مجله علوم پزشکی رازی دوره ۲۹، شماره ۹، آذر ۱۴۰۱ http://rjms.iums.ac.ir

مقاله پژوهشی

تأثیر بیماری کبد چرب بر بیان ژن‌های RXFP1 و CTGF در بافت قلبی رت‌های ویستار

مسعود حمزه لو: دانشجوی دکتری فیزیولوژی ورزشی، گروه تربیت بدنی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی بروجرد، ایران

مانیا روزبیانی: استادیار فیزیولوژی ورزش، گروه تربیت بدنی، واحد بروجرد، دانشگاه آزاد اسلامی، بروجرد، ایران (* نویسنده مسئول) ma.roozbayani@iau.ac.ir

حسین شیروانی: دانشیار فیزیولوژی ورزش، مرکز تحقیقات فیزیولوژی ورزشی، پژوهشکده سبک زندگی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران، ایران

چکیده

زمینه و هدف: کبد چرب با افزایش خطر بیماری‌های قلبی عروقی و تشکیل پلاک‌های آترواسکلروتیک در عروق کاروتید همراه است و تنگ شدن عروق کرونری می‌تواند در فاکتورهای ECM از قبیل CTGF و RXFP1 که در ایجاد یا عدم فیبروز نقش دارد مؤثر باشد لذا هدف بررسی تأثیر این بیماری بر دو ژن ECM قلب است.

روش کار: در این مطالعه ۲۴ سر رت نر ویستار با وزن ۲۰۰ – ۲۵۰ گرم در ۳ گروه کنترل، سالم و کبد چرب به صورت تصادفی تقسیم شدند. گروه کنترل همان ابتدا مطالعه قربانی و بافت‌برداری انجام شد و دو گروه سالم و کبد چرب دو هفته را در شرایط یکسان سپری کردند. گروه سالم از ابتدا تا انتهای مطالعه وجود داشتند و هیچ مداخله‌ای را دریافت نمی‌کردند. موش‌های گروه کبد چرب به مدت دو هفته، روزانه، تتراسایکلین خوراکی با دوز ۱۰۰ mg/kg دریافت کردند. ۱۰۰mg به ازای هر ۱kg برای ۳ موش استفاده شد. تاییدیه کبد چرب را از طریق اندازه‌گیری آنزیم کبدی (SGPT) انجام شد. در پایان هفته دوم رت‌های دو گروه قربانی شدند.

یافته‌ها: پس از بررسی میزان بیان ژن‌های RXFP1 و CTGF بین گروه‌های کنترل، سالم و کبد چرب، نتایج آزمون آنوا نشان داد که میزان بیان ژن‌های RXFP1 و CTGF (به ترتیب p= ۰/۰۰۰۱ و p= ۰/۰۰۰۱) در گروه کبد چرب، به طور معناداری نسبت به گروه سالم و کنترل افزایش یافته است. در کل نتایج ما نشان داد که با شروع بیماری کبد چرب هردو CTGF و ریلکسین در قلب افزایش یافت و افزایش CTGF نشان از آسیب بافت قلب می‌باشد لذا این یافته‌ها می‌تواند به روش‌های درمانی جدید با هدف تعدیل اثرات CTGF و از سویی استفاده از RXFP1 به عنوان یک جهت جدید برای مطالعات بالینی بیشتر کمک نماید.

نتیجه‌گیری: مدل کبد چرب باعث افزایش بیان CTGF قلبی و از سویی RXFP1 نیز افزایش می‌یابد.

کلیدواژه‌ها

کبد چرب،
RXFP1،
CTGF

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۱۹

تاریخ چاپ: ۱۴۰۱/۰۹/۱۹

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت‌کننده: دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد

شیوه استناد به این مقاله:

Hamzehloo M, Roozbayani M, Shirvani H. The Effect of Fatty Liver Disease on the Expression of RXFP1 and CTGF Genes in Cardiac Tissue of Wistar Rats. Razi J Med Sci. 2022;29(9):1-11.

*انتشار این مقاله به‌صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 3.0 صورت گرفته است.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-19]

Razi Journal of Medical Sciences. 2022;29(9):1-11. http://rjms.iums.ac.ir

Original Article

The Effect of Fatty Liver Disease on the Expression of RXFP1 and CTGF Genes in Cardiac Tissue of Wistar Rats

Masoud Hamzehloo: PhD Student of Exercise Physiology Department of Physical Education, Borujerd Branch, Islamic Azad University, Borujerd, Iran

Mania Roozbayani: Assistant Professor of Exercise Physiology Department of Physical Education, Borujerd Branch, Islamic Azad University, Borujerd, Iran (*Corresponding author) ma.roozbayani@iau.ac.ir

Hossein Shirvani: Associate Professor of Sports Physiology, Sports Physiology Research Center, Life style Institute, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Abstract

Background & Aims: Performing physical activity and having a healthy body is one of the most essential life needs of people with fatty liver. In recent years, studies have been performed on the relationship between fatty liver and arthrosclerosis. The results of these studies indicate the relationship between the Non-alcoholic fatty liver and arthrosclerosis of coronary artery disease. Non-alcoholic fatty liver disease is associated with a sedentary lifestyle and poor eating habits around the world Fatty liver is associated with an increased risk of cardiovascular disease and the formation of atherosclerotic plaques in the carotid arteries and coronary artery stenosis can affect extracellular matrix factors such as CTGF and RXFP1, which play a role in the formation or non-formation of fibrosis. Studies have shown that fatty liver disease can be effective in causing atherosclerotic changes in arteries and increasing the thickness of the carotid artery as an indicator of atherosclerosis, which can be seen even in mild degrees of fatty liver. Relaxin in all parts of the body can have different expressions of RXFP1 receptor in different arteries, so in rats this receptor is strongly expressed in aortic endothelial cells and RXFP1 activates cAMP, cGMP and cAMP signaling pathways in ERK1 / 2 endothelial cells On the other hand CTGF is mainly synthesized by liver cells in the liver and is strongly induced in liver fibrosis CTGF is induced by fibroblast TGF-β cells and mediates the growth and secretion of extracellular matrix. These results indicate that CTGF is the mediator of many TGF-β-probiotic activities
Therefore, the aim is to investigate the effect of this disease on two extracellular matrix genes of the heart.

