



Original Article

Effect of *Kelussia odoratissima* Mozaff extract on *PNPLA3* gene expression in non-alcoholic fatty liver and control rats

Hadis Mohammadi¹, Noosha Zia-Jahromi^{1*}, Abdul Rasul Namjoo²

ABSTRACT

Background and Aims: Non-alcoholic fatty liver disease (*NAFLD*) is associated with such symptoms as steatosis, fibrosis, and liver cirrhosis. *Kelussia* has attracted assiduous attention due to its protective effects on the liver. The *PNPLA3* gene is mainly expressed in the liver and plays a major role in the degradation rate of hepatic triglycerides. Therefore, the present study aimed to assess the effect of *Kelussia* extract on *PNPLA3* gene expression in rats with fatty liver and healthy rats.

Materials and Methods: This experimental study was conducted on 24 male Wistar rats in the control group (no treatment), obese group (which received a high-fat diet), treatment group 1 (which received a high-fat diet with *Kelussia* extract 400 mg/kg) and treatment group 2 (a high-fat diet with *Kelussia* extract 800 mg/kg) for six weeks. Blood samples were taken from rats and the factors of (LDL, HDL, Cholesterol, Triglyceride, and fasting sugar) were measured. After sampling the rat liver, the effect of *Kelussia* on *PNPLA3* gene expression was investigated using the Real-time reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) technique and analyzed in SPSS software (version 22).

Results: Based on the results, *Kelussia* extract at a dose of 800 mg/kg resulted in a more dramatic decrease in *PNPLA3* gene expression in rats with fatty liver, compared to a dose of 400 mg /kg, and this reduction was statistically significant, compared to the fatty liver group ($P<0.05$). The results of biochemical tests confirmed liver improvement in the rats treated with *Kelussia* extract at a dose of 800 mg/kg.

Conclusion: It can be said that *Kelussia* had a beneficial effect on the reduction of blood lipids; moreover, it reduces the accumulation of triglycerides in the liver and improves the tissue structure of the liver by reducing the expression of *PNPLA3* gene; therefore, with more studies, it can be considered a supplement to reduce blood lipids.

Keywords: *Kelussia*, Non-alcoholic fatty liver, *PNPLA3* gene



Citation: Mohammadi H, Zia-Jahromi N, Namjoo AR. [Effect of *Kelussia odoratissima* Mozaff extract on *PNPLA3* gene expression in non-alcoholic fatty liver and control rats]. J Birjand Univ Med Sci. 2021; 28(4): 335-345. [Persian]

DOI <http://doi.org/10.32592/JBirjandUnivMedSci.2021.28.4.102>

Received: July 12, 2021

Accepted: December 13, 2021

¹ Department of Biology, Science Faculty, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

² Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

***Corresponding author:** Department of Biology, Science Faculty, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
Tel: +989133146504 Fax: +98383361000 E-mail: Nooshazia.59@gmail.com

بررسی اثر عصاره کرفس کوهی (*Kelussia odoratissima Mozaff*) بر بیان ژن *PNPLA3* در رت‌های مبتلا به کبد چرب غیرالکلی و رت‌های سالم

حدیث محمدی^۱, نوشاد ضیاء جهومی^{۱*}, عبدالرسول نامجو^۲

چکیده

زمینه و هدف: بیماری کبد چرب غیرالکلی (NAFLD) با علایمی شامل استئاتوز، فیبروز و سیبروز کبدی همراه است. کرفس کوهی بهدلیل اثرات محافظتی بر کبد مورد توجه می‌باشد. ژن *PNPLA3* عمده‌اً در کبد بیان شده و نقش مهمی در سرعت تجزیه تری گلیسریدهای کبدی دارد؛ بنابراین در تحقیق حاضر به بررسی اثر عصاره کرفس کوهی بر بیان ژن *PNPLA3* در رت‌های مبتلا به کبد چرب و رت‌های سالم پرداخته شد.

روش تحقیق: در این مطالعه تجربی از ۲۴ سر رت نر نژاد ویستار در گروههای کنترل (فاقد تیمار)، گروه چاق (دریافت کننده رژیم غذایی پرچرب، گروه تیمار ۱ (رژیم غذایی پر چرب به همراه عصاره کرفس کوهی ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و گروه تیمار ۲ (رژیم غذایی پرچرب به همراه عصاره کرفس کوهی ۸۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) به مدت ۶ هفته استفاده گردید. سپس از موش‌ها خون‌گیری و فاکتورهای کلسترول، تری‌گلیسرید، قند، LDL و HDL اندازه‌گیری شد. پس از نمونه‌برداری از کبد رت‌ها، تأثیر کرفس کوهی بر بیان ژن *PNPLA3* به کمک تکنیک Real time RT-PCR بررسی و با کمک آزمون آماری SPSS نسخه ۲۲ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: در تحقیق حاضر بررسی عصاره کرفس کوهی با دوز ۸۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم سبب کاهش بیشتر بیان ژن *PNPLA3* در رت‌های مبتلا به کبد چرب نسبت به دوز ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم شد که این کاهش بیان از نظر آماری نسبت به گروه بیمار معنادار است ($P < 0.05$). نتایج تست‌های بیوپیش‌بازی بهبود کبد را در رت‌های تیمار شده با دوز ۸۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم تأیید کرد.

نتیجه‌گیری: می‌توان گفت گیاه کرفس کوهی بر کاهش چربی خون اثر مطلوب داشته و با کاهش بیان ژن *PNPLA3* باعث کاهش تجمع تری‌گلیسرید در کبد و بهبود ساختار بافتی کبد می‌شود؛ بنابراین با بررسی‌های بیشتر استفاده از آن به عنوان مکمل و کاهنده چربی خون می‌تواند مطرح می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: کرفس کوهی، کبد چرب غیرالکلی، *PNPLA3*

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۴۰۰؛ (۴): ۳۳۵-۳۴۵.

