اندوتلیال (EGFS)، FBS 10 درصد، ۱۰ میلی‌مول HEPES، ۱۰۰ واحد بر میلی‌لیتر پنی‌سیلین ۱۰۰، ۱۰۰ واحد بر میلی‌لیتر استرپتو مایسین و ۰/۰۱ درصد آمفو تریسین می‌باشد. سلول‌ها در فلاسک ۵۰ میلی لیتر در انکوباتور (۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و CO_2 ۵ درصد) کشت داده شدند. بعد از رشد و تکثیر سلول‌ها، از پاساژ ۷-۴ برای انجام مراحل بعدی استفاده گردید (۱۸).

تیمار سلول‌ها با اسید الائیدیک: برای تیمار سلول ها با اسیدالائیدیک ابتدا سلول‌ها توسط لام نئوبار شمارش گردید و سپس حدود ۱۵۰۰۰ سلول در هر چاهک در پلیت۱۲خانه توزیع گردید. پس ازمدت زمان ۴۸ ساعت و رسیدن سلول‌ها به تراکم ۸۰ درصد، سلول‌ها با غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۲۰ میکرومولار اسیدالائیدیک تیمار گردید. برای هرغلظت ۳ تکرار در نظرگرفته شد (۱۸). سلول‌های تیمار شده مجددا به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور قرار گرفتند. گروه کنترل

نیز که حاوی تمام ترکیبات موجود در گروه‌های تیمار شده به جز اسیدالائیدیک می‌باشد لحاظ گردید.

استخراج RNA و ساخت cDNA: استخراج RNA با استفاده از کیت بیوزول (BIOZOL) خریداری شده از شرکت (Bioflux- Malaysia) و طبق دستور العمل مربوطه انجام گرفت و سپس غلظت و کیفیت ان توسط نانودراپ تعیین شد. با استفاده از کیت ساخت cDNA (Thermo-Canada) و طبق دستور العمل شرکت سازنده کیت از روی RNA حاصله cDNA ساخته شد. در حدود ۲ میکروگرم از هر نمونه برای ساخت cDNA استفاده گردید.

بررسی بیان ژن استئونکتین: بیان ژن استئونکتین با روش Real Time PCR و با استفاده از سایبرگرین (Syber green) توسط دستگاه (Corbett-Australia) Rotor-Gene بررسی گردید. از ژن GAPDH به عنوان ژن مرجع تکثیر استفاده شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده که از مقالات مشابه بر گرفته شده (۲۰و۱۹) در جدول ۱ آورده شده است. شرایط انجام آزمایش شامل: ۵ دقیقه فعال شدن آنزیم در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد، ۴۰ سیکل شامل ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه، ۵۹ درجه‌ی سانتی گراد به مدت ۲۰ ثانیه و ۷۲ درجه‌ی سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه می‌باشد.

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورداستفاده و طول محصول

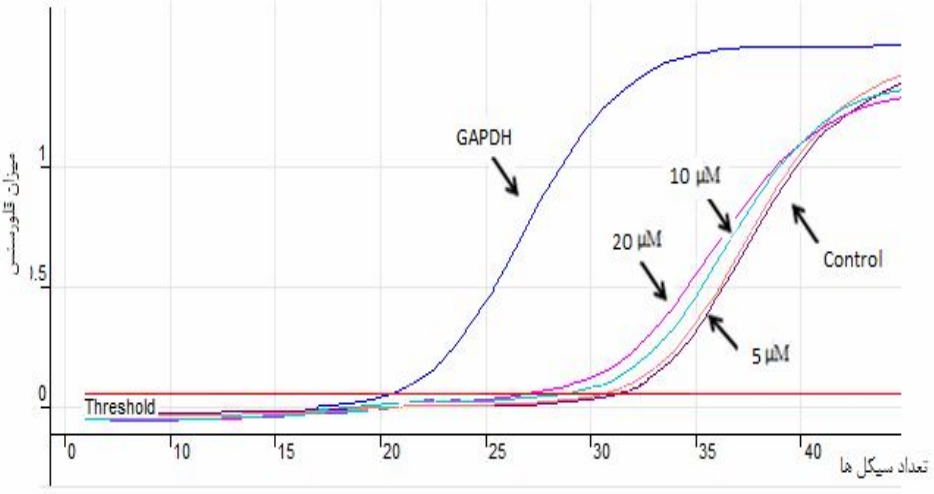
ژن	توالی پرایمر ('5-'3)	طول محصول
GAPDH	Forward: ACACCCACTCCTCCACCTTTG Reverse: TCCACCACCCTGTTGCTGTAG	۱۱۲
Osteonectin	Forward:TCTTCCCTGTACACTGGCAGTTC Reverse: AGCTCGGTGTGGGAGAGGTA	۷۳