Methods: In this experimental study, 24 male Wistar rats weighing 200-250 g were randomly divided into 3 groups: control, healthy and fatty liver steatosis. The control group was initially performed in the victim and tissue study And the two healthy and fatty liver groups spent two weeks in the same condition There was a healthy group from the beginning to the end of the study and they did not receive any intervention. Mice in the fatty liver group received oral tetracycline at a dose of 100 mg / kg at a dose of 1.5 ccs per mouse for two weeks. The average weight of the mice was 300 g, of which 100 mg / kg was used for 3 mice, of which 100 mg was dissolved in 4.5 cc and each rat was gavaged 1.5 cc. Fatty liver was modified by measuring liver enzymes (SGPT) and a number of biochemical variables. At the end of the second week, rats two groups were healthy and fatty liver48 hours after the last day (10 to 12 hours of fasting), the studied rats in each group were anesthetized by intraperitoneal injection of a mixture of 10% ketamine at a dose of 50 mg/kg and 2% xylosin at a dose of 10 mg/kg. became were sacrificed and heart tissue sample were taken to test for RXFP1 and CTGF gene expression. In each group, tissue analysis was performed by Real Time PCR technique. First, primer design was performed and then total RNA was extracted from tissues and

Keywords
Fatty liver,
RXFP1,
CTGF genes

Received: 10/09/2022
Published: 10/12/2022

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-19]

converted to cDNA. Then cDNA was Replicated by PCR and examined for the expression of the mentioned genes.
Results: After the second week and examining expression level of RXFP1 and CTGF genes between control, healthy and fatty liver groups, ANOVA test results showed that the expression level ofRXFP1 and CTGF genes ($p = 0.0001$ and $p = 0.0001$, respectively) In the fatty liver group, significantly increased compared to the healthy and control groups Considering the value of $P<0.05$, the null hypothesis that there is no significant difference between the level of RXFP1 in different research groups was rejected with 95% confidence. The results between the steatosis group and the other two groups were significant in increasing the level of RXFP1 gene expression. Therefore, it can be said that in the presence of fatty liver, the expression of RXFP1 gene increases in the heart tissue of male rats in order to inhibit fibrosis. Also, in terms of significance, the results between the steatosis group and the other two groups were significant in increasing the level of CTGF gene expression. Therefore, it can be said that in the presence of fatty liver in the steatosis model, the CTGF gene expression increases in line with the increase in cardiac fibrosis.
Overall, our results showed that with the onset of fatty liver disease, both connective tissue growth factors and relaxin increased in the heart, and an increase in connective tissue growth factor indicates cardiac tissue damage, which can lead to heart tissue fibrosis. Therefore, these findings can help new therapies aimed at modulating the effects of CTGF and the use of RXFP1 as a new direction for further clinical studies. Our other findings showed that with induction of fatty liver, the level of RXFP1 in heart tissue increased from the beginning and did not change until the end of the two weeks. The expression level of RXFP1 gene in steatosis fatty liver groups (BS, CS) was significantly higher than the other 2 groups on the other hand the increase in connective tissue growth factor (CTGF) in this study was probably to produce extracellular matrix and compensate for their degradation, and the increase in RXFP1 was to prevent collagen deposition in ECM connective tissue growth factor (CTGF) in cardiac tissue increased sharply, such that its rate increased up to 7 times in the first two weeks compared to the control group, and this increase continued until the end of the two weeks, that increased 10 times However, this method should be considered with more caution because high expression of CTGF increases the level of fibronectin, collagen I and III proteins in the extracellular matrix, followed by myocardial infarction
Conclusion: The fatty liver model of steatosis increases the expression of cardiac CTGF gene and fibrosis, and also increases the RXFP1 gene, which has anti-fibrosis activity. CTGF (CCN2) in response to tissue damage initiates signaling pathways of connective tissue regeneration Therefore, and cardiac tissue fibrosis. RXFP1, which is a component of the extracellular matrix and is most commonly expressed in aortic endothelial cells exerts most of its physiological effect on the cardiovascular system through NO (Nitric oxide).

Conflicts of interest: None
Funding: Islamic Azad University, Boroujerd Branch

Cite this article as:

Hamzehloo M, Roozbayani M, Shirvani H. The Effect of Fatty Liver Disease on the Expression of RXFP1 and CTGF Genes in Cardiac Tissue of Wistar Rats. Razi J Med Sci. 2022;29(9):1-11.

*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-19]

