Journal of North Khorasan
University of Medical Sciences
No 51, Volume 13, Issue 3

Research Article

Evaluation of the Effect of Erynjium Alcoholic Extract on Increasing Insulin Sensitivity: By Evaluating Hyperglycemia and Dyslipidemia in an Animal Model of Insulin Resistance

Reza Taghipour [1], Ali Zaree Mahmoudabadi [2,*], Zohreh Jangravi [3], Hamidreza Javadi [4], Mohadeseh Rashedi Osqueei [5], Naser Mousavi [1], Mohammad Raeeszadeh [6]

[1] M.Sc., Biochemical Department of Medical Faculty, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[2] Professor, Department of Biochemistry and Nanobiotechnology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran-Iran
[3] Assistant Professor, Department of Biochemistry and Nanobiotechnology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran-Iran
[4] Assistant Professor, Nanobiotechnology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran-Iran
[5] M.Sc., Department of Biochemistry, Faculty of Biological Sciences, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran-Iran
[6] Assistant Professor, Surgery Department of Medical Faculty, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran
*** Corresponding author:** Ali Zaree Mahmoudanadi, Professor, Department of Biochemistry and Nanobiotechnology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran-Iran. E-mail: Zareiali4031@yahoo.com

DOI: 10.52547/nkums.13.3.43

How to Cite this Article:
Taghipour R, Zaree Mahmoudabadi A, Jangravi Z, Javadi H, Rashedi Osqueei M, Mousavi N, Raeeszadeh M. Evaluation of the Effect of Erynjium Alcoholic Extract on Increasing Insulin Sensitivity: By Evaluating Hyperglycemia and Dyslipidemia in an Animal Model of Insulin Resistance. *J North Khorasan Univ Med Sci*. 2021;**13**(3):43-50. DOI: 10.29252/nkjms-13035

Received: 13 Mar 2021
Accepted: 11 May 2021
Keywords:
Insulin Resistance, Erynjium, Insulin, Triglyceride, HOMA-IR

Abstract

Introduction: Insulin resistance is a common complication of obesity in communities, so effective and available treatment for this disorder is necessary. The aim of this study was to investigate the effect of Eryngium Billardieri extract on insulin resistance in animal models.

Methods: 30 Wistar rats were prepared from Baqiyatallah University Animal house and randomly divided into control (N = 6) and case (N = 24) groups. After preparing a blood sample,they were fed a normal and high-fat diet for 13 weeks, respectively, and at the end, blood samples were taken again and serum cholesterol, FBS, TG, OGTT and insulin were measured. The case group was then randomly divided into: positive control, E. Billardieri, pioglitazone, and E. Billardieri + pioglitazone groups (N = 6) and treated with (50mg / kg) E. Billardieri and (5mg / kg) pioglitazone by gavage daily for 4 weeks. At the end of treatment, serum samples were prepared again and serum factors were measured by standard laboratory methods.

Results: Treatment with high-fat diet significantly increased the weight of animals ($P < 0.0001$). Cholesterol, sugar, triglyceride and insulin levels also increased significantly but HDL-C decreased ($P < 0.05$). HOMA-IR and TYC indices showed a significant increase ($P < 0.05$). Treatment of animals significantly increased HDL-C and decreased other factors ($P < 0.01$).

Conclusions: The findings of this study indicate a reduction in insulin resistance by E. Billardieri extract, so it can probably be used as a complementary or alternative treatment for insulin resistance.

Copyright © 2021 The Author(s); Published by Journal of North Khorasan Medical Sciences. This is an open access article, distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (http://creativecommons.org/licenses /by-nc/4.0/) which permits others to copy and redistribute material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

مجله دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی
دوره ۱۳، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۰

مقاله پژوهشی

بررسی تاثیر عصاره الکلی ایرینجیوم برافزایش حساسیت به انسولین: با ارزیابی هایپرگلیسمی و دیس لیپیدمی در مدل حیوانی مقاومت به انسولین

رضا تقی پور [۱]، علی زارعی محمودآبادی [۲،*]، زهره جنگروی [۳]، حمیدرضا جوادی [۴]، محدثه راشدی [۵]، سیدناصر موسوی [۱]، محمد رئیس زاده [۶]

[۱] کارشناسی ارشد،گروه بیوشیمی، دانشگده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله(عج)، تهران، ایران
[۲] استاد، گروه بیوشیمی و مرکز تحقیقات نانوبیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله(عج)، تهران، ایران
[۳] استادیار، گروه بیوشیمی و مرکز تحقیقات نانوبیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله(عج)، تهران، ایران
[۴] استادیار، مرکز تحقیقات نانوبیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله(عج)، تهران، ایران
[۵] گروه بیوشیمی، دانشکده علوم بیولوژی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[۶] گروه جراحی، دانشگده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله(عج)، تهران، ایران
[*] **نویسنده مسئول:** علی زارعی محمودآبادی، استاد، گروه بیوشیمی و مرکز تحقیقات نانوبیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله(عج)، تهران، ایران. ایمیل: Zareiali4031@yahoo.com

DOI: 10.52547/nkums.13.3.43

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۲۳
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۲/۲۱
واژگان کلیدی:
مقاومت به انسولین ، ایرینجیوم، انسولین ، تری گلیسرید، HOMA-IR

چکیده

مقدمه: مقاومت به انسولین از عوارض شایع چاقی در جوامع است لذا درمان موثر و در دسترس برای این اختلال ضروری است هدف از مطالعه حاضر بررسی تاثیرعصاره گیاه دارویی ایرینجیوم(Eryngium Billardieri) بر مقاومت به انسولین درمدل حیوانی بود.