بیان ژن استئو نکتین در گروه‌های تیمار شده و کنترل اندازه گیری شد. میزان تغییرات بیان ژن استئونکتین با روش کمی نسبی و تعیین ΔΔCT ارزیابی گردید. برای هر نمونه ۳ تکرار انجام شد. پس از انجام آزمایش، به منظور تایید تکثیر قطعات اختصاصی هر ژن و عدم حضور محصولات غیر اختصاصی و پرایمر دایمر، نمودار منحنی ذوب (Melting Curve) برای هر ژن مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت داده‌ها با نرم افزار SPSS تجزیه وتحلیل گردید. مقایسه‌ی گروه ها با آزمون نان پارامتریک Kruskalwallis تفسیر شد.

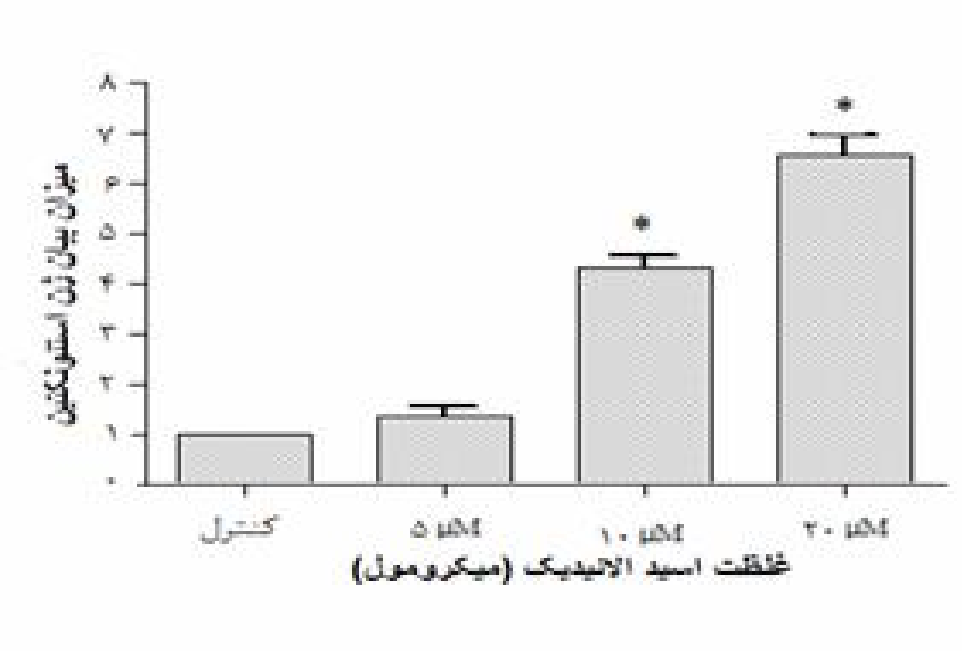
یافته‌ها

سلول‌ها با ۳ غلظت مختلف اسیدالائیدیک، به مدت ۴۸ ساعت تیمار شدند. پس از تعیین اختلاف CT ژن استئونکتین با ژن مرجع (ΔCT) برای هر نمونه و محاسبه اختلاف آن در گروه‌های تیمار شده با گروه کنترل (ΔΔCT)، میزان تغییرات بیان (Fold Change) با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ محاسبه شد و نتایج نشان داد ، اسیدالائیدیک در غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۲۰ میکرومول، میزان بیان ژن استئونکتین را در مقایسه با گروه کنترل به ترتیب ۱/۳۳، ۴/۳۴ و ۶/۵۸ برابر افزایش داده است (شکل ۱). اختلاف بیان ژن استئونکتین با گروه کنترل در

غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ میکرومول معنی‌دار بوده (P<۰/۰۵) اما غلظت ۵ میکرومولار اسیدالائیدیک تاثیر معنی‌داری بر بیان ژن استئونکتین نداشت (نمودار ۱).

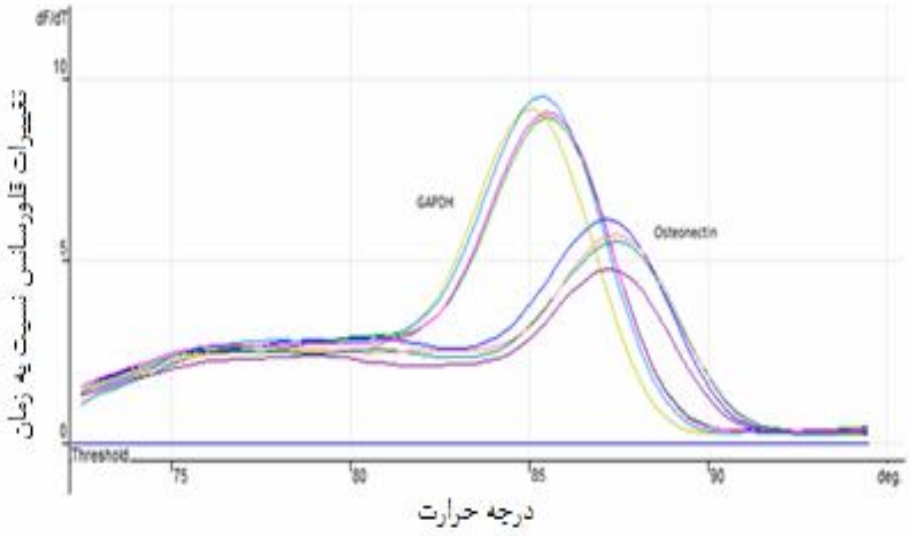


شکل ۱: بررسی تغییرات بیان ژن استئونکتین به روش Real time PCR در سلول‌های VSMC بدنبال تیمار با غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۲۰ میکرومولار اسید الائیدیک



نمودار ۱: میزان بیان ژن استئونکتین در غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۲۰ میکرومولار اسید الائیدیک
(* معنی‌دار بودن نسبت به گروه کنترل P<۰/۰۵)

شکل ۲: نمودار حاصل از منحنی ذوب تکثیر اختصاصی ژن‌های مورد نظر و عدم جفت شدن‌پرایمرها را نشان می‌دهد.



شکل ۲: منحنی ذوب واکنش Real time PCR مربوط به نمونه های تیمار شده با اسید الائیدیک