مقدمه

بیماری کبد چرب غیرالکلی (Non alcoholic fatty liver disease) به یک نگرانی عمده در زمینه بهداشت عمومی تبدیل شده و بیش از نیم میلیارد نفر در سراسر جهان به آن مبتلا هستند (۱). این بیماری با انواع بیماری‌های متابولیک همراه است. استئاتوز کبدی، به عنوان یک علامت اصلی متابولیکی در NAFLD، عمدتاً توسط تجمع بیش از حد چربی ایجاد می‌شود (۲). افزایش چربی در بدن که معمولاً با چاقی شکمی در افراد کم تحرک همراه است، می‌تواند زمینه‌ساز بیماری‌هایی همچون کبد چرب شود. در پاتوژنز استئاتوهپاتیت غیر الکلی فرض بر این است که (۳) تجمع تری گلیسرید در کبد یا استئاتوز باعث افزایش حساسیت کبد به آسیب‌های ناشی از سیتوکین‌ها یا لیپوکین‌های آماسی، اختلالات عملکردی میتوکندری‌ها و استرس اکسیداتیو خواهد شد که خود به استئاتوهپاتیت و یا فیبروز منجر می‌شود (۴، ۵). سه عامل مهم در روند ایجاد بیماری کبد چرب شناخته شده‌اند که شامل اسیدهای چرب، واسطه‌های شیمیایی (TNF-α) و آدیپونکتین می‌باشند. اسیدهای چرب به طور طبیعی بین بافت چربی و سلول‌های کبدی مبادله می‌شوند. α-TNF سبب افزایش تجمع چربی در کبد و ایجاد مقاومت به انسولین می‌شود. آدیپونکتین با جلوگیری از ورود اسیدهای چرب به داخل سلول‌های کبدی و افزایش سوخت‌وساز چربی در داخل سلول‌های کبدی از تجمع چربی در کبد جلوگیری می‌کند. با افزایش اثر α-TNF نسبت به آدیپونکتین، انباشتگی چربی در کبد به وجود می‌آید که این افزایش سبب تولید مواد سمی (رادیکال‌های اکسیژن) در میتوکندری‌ها می‌شود و در نهایت منجر به ایجاد التهاب، مقاومت به انسولین و مرگ سلول کبدی می‌شود(۶). در این بیماری تغییراتی در سطوح آنزیمی کبد ایجاد می‌شود که در این زمینه می‌توان به آسپارتات آمینوترانسفراز SGOT یا AST و آلانین آمینوترانسفر SGPT یاALT اشاره کرد. در سال‌های اخیر مطالعاتی در مورد ارتباط کبد چرب و آتروسکلروزیس انجام شده است که نتایج این مطالعات، حاکی از ارتباط کبد چرب غیرالکلی با آترواسکلروزیس عروق کرونری می‌باشد. کبد چرب با افزایش خطر بیماری‌های قلبی- عروقی همراهی دارد. افزایش در ضخامت لایه انتیما مدیا شریان کاروتید و تنگی شریان کاروتید مشترک ثانویه به پلاک‌های کاروتید، نشانگرهای آترواسکلروزیس هستند. نارسایی قلبی (HF)با رسوب بیش از حد ماتریکس خارج سلولی (ECM) و تخریب غیرطبیعی آن قلب همراه است. فاکتور رشد بافت پیوندی (CTGF) تولید ECM را در طی آسیب بافت التهابی تعدیل می‌کند (۷). از سویی تنگ شدن عروق کرونری می‌تواند در فاکتورهای ماتریکس خارج سلولی بافت قلب از جمله CTGF نقش داشته باشد (۸) افزایش CTGF باعث بالا رفتن سطح پروتئین‌های فیبرونکتین، کلاژن I و III در ماتریکس خارج سلولی می‌شود و به دنبال آن انفارکتوس میوکارد ایجاد می‌شود (۹). CTGF واسطه اصلی تولید ECM در شرایط آسیب فیبروزی (۱۰، ۱۱) به ویژه با واسطه توانایی تغییر فاکتور رشد β(TGFβ) برای القا تولید بیش از حد ECM است (۱۲). بیان CTGF پس از محرک‌های پیش هیپرتروفیک و در فیبروبلاست‌ها پس از مواجهه سلول‌ها با محرک‌های مختلف فاکتور رشد، به سرعت در کاردیومیوسیت‌ها تنظیم می‌شود (۱۰، ۱۱، ۱۳). تعدیل بیان CTGF در قلب بزرگسالان در مدل‌های مختلف فیبروز، نارسایی قلبی و هیپرتروفی قلب و در شرایط افزایش بار قلبی ناشی از فشار بیش از حد یا تزریق آنژیوتانسین II (Ang II) نشان داده شده است (۱۱). افزایش سطح پلاسما CTGF به عنوان یک نشانگر زیستی بالقوه برای اختلال عملکرد قلب در بیماران مبتلا به نارسایی قلبی مزمن در نظر گرفته می‌شود (۱۴). علاوه بر این، پیشنهاد شده است که افزایش نسبت پپتیدهای ناتریورتیک CTGF به نوع B در قلب با فیبروز میوکارد و درجه اختلال عملکرد دیاستولیک ارتباط دارد (۱۵). مقابله با عملکرد CTGF ممکن است در بیماران مبتلا به فشار خون بالا از آسیب اندام انتهای قلب محافظت کند (۱۶). CTGF ممکن است تنظیم‌کننده اصلی فیبروز در هنگام بازسازی ناسازگار و پیشرفت به HF باشد. اگرچه تخلیه مکانیکی اکثر ناهنجاری‌های ژنوتیپی و عملکردی را عادی می‌کند، اما تأثیر آن بر بازسازی ECM در طی HF ناقص است (۷). والتر و همکاران، ۲۰۱۱، نشان دادند که آدیپونکتین آدیپوکاین محافظت‌کننده کبد، CTGF

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-19]

را در سلول‌های کبدی اولیه انسانی کاهش می‌دهد و بیشتر باعث تنظیم مثبت CTGF با واسطه TGFβ می‌شود. سطح CTGF و TGFβ در استئاتوهپاتیت غیر الکلی غیر فیبروتیک انسانی افزایش می‌یابد. ولی بیان گیرنده AdipoR2 کاهش می‌یابد (۱۷).

از طرفی آلوا دی جی کاسا سی بی نشان داده‌اند که خانواده ریلکسین در سیستم گردش خون، عروق را هدف قرار می‌دهد، هم‌چنین اثرات قدرتمند سیگنالینگی در بند ناف انسان و سلول عضلانی صاف ورید دارد. اثرات ویژه Relaxin در همه نواحی بدن می‌تواند بیان‌های مختلفی از گیرنده RXFP1 را در شریان‌های مختلف داشته باشد، از این‌رو در موش‌های صحرایی این گیرنده به شدت در سلول‌های آندوتلیال آئورت بیان می‌شود و از سویی RXFP1 دلیل فعال شدن مسیرهای سیگنالینگ cAMP، cGMP و ERK1/2، در سلول‌های آندوتلیال می‌باشد (۱۸). از آنجا که RXFP1 از اجزای ماتریکس خارج سلولی است می‌تواند در مهار فیبروز نیز نقش داشته باشد. فیبروز شامل فرایندهای بیولوژیکی پیچیده و تا حدودی برگشت‌ناپذیر است. ویژگی آن رسوب اجزای ماتریکس خارج سلولی به ویژه کلاژن به صورت غیرنرمال و افزایشی است. یکی از اثرات RXFP1 این است که مانع از تکثیر و تمایز فیبروبلاست‌ها به میوفیبروبلاست‌ها است که باعث می‌شوند کلاژن در ECM رسوب و فیبروز در قلب و دیگر اندام‌ها به وجود آید و به نظر می‌رسد ریلکسین نقش محافظتی برای حفاظت از سیستم قلبی عروقی دارد (۱۹). مطالعه‌ای نشان داد که RXFP1 در سطوح مختلف فیبروز را مهار می‌کند و در اندام‌های مختلف نیز عملکردهای متفاوت دارد (۲۰). نشان داده شده است که HFPT1 در سلول‌های کبدی بیشتر از سایر ریلکسین‌ها تولید می‌شود (۲۱). افزایش بیان گیرنده RLN (RXFP1) در بیماری‌های فیبروز کبدی در موش و انسان نشان داده شده است. درمان سیروز انسانی با RLN انعطاف‌پذیری را مهار کرده و یک فنوتیپ ضد فیبرژنیک را به روشی وابسته به RXFP1 القا می‌کند؛ بنابراین می‌توان RXFP1 را به عنوان یک هدف درمانی بالقوه جدید برای سیروز کبدی استفاده کرد (۲۰). لذا با توجه به اهمیت و ضرورت مهار فیبروز قلبی که می‌تواند تحت تأثیر مدل کبد چرب ایجاد شده باشد و لزوم شناخت عوامل مؤثر بر ایجاد و مهار فیبروز قلبی و اینکه تاکنون مطالعات بسیار محدودی در ارتباط با تأثیر کبد چرب بر بیان CTGF و RXFP1 بافت قلب انجام شده است، این مطالعه با هدف بررسی اثر بیماری کبد چرب استئاتوزیس بر بیان ژن‌های RXFP1 و CTGF در بافت قلبی رت‌های نر انجام گرفته است.