درباره: ۱۴۰۰/۰۹/۲۲ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۲۱

^۱ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
^۲ گروه پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

***نویسنده مسئول:** گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
آدرس: شهرکرد-رحمتیه-دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد
تلفن: ۰۹۱۳۳۱۴۶۵۰۴. نامبر: ۰۳۸۳۳۶۱۰۰۰. پست الکترونیکی: Nooshazia.59@gmail.com

مقدمه

افزایش می‌هد و بر این اساس *PNPLA3* از طریق استرین سازی اسیدهای چرب در سطح^۳ AGPAT (آسیل-1-CoA: گلیسرول-sn3-فسفات استیل ترانسفراز) در داخل بدن نقش لیپوژنیک بازی می‌کند (۱۳). فعالیت‌های آن توسط مسیرهای هورمونی تنظیم رسب چربی در کبد تنظیم می‌شود و همچنین در غدد آدرنال و بافت چربی بیان می‌شود و با *PNPLA2* که هیدرولاز تری گلیسرید اصلی در بافت‌های چربی محیطی است مرتبط است. مشاهدات نشان می‌دهد که *PNPLA3* یک پروتئین کلیدی را که گذاری می‌کند که واسطه فرایندهای پاتولوژیک آسیب کبدی در اختلالات متابولیک است. تنوع در ژن به تفاوت‌های قومی و بین فردی در محتوای چربی کبد و استعداد ابتلا به بیماری کبد چرب غیر الکلی کمک می‌کند. یک جهش رایج در ژن مورد نظر مانع از تجزیه تری گلیسریدها در کبد می‌شود و تجمع چربی را افزایش می‌دهد (۱۴).

مطالعات انجام شده بر روی عصاره تام گیاه کرفس کوهی نشان دهنده وجود روتین ۳ و ۴ و ۷ تری هیدروکسی فلاونول، کافئیک اسید و فتالید بوده است. از آن جا که فلاونوییدهای مزبور، به فرم آگلیکون هستند به دلیل شکل فضایی خاص خود جذب روده‌ای سریع و قابل توجهی دارند. مطالعات قبلی نشان داده است که این فلاونویید موجب مهار متابولیسم اسید آراشیدونیک می‌گردد. همچنین وجود هیدروکسی در ساختار فلاونویید باعث می‌شود که حلقه بتای فلاونویید چرخش آزاد داشته باشد و به این طریق مهار آنزیم ۵ لیپوکسیزناز را تشدید می‌کند و التهاب را کاهش می‌دهد. مکانیسم احتمالی اثر فلاونوییدها که توسط محققان گزارش شده شامل کاهش فعالیت آنزیم استیل کلسترول و آسیل ترانسفراز سلول‌های کبدی، کاهش فعالیت آنزیم هیدروکسی متیل گلوتاتیون کوآنزیم A ردوکتاز (HMG-CoA)^۴ و افزایش تعداد رسپتورهای کبدی می‌باشد. داروهای ستنتیک موجود در درمان هیبریلیدمی با اثرات و عوارض جانبی همراه هستند. تاکنون عارضه جانبی خاصی از گیاه کرفس کوهی گزارش نگردیده است. در ضمن میوه‌ها و رونگ فرار اعضای اصلی این خانواده در داروسازی استفاده های متعددی

بیماری کبد چرب غیرالکلی (*NAFLD*)^۱ به صورت تجمع چربی در کبد در عدم مصرف بیش از حد الكل تعريف می‌شود (۱). این بیماری شامل طیفی است که از استئاتوز (نفوذ چربی در کبد) به استئاتو‌هپاتیت (التهاب و آسیب سلول‌های کبدی) می‌رسد که فیروز کبدی و در نهایت سیروز کبدی را به دنبال دارد (۲). بیماری کبد چرب غیر الکلی در حال حاضر به عنوان یکی از شایع‌ترین علل بیماری مزمن کبدی در افراد جوان جامعه در کشورهای در حال توسعه و توسعه یافته است. تخمین زده شده است که تا سال ۲۰۳۰ مهم‌ترین علل مرگ و میر ناشی از بیماری‌های کبدی، کبد چرب غیرالکلی همراه چاقی باشد (۳-۵).

شیوع *NAFLD* با چندین عامل همچون سن، جنس، نژاد مرتبط است. همچنین این بیماری ارتباط قوی با چاقی، مقاومت به انسولین، دیابت نوع ۲ و سندروم متابولیک دارد (۶). شیوع *NAFLD* به موازات چاقی در حال افزایش است. این میزان در ایران ۴۵٪^۲ گزارش شده است. در مطالعه‌ای شیوع *NAFLD* در افراد چاق ۸۰٪^۳ بوده است. در حالی که این میزان در افراد با نمایه توده بدنی نرمال (BMI) ۱۶٪^۴ بیان شده است. علاوه بر این بیش از دو سوم افرادی که مبتلا به دیابت بوده اند، *NAFLD* داشته‌اند (۶). در بعضی از مطالعات بیان شده است که خطر ابتلا به *NAFLD* در بین مردان بیشتر از زنان است (۷-۹).

ژن مورد مطالعه در این تحقیق *PNPLA3* می‌باشد که توسط Baulande در بافت چربی شناسایی شده است (۱۰-۱۲). این ژن بر روی بازوی بلند کروموزم ۲۲ قرار دارد. این ژن در انسان عمدها در کبد بیان می‌شود و متعلق به خانواده فسفولیپازهای مشابه با پروتئین‌ها است که حاوی آنزیم چربی تری گلیسرید لیپاز می‌باشد و پروتئین کلیدی دخیل در هیدرولیز تری گلیسریدها به دی گلیسریدها است (۱۰-۱۲). مطالعات اخیر آزمایشگاهی نشان می‌دهد که *PNPLA3* با تبدیل اسید لیزو فسفاتیدیک به فسفاتیدیک اسید و تجمع چربی در سلول‌های کبدی در حضور اسید چرب مشاهده می‌شود؛ اما با گلوکز مشاهده نمی‌شود، لیپوژن را

¹ Non-alcoholic fatty liver disease

² Body mass index

³ Enzyme 1-acylglycerol-3-phosphate-O-acyltransferase

⁴ β-Hydroxy β-methylglutaryl-CoA

را تشکیل می‌دادند. گروه B شامل شش سررت مبتلا به کبد چرب است که به عنوان گروه کنترل منفی (گروه دریافت کننده رژیم غذایی پرچرب) می‌باشند. گروه C شامل شش سررت مبتلا به کبد چرب می‌باشد که دریافت کننده دوز ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره کرفس کوهی (کلوس) می‌باشند. گروه D شامل شش سررت دریافت کننده دوز ۸۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره کرفس کوهی (کلوس) می‌باشند (۱۸). پس از گروه‌بندی و پس از طی شدن دوره تطبيق حیوانات با حرارت و رطوبت محل نگهداری، آزمایشات شروع شد.