روش کار: ۳۰ سر موش صحرایی مدل ویستار از مرکز پرورش حیوانات دانشگاه بقیه الله(عج) تهیه و بطور تصادفی به دو گروه کنترل (N = ۶) و مورد(N = 24) تقسیم شده و پس از تهیه نمونه خونی ، به ترتیب به مدت ۱۳ هفته با رژیم غذایی نرمال و پرچرب تغذیه شدند و در پایان مجددا نمونه خونی تهیه و میزان سرمی کلسترول، FBS,TG, ,OGTTو انسولین سنجیده شد. سپس گروه مورد بصورت تصادفی به گروههای (N = ۶): کنترل مثبت، ایرینجیوم ، پیوگلیتازون، و ایرینجیوم + پیوگلیتازون تقسیم و به مدت ۴ هفته ، روزانه با (mg/kg۵۰) ایرینجیوم و (mg/kg۵) پیوگلیتازون بصورت گاواژ تیمار و در انتهای درمان مجددا نمونه سرمی تهیه و فاکتورهای سرمی را با روشهای استاندارد آزمایشگاهی مورد سنجش قرار گرفت.

یافته‌ها: تیمار با رژیم پرچرب وزن حیوانات را بطور معنی دار افزایش داد (P < ۰,۰۰۰۱). هم چنین میزان کلسترول ، قند ، تری گلیسرید و انسولین بطور معنی دار افزایش ولی HDL-C کاهش یافته بود (P <۰,۰۵). اندیکسهای HOMA-IR و TYC افزایش معنی دار نشان داد (P <۰,۰۵). درمان حیوانات موجب افزایش معنی دار در میزان HDL-C و کاهش در سایر فاکتورها گردید(P <۰,۰۱).

نتیجه گیری: یافته های این پژوهش بیانگر کاهش در میزان مقاومت به انسولین بوسیله عصاره ایرینجیوم است لذا احتمالا می توان از آن بعنوان یک روش درمانی مکمل و یا جایگزین برای مقاومت به انسولین استفاده کرد.

مقدمه

با شایع شدن سبک زندگی کم تحرک و غذاهای پرچرب، مقاومت به انسولین(IR) و دیابت گسترش زیادی پیدا کرده , و در بیشتر بخش های جهان بصورت اپیدمی در آمده است. از بین فرم های مختلف دیابت ، دیابت نوع دو(T2D)، بین ۹۵-۹۰٪ افراد دیابتی را شامل می شود، و علت اصلی آن رشد اپیدمی چاقی است (۱, ۲). فرضیه ی وابستگی T2D به چاقی به عنوان تئوری رایج و غالب بیانگر آن است که مصرف مواد غذایی اضافی، بافت چربی را اشباع و سایر بافتها را نیز تحت تاثیر قرار می دهد در نتیجه موجب اختلال در تنظیم متابولیکی این بافت ها و القاء مقاومت به انسولین می شود. مکانیسم احتمالی وقوع اختلال در تنظیم متابولیکی، از طریق افزایش غلظت متابولیت های چربی در سلول و تاثیر منفی بر سیگنالینگ انسولین است. در T2D بدلیل اختلال در بتا-اکسیداسیون اسید چرب و سرامیدها متابولیت های چربی افزایش می یابد که با شدت مقاومت به انسولین مرتبط هستند (۳). IR یکی از قویترین فاکتورهای پیش بینی بروزT2D است (۴). مشخصه مقاومت به انسولین ، کاهش تاثیر انسولین روی گیرنده آن در بافتهای محیطی، از جمله عضله اسکلتی، بافت چربی، کبد و قلب وعروق است که موجب هایپرگلیسمی و هایپر انسولینمی به منظور هموستاز گلوکز خون می شود. اختلال در انسولین تغییر در متابولیسم چربی از جمله سنتز کلسترول و تری گلیسرید را القاء کرده که عامل بروز دیس لیپیدمی می باشد (۵). پیامد مقاومت به انسولین وT2D ، افزایش

Copyright © 2021 The Author(s); Published by Journal of North Khorasan Medical Sciences. This is an open access article, distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (http://creativecommons.org/licenses /by-nc/4.0/) which permits others to copy and redistribute material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

ریسک بیماری های متابولیکی قلبی-عروقی ، کبدی وفشارخون است که تحت عنوان سندرم متابولیک شناخته می شود (۶). نشانه های اصلی سندروم متابولیک شامل: فشار خون ، تست تحمل گلوکز (GTT) غیر طبیعی، افزایشVLDL و LDL و کاهش HDL همراه با افزایش گلوکز ناشتا و انسولین ناشتا است (۷). به منظور کاهش عوارض بلند مدت مقاومت به انسولین ، کنترل هایپر گلیسیمی و افزایش حساسیت به انسولین به عنوان یک استراتژی مهم مطرح می باشد (۸). .روش رایج درمان بیماران مبتلا بهT2D و IRمعمولا از طریق مدیریت ریسک فاکتورهای دخیل در بیماری، تغییر در شیوه زندگی و هم چنین استفاده از داروهایی است که مسیرهای خاص بیوشیمیایی دخیل در متابولیسم مواد غذایی را تحت تاثیر قرار می دهند (۹). چندین عامل هایپوگلیسمیک خوراکی وجود دارند که با مکانیسم های مختلف هایپرگلیسمی را درمان می کنند.پیوگلیتازون یکی از این عوامل است که از طریق تاثیر روی فاکتورPPARγ موجب افزایش حساسیت به انسولین می شود. داروها اغلب گران قیمت و همراه با عوارض جانبی ناخواسته فراوان ناشی از مصرف طولانی مدت هستند. لذا نیاز مبرم برای تحقیق و ابداع روشهای مکمل برای کنترل بیمارهای متابولیکی احساس می شود. یکی از استراتژی های مهم در این مسیر استفاده از گیاهان دارویی برای کنترل ریسک فاکتورهای بیماری است (۱۰).

تعداد زیادی از کارازمایی های بالینی، به نقش بالقوه گیاهان دارویی در درمان مقاومت به انسولین اشاره کرده اند. در این مطالعات از گیاهان فرموله شده، عصاره گیاهی و هم چنین ترکیبات فعال گیاهی استفاده شده است. در تعدادی از مطالعات درون تنی و برون تنی، به نقش گیاهان دارویی در افزایش حساسیت به انسولین از طریق مداخله در مراحل مختلف سیگنالینگ انسولین اشاره شده است (۱۱). تاثیر گیاهان دارویی در بهبود مقاومت به انسولین می تواند دور نمایی از درمان این اختلال با داروهای گیاهی را بدست دهد. ایرینجیوم(بوقناق) یکی از گیاهان دارویی است که در مناطق مختلف ایران از جمله نواحی قزوین رشد می کند و تاثیر آن بر کاهش قند خون گزارش شده ست (۱۲, ۱۳).