روش کار

پژوهش تجربی حاضر بر روی مدل حیوانی اجرا شد. جامعه آماری شامل رت‌های نر ویستار در سه گروه کنترل، سالم و مبتلا به کبد چرب (استئاتوزیس) بودند و نمونه تحقیق شامل ۲۴ سر رت با وزن ۲۰۰-۲۵۰ گرم بود که به صورت تصادفی به ۳ گروه یکسان به شرح زیر دسته‌بندی شدند. ۱-گروه کنترل ۲- گروه سالم ۳-گروه مدل شده (استئاتوزیس)

ایجاد مدل کبد چرب (استئاتوزیس): تتراسایکلین با دوز ۱۰۰ mg/kg در حجم ۱/۵ cc به ازای هر موش روزانه به مدت دو هفته گاواژ شد. وزن موش‌ها به صورت میانگین ۳۰۰gr بود که ۱۰۰ mg به ازای ۱ kg برای ۳ موش استفاده شد که ۱۰۰ mg در مقدار ۴/۵ cc حل و به هر موش ۱/۵ cc گاواژ شد. در ابتدای مطالعه گروه کنترل قربانی شدند و بافت‌برداری از آن‌ها صورت گرفت. در ادامه و در پایان هفته دوم دو گروه دیگر رت‌ها به آزمایشگاه برده شدند و قربانی شدند و نمونه بافت قلب جهت بررسی بیان ژن‌های RXFP1 و CTGF گرفته شد.

در هر گروه بررسی بافت‌ها با تکنیک PCR Real Time انجام شد. ابتدا طراحی پرایمر انجام شد و سپس RNA کل از بافت‌ها استخراج گردید و به cDNA تبدیل گردید. سپس cDNA به روش PCR تکثیر شده و از نظر بیان ژن‌های ذکر شده مورد بررسی قرار گرفت.

از تکنیک RT-qPCR جهت تایید بیان ژن‌های مورد مطالعه به صورت کمی استفاده شد. برای این منظور ابتدا با استفاده از محلول کیازول، RNA کل سلول‌ها طبق پروتکل سیناژن استخراج شد و جهت اطمینان از آلودگی با DNA ژنومیک، در معرض DNase I (Fermentas) قرار گرفت. سپس کیفیت RNA های استخراج شده با دستگاه اسپکترفتومتری (DPI-1,

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-19]

Kiagen) مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت تهیه cDNA تک‌رشته‌ای از پرایمر Oligo dt (MWG-Biotech, Germany) و آنزیم نسخه‌برداری معکوس (Fermentas) و بر اساس پروتکل مربوطه انجام شد. هر واکنش PCR با استفاده از PCR master mix (Applied Biosystems) و SYBER Green در دستگاه ABI Step One (Applied Biosystems, Sequences Detection Systems. Focter City, CA) طبق پروتکل شرکت سازنده انجام گرفت. ۴۰ سیکل برای هر چرخه Real-Time PCR در نظر گرفته شد و دماهای هر سیکل شامل ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای ۲۰ ثانیه، ۶۰-۵۸ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه تنظیم شدند. نمودار Melting جهت بررسی صحت واکنش‌های PCR انجام شده و به صورت اختصاصی برای هر ژن و در هر بار از واکنش به همراه نمودار کنترل منفی جهت بررسی وجود آلودگی در هر واکنش مورد ارزیابی قرار گرفت.

نسبت بیان ژن‌های مورد بررسی در این مطالعه، با روش مقایسه‌ای چرخه آستانه (Thereshold Cycle: CT) مورد ارزیابی قرار گرفتند. با استفاده از قرار دادن داده‌ها در فرمول:

$$\mathbf{R = 2^{-(\Delta\Delta CT)}}$$

$$\mathbf{\Delta\Delta CT = (CT_{target} - CT_{refence})_{TimeX} - (CT_{target} - CT_{refence})_{Time0}}$$

منحنی استاندارد اختصاصی هر ژن با استفاده از حداقل ۵ غلظت لگاریتمی به ترتیب رقیق شونده از کنترل مثبت هر ژن رسم گردید.

میزان بیان ژن هدف با ژن مرجع نرمالیز شده و بیان ژن‌های گروه سالم به عنوان کالیبراتور در نظر گرفته شد.

$$\mathbf{Ratio = \frac{(E_{target})^{\Delta CT_{target}}}{(E_{reference})^{\Delta CT_{reference}}}}$$

$$(\Delta Ct_{refrence} = Ct_{control} - Ct_{treatment}, \Delta Ct_{target} = Ct_{control} - Ct_{treatment})$$