تهییه عصاره کرفس

در ابتدای گیاه کرفس از مناطق کوهستانی مورد نظر استان چهارمحال و بختیاری جمع‌آوری و با تأیید متخصصین گیاه‌پزشکی دانشگاه آزاد شهرکرد تأیید (با عدد هریاریومی ۱۹۴) شد. سپس در محلی که دور از نور و آفتاب و در دمای رطوبت مناسب به‌طوری که هوا در آن محل جریان داشته باشد نگهداری و خشک شد. سپس توسط آسیاب برقی به قطعات ۰/۵ تا ۳ سانتی‌متری پودر کرده و سپس ۵۰ گرم از این پودر را با الکل اتانول ۷۰ درصد صنعتی مخلوط کرده به اندازه‌ای که پودر کامل با الکل پوشیده شود و الکل تا روی گیاه بیاید و بعد از ۵ ساعت از کاغذ صافی عبور داده شد. عصاره‌ای که پس از عبور از کاغذ صافی به دست آمد با دستگاه Rotary که روی دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد گذاشته و خود دستگاه شرایط ایده‌آل را ایجاد می‌کند، تغليظ گردید. در نهایت مقدار انتخابی عصاره‌ها با حل کردن آن‌ها در یک حلال مناسب به دست آمد و به صورت گاواز به رت‌ها داده شد. پس از طی یک ماه از فرایند گاواز (که این فرایند هر ۳ روز یکبار انجام شد) و تیمار، رت‌ها در شرایط کاملاً بهداشتی با استفاده از کلروفورم بیهوش شدند و با استفاده از ست جراحی شکم آن‌ها باز و کبد آن‌ها برداشته شد.

cDNA و سنتز RNA استخراج

در تحقیق حاضر برای استخراج RNA تمام از ترایزول (Invitrogen) ساخت کشور امریکا) مطابق پروتکل استفاده شد و

دارند (۱۵).

با توجه به آمار فراینده مبتلا به کبد چرب و همچنین به علت عوارض جانبی کمتر گیاهان دارویی نسبت به داروهای صنعتی و شیمیایی در این مطالعه برآن شدیم تا به بررسی اثر عصاره کرفس کوهی بر بیان ژن *PNPLA3* در موش‌های چاق مبتلا به کبد چرب بپردازیم.

روش تحقیق

نوع مطالعه و نمونه‌گیری

تحقیق حاضر در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد با کد IR.IAU.SHK.REC.1399.042 رسیده است. مطالعه حاضر تجربی بود. لازم به ذکر است که روش جمع‌آوری اطلاعات آزمایشگاهی- مشاهده‌ای بوده و ۲۴ سررت نر بالغ ویستار با میانگین وزنی ۱۳۰ تا ۲۰۰ گرم از لانه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد خریداری شد و در شرایط استاندارد ۲۳ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد و سیکل ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با آب و غذای کافی و استاندارد درون قفس‌های مخصوص دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد نگهداری شدند. در تمام مراحل آزمایشگاهی اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی لحاظ شد. رت‌ها پس از سازگاری با محیط به طور تصادفی به ۴ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. در پژوهش حاضر برای ایجاد کبد چرب در ابتدای رت‌ها به مدت ۶ هفته با رژیم غذایی با چربی بالا که شامل ۵۸٪ چربی، ۲۵٪ پروتئین و ۱۷٪ کربوهیدرات در هر گرم چاق شدند. در ادامه ۳۶۵ گرم خوراک پودر شده را با ۱۰ گرم کلسترول و ۲۵۰ گرم کازئین و ۶۰ گرم ویتامین- مینرال مخلوط و ۰/۳ گرم متیونین، ۰/۱ گرم مخمر و ۰/۱ گرم سدیم کلرید اضافه گردید و با چربی آب شده مخلوط گردید. در نهایت به‌وسیله دستگاه پلت زن به صورت خوراک پلت و پرس شده در آورده شد و به مدت سه روز در جای خشک و خنک نگهداری شد و در نهایت آماده مصرف رت‌ها شد (۱۶). همچنین طول مدت لازم برای القاء کبد چرب ۶ هفته بود و توسط تست‌های کبدی انجام شد (۱۷). گروه A شامل شش سررت سالم که فقط روزانه آب و غذای استاندارد دریافت می‌کردند و گروه کنترل

و پرایمر ۶ نوکلئوتیدی تصادفی، طبق پروتکل کیت، cDNA نمونه سنتز شد. به منظور بررسی میزان بیان ژن‌های مورد نظر، پرایمرهای رفت و برگشت اختصاصی هر ژن توسط نرمافزار Oligo7 و BeaconDesigner 8.0 (۱۹، ۲۰) طراحی شد و پس از BLAST در پایگاه اینترنتی NCBI، توسط شرکت پیشگام سنتز شد که در جدول ۱ آورده شده است.

پس از استخراج RNA استخراج شده از لحاظ کیفی و کمی بررسی شد. برای حذف آلودگی احتمالی RNA استخراج شده به DNA ژنومی، هر نمونه RNA استخراج شده با آنزیم DNaseI (سیناژن ساخت کشور ایران) به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تیمار شد و به منظور خنثی‌سازی آنزیم DNaseI هر نمونه با ۱ میکرولیتر اتیلن دی‌آمین تراستیک اسید (EDTA) مرک ساخت کشور آلمان) تیمار و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. در نهایت با استفاده از کیت شرکت یکتا تجهیز آزما

جدول ۱- پرایمرهای مورد نظر

نام ژن	توالی پرایمر	طول قطعه
PNPLA3 F	5'-CAACATTAACAAGTGCAGTCAGAG-3'	۱۵۹ bp
PNPLA3 R	5'- GCATCCACCACCTCGTCTTG -3'	
GAPDH F	5'-TGATTCTACCCACGGCAAGTTC -3'	۲۰۰ bp
GAPDH R	5'-CGCTCCTGGAAGATGGTGATG -3'	

تکنیک Real time RT-PCR

Real Time –RT PCR در پژوهش حاضر از تکنیک (Corbett rotor gene 6000) به منظور سنجش کمی سطح بیان ژن‌های مورد نظر استفاده شد. برای انجام این تکنیک از SYBR Green (یکتاتجهیز آزما ساخت کشور ایران) استفاده شد و در نهایت پس از محاسبه ΔCT نسبت بیان ژن هدف در نمونه $2^{-\Delta CT}$ مورد نظر (بیمار) نسبت به نمونه کنترل (سالم) با فرمول محاسبه شد.