در مطالعه حاضر با القاء و تائید بروز مقاومت به انسولین در مدل حیوانی با استفاده از رژیم پرچرب، تاثیر عصاره الکلی ایرینجیوم بر کاهش مقاومت به انسولین با ارزیابی فاکتورهای شاخص نظیر انسولین، قند ناشتا، تری گلیسرید ، تست مقاومت به گلوکز خوراکی، HOMA-IR و TYC به عنوان اندیکس های مقاومت به انسولین مورد مطالعه قرار گرفت.

روش کار

حیوانات و طراحی پژوهش

تعداد ۳۰ سر موش بزرگ آزمایشگاهی نژاد ویستار با میانگین وزنی (۳۰gr ± ۱۲۰) از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله(عج) تهیه، و به منظور تطابق با محیط به مدت یک هفته با شرایط استاندارد، ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای ۲۵℃ و با دسترسی آزادانه به آب و غذا نگهداری شدند. سپس، پس از جمع آوری نمونه خونی از انتهای دم و اندازه گیری و ثبت وزن حیوانات بطور تصادفی به دو گروه، کنترل (N = ۶)، و گروه مورد (N = ۲۴) تقسیم شدند. گروه کنترل به مدت ۱۳ هفته غذای نرمال جوندگان و گروه مورد رژیم غذایی پرچرب فرموله شده (غذای نرمال حیوانات + ۲۵٪ چربی حیوانی + ۴٪ کلسترول(سیگما-آلدریچ) + ۱٪ اسید کولیک(سیگما-آلدریچ) به مدت ۱۳ هفته دریافت نمودند.در طول دوره تیمار وزن حیوانات بصورت هفتگی سنجیده و ثبت شد. در پایان مجددا نمونه خونی تهیه و فاکتورهای بیوشیمیایی سرم(کلسترول ، انسولین، TG,FBS,GTT,LDL,HDL) سنجیده شدو پس ازتائید القاء مقاومت به انسولین، گروه مورد صورت تصادفی به چهار زیر گروه کنترل مثبت (N = ۶) بدون دریافت دارو، گروه ارینجیوم (N = ۶)، گروه پیوگلیتازون (N = ۶) و گروه چهارم ارینجیوم+ پیوگلیتازون (N = ۶) تقسیم شده و به ترتیب با دریافت خوراکی (گاواژ) ۵۰mg/kg عصاره ایرینجیوم،۵ mg/kg پیوگلیتازون و مخلوط دو دارو بطور روزانه و به مدت چهار هفته درمان شدند (۱۴) در پایان پس از ثبت وزن نهایی جهت سنجش فاکتورهای بیوشیمیایی به منظور بررسی تاثیر درمان نمونه سرم تهیه و پس از بیهوشی نمونه بافت کبد جمع آوری شد. پژوهش فوق توسط کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله(عج) IR. BMSU.BAQ. REC. 1398. 061مورد تائید قرار گرفت.

عصاره گیری از گیاه ایرینجیوم

گیاه ایرنجیوم از هفته سوم اردیبهشت سال ۱۳۹۸ در منطقه الموت قزوین ایران توسط یک گیاه شناس (م.اهوازی) جمع آوری شد ودر پژوهشگاه گیاهان دارویی وابسته به ACER(مرکز علمی ، آموزشی ،فرهنگ و تحقیقات گیاهان دارویی ایران) مورد تائید قرار گرفت سپس.قطعات هوایی گیاه جمع آوری، شسته شده و به مدت ده روز در دمای اتاق و در سایه خشک شدند .

۵۰ گرم از پودر خشک شده ایرنجیوم با ۲۵۰ میلی لیتر متانول و آب مقطر بروش سوکسله عصاره گیری شد. پس از صاف کردن با کاغذ صافی واتمن شماره ۱، با روش تبخیر در خلاء در ۴۰ درجه سانتی گراد در یک دستگاه تبخیر کننده دوار خشک و تا زمان استفاده در یخچال ۴+ درجه نگهداری شد.

استاندارد سازی عصاره گیاه

عصاره از طریق تعیین مقدار کل فلاونویید استاندارد سازی شده است. مقدار تام فلاونوییدی با استفاده از کلرید آلومینیوم به روش رنگ سنجی اندازه گیری شد. به نیم میلی لیتر از عصاره (۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر)، ۱/۵ میلی لیتر متانول، ۰/۱ میلی لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰٪ در متانول و ۰/۱ میل لیتر استات پتاسیم یک مولار و ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد. جذب مخلوط نیم ساعت پس از نگهداری در دمای اتاق در طول موج ۴۱۵ نانومتر در مقابل بلانک قرائت گردید. از کوئر سیتین (مرک آلمان) با غلظت های(۵۰،۱۰۰،۱۵۰،۲۰۰ و ۲۵۰ میلی گرم در میلی لیترمتانول) برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد. میزان فلاونوئید بر اساس میلی گرم کوئرسیتین بر گرم عصاره گزارش گردید (۱۵).

سنجش فاکتورهای بیوشیمیایی

نمونه خونی ناشتا (۱۲ ساعت ناشتایی) در ابتدا، پس از پایان دوره تیمار با رژیم پرچرب و پس از پایان دوره درمان از ناحیه دم موش جمع آوری شد. گلوکز ناشتا با روش آنزیمی گلوکز اکسیداز سنجیده شد. میزان فاکتورهای سرمی، تری گلیسرید وکلسترول تام ,HDL-C با روشهای استاندارد آزمایشگاهی (کیت پارس آزمون) توسط دستگاه اتوانالایزر هیتاچی۹۱۲ (Roche Diagnostic, Basel, Switzerland) و LDL-C با استفاده از فرمول Friedwald et al (۱۶) محاسبه ونتایج بر حسب روش و واحدهای ذکر شده در دستورکار کیت گزارش شد.