در فرمول فوق E معرف Efficiency است و با استفاده از رسم منحنی استاندارد برای ژن به دست می‌آید.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها: کلیه عملیات آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام شد. توصیف کمی داده‌ها با استفاده از شاخص‌های پراکندگی مرکزی از قبیل میانگین و انحراف استاندارد انجام شد و جهت تعیین نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون شاپیروویلک وجهت بررسی تجانس واریانس‌ها از آزمون لوین استفاده شد. همچنین برای بررسی تغییرات معنی‌داری هریک از متغیرهای تحقیق، بین گروه‌های مختلف، از روش آنالیز واریانس یک‌راهه و در صورت مشاهده تفاوت معنی‌دار آماری از آزمون تعقیبی Tukey جهت تعیین محل اختلاف بین گروه‌ها استفاده شد. سطح معناداری برای تمام محاسبات $P<0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در جدول توصیفی ۱، داده‌های همه گروه‌ها به لحاظ میانگین و انحراف استاندارد مورد بررسی قرار گرفت. در جدول شماره ۱ میانگین بیان ژن RXFP1 و CTGF در گروه‌های مختلف آورده شده است. میانگین بیان ژن هر دو متغیر در گروه‌های کنترل و سالم نسبتاً برابر بوده و اختلاف ندارند. ولی میانگین بیان ژن RXFP1 در گروه کبد چرب استئاتوزیس ۹ برابر گروه سالم و کنترل و میانگین بیان ژن CTGF در گروه کبد چرب استئاتوزیس نزدیک به ۸ برابر گروه سالم و کنترل می‌باشد.

با بررسی گروه‌ها از طریق آزمون Anova (جدول شماره ۲)، نتایج ستون Sig نشان می‌دهد که بین میانگین گروه‌های تحقیق در هر دو متغیر RXFP1 و CTGF تفاوت معنادار است.

در ادامه نتایج آزمون توکی برای مقایسه میانگین‌های گروه‌ها در جدول شماره ۳ آورده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود در بررسی هر گروه با گروه‌های دیگر به لحاظ معنی‌داری، نتایج بین گروه استئاتوزیس با دو گروه دیگر در افزایش سطح بیان ژن‌های RXFP1 و CTGF معنی‌دار بوده است. لذا می‌توان گفت در حضور کبد چرب مدل استئاتوزیس همچنان که میزان بیان ژن CTGF در راستای افزایش میزان فیبروز قلبی بالا می‌رود از سویی دیگر بیان ژن RXFP1 در راستای مهار فیبروز در بافت قلب رت‌های نر نیز افزایش پیدا

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-19]

جدول ۱- تفاوت و مقایسه میانگین‌های همه گروه‌ها

متغیر	تعداد	گروه	میانگین
RXFP1	۸	کنترل	۱/۰۰± ۰/۴۶
	۸	سالم	۱/۰۶ ± ۰/۴۱
		کبد چرب استئاتوزیس	۹/۰۱±۱
CTGF	۸	کنترل	۱/۰۰ ± ۰/۳۸
	۸	سالم	۱/۰۸ ± ۰/۴۲
		کبد چرب استئاتوزیس	۷/۸۸ ± ۱/۴۰

جدول ۲- نتایج آزمون Anova

	متغییرها	مجموع مربعها	درجه آزادی	میانگین مربع ها	F	Sig.
RXFP1	بین گروهی	۳۴۰/۱	۲	۱۷۰/۰۵	۳۷۷/۸	۰/۰۰۰۱
	درون گروهی	۹/۴۵	۲۱	۰/۴۵		
	مجموع	۳۴۹/۵۵	۲۳			
CTGF	بین گروهی	۴۳۵/۴۹	۲	۲۱۷/۷۴	۱۱۴/۴۲	۰/۰۰۰۱
	درون گروهی	۳۹/۹۶	۲۱	۱/۹		
	مجموع	۴۷۵/۴۵	۲۳			

جدول ۳- تعیین تفاوت میانگین بیان ژن‌های RXFP1 و CTGF با استفده از آزمون توکی

متغیر وابسته						۹۵٪فاصله اطمینان	
	گروه (I)	گروه (J)	تفاوت میانگین (I - J)	خطای استاندارد	Sig.	حد پایین	حد بالا
RXFP1	کنترل	سالم	– ۰/۰۷	۰/۳۳	۰/۹۷	۰/۹۱	۰/۷۷
	استئاتوزیس		– ۸/۰۱	۰/۳۳	۰/۰۰۰۱	– ۸/۸۶	– ۷/۱۷
	سالم	کنترل	– ۰/۰۷	۰/۳۳	۰/۹۷	۰/۷۷	۰/۹۱
	استئاتوزیس		– ۷/۹۵	۰/۳۳	۰/۰۰۰۱	– ۸/۷۹	– ۷/۱
	استئاتوزیس	کنترل	۸/۰۱	۰/۳۳	۰/۰۰۰۱	۷/۱۷	۸/۸۶
	سالم		۷/۹۵	۰/۳۳	۰/۰۰۰۱	۷/۱	۸/۷۹
CTGF	کنترل	سالم	– ۰/۰۸	۰/۶۸	۰/۹۹	– ۱/۸۲	۱/۶۵
	استئاتوزیس		– ۹/۰۷	۰/۶۸	۰/۰۰۰۱	۱۰/۸۱	– ۷/۳۳
	سالم	کنترل	/۰۸	۰/۶۸	۰/۹۹	– ۱/۶۵	۱/۸۲
	استئاتوزیس		– ۹	۰/۶۸	۰/۰۰۰۰۱	۱۰/۷۳	– ۷/۲۵
	استئاتوزیس	کنترل	۹/۰۷	۰/۶۸	۰/۰۰۰۱	۷/۳۳	۱۰/۸۱
	سالم		۹	۰/۶۸	۰/۰۰۰۱	۷/۲۵	۱۰/۷۳

می‌کند.

بحث

یافته‌های ما نشان داد که با ایجاد کبد چرب استئاتوزیس میزان بیان هر دو ژن RXFP1 و CTGF به طور معناداری نسبت به گروه‌های کنترل و سالم افزایش می‌یابد. در حالیکه میزان بیان این دو ژن در گروه‌های کنترل و سالم تفاوت معناداری نداشت. این نتایج نشان می‌دهد که با شروع کبد چرب، CTGF که واسطه اصلی تولید ECM در شرایط آسیب فیبروزی (۱۰، ۱۱) است، پس از مواجهه سلول‌ها با محرک‌های مختلف فاکتور رشد، به سرعت در کاردیومیوسیت‌ها

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-19]