RT-PCR

در این بررسی برای تأیید صحت سنتز cDNA از تکنیک PCR استفاده شد و برای انجام تکنیک، ۱۰ میکرولیتر Master Mix (یکتاتجهیز آزما)، ۰/۵ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرهای رفت و برگشت (μ L/5pmol)، ۱ میکرولیتر نمونه cDNA (۲۵ ng/ μ L)، در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر (با آب مقطر استریل) تهیه و مخلوط شد. در ادامه با برنامه دمایی: فعال‌سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، واسرشت در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، برای اتصال آغازگرها در دمای مناسب (بهترین دما برای انجام PCR برای ژن GAPDH ۶۰ درجه سانتی‌گراد بود) به مدت ۳۰ ثانیه، بسط در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و طویل‌سازی نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۰ دقیقه تکثیر انجام شد و در نهایت روی ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز انجام گردید. لازم به ذکر است که پس از نمونه برداری از کبد رت‌ها، لام پاتولوژی تهیه و نتایج پاتولوژی بررسی شد.

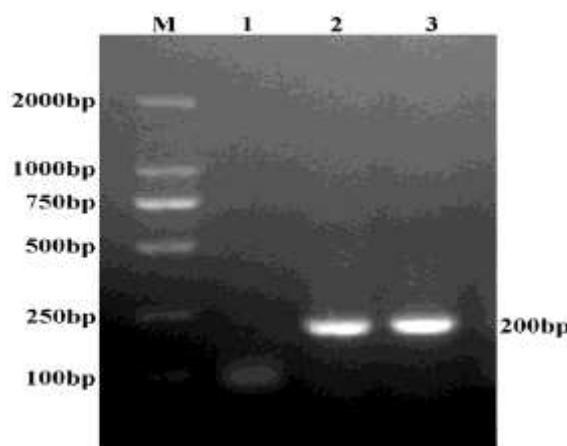
تست‌های بیوشیمیابی

در این بررسی تست‌های بیوشیمیابی پس از پایان آخرین تزریق و گاواز، موش‌ها بیهوش شدند و نمونه گیری خون به طور مستقیم از قلب رت‌ها انجام شد که شامل تست کلسترول، تری‌گلیسرید، قند، LDL، HDL، SGPT و آکالالن فسفاتاز بود که این آزمایشات با روش اتوانالیزره و توسط دستگاه اتوانالیزره (Auto Analyser BT 3000plus، Analyser BT 3000plus کیت پارس آزمون انجام شد.

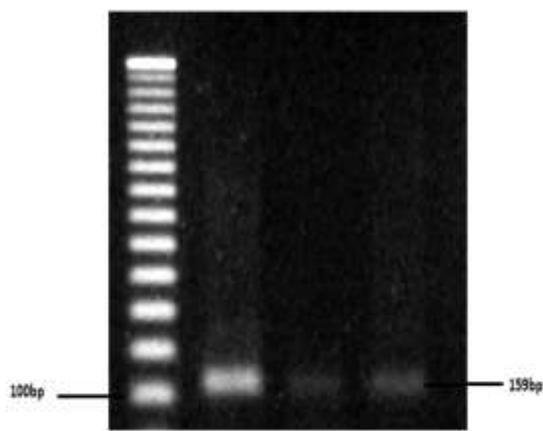
موجهای ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر اندازه‌گیری و در نسبت ۲۶۰/۲۸۰ بین ۲-۱/۵ بود که عدم آلدگی‌های پروتئین و فنول را نشان داد.

یافته‌های ارزیابی بیان ژن به روش RT-PCR

برای سنتر صحیح cDNA از روش PCR معمولی استفاده شد. در این روش تمام نمونه‌ها برای GAPDH و ژن PNPLA3 PCR شدند و محصولات روی ژل آکارز ۱٪ Run شدند. عکس ژل‌ها توسط دستگاه UV-Doc گرفته شد. بر اساس نتایج برای ژن ۲۰۰ bp باند GAPDH باشد ۱۵۹ bp باند PNPLA3 مشاهده شد که در تصویر ۱ و ۲ آورده شده است.



تصویر ۱- تأیید صحبت سنتر cDNA. چاهک شماره ۱ کنترل منفی، چاهک شماره ۲ نمونه سالم، چاهک شماره ۳ نمونه رت‌های مبتلا به کبد چرب



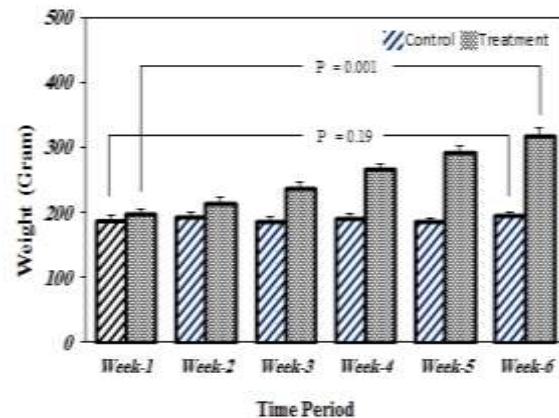
تصویر ۲- تأیید صحبت سنتر ژن PNPLA3. چاهک شماره ۱ مارکر، چاهک شماره ۲ نمونه سالم، چاهک شماره ۳ و ۴ نمونه رت‌های مبتلا به کبد چرب

آنالیزهای آماری

آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام شد. از آن‌جا که داده‌ها از توزیع نرمال برخوردار بودند، با روش آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و با آزمون تعقیبی LSD ارزیابی شدند و نتایج بصورت Mean \pm SEM ارائه و تفاوت بین گروه‌های مختلف با $P < 0.05$ معنی‌دار تلقی شد.

یافته‌ها

همان‌طور که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود در گروه کنترل به دلیل عدم استفاده از رژیم پرچرب تغییرات وزنی در طول دوره مورد بررسی ناچیز بوده ($P = 0.19$) درحالی که در موش‌های دارای رژیم غذایی پرچرب افزایش قابل توجهی در میانگین وزنی موش‌ها پس از ۶ هفته ایجاد شده است ($P = 0.001$). بنابراین با توجه به نتایج حاصل از بررسی وزن موش‌ها در طول یک دوره ۶ هفته‌ای پیش از انجام آزمایشات می‌توان از افزایش وزن موش‌ها و ابتلای آن‌ها به چاقی اطمینان حاصل نمود.



نمودار ۱- بررسی تغییرات وزن موش‌های مورد مطالعه در یک دوره ۶ هفته‌ای

بررسی کمی و کیفیت RNA استخراج شده بر روی ژل

RNA استخراج شده بر روی ژل آکارز ۱٪ الکتروفورز شد. باندهای ۱۸ s و ۲۸ s به طور واضح قابل تشخیص بود که نشان دهنده سالم بودن RNA است. همچنین مقدار ۱ میکرولیتر از هر نمونه RNA استخراج شده توسط دستگاه نانودرایپ در طول

رتهای مبتلا به کبد چرب را نشان داد. این عصاره با کاهش بیان ژن مورد نظر در کاهش چربی و درمان رتهای مبتلا به کبد چرب کمک کرد (جدول ۲).