سنجش انسولین

سنجش میزان انسولین سرم حیوان با استفاده از کیت الایزا اختصاصی (Mercodia Rat ELISA kit, Switzer) و بر اساس دستورالعمل

شرکت سازنده انجام گردید. کیت الایزا جهت سنجش انسولین موش صحرائی، مبتنی بر الایزای ساندویچی است که در آن از یک سو از دو آنتی بادی مونوکلونال علیه دو جایگاه آنتی ژنی مجزا بر روی مولکول انسولین و از سوی دیگر از سیستم بیوتین استرپتاویدین استفاده شده است. این امر سبب حساسیت و ویژگی بسیار بالای این کیت در سنجش انسولین موش صحرائی شده است. محدوده تشخیص این کیت µg/L ۰,۱۵-۵,۵ ,وحساسیت و یا حد تشخیص آن µg/L ۰,۱۵ است. این کیت فاقد واکنش متقاطع و تداخل با مولکول های مشابه، مانند پپتید C و ایزوانسولین می باشد.

تست تحمل گلوکز خوراکی(OGTT)

گلوکز (g/kg BW۰,۲) به روش گاواژ به موش های ناشتا (۱۲ ساعت) خورانده و نمونه های خونی از ورید دم در زمانهای (۰،۳۰،۶۰،۹۰،۱۲۰) دقیقه جمع آوری شد. میزان گلوکز خون بروش گلوکز اکسیداز و میزان انسولین با استفاده از کیت الایزای اختصاصی برای موش صحرایی (Mercodia Rat ELISA kit, Switzer) اندازه گیری شد.

محاسبه مقاومت به انسولین

مقادیر انسولین ابتدا در نمونه های سرمی مربوط به مدلهای حیوانی نرمال، نمونه های دریافت کننده رژیم پرچرب و هم چنین نمونه های درمان شده بروش الایزا سنجیده شدند. میزان گلوکز در نمونه های سرم نیز بروش گلوکز اکسیداز اندازه گیری شد. میزان مقاومت به انسولین بروش مدل ارزیابی هموستاز (HOMA-IR) با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (۱۷).

HOMA-IR = [FBS (mg/dl) * insulin (µU/mL)/405]

سبت TG/HDL-C به عنوان یک شاخص در مقاومت به انسولین و هم چنین اندیکس TYG با استفاده از اطلاعات حاصل از TG و FBS طبق فرمول زیر محاسبه و با استفاده از نتایج حاصل میزان بروز و چگونگی درمان مقاومت به انسولین در طی مطالعه مورد ارزیابی قرار گرفت.

TYG= ln[fasting TG{mg/dl}*[fasting glucose{mg/dl}]/2

آنالیز آماری

داده های حاصل از نمونه ها با استفاده از Spss ۲۲ آنالیز شدند. از t-test و آنالیز واریانس برای مقایسه مقادیر بین گروهها ی مطالعه استفاده شد. نتایج به صورت mean ±SEM گزارش و P < ۰,۰۵ به عنوان معنی دار انتخاب شد.

یافته ها

القاء مقاومت به انسولین

تجویز رژیم پرچرب منجر به افزایش معنی دار در وزن حیوانات از هفته پنجم تیمار در مقایسه با کروه کنترل گردید P < ۰,۰۰۰۱. نتایج حاصل بیانگر همزمانی افزایش وزن با اختلال در فاکتورهای بیوشیمیایی سرمی ، از جمله افزایش معنی دار قند خون ناشتا، انسولین و دیس لیپیدمی(افزایش تری گلیسرید، و کلسترول) P < ۰,۰۰۱ بود.

نتایج حاصل از تست OGTT، افزایش در میانگین قند در طول تست را نشان می دهد که ناشی از اختلال در متابولیسم قند و عملکرد انسولین می باشد.

افزایش معنی دار در HOMA-IR در گروه دریافت کننده رژیم پرچرب در مقایسه با کنترل به عنوان شاخص مقاومت به انسولین موید کاهش حساسیت به انسولین در طول زمان مطالعه است. اندیکس محاسباتی TYG نیز همراستا با سایر نتایج تغییر معنی دار در گروه دریافت کننده رژیم پرچرب را نشان داد. مجموعه نتایج حاصل بیانگر القاء مقاومت به انسولین بوسیله رژیم پرچرب گردیده است (جدول۱).

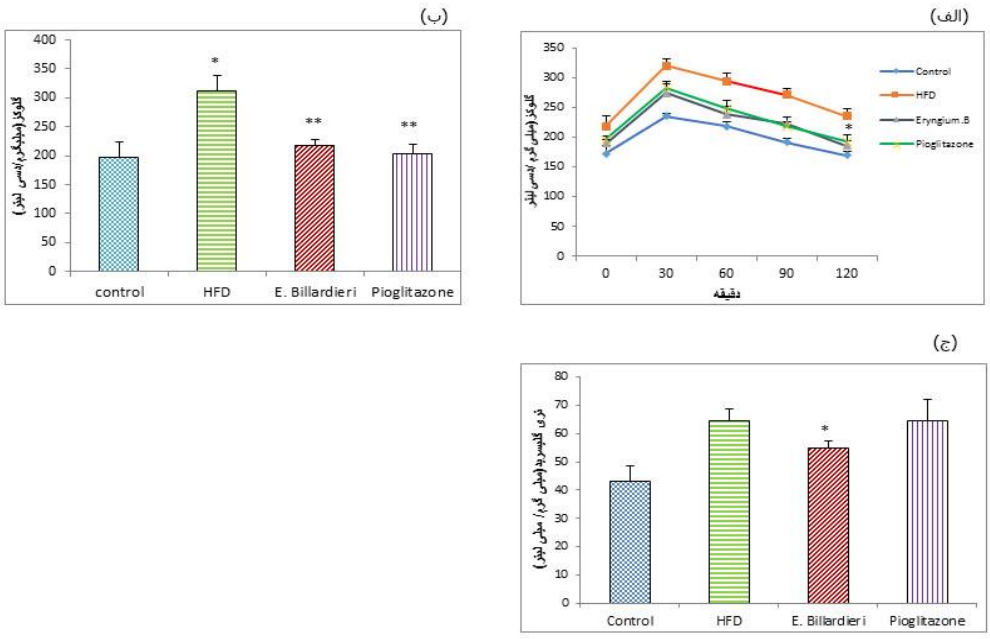
اثر تجویز عصاره ایرینجیوم بر افزایش حساسیت به انسولین