تنظیم می‌شود (۱۰، ۱۱، ۱۳). افزایش CTGF می‌تواند به عنوان محرک بالادستی برای تعامل و فعال‌سازی روند تشکیل کلاژن قلب عمل کند. نشان داده شده است که اثرات پروفیبروتیک التهاب سیتوکین‌ها تا حدی از طریق القای CTGF در اندام‌های مختلف واسطه می‌شوند (۲۲). CTGF در کبد عمدتاً توسط سلول‌های کبدی سنتز می‌شود و به شدت در فیبروز کبد القا می‌شود (۲۳، ۲۴). افزایش CTGF باعث بالا رفتن سطح پروتئین‌های فیبرونکتین، کلاژن I و III در ماتریکس خارج سلولی می‌شود و به دنبال آن انفارکتوس میوکارد ایجاد می‌شود (۹). میزان CTGF در فیبروبلاستهای بیمار سیستمیک اسکلروزیس و مدل‌های موشی آن بصورت معنی‌داری افزایش می‌یابد، بیان آن متناسب با میزان فیبروز است و این افزایش بیان سبب مهاجرت، تکثیر و تولید ماتریکس خارج سلولی می‌گردد (۲۵). CTGF اثر خود را از طریق گیرنده سطح سلولی تیروزین کیناز A (TrkA) روی مسیر سیگنالینگ TGF-β اعمال می‌کند(۲۶).

مطالعات نشان داده است که CTGF سلولی و بافتی به خوبی به تغییرات فشار واکنش نشان می‌دهد و می‌تواند یک واسطه مهم برای تحریک حسی و افزایش آبشارهای فیبروز بیشتر باشد (۲۷). از طرفی جلوگیری از عملکرد CTGF قلب را از آسیب محافظت می‌کند (۱۶). اخیرا کشف شده است که CTGF در هنگام آسیب بافت قلب هم توسط کاردیومایوسیت‌ها و هم فیبروبلاست‌ها ترشح می‌شود اما تنها ترشح این فاکتور توسط خود فیبروبلاست، بر فعالیت فیبروبلاست و القای فیبروز تأثیر می گذارد (۲۸).

یافته‌های دیگر ما نشان داد که با القاء کبد چرب میزان RXFP1 در بافت قلب افزایش می‌یابد. این نتایج در حالی به دست آمد که نمونه‌برداری در همان ابتدای القاء کبد چرب انجام گرفت و با توجه به اینکه RXFP1 برخلاف CTGF عمل می‌کند، افزایش همزمان این دو شاید به دلیل تخریب زیاد ماتریکس خارج سلولی باشد. چرا که تغییرات آتروسکلروتیک عروق حتی در درجات خفیف کبد چرب نیز قابل مشاهده می‌باشد (۲۹) و CTGF (CCN2) در پاسخ به آسیب بافت، مسیرهای سیگنالینگ بازسازی بافت همبند را شروع می‌کند(۳۰). بنابراین، افزایش فاکتور رشد بافت پیوندی (CTGF) در این پژوهش احتمالاً در جهت تولید ماتریکس خارج سلولی و جبران تخریب آن‌ها بوده و افزایش RXFP1 در جهت جلوگیری از رسوب کلاژن در ECM (۱۹) و فیبروز بافت قلب صورت گرفته است.RXFP1 که از اجزای ماتریکس خارج سلولی است و بیشتر در سلول‌های آندوتلیال آئورت بیان می‌شود (۱۸)، بیشتر اثر فیزیولوژیکی خود را در سیستم قلب و عروق با واسطه NO انجام می‌دهد: از جمله مهار چسبندگی ناشی از لیپوپلی ساکارید (LPS) در سلول‌های اندوتلیال کرونر (۳۱)، مهار فعال‌سازی نوتروفیل‌ها توسط عوامل پیش التهابی از طریق افزایش القایی بیان NO سنتاز، افزایش جریان خون کرونر در قلب موش صحرایی و خوکچه هندی (۳۲) و افزایش هیپرفیلتراسیون و گشاد شدن عروق کلیوی در موش‌ها از طریق گیرنده ETB (۳۳). رلاکسین همچنین فعالیت و بیان سه نوع NOS را افزایش می‌دهد: NOS اندوتلیال (eNOS; NOS III) NOS القایی(iNOS; NOS II) (۳۴، ۳۵) NOS عصبی (nNOS; NOS I) (۳۶).

RXFP1 با فعال‌سازی eNOS داخل کبدی در موش‌های مبتلا به کبد چرب، استاتوز کبدی را کاهش می‌دهد و باعث کاهش بیشتر فیبروز کبدی می‌شود. بنابراین، RXFP1 انسانی یک روش درمانی بالقوه برای NAFLD است (۳۷).

ریلکسین مسیر Pi3 کیناز را فعال می‌کند (۳۸) و به طور بالقوه واسطه فعالیت‌های مهاری TGF-β در اندام‌ها و سلول‌های مختلف است (۳۹). مطالعات متعددنشان می‌دهد که RXFP1 حداقل به سه پروتئین G برای القا الگوی پیچیده تولیدcAMP زوج می‌شود و باعث فعال شدن Erk1/2، تیروزینکیناز، سیگنالینگ و رونویسی ژن نیتریکاکساید (NO) می‌شود (۴۰).

به نظر می‌رسد مسیر مشترک فعالیت RXFP1 و CTGF مربوط به TGF-β می‌شود که یکی از مهم‌ترین سیتوکین‌ها در پیشرفت فیبروز است (۴۱). CTGF تولید شده توسط هپاتوسیت بوسیله TGFβ تنظیم می‌شود و تا حدی با افزایش فعالیت TGFβ باعث تسریع در فیبروژنز می‌شود (۴۲). تزریق TGF-β به تنهایی سبب فیبروزپوستی موقت می‌گردد در حالیکه تزریق سریالی CTGF پس از TGF-β سبب فیبروز پایدار می‌شود. بنابراین CTGF فیبروز پوستی القاء شده

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-19]

توسط TGF-βرا با فعال نمودن پروموترکلاژن و افزایش تعداد فیبروبلاست‌های فعال حفظ می‌نماید (۴۳). افزایشCTGF در بسیاری از فیبروزها از قبیل: فیبروزکبدی، فیبروزریوی، فیبروزقلب و فیبروز پوست دیده شده است (۴۴). از طرفی محققان نشان داده‌اند که اثرات ضد فیبروتیک ریلکسین ناشی از مهار عملکرد TGF-β است (۴۵). در فیبروبلاست‌های کلیوی انسان، TGF-β میزان بیان α–SMA (نشانگر تمایز فیبروبلاست)، کلاژن نوعI و فیبرونکتین را افزایش می‌دهدو این اثرات توسط ریلکسین معکوس می‌شود. اثرات مهاری ریلکسین به دلیل مهار Smad2 است اما درمان ریلکسین فسفوریلاسیون Smad2 ناشی از TGF-β را کاهش می‌دهد و به تنهایی Smad2 را حذف می‌کند (۴۶). بنابراین ریلکسین TGF-β و در نتیجه تمایز فیبروبلاست توسط یکمسیروابسته به NO را مهار می‌کند (۴۷).