بحث

شواهد نشان داده است که عواملی نظیر زمینه‌های ارثی، رژیم غذایی نامناسب و مصرف سیگار سبب بروز بیماری‌های قلبی- عروقی می شوند که یکی از عوامل مهم مرگ و میر در دنیا به شمار می آید. اخیرا تحقیقات زیادی بر روی بیان ژن‌های مرتبط با کلسیفیه شدن رگ‌ها و اثرات آن بر بیماری‌های قلبی عروقی صورت گرفته است. در این مطالعه اثر غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۲۰ میکرومولار اسید الائیدیک بر روی بیان ژن استئونکتین مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که اسید الائیدیک در غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ بیان ژن استئونکتین را در مقایسه با گروه کنترل افزایش می دهد. مطالعات صورت گرفته نشان داده است که هر ساله افراد زیادی در اثر بیماری‌های قلبی عروقی جان خود را از دست می‌دهند و در صدی از مرگ و میر این افراد به مصرف اسیدهای چرب ترانس نسبت داده شد (۲۲،۲۱). در مطالعاتی که در زمینه اسیدهای چرب ترانس صورت گرفته است مشاهده شده است که اسیدهای چرب ترانس باعث ایجاد آسیبهای اندوتلیالی می‌شوند (۲۲). از طرفی اسیدهای چرب ترانس با تاثیر بر فاکتورهای التهابی باعث افزایش ریسک بیماری‌های قلبی عروقی می گردند (۲۳) این در حالی است که نقش فاکتورهای التهابی در ایجاد کلسیفیه شدن عروق به اثبات رسیده است (۲۴). در مطالعه ای که اثر اسیدهای چرب ترانس بر روی بیماری‌های قلبی عروقی بررسی شده است، این اسیدهای چرب به‌عنوان یکی از ریسک فاکتورهای اصلی دربیماری‌های قلبی- عروقی شناخته شده‌اند. مصرف اسیدهای چرب ترانس فعالیت سرمی پاراکسوناز را کاهش می‌دهد، که ارتباط نزدیکی با کلسترول HDL دارد. در مطالعات دیگر، نشان داده شده است که اسیدالائیدیک بیان ژن

Stearoyl-CoA Desaturase1 (SCD1) که باعث تجمع چربی‌ها در VSMC می‌گردد را افزایش می‌دهد و بیان این ژن با پیشرفت آترواسکلروز همراه است (۲۵). در مطالعه‌ی ژانگ مشاهده شده که اسید اولئیک ($C:18:1^{\delta:9}$) باعث افزایش تکثیر و مهاجرت سلول‌های عضلات صاف رگ‌ها می‌شود (۲۶). در مطالعه اسکلوسنر نشان داده شده است که بالا بودن کلسترول خون سبب معدنی شدن دیواره آئورت می‌گردد که با بیان ژن پروتئین‌های تشکیل دهنده‌ی ماتریکس‌های استخوانی همراه است (۲۷). در مطالعه‌ای که برروی استئونکتین صورت گرفت، بیان شده است که استئونکتین قادر به ممانعت از تکثیر سلول های اندوتلیال و فیبروبلاست می‌باشد (۲۸). از آنجایی افزایش بیان فاکتورهای مربوط به استخوان سازی در دیواره رگ‌ها ریسک آترواسکلروز را افزایش می‌دهد (۶) نتایج این مطالعه نشان می‌دهد افزایش بیان ژن استئو نکتین با افزایش روند کلسیفیه شدن رگ ها در افزایش بیماری آترواسکلروز موثر خواهد بود. در مجموع از آنجا یی که تاکنون یافته‌هایی مبنی بر اثر اسیدالائیدیک بر بیان ژن استئونکتین بر روی سلول‌های عضلات صاف دیواره‌ی رگ‌ها منتشر نشده است انجام مطالعات تکمیلی به ویژه در کلسیفیه شدن رگ‌ها ضروری به نظر می‌رسد.

نتیجه‌گیری

اسیدالائیدیک به‌عنوان یک اسید چرب ترانس بیان ژن استئونکتین را در سلول‌های دیواره‌ی عروق افزایش داده لذا کلسیفیه شدن را دراین سلول‌ها تسریع می‌نماید پس می‌تواند تشکیل پلاک‌های آتروم را در دیواره‌ی عروق افزایش دهد.

تقدیر و تشکر

تجهیزات به کار رفته در اجرای این پایان نامه، توسط معاونت تحقیقات وفناوری دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد تامین گردیده است که به این وسیله از همکاری آن معاونت تقدیر و تشکر می‌گردد.