تیمار موشهای مبتلا به مقاومت به انسولین با عصاره الکلی ایرینجیوم و پیوگلیتازون به عنوان داروی استاندارد به مدت چهار هفته منجر به کاهش معنی دار در گلوکز پلاسما، OGTT و TGشد (شکل۱). میزانLDL-C در هر دو گروه درمانی بطورمعنی دار کاهش نشان می دهد ولی تغییرات غلظت انسولین در این دوره درمانی در هیچکدام از داروها معنی دار نبود. HDL-C تحت تاثیر هر دو درمان افزایش یافته ولی افزایش آن نیز معنی دار نبود (شکل۲).نتایج حاصل از HOMA-IR و TYG کاهش معنی دار نشان می دهد (شکل۳) بنابرا ین عصاره ایرینجیوم همانند پیوگلیتازون حساسیت به انسولین را افزایش داده است.

جدول ۱. مقایسه وزن و پارامترهای متابولیکی در ابتدا و بعد از ۱۳ هفته تیمار با رژیم نرمال و رژیم پرچرب

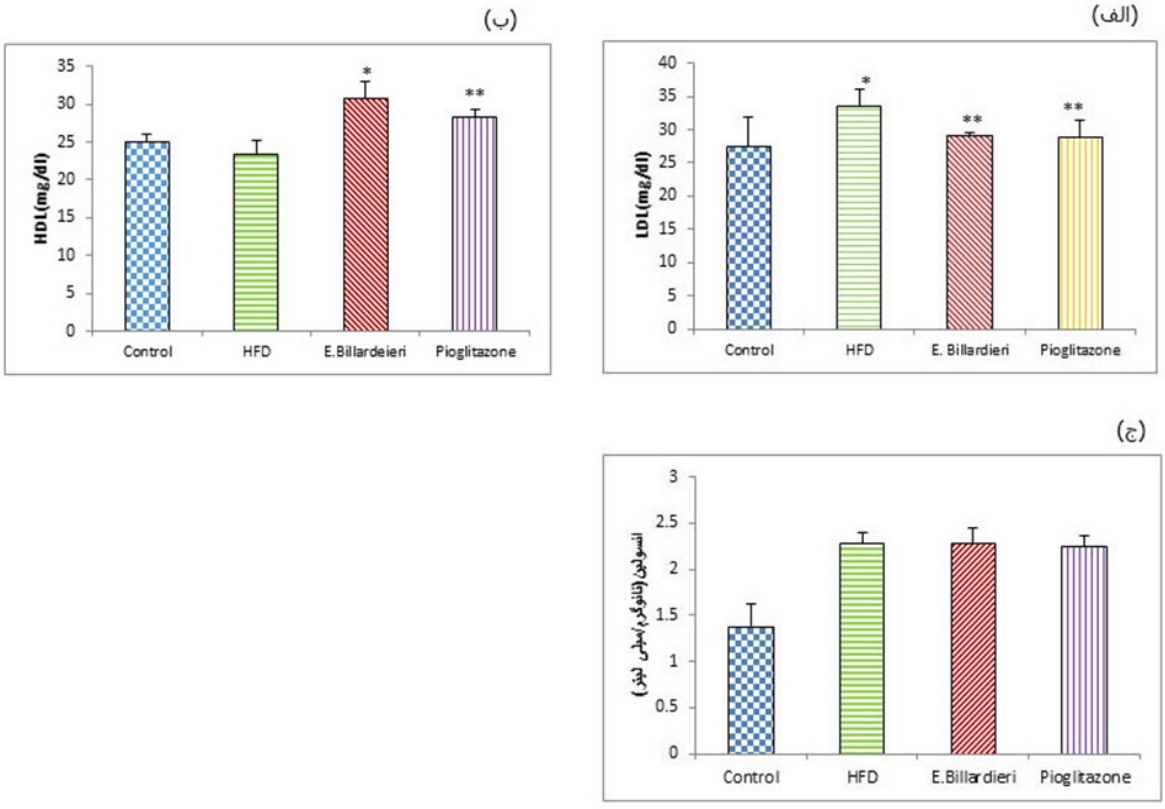
فاکتور	P	گروه مورد با رژیم غذایی پرچرب هفته سیزدهم هفته اول۲۴= N = ۲۴	گروه کنترل با رژیم غذایی نرمال هفته سیزدهم هفته اول ۶= N = ۶
وزن(gr)	۰۰۰۱-۰* ۱۹,۸ ±۴۱۳	۱۴,۹±۱۶۵۱,۷	۱۲,۲±۱۵۶ ، ۲۴,۱۶±۲۸۱
قند ناشتا(mg/dl)	۰,۰۰۰۱* ۲۱,۳±۳۲۵,۷	۱۵,۷۲±۱۷۶,۴۱	۱۷,۲±۱۸۳,۳۳ ، ۱۴,۳±۱۹۴,۶
قند دو ساعته (mg/dl)	۰,۰۰* ۵,۵۱±۲۲۷,۲	۳,۶۳±۱۴۹,۰۷	۳,۵۱±۱۴۸ ، ۴,۹۸±۱۴۵,۶
انسولین ناشتا(µg/l)	۰,۰۴۷±۲,۲۸ ۰,۰۵*	۰,۲±۱,۳	۰,۱۲۵±۱,۳۷ ، ۰,۳±۱,۶
TG(mg/dl)	۰,۰۰۱ ٭ ۴,۱۷±۶۰	۵,۴±۴۴,۶	۵,۵±۴۳ ، ۳,۲۱±۴۵,۲
HDL-C(mg/dl)	۱,۸۲±۲۴,۶	۲۵,۷۲ ± ۹۵	۱,۲ ±۲۶,۸ ۱±۲۶,۵
LDL-C(mg/dl)	۰,۰۵ ٭۲,۶۶±۳۳,۵	۵,۲±۲۸	۴,۵±۲۹ ، ۴,۵±۲۷,۳۳
HOMA-IR	۱۲/۴۷*۰,۰۰۰۱	۲۰	۵,۰۳ ، ۵,۰۱
TYC	۵,۰۱٭۰,۰۵	۴,۴۸	۳,۳۹ ، ۴,۴۸