یافته‌های حاصل از آنالیز آماری

آنالیز آماری داده‌ها در این تحقیق که با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۲۲ انجام گرفته شد نشان داد که داده‌ها از توزیع نرمال برخوردار بودند. نتایج به دست آمده از این تحقیق تأثیر عصاره کرفس کوهی بر بیان ژن مورد مطالعه در بهبودی کبد چرب در

جدول ۲- مقایسه میزان تغییرات بیان ژن PNPLA3 در گروه چاق، عصاره کرفس ۴۰۰ و ۸۰۰ نسبت به گروه سالم

گروه	سالم	چاق	عصاره کرفس ۴۰۰	عصاره کرفس ۸۰۰
بیان ژن	۱/۰۳ ± ۰/۲۹ ^b	۳/۷۶ ± ۰/۲۳ ^a	۱/۷۵ ± ۰/۳۹ ^b	۱/۴۶ ± ۰/۷۱ ^b

a: میانگین‌ها با حروف لاتین متفاوت اختلاف آماری معنی‌دار دارند که a برابر با ۰/۰۱ و b برابر با ۰/۰۰۱ P=.

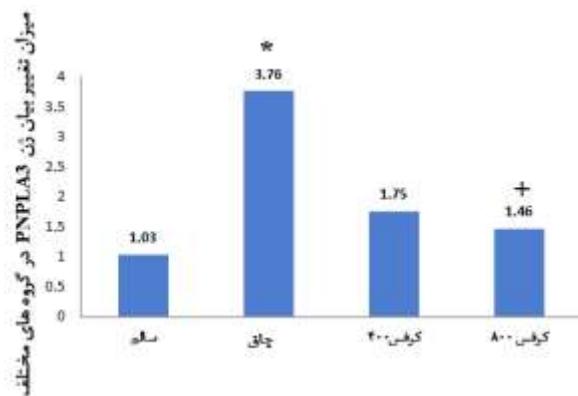
نتایج هیستوپاتولوژی

در تحقیق حاضر نتایج هیستوپاتولوژی کبد نشان داد که در موش‌های گروه با رژیم پرچرب، استئاتوز کبد با درجه ۴ حاصل شد، در حالی که در گروه با مصرف عصاره کرفس کوهی به ویژه در غلاظت بالا با استئاتوز درجه ۱ از تغییر چربی هپاتوسیتها جلوگیری به عمل آمده است که در جدول ۳ نشان داده شده است. همچنین عکس‌های بافت پاتولوژی آن در تصویر ۳ به صورت تصاویر الف، ب، ج و د نشان داده شده است.

نتایج تست‌های بیوشیمیابی

طبق نمودار ۳ مشاهده شد که میزان قند خون، تری گلیسرید، کلسترول، LDL در گروه رت مبتلا به کبد چرب درمان شده با دوز ۸۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد و گروه کنترل منفی و حتی گروه درمان شده با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم داشته است؛ ولی میزان HDL در گروه رت مبتلا به کبد چرب درمان شده با دوز ۸۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم افزایش معنی‌داری نسبت به سایر گروه‌ها دارد ($P<0/05$). در این نمودار مشخص شد که در گروه مبتلا به کبد چرب (گروه کنترل منفی) میزان تست‌های مربوطه افزایش یافت و بعد از درمان با عصاره کرفس کوهی میزان تمام تست‌ها به غیر از HDL کاهش معنی‌داری داشته است. همچنین گروه شاهد که تحت هیچ رژیم پرچربی نبود میزان سالم بودن رتهای عدم داشتن چربی را نشان داد.

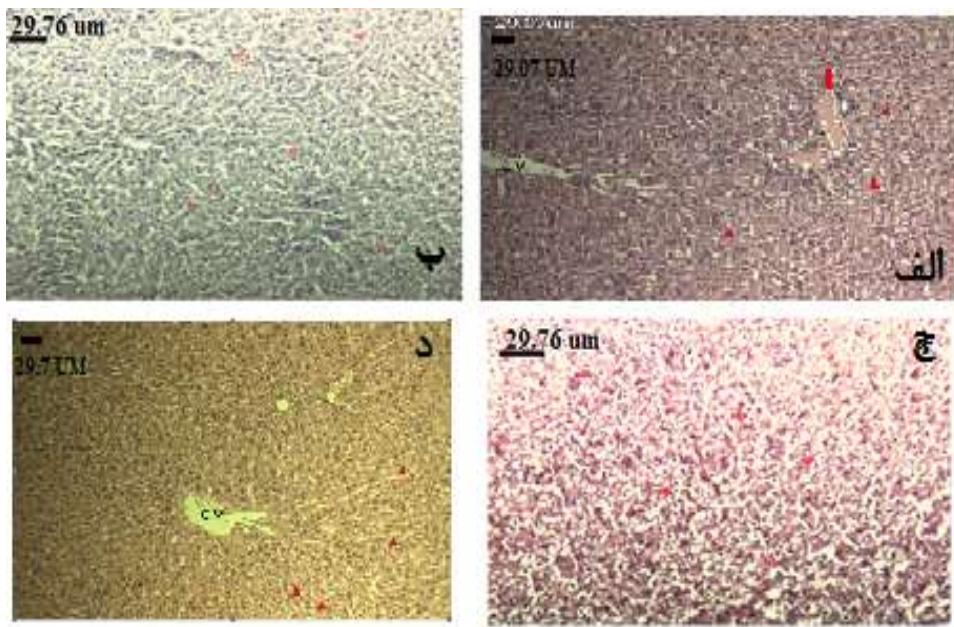
گروه کبد چرب غیر الکلی به عنوان کنترل سایر گروه‌ها می‌باشد (سایر گروه‌ها نسبت به گروه بیمارستانی‌جیده می‌شود) و برحسب این گروه P سایر گروه‌ها به دست آورده شد. طبق تعریف اگر P کمتر از ۰/۰۵ باشد یعنی بین گروه‌ها اختلاف معنی‌داری وجود دارد؛ ولی اگر P بیشتر از ۰/۰۵ باشد یعنی اختلاف معنی‌داری بین آن‌ها وجود ندارد. میزان بیان این ژن به صورت ستونی در نمودار ۲ آورده شده است.



نمودار ۲- میزان تغییر بیان ژن. بیشترین میزان بیان مربوط به گروه رتهای مبتلا به کبد چرب می‌باشد (علامت * برابر با ۰/۰۱ P=). کمترین میزان بیان مربوط به گروه سالم می‌باشد. در رتهای دریافت کننده دوز ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم عصاره کرفس کوهی کاهش بیان دیده شده که این کاهش بیان نسبت به گروه چاق معنادار می‌باشد (علامت + نشانه کاهش بیشتر است).