References

1 -Insull Jr W. The pathology of atherosclerosis: plaque development and plaque responses to medical treatment. *Am J Med*. 2009; 122: S1-S64.

2 -Wu M, Rementer C, Giachelli CM. Vascular calcification: an update on mechanisms and challenges in treatment. *Calcif Tissue Int*. 2013; 93: 365-73.

3 -Demer LL, Tintut Y. Vascular calcification pathobiology of a multifaceted disease. *Circulation.* 2008; 117: 2938-48.

4 -Zhu D, Mackenzie NC, Farquharson C, MacRae VE. Mechanisms and clinical consequences of vascular calcification. *Front Endocrinol*. 2012; 3: 95.

5- Jenny NS, Brown ER, Detrano R. Associations of inflammatory markers with coronary artery calcification: results from the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2010; 209: 226-9.

6- Yao Y, Bennett BJ, Wang X, et al. Inhibition of bone morphogenetic proteins protects against atherosclerosis and vascular calcification novelty and significance. *Circ Res*. 2010; 107: 485-94.

7- Dhore CR, Cleutjens JP, Lutgens E, et al. Differential expression of bone matrix regulatory

proteins in human atherosclerotic plaques. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001; 21: 1998-2003.

8- Derwall M, Malhotra R, Lai CS, et al. Inhibition of bone morphogenetic protein signaling reduces vascular calcification and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012; 32: 613-22.

9- Gadeau A-P, Chaulet H, Daret D, Kockx M, Daniel-Lamazière J-M, Desgranges C. Time course of osteopontin, osteocalcin, and osteonectin accumulation and calcification after acute vessel wall injury. *J Histochem Cytochem*. 2001; 49: 79-86.

10- Stevens JF, Page JE. Xanthohumol and related prenylflavonoids from hops and beer: to your good health! *Phytochemistry*. 2004; 65: 1317-30.

11- Gasowski B, Leontowicz M, Leontowicz H, et al. The influence of beer with different antioxidant potential on plasma lipids, plasma antioxidant capacity, and bile excretion of rats fed cholesterol-containing and cholesterol-free diets. *J Nutr Biochem*. 2004; 15: 527-33.

12- Martin CA, Milinsk MC, Visentainer JV, Matsushita M, De-Souza NE. Trans fatty acid-forming processes in foods: a review. *An Acad Bras Cienc*. 2007; 79: 343-50.

13- Trumbo P, Schlicker S, Yates AA, Poos M. Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids. *J Am Diet Assoc*. 2002 Nov; 102: 1621-30

14- Hunter JE, Zhang J, Kris-Etherton PM. Cardiovascular disease risk of dietary stearic acid compared with trans, other saturated, and unsaturated fatty acids: a systematic review. *Am J Clin Nutr*. 2010; 91: 46-63.

15- Williams AF, Prentice A. Scientific advisory committee on nutrition replies to mary fewtrell and colleagues. *BMJ*. 2011; 342: d980.

16- Brouwer IA, Wanders AJ, Katan MB. Effect of animal and industrial trans fatty acids on HDL and LDL cholesterol levels in humans–a quantitative review. *PLoS One*. 2010; 5: e9434.

17- Ho HH, Hsu LS, Chan KC, Chen HM, Wu CH, Wang CJ. Extract from the leaf of nucifera reduced the development of atherosclerosis via inhibition of vascular smooth muscle cell proliferation and migration. *Food Chem Toxicol*. 2010; 48: 159-68.

18- Li X-P, Luo T, Li J, et al. Linolelaidic acid induces a stronger proliferative effect on human umbilical vein smooth muscle cells compared to elaidic acid. *Lipids*. 2013; 48: 395-403.