*معنی داربودن نتایج هفته سیزدهم گروه پرچرب در مقایسه با هفته سیزدهم گروه نرمال

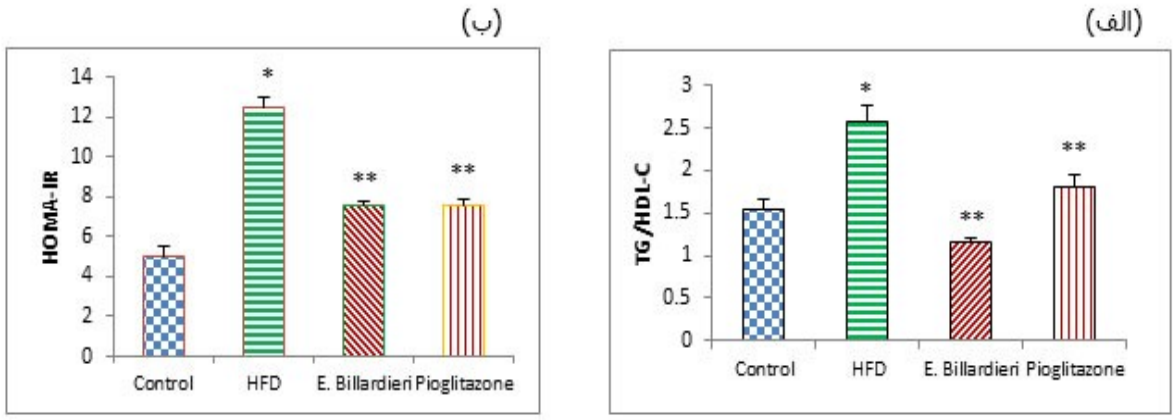


شکل ۱. نتایج مربوط به OGTT، گلوکز و تری گلیسرید سرم در چهارمین هفته پس از درمان درحیوانات مبتلا به مقاومت به انسولین

الف: مقادیر سرمی مربوط به چهار گروه پس از ۶= N OGTT برای هر گروه $P < ۰,۰۰۱$ * در مقایسه با گروه HFD، ب: مقادیر گلوکز خون ناشتا با استفاده از روش گلوکز اکسیداز مربوط به چهار گروه ۶= N برای هر گروه $P< ۰,۰۰۱$ * در مقایسه با کنترل و $P < ۰,۰۵$ ** در مقایسه با HFD، ج: مقادیر تری گلیسرید خون ناشتا مربوط به چهار گروه ۶= N مربوط به هر گروه $P < ۰,۰۵$ # در مقایسه با HFD، گروه دریافت کننده رژیم پرچرب بدون دریافت دارو =HFD، دریافت کننده رژیم پرچرب و درمان با ایرینجیوم=E.Billardieri ، دریافت کننده رژیم پرچرب و درمان با پیوگلیتازون=Pioglitazone



شکل ۲. نتایج HDL-C, LDL-C و میزان انسولین سرم در چهارمین هفته پس از درمان درحیوانات مبتلا به مقاومت به انسولین الف: مقادیر سرمی LDL-C مربوط به چهار گروه پس از پایان دوره درمان ۶= N برای هر گروه $P < ۰,۰۵$ * در مقایسه با کنترل، $P < ۰,۰۵$ ** در مقایسه با گروه HFD، ب: مقادیر سرمی HDL-C مربوط به چهار گروه پس از پایان دوره درمان ۶= N برای هر گروه $P < ۰,۰۱$ * در مقایسه با گروه HFD، $P < ۰,۰۲$ ** در مقایسه با گروه HFD، ج: مقادیر سرمی انسولین ناشتا مربوط به چهار گروه پس از پایان دوره درمان۶= N برای هر گروه



شکل ۳. نتایج مربوط به اندیکس های مقاومت به انسولین ، الف: مقادیر HOMA-IR مربوط به چهار گروه در پایان دوره درمان N =۶ برای هر گروه ، $P < ۰,۰۱^{*}$ در مقایسه با گروه کنترل ** در مقایسه با گروه HFD، ب: مقادیر TC/HDL-C مربوط به چهار گروه در پایان دوره درمان N =۶ برای هر گروه، $P < ۰,۰۰۰۱^{*}$ در مقایسه با گروه کنترل $P < ۰,۰۰۰۱^{**}$ در مقایسه با گروه HFD