جدول ۳- نتایج هیستو پاتولوژی

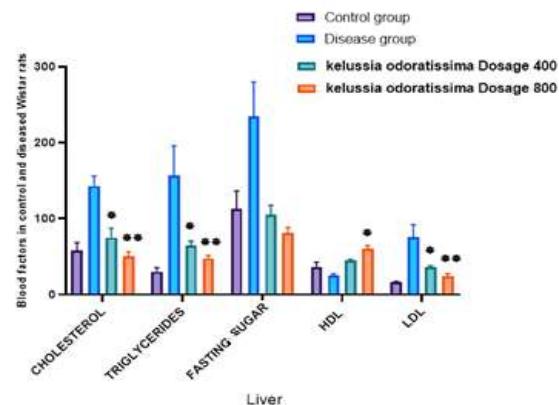
۱- تورم هپاتوسیت‌های کبد	کبد (گروه بیمار)
۲- مشاهده فضاهای روشن بصورت واکوئل‌های روشن داخل سیتوپلاسم در اطراف هسته	
۳- کاهش فضای سینوزوئیدی بین سلول‌های هپاتوسیت کبد	
۴- مشاهده بافت همبند همراه با سلول‌های التهابی تک هسته‌ای در ناحیه پورتال	
۱- هپاتوسیت‌های اطراف سیترال وین (ورید مرکزی کبد) به دلیل تجمع وزیکول‌های چربی دچار تورم شده	
۲- پرخونی ناحیه سیترال وین در ناحیه پورتال، هایپرپلازی مجاری صفوای	
۳- مشاهده بافت همبند در ناحیه پورتال تراکت	
۴- تجمع کانونی سلول‌های اماسی در مناطق تکروز شده از پارانشیم کبد	
۵- کاهش فضای سینوزوئیدی	کبد (عصاره کرفس)
۶- تغییر جهت هسته به حاشیه سیتوپلاسم	
۷- کاهش فضای سینوزوئیدی	
۸- انساع ورید مرکزی کبد	
۹- مشاهده واکوئل‌های شفاف کوچک و وزیکول‌های بزرگ داخل سیتوپلاسم هپاتوسیت‌های کبد	
۱- هپاتوسیت‌ها حاوی واکوئل‌های شفاف هستند	
۲- کاهش رنگ پذیری هپاتوسیت‌های کبد (به دلیل حضور واکوئل‌های چربی)	
۳- هسته در برخی از موارد به حاشیه سیتوپلاسم هدایت شده	
۴- بر هم خوردن ساختار لوبولی پارانشیم کبد	کبد(عصاره کرفس)
۵- تجمع چربی در داخل سیتوپلاسم سلول‌های کبد به صورت منشر	
۶- کاهش فضای سینوزوئیدی (فسرده شدن سینوزوئیدها)	



تصویر ۳- نتایج هیستوپاتولوژی. الف) کبد موش صحراوی، گروه کنترل، هپاتوسیت‌های نرمال (سر پیکان قرمز)، پرخونی عروق ناحیه پورتال، و سیاهرگ مرکزی کبد (H & E × 100). ب) کبد موش صحراوی تیمار شده با دوز ۴۰۰، لبیدوزیز یا استئاتوزیز در سیتوپلاسم سلول‌های کبد، هپاتوسیت‌های حاوی واکوئل‌های چربی (پیکان قرمز) و پرخونی وریدهای مرکزی کبد (ستاره قرمز). رنگ آمیزی هماتوکسیلین و اتوژین (H & E * 40). ج) کبد موش صحراوی بیمار درمان نشده، لبیدوزیز یا استئاتوزیز منتشر در سیتوپلاسم سلول‌های کبد، هپاتوسیت‌های حاوی واکوئل‌های چربی (پیکان قرمز). رنگ آمیزی هماتوکسیلین و اتوژین (H & E × 100). د) کبد موش صحراوی تیمار شده با دوز ۸۰۰، لبیدوزیز یا استئاتوزیز منتشر در سیتوپلاسم سلول‌های کبد، هپاتوسیت‌های حاوی واکوئل‌های چربی (پیکان قرمز). رنگ آمیزی هماتوکسیلین و اتوژین (H & E × 100).

کاهش آسیب‌های پارانشیمی کبد توسط عصاره گیاه کلوس، فعالیت سرمی آنزیم‌های کبدی نیز به تبع آن کاهش یافته است و عصاره هیدروالکلی گیاه کلوس احتمالاً می‌تواند کبد را در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از تتراکلرید کربن محافظت نماید و این اثر حفاظتی کبدی در برطرف نمودن تغییرات ایجاد شده توسط آنزیم‌های سمیت زدا و آنتی‌اکسیدان و از بین رادیکال‌های آزاد مؤثر است (۲۱). همچنین طی مطالعاتی دانشمندان دریافتند که عصاره کاسنی و اسانس کرفس بختیاری بر رفع مسمومیت ناشی از سوم ارگانوفسفره در موش صحرایی، به دلیل وجود ترکیبات فنلی در این گیاهان باعث بهبودی کبد به خصوص در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌شود (۲۲).

از سوی دیگر دانشمندان دریافتند که تنوع ژنتیکی در PNPLA3 نسبت به بیماری کبد چرب غیر الکلی حساسیت نشان می‌دهد (۲۳). همچنین تنوع ژنتیکی در ژن PNPLA3 با آسیب کبدی الکلی همراه است و جهش در ژن PNPLA3 با محتوای چربی کبد در ارتباط است. از سوی دیگر پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی (M148I) با بیماری کبدی PNPLA3 rs738409 (M148I) با افراد وابسته به الکل از نژاد Mestizo همراه است (۲۴). سطح بیان ژن PNPLA3 مربوط به بیماری کبد چرب غیر الکلی در سلول‌های کبدی بسیار تحت تأثیر وضعیت چربی کبد است. مطالعات نشان داده است که تغییرات در PNPLA3 با بیماری کبد چرب غیرالکلی (NAFLD) مرتبط است (۲۵). تحقیقات نشان داده است که ژن PNPLA3 نقش مهمی در بیماری‌های کبدی دارد و می‌تواند باعث پیشرفت بیماری‌های کبدی شود (۲۶): از سوی دیگر بررسی بیان ژن PNPLA3 کبدی و شدت فیبروز کبدی در بیماران مبتلا به NASH نشان داد که با جهش در ژن PNPLA3 شدت فیبروز کبدی و پیشرفت بیماری در بیماران مبتلا به کبد چرب غیرالکلی افزایش می‌یابد (۲۷). داده‌های حاصل از بیان ژن PNPLA3 نشان داد که عصاره کرفس کوهی با دوز ۸۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم نسبت به دوز ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم باعث کاهش بیشتر بیان ژن PNPLA3 در رت‌های مبتلا به کبد چرب شد. از سوی دیگر نتایج مطالعه حاضر در مقاطع هیستوپاتولوژی کبد که از



نمودار ۳- بررسی تست‌های بیوشیمیایی.