19- Safshekan F, Tafazzoli-Shadpour M, Shokrgozar MA, Haghighipour N, Mahdian R, Hemmati A. Intermittent hydrostatic pressure enhances growth factor-induced chondroinduction of human adipose-derived mesenchymal stem cells. *Artif Organs*. 2012; 36: 1065-71.

20- Brabender J, Lord R, Metzger R, Park J. Differential SPARC mRNA expression in Barrett's oesophagus. *Br J Cancer*. 2003; 89: 1508-12.

21- Willett WC, Ascherio A. Trans fatty acids: are the effects only marginal? *Am J Public Health*. 1994; 84: 722-4.

22- Baer DJ, Judd JT, Clevidence BA, Tracy RP. Dietary fatty acids affect plasma markers of inflammation in healthy men fed controlled diets: a randomized crossover study. *Am J Clin Nutr*. 2004; 79: 969-73.

23- Lopez-Garcia E, Schulze MB, Meigs JB, Manson JE, Rifai N, Stampfer MJ, et al Consumption of trans fatty acids is related to plasma biomarkers of inflammation and endothelial activation in women. *J Nutr*. 2005; 135: 562-6.

24- Shao JS, Cheng SL, Sadhu J, Towler DA. Inflammation and the osteogenic regulation of vascular calcification: a review and perspective. *Hypertension*. 2010; 55: 579-92.

25- Minville-Walz M, Gresti J, Pichon L, et al. Distinct regulation of stearoyl-CoA desaturase 1 gene expression by cis and trans C18: 1 fatty acids in human aortic smooth muscle cells. *Genes Nutr*. 2012; 7: 209-16.

26- Zhang Y, Liu C, Zhu L, et al. PGC-1α inhibits oleic acid induced proliferation and migration of rat vascular smooth muscle cells. *PLoS One*. 2007; 2: e1137.

27- Schluesener H, Meyermann R. Immunolocalization of BMP-6, a novel TGF-β-related cytokine, in normal and atherosclerotic smooth muscle cells. *Atherosclerosis*. 1995; 113: 153-6.

28- Kupprion C, Motamed K, Sage EH. SPARC (BM-40, osteonectin) inhibits the mitogenic effect of vascular endothelial growth factor on microvascular endothelial cells. *J Biol Chem*. 1998; 273: 29635-40.

Elaidic Acid Effects on Osteonectin Gene Expression in Vascular Smooth Muscle Cells

Ghatreh Samani K[1], Farrokhi E[2], Mohandes Samani N[3]

[1]Clinical Biochemistry Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

[2]Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

[3]Dept.of biology, Islamic Azad University of Shahrekord, Shahrekord, Iran

Corresponding Author: Farrokhi E, Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Science, Shahrekord, Iran

***E_mail*:** e_farrokhi_k@yahoo.com

Received: 4 Feb 2014 **Accepted:** 22 Oct 2014

Background and Objective: Atheroma formation and progression of atherosclerosis are dependent on the expression of bone matrix proteins and regulatory factors such as osteonectin in the vessel walls. Studies have shown that consumption of Trans fatty acids increase risk of cardiovascular diseases. In this study, the effect of elaidic acid on osteonectin gene expression as one of the vascular calcification factors was investigated.

Materials and Methods: Vascular smooth muscle cells were treated with concentrations of 5, 10 and 20 µM of elaidic acid for 48h and compared with control group. Total RNA was extracted and cDNA was synthesized and then the quantity of osteonectin gene expression was measured by real time PCR.

Results: Overall 10 and 20µM concentrations of elaidic acid increased osteonectin gene expressions in vascular smooth muscle cells by 4.34 and 6.58 folds compared with the control group ($p<0.05$). 5µM concentration of elaidic acid had no effect on osteonectin gene expression.

Conclusion: Elaidic acid increases osteonectin gene expression. Therefore this trans fatty acid could increase atheroma formation and the risk of cardiovascular diseases due to vascular calcification.

Keywords: Vascular smooth muscle cells, Elaidic acid, Osteonectin, Atherosclerosis