بحث

مقاومت به انسولین یک فاکتور کلیدی در ایجاد دیابت نوع ۲ است که دغدغه اصلی سلامت در سطح جهان است. مشکلات همراه با مقاومت به انسولین و متابولیسم گلوکز نه تنها در انسان ، بلکه در گونه های مختلف حیوانی از جمله گربه، سگ و اسب مشاهده شده است (۱۸). مطالعه روی این حیوانات اطلاعات مهمی را فراهم می کند. مدلهای مختلف حیوانی که از نظر ژنتیکی تشابه داشته و پاسخ های فیزیولوژیکی مشابه انسان را تقلید کنند معمولا در تحقیقات مورد استفاده قرار می گیرند. موشهای آزمایشگاهی از جمله مدلهای حیوانی مناسب برای این منظور هستند (۱۹). هم چنین شاخص های مورد سنجش در مقاومت به انسولین نظیر گلوکز، انسولین و فاکتور HOMA که یک فاکتور نرمال سازی مخصوص انسان است در مطالعات متعدد درون تنی (IN VIVO) در جوندگان مورد استفاده قرار گرفته و نتایج حاصل بیانگر آن است که این شاخصها در موش صحرایی نیز قابل استفاده است (۲۰). در مطالعه حاضر به منظور ایجاد مدل حیوانی از موش صحرایی سفید نژاد ویستار استفاده شد. فاکتورهای محیطی و ژنتیکی مختلف، نظیر رژیم غذایی، سن و استرس با رشد مقاومت به انسولین مرتبط هستند. چاقی به عنوان یک فاکتور مهم در بروز مقاومت به انسولین مطرح است. در مطالعات مختلف حیوانی از رژیم های غذایی مختلف نظیر رژیم پرچرب که ۶۰٪ انرژی از چربی تامین شود و یا رژیم فروکتوز، رژیم پرچرب به همراه فروکتوز برای القاء چاقی استفاده شده است (۲۱). هدف از مطالع حاضر ایجاد یک مدل حیوانی مقاومت به انسولین بود که ویژگیهای متابولیکی مقاومت به انسولین در انسان را تقلید کرده و به درمان دارویی پاسخ دهد از طرف دیگر هدف ایجاد یک مدل حیوانی است که از نظر ارثی و ژنتیکی چاق نباشد و براحتی قابل دسترس، نسبتا اختصاصی و با موفقیت بالا باشد نتایج نشان داد که اهداف مورد نظر حاصل شده است.مقاومت به انسولین به عنوان کاهش توانمندی انسولین برای برداشت، گلوکز بوسیله سلولها و بافتهای حساس به انسولین تعریف شده است. هایپرانسولینما و هایپرگلیسمی به همراه گلوکزیوریا شاخصه های مقاومت به انسولین است (۲۲). علل مقاومت به انسولین واضح نیست این اختلال یک بیماری چندفاکتوری است که ناشی از اختلالات تغذیه ای ، فیزیولوژیکی ژنتیکی و محیطی است (۲۳).

در مطالعه حاضر با استفاده از رژیم پرچرب فرموله شده و اجرا بر اساس پروتکل های ارائه شده در رفرانس ها برای القاء مقاومت به انسولین به مدت ۱۳ هفته تیمار شدند (۲۴). که منجر به افزایش معنی دار وزن در گروههای تیمار شده در مقایسه با گروه کنترل گردید. این افزایش از هفته پنجم تیمار معنی دار بود. یافته های آزمایشگاهی حاصل از این تحقیق در خصوص القاء چاقی و مقاومت به انسولین با سایر مطالعات مطابقت داشت (۲۵). همزمان با افزایش وزن تغییر معنی دار در گلوکز، تری گلیسرید، کلسترول، انسولین و OGTT مشاهده گردید. افزایش ذخیره چربی و اسیدهای چرب و تری گلیسرید سرم موجب اختلال در متابولیسم گلوکز در کبد و بافتهای حساس به انسولین می شود در این شرایط اختلال در سیگنالینگ انسولین ایجاد شده در نتیجه برداشت گلوکز بوسیله بافتها دچار اختلال می شود و مسیر گلوکونئوژنز و متابولیسم چربی در کبد فعال می شود که نتیجه آن افزایش FBS,TG و کلسترول می شود. با افزایشFBS ترشح انسولین نیز بوسیله پانکراس افزایش یافته و منجر به اافزایش غلظت انسولین می گردد که این شرایط را مقاومت به انسولین نامیده شده و در ادامه منجر به دیابت نوع دوم می شود (۲۶). ثابت کرده است که افزایش قابل توجهی در سطح انسولین خون موشهای صحرایی دریافت کننده رژیم پرچرب در مقایسه با رژیم نرمال می شود (۲۶, ۲۷) افزایش سطح TG و کاهش HDL و هم چنین اختلال در سطح گلوکز خون و تحمل گلوکزرا در موشهای تیمار شده با رژیم پرچرب گزارش داده است (۲۷). یافته های این مطالعه با نتایج فوق مطابقت دارد.برای تائید القاء مقاومت به انسولین با استفاده از نتایج حاصل از FBS,TG و انسولین، اندیکس های مقاومت به انسولین HOMA-IR وTYC محاسبه گردید . ارزیابی مدل هموستاتیک HOMA روشی است که بطور گسترده برای تعیین کمی مقاومت به انسولین گزارش شده است (۲۸) و بنابراین، از مقادیر HOMA می توان برای شناسایی مقاومت به انسولین استفاده کرد. یافته های این مطالعه افزایش معنی دار در اندیکس های فوق و OGTT ناشی از القاء مقاومت به انسولین را نشان می دهد. نتایج حاصل از این مطالعه با نتایج گزارش شده توسط سایر محققین مطابقت

داشت هر چند مقادیر بدست آمده برای HOMA-IR بالاتر از مقادیر گزارش شده در گونه های دیگر بود (۲۹, ۳۰). میزان HOMA-IR در مطالعات مختلف و هم چنین میزان تغییر آن متفاوت گزارش شده که این تفاوت به مدت زمان ناشتایی اعمال شده بر حیوان نسبت داده شده است .

از مدل حیوانی جهت بررسی استراتژی های درمانی برای بیماری های مختلفی از جمله مقاومت به انسولین استفاده شده است . در این بررسی میزان و نحوه اثر درمانی عصاره الکلی ایرینجیوم به عنوان یک داروی گیاهی مورد کاربرد در طب سنتی در مقایسه با پیوگلیتازون به عنوان استاندارد که در درمان دیابت نوع ۲ و مقاومت به انسولین استفاده می شود از مدل حیوانی ایجاد شده استفاده شد. تیمار حیوانات مبتلا به IR با عصاره ایرینجیوم و پیوگلیتازون به مدت ۴ هفته منجر به کاهش معنی دار در FBS و TG و افزایش در HDL-C گردید. اندیکس های HOMA-IR و TYC هم بطور معنی دار کاهش یافت ولی اثرات محدودی روی تغییرات وزن و کلسترول و انسولین مشاهده گردید بنابر این بنظر می رسد که عملکرد عصاره ایرینجیوم احتمالا از طریق تنظیم متابولیسم گلوکز اعمال می شود. کاهش اندیکس های مقاومت به انسولین ، قند و تری گلیسرید نشان از تاثیر عصاره الکلی ایرینجیوم مشابه پیوگلیتازون در مدل حیوانی بر افزایش حساسیت به انسولین است. تغییرات اندیکس TYC با تغییرات HOMA-IR به عنوان شاخص مقاومت به انسولین هم در گروه HFD و هم گروههای درمان شده همخوانی دارند. این نتایج با نتایج حاصل از سایر مطالعات در خصوص رابطه اندیکس های مختلف با میزان مقاومت به انسولین مشابهت نسبی دارد (۳۱).