* و ** به ترتیب $P=0.01$ و $P=0.001$ می‌باشد.

بحث

امروزه رویکرد مردم نسبت به استفاده از گیاهان دارویی به علت عوارض ناشی از مصرف داروهای شیمیایی افزایش یافته است. از جمله گیاهان دارویی که در درمان کبد چرب مؤثر می‌باشند می‌توان به چای سبز، خار مریم، کرفس کوهی، زالزالک کوهی، دارچین، کاسنی و رزماری اشاره نمود (۲۲ و ۲۱). بنابراین در پژوهش حاضر به بررسی اثر عصاره کرفس کوهی (کلوس) بر بیان ژن PNPLA3 در موش‌های مبتلا به کبد چرب پرداخته شد و نتایج حاکی از آن بود که عصاره کرفس کوهی می‌تواند بیان ژن PNPLA3 را در موش‌های مبتلا به کبد چرب افزایش دهد. برای ارزیابی نتایج این پژوهش بررسی‌هایی انجام شده است که در ادامه به توضیح مهم‌ترین آن‌ها پرداخته شده است.

بررسی‌ها نشان داده است که خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان به میزان مواد فلی موجود در آن‌ها مانند فنل‌ها و فلاونوئیدها بستگی دارد که با افزایش این ترکیبات در گیاه خاصیت آنتی‌اکسیدانی نیز افزایش می‌یابد. لازم به ذکر است که گیاه کلوس به دلیل دارا بودن ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها، دارای خاصیت مهار رادیکال‌های آزاد و اثرات آنتی‌اکسیدانی می‌باشد بنابراین منجر به غیر فعال ساختن رادیکال‌های آزاد تولید شده توسط تتراکلرید کربن شده و از آسیب به غشای سلول‌ها و القای نکروز در کبد جلوگیری نموده است. با

سرمی کلسترول و تری‌گلیسریدها شده و از کبد چرب جلوگیری می‌کند و کرفس کوهی در آینده می‌تواند راهی برای جلوگیری و پیشرفت کبد چرب باشد.

تقدیر و تشکر

این مقاله برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد با کد طرح ۹۷۰۱۷۵۳۳۳ و تحت حمایت معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد شهرکرد می‌باشد و بدین وسیله نویسندها از تمام افرادی که در جمع آوری نمونه‌های خون در این پژوهش یاری رساندند کمال تشکر و قدردانی را می‌نمایند.

تضاد منافع

نویسندها اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

رنگ آمیزی معمولی هماتوکسیلین ائوزین استفاده شد، نشان داد که در رت‌های گروه با رژیم پرچرب، استاتاتوز کبد با درجه ۴ حاصل شد، درحالی‌که در گروه با مصرف عصاره کرفس کوهی به ویژه در غلظت بالا با استاتاتوز درجه ۱ از تغییر چربی هپاتوسیت‌ها جلوگیری به عمل آمده است.

نتیجه‌گیری

با توجه به تحقیق حاضر که بر روی بیان ژن *PNPLA3* با استفاده از عصاره کلوس انجام شد، نتایج نشان داد که استفاده از عصاره کلوس از طریق کاهش بیان در ژن *PNPLA3* باعث کاهش بیان ژن موثر در سنتز لیپیدها در کبد می‌گردد. همچنین نتایج تست‌های بیوشیمیایی و نتایج پاتولوژی بهبود کبد چرب را در رت‌های چاق تأیید می‌کند. می‌توان اظهار داشت عصاره کلوس به دلیل داشتن فلاونوئیدها مانند روتین و فتالید باعث کاهش سطح

منابع:

- 1- Vernon G, Baranova A, Younossi Z. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther.* 2011; 34(3): 274-85. DOI: [10.1111/j.1365-2036.2011.04724.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2011.04724.x)
- 2- Lamprecht A. Nanomedicines in gastroenterology and hepatology. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2015; 12(4): 195-204. DOI: [10.1038/nrgastro.2015.37](https://doi.org/10.1038/nrgastro.2015.37)
- 3- Fleischman MW, Budoff M, Zeb I, Li D, Foster T. NAFLD prevalence differs among hispanic subgroups: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *World J Gastroenterol.* 2014; 20(17): 4987-93. DOI: [10.3748/wjg.v20.i17.4987](https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i17.4987)
- 4- Eslam M, George J. Genetic contributions to NAFLD: leveraging shared genetics to uncover systems biology. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2020; 17(1): 40-52. DOI: [10.1038/s41575-019-0212-0](https://doi.org/10.1038/s41575-019-0212-0)
- 5- Kolodziejczyk AA, Zheng D, Shibolet O, Elinav E. The role of the microbiome in NAFLD and NASH. *EMBO Mol Med.* 2019; 11(2): e9302. DOI: [10.1525/emmm.201809302](https://doi.org/10.1525/emmm.201809302)
- 6- Athyros VG, Alexandrides TK, Bilianou H, Cholongitas E, Doumas M, Ganotakis ES, et al. The use of statins alone, or in combination with pioglitazone and other drugs, for the treatment of non-alcoholic fatty liver disease/non-alcoholic steatohepatitis and related cardiovascular risk. An Expert Panel Statement. *Metabolism.* 2017; 71: 17-32. DOI: [10.1016/j.metabol.2017.02.014](https://doi.org/10.1016/j.metabol.2017.02.014)
- 7- Friedman SL, Neuschwander-Tetri BA, Rinella M, Sanyal AJ. Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies. *Nat Med.* 2018; 24(7): 908-22. DOI: [10.1038/s41591-018-0104-9](https://doi.org/10.1038/s41591-018-0104-9)
- 8- Sumida Y, Yoneda M. Current and future pharmacological therapies for NAFLD/NASH. *J Gastroenterol.* 2018; 53(3): 362-76. DOI: [10.1007/s00535-017-1415-1](https://doi.org/10.1007/s00535-017-1415-1)
- 9- 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. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2018; 15(1): 11-20. DOI: [10.1038/nrgastro.2017.109](https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.109)