نتیجه‌گیری

در کل نتایج ما نشان می‌دهد که با شروع بیماری کبد چرب هر دو فاکتور رشد بافت همبند و ریلکسین در قلب افزایش یافت و این نشان از آسیب بافت قلب می‌باشد که در ادامه می‌تواند منجر به فیبروز بافت قلب شود. به لحاظ کاربردی این یافته‌ها می‌تواند به روش‌های درمانی جدید با هدف تعدیل اثرات CTGF و استفاده از RXPT1 به عنوان یک جهت جدید برای مطالعات بالینی بیشترکمک نماید.

محدودیت‌ها: ۱- عدم کنترل دقیق فعالیت سیکل شبانه، ۲- عدم تأثیر یکسان داروی بیهوشی

References

1. Younossi Z, Anstee QM, Marietti M, Hardy T, Henry L, Eslam M, et al. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention. Nature Rev Gastroenterol Hepatol. 2018 Jan;15(1):11-20.
2. Hong T, Ge Z, Zhang B, Meng R, Zhu D, Bi Y. Erythropoietin suppresses hepatic steatosis and obesity by inhibiting endoplasmic reticulum stress and upregulating fibroblast growth factor 21. Int J Mol Med. 2019 Aug.
3. Vajro P, Lenta S, Socha P, Dhawan A, McKiernan P, Baumann U, et al. Diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents: position paper of the ESPGHAN Hepatology Committee. J Ped Gast Nutr. 2012 May;54(5):700-13.
4. Day CP. From fat to inflammation. Gastroenterology. 2006 Jan;130(1):207-10.
5. Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? Gastroenterology. 1998 Apr;114(4):842-5.
6. Marchesini G, Marzocchi R, Agostini F, Bugianesi E. Nonalcoholic fatty liver disease and the metabolic syndrome. Curr Opin Lipidol. 2005 Aug;16(4):421-7.
7. Koshman YE, Patel N, Chu M, Iyengar R, Kim T, Ersahin C, et al. Regulation of connective tissue growth factor gene expression and fibrosis in human heart failure. J Cardio Fail. 2013 Apr;19(4):283-94.
8. Sookoian S, Pirola CJ. Non-alcoholic fatty liver disease is strongly associated with carotid atherosclerosis: a systematic review. J Hepatol. 2008 Oct;49(4):600-7.
9. Chen MM, Lam A, Abraham JA, Schreiner GF, Joly AH. CTGF expression is induced by TGF- beta in cardiac fibroblasts and cardiac myocytes: a potential role in heart fibrosis. J Mol Cell Cardio. 2000 Oct;32(10):1805-19.
10. Chen CC, Lau LF. Functions and mechanisms of action of CCN matricellular proteins. Int J Bio Cell Bio. 2009 Apr;41(4):771-83.
11. Frangogiannis NG. Matricellular proteins in cardiac adaptation and disease. Physiol Rev. 2012 Apr;92(2):635-88.
12. Mori T, Kawara S, Shinozaki M, Hayashi N, Kakinuma T, Igarashi A, et al. Role and interaction of connective tissue growth factor with transforming growth factor-beta in persistent fibrosis: A mouse fibrosis model. J Cell Physiol. 1999 Oct;181(1):153-9.
13. Kemp TJ, Aggeli IK, Sugden PH, Clerk A. Phenylephrine and endothelin-1 upregulate connective tissue growth factor in neonatal rat cardiac myocytes. J Mol Cells Cardio. 2004 Aug;37(2):603-6.
14. Koitabashi N, Arai M, Niwano K, Watanabe A, Endoh M, Suguta M, et al. Plasma connective tissue growth factor is a novel potential biomarker of cardiac dysfunction in patients with chronic heart failure. Eur J Health Fail. 2008 Apr;10(4):373-9.
15. Koitabashi N, Arai M, Kogure S, Niwano K, Watanabe A, Aoki Y, et al. Increased connective tissue growth factor relative to brain natriuretic peptide as a determinant of myocardial fibrosis. Hypertension (Dallas, Tex: 1979). 2007 May;49(5):1120-7.
16. Szabó Z, Magga J, Alakoski T, Ulvila J, Piuhola J, Vainio L, et al. Connective tissue growth factor inhibition attenuates left ventricular remodeling and dysfunction in pressure overload-

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-19]

induced heart failure. Hypertension (Dallas, Tex: 1979). 2014 Jun;63(6):1235-40.

17. Walter R, Wanninger J, Bauer S, Eisinger K, Neumeier M, Weiss TS, et al. Adiponectin reduces connective tissue growth factor in human hepatocytes which is already induced in non-fibrotic non-alcoholic steatohepatitis. Experim Mol Patho. 2011 Dec;91(3):740-4.

18. Alleva DG, Kaser SB, Monroy MA, Fenton MJ, Beller DI. IL-15 functions as a potent autocrine regulator of macrophage proinflammatory cytokine production: evidence for differential receptor subunit utilization associated with stimulation or inhibition. J Imno (Baltimore, Md: 1950). 1997 Sep 15;159(6):2941-51.

19. Samuel CS. Relaxin: antifibrotic properties and effects in models of disease. Clin Med Res. 2005 Nov;3(4):241-9.

20. Fallowfield JA, Hayden AL, Snowdon VK, Aucott RL, Stutchfield BM, Mole DJ, et al. Relaxin modulates human and rat hepatic myofibroblast function and ameliorates portal hypertension in vivo. Hepatology (Baltimore, Md). 2014 Apr;59(4):1492-504.

21. Hayden AL. The role of relaxin in the regulation of human liver and kidney fibrosis Southampton: University of Southampton; 2009.

22. Blom IE, Goldschmeding R, Leask A. Gene regulation of connective tissue growth factor: new targets for antifibrotic therapy? Matrix Biol. 2002 Oct;21(6):473-82.

23. Gressner OA, Gressner AM. Connective tissue growth factor: a fibrogenic master switch in fibrotic liver diseases. Liver Int. 2008 Sep;28(8):1065-79.

24. Tong Z, Chen R, Alt DS, Kemper S, Perbal B, Brigstock DR. Susceptibility to liver fibrosis in mice expressing a connective tissue growth factor transgene in hepatocytes. Hepatology (Baltimore, Md). 2009 Sep;50(3):939-47.

25. Lichtman MK, Otero-Vinas M, Falanga V. Transforming growth factor beta (TGF-β) isoforms in wound healing and fibrosis. Wound Repair Regenerat. 2016 Mar;24(2):215-22.

26. Wahab NA, Yevdokimova N, Weston BS, Roberts T, Li XJ, Brinkman H, et al. Role of connective tissue growth factor in the pathogenesis of diabetic nephropathy. Biochem J. 2001 Oct 1;359(Pt 1):77-87.

27. Wu CK, Wang YC, Lee JK, Chang SN, Su MY, Yeh HM, et al. Connective tissue growth factor and cardiac diastolic dysfunction: human data from the Taiwan diastolic heart failure registry and molecular basis by cellular and animal models. Eur J Heart Fail. 2014 Feb;16(2):163-72.

28. Dorn LE, Petrosino JM, Wright P, Accornero F. CTGF/CCN2 is an autocrine regulator of cardiac fibrosis. J Mol Cell Cardio. 2018 Aug;121:205-11.

29. Tahereh Fakharian, Shima Heydari, Ghodsiyeh Azarkar, bakhsh ArE. The role of non- alcoholic fatty liver disease (NAFLD)in the occurrence of CVDs through measuring carotid intima-media thickness. Birjand Univ Med Sci. 2017;24(1):63-72.

30. Chaqour B. Caught between a "Rho" and a hard place: are CCN1/CYR61 and CCN2/CTGF the arbiters of microvascular stiffness? J Cell Commun Signal. 2020 Mar;14(1):21-9.

31. Nistri S, Chiappini L, Sassoli C, Bani D. Relaxin inhibits lipopolysaccharide-induced adhesion of neutrophils to coronary endothelial cells by a nitric oxide-mediated mechanism. FASEB J. 2003 Nov;17(14):2109-11.

32. Bani-Sacchi T, Bigazzi M, Bani D, Mannaioni PF, Masini E. Relaxin-induced increased coronary flow through stimulation of nitric oxide production. Br J Pharmaco. 1995 Sep;116(1):1589-94.

33. Danielson LA, Kercher LJ, Conrad KP. Impact of gender and endothelin on renal vasodilation and hyperfiltration induced by relaxin in conscious rats. Am J Physiol Regul Integr Compar Physiol. 2000 Oct;279(4):R1298-304.

34. Baccari MC, Nistri S, Vannucchi MG, Calamai F, Bani D. Reversal by relaxin of altered ileal spontaneous contractions in dystrophic (mdx) mice through a nitric oxide-mediated mechanism. Am J Physiol Regul Integr Compar Physiol. 2007 Aug;293(2):R662-8.

35. Bani D, Baccari MC, Quattrone S, Nistri S, Calamai F, Bigazzi M, et al. Relaxin depresses small bowel motility through a nitric oxide-mediated mechanism. Studies in mice. Biol Reprod. 2002 Mar;66(3):778-84.

36. Baccari MC, Bani D, Bigazzi M, Calamai F. Influence of relaxin on the neurally induced relaxant responses of the mouse gastric fundus. Biol Reprod. 2004 Oct;71(4):1325-9.

37. Lee KC, Hsieh YC, Chan CC, Sun HJ, Huang YH, Hou MC, et al. Human relaxin-2 attenuates hepatic steatosis and fibrosis in mice with non-alcoholic fatty liver disease. Lab Invest. 2019 Jul;99(8):1203-16.

38. Bryant-Greenwood GD, Rutanen EM, Partanen S, Coelho TK, Yamamoto SY. Sequential appearance of relaxin, prolactin and IGFBP-1 during growth and differentiation of the human endometrium. Mol Cell Endocrinol. 1993 Sep;95(1-2):23-9.

39. Banerjee A, Shen PJ, Ma S, Bathgate RA, Gundlach AL. Swim stress excitation of nucleus incertus and rapid induction of relaxin-3 expression via CRF1 activation. Neuropharmacology. 2010 Jan;58(1):145-55.

40. Halls ML, van der Westhuizen ET, Wade JD, Evans BA, Bathgate RA, Summers RJ. Relaxin family peptide receptor (RXFP1) coupling to G(alpha)i3 involves the C-terminal Arg752 and localization within membrane Raft Microdomains. Mol Pharmacol. 2009 Feb;75(2):415-28.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-19]

41. Massagué J. TGF-beta signal transduction. Ann Rev Biochem. 1998;67:753-91.
42. Gressner OA, Lahme B, Demirci I, Gressner AM, Weiskirchen R. Differential effects of TGF-beta on connective tissue growth factor (CTGF/CCN2) expression in hepatic stellate cells and hepatocytes. J Hepatol. 2007 Nov;47(5):699-710.
43. Jinnin M. Mechanisms of skin fibrosis in systemic sclerosis. J Dermatol. 2010;37(1):11-25.
44. Varga J, Pasche B. Transforming growth factor beta as a therapeutic target in systemic sclerosis. Nature Rev Rheumatol. 2009 Apr;5(4):200-6..
45. Masterson R, Hewitson TD, Kelynack K, Martic M, Parry L, Bathgate R, et al. Relaxin down-regulates renal fibroblast function and promotes matrix remodelling in vitro. Nephrol Dialysis Transplant. 2004 Mar;19(3):544-52.
46. Heeg MH, Koziolek MJ, Vasko R, Schaefer L, Sharma K, Müller GA, et al. The antifibrotic effects of relaxin in human renal fibroblasts are mediated in part by inhibition of the Smad2 pathway. Kidney Int. 2005 Jul;68(1):96-109.
47. Bathgate RA, Halls ML, van der Westhuizen ET, Callander GE, Kocan M, Summers RJ. Relaxin family peptides and their receptors. Physiol Rev. 2013 Jan;93(1):405-80.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-19]