- 10- Lindén D, Ahnmark A, Pingitore P, Ciociola E, Ahlstedt I, Andréasson A-C, et al. Pnpla3 silencing with antisense oligonucleotides ameliorates nonalcoholic steatohepatitis and fibrosis in Pnpla3 I148M knock-in mice. *Mol Metab.* 2019; 22: 49-61. DOI: [10.1016/j.molmet.2019.01.013](https://doi.org/10.1016/j.molmet.2019.01.013)
- 11- Pingitore P, Dongiovanni P, Motta BM, Meroni M, Lepore SM, Mancina RM, et al. PNPLA3 overexpression results in reduction of proteins predisposing to fibrosis. *Hum Mol Genet.* 2016; 25(23): 5212-22. DOI: [10.1093/hmg/ddw341](https://doi.org/10.1093/hmg/ddw341)
- 12- Yang J, Trépo E, Nahon P, Cao Q, Moreno C, Letouzé E, et al. PNPLA3 and TM6SF2 variants as risk factors of hepatocellular carcinoma across various etiologies and severity of underlying liver diseases. *Int J Cancer.* 2019; 144(3): 533-44. DOI: [10.1002/ijc.31910](https://doi.org/10.1002/ijc.31910)
- 13- Wang Y, Kory N, BasuRay S, Cohen JC, Hobbs HH. PNPLA3, CGI-58, and inhibition of hepatic triglyceride hydrolysis in mice. *Hepatology.* 2019; 69(6): 2427-41. DOI: [10.1002/hep.30583](https://doi.org/10.1002/hep.30583)
- 14- BasuRay S, Wang Y, Smagris E, Cohen JC, Hobbs HH. Accumulation of PNPLA3 on lipid droplets is the basis of associated hepatic steatosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2019; 116(19): 9521-6. DOI: [10.1073/pnas.1901974116](https://doi.org/10.1073/pnas.1901974116)
- 15- Tabatabaeian J, Kadkhodaie A. The effect of dormancy breaking treatments on seed germination of Kelussia odoratissima Mozaff (kohrang). *Iran J Seed Science Technology.* 2019; 8(1): 201-12. [Persian] DOI: [10.22034/IJSSST.2018.116895.1156](https://doi.org/10.22034/IJSSST.2018.116895.1156)
- 16- Kurhe Y, Radhakrishnan M, Gupta D. Ondansetron attenuates depression co-morbid with obesity in obese mice subjected to chronic unpredictable mild stress; an approach using behavioral battery tests. *Metab Brain Dis.* 2014; 29(3): 701-10. DOI: [10.1007/s11011-014-9574-8](https://doi.org/10.1007/s11011-014-9574-8)
- 17- Zarghani SS, Soraya H, Zarei L, Alizadeh M. Comparison of three different diet-induced non alcoholic fatty liver disease protocols in rats: A pilot study. *Res Pharm Sci.* 2016; 22(1): 9-15. DOI: [10.15171/PS.2016.03](https://doi.org/10.15171/PS.2016.03)
- 18- Sazegar H, Balali E, Sadeghi Samani F. Effects of Kelussia odoratissima Mozaff Hydroalcoholic Extract on Liver Injury Induced by Carbon Tetrachloride in Mice. *J Ilam Univ Med Sci.* 2019; 26(5): 30-41. DOI: [10.29252/sjimu.26.5.30](https://doi.org/10.29252/sjimu.26.5.30)
- 19- Rychlik W. PCR primer design. *Methods Mol Biol.* 2007; 402: 35-59. DOI: [10.1007/978-1-59745-528-2_2](https://doi.org/10.1007/978-1-59745-528-2_2)
- 20- Rahimi Z, Salehi M, Dousti A. CCL2 Polymorphism in Drug-Resistant and Drug-Responsive Patients with Epilepsy in Isfahan, Iran. *Med Lab J.* 2017; 11(3): 30-4. DOI: [10.18869/acadpub.mlj.11.3.30](https://doi.org/10.18869/acadpub.mlj.11.3.30)
- 21- Fathiazad F, Ahmadi-Ashtiani H, Rezazadeh S, Jamshidi M, Mazandarani M, Khaki A. Study on phenolics and antioxidant activity of some selected plant of Mazandaran Province. *J Med Plants.* 2010; 9(34): 177-82. DOI: [10.1001.1.2717204.2010.9.34.19.7](https://doi.org/10.1001.1.2717204.2010.9.34.19.7)
- 22- Ghasemi Pirbalouti A, Shahvali A, Saghaei F, Azizi S, Hamedi B, Shahgholian L. Effect of Cichorium intybus L. extracts and Kelussia oderatassima Mozaff. essential oil on toxic of organophosphorous insecticides in RAT. Journal of Medicinal Herbs, "J. Med Herb" (Formerly known as Journal of Herbal Drugs or J. Herb Drug), 2010; 1(2): 30-35. [Link](#)
- 23- Romeo S, Kozlitina J, Xing C, Pertsemidis A, Cox D, Pennacchio LA, et al. Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet.* 2008; 40(12): 1461-5. DOI: [10.1038/ng.257](https://doi.org/10.1038/ng.257)
- 24- Stickel F, Buch S, Lau K, zu Schwedissen HM, Berg T, Ridinger M, et al. Genetic variation in the PNPLA3 gene is associated with alcoholic liver injury in caucasians. *Hepatology.* 2011; 53(1): 86-95. DOI: [10.1002/hep.24017](https://doi.org/10.1002/hep.24017)
- 25- Hoekstra M, Li Z, Kruijt JK, Van Eck M, Van Berkel TJ, Kuiper J. The expression level of non-alcoholic fatty liver disease-related gene PNPLA3 in hepatocytes is highly influenced by hepatic lipid status. *J Hepatol.* 2010; 52(2): 244-51. DOI: [10.1016/j.jhep.2009.11.004](https://doi.org/10.1016/j.jhep.2009.11.004)
- 26- Bruschi FV, Tardelli M, Claudel T, Trauner M. PNPLA3 expression and its impact on the liver: current perspectives. *Hepatic medicine: evidence and research.* 2017; 9: 55-66. DOI: [10.2147/HMER.S125718](https://doi.org/10.2147/HMER.S125718)
- 27- Bruschi FV, Tardelli M, Herac M, Claudel T, Trauner M. Metabolic regulation of hepatic PNPLA3 expression and severity of liver fibrosis in patients with NASH. *Liver Int.* 2020; 40(5): 1098-110. DOI: [10.1111/liv.14402](https://doi.org/10.1111/liv.14402)