نتیجه گیری

یافته های این مطالعه بیانگر تاثیر معنی دار عصاره الکلی ایرینجیوم بر افزایش حساسیت به انسولین در مدل حیوانی است و نتایج حاصل در مقایسه با پیوگلیتازون نشاندهنده تاثیر تقریبا مشابه در اغلب فاکتورهای مورد بررسی است و با توجه به عدم اثرات جانبی مضر و در دسترس بودن این گیاه و استفاده از آن در طب سنتی می تواند به عنوان درمان جایگزین و یا مکمل برای مقاومت به انسولین مورد توجه قرار گیرد هر چند تاثیر معنی داری در کاهش وزن ندارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از همکاری مسئولین محترم دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج) بدلیل تامین امکانات مورد نیاز و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی بدلیل تامین عصاره گیاهی تقدیر و تشکر می نمایند. (کد اخلاق IR.BMSU.BAQ.REC.1398.061)

References

1. Kadowaki T, Ueki K, Yamauchi T, Kubota N. SnapShot: Insulin signaling pathways. *Cell*. 2012;**148**(3):624, 624 e621. doi: 10.1016/j.cell.2012.01.034 pmid: 22304926
2. Zimmet PZ. Diabetes: a 21st century challenge. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2014;**2**(1):56-64. doi: 10.1016/S2213-8587(13)70112-8
3. Roden M, Price TB, Perseghin G, Petersen KF, Rothman DL, Cline GW, et al. Mechanism of free fatty acid-induced insulin resistance in humans. *J Clin Invest*. 1996;**97**(12):2859-2865. doi: 10.1172/JCI118742 pmid: 8675698
4. Martin BC. Role of glucose and insulin resistance in development of type 2 diabetes mellitus: results of a 25-year follow-up study. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 1992;**340**(8825):925-929. doi: 10.1016/0140-6736(92)92814-V
5. McArdle MA. Mechanisms of obesity-induced inflammation and insulin resistance: insights into the emerging role of nutritional strategies. *Frontiers Endocrinol*. 2013;**4**:52. doi: 10.3389/fendo.2013.00052
6. Brede S, Serfling G, Klement J, Schmid SM, Lehnert H. Clinical Scenario of the Metabolic Syndrome. *Visc Med*. 2016;**32**(5):336-341. doi: 10.1159/000449028 pmid: 27921045
7. Wang Q, Jokelainen J, Auvinen J, Puukka K, Keinanen-Kiukaanniemi S, Jarvelin MR, et al. Insulin resistance and systemic metabolic changes in oral glucose tolerance test in 5340 individuals: an interventional study. *BMC Med*. 2019;**17**(1):217. doi: 10.1186/s12916-019-1440-4 pmid: 31779625
8. Duggan EW, Carlson K, Umpierrez GE. Perioperative Hyperglycemia Management: An Update. *Anesthesiology*. 2017;**126**(3):547-560. doi: 10.1097/ALN.0000000000001515 pmid: 28121636
9. van den Burg EL, Schoonakker MP, van Peet PG, van den Akker-van Marle ME, Willems van Dijk K, Longo VD, et al. Fasting in diabetes treatment (FIT) trial: study protocol for a randomised, controlled, assessor-blinded intervention trial on the effects of intermittent use of a fasting-mimicking diet in patients with type 2 diabetes. *BMC Endocr Disord*. 2020;**20**(1):94. doi: 10.1186/s12902-020-00576-7 pmid: 32580710
10. Kumar DP, Caffrey R, Marioneaux J, Santhekadur PK, Bhat M, Alonso C, et al. The PPAR alpha/gamma Agonist Saroglitazar Improves Insulin Resistance and Steatohepatitis in a Diet Induced Animal Model of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Sci Rep*. 2020;**10**(1):9330. doi: 10.1038/s41598-020-66458-z pmid: 32518275
11. Parham M. Evaluating the effect of a herb on the control of blood glucose and insulin-resistance in patients with advanced type 2 diabetes (a double-blind clinical trial). *Caspian J Int Med*. 2020;**11**(1):12.
12. Afshari M. Antidiabetic, hepato-protective and hypolipidemic effects of Eryngium caucasicum extract in streptozotocin-nicotinamide induced type 2 diabetes in male rats. *Iraq Med J*. 2019;**3**(1).
13. Sadiq A, Rashid U, Ahmad S, Zahoor M, AlAjmi MF, Ullah R, et al. Treating Hyperglycemia From Eryngium caeruleum M. Bieb: In-vitro alpha-Glucosidase, Antioxidant, in-vivo Antidiabetic and Molecular Docking-Based Approaches. *Front Chem*. 2020;**8**:558641. doi: 10.3389/fchem.2020.558641 pmid: 33335883
14. Noriega-Cisneros R, Pena-Montes DJ, Huerta-Cervantes M, Torres-Martinez R, Huerta M, Manzo-Avalos S, et al. Eryngium carlinae Ethanol Extract Corrects Lipid Abnormalities in Wistar Rats with Experimental Diabetes. *J Med Food*. 2020;**23**(8):827-833. doi: 10.1089/jmf.2019.0189 pmid: 31829771
15. Chang CC. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J Food Drug Anal*. 2002;**10**(3). doi: 10.38212/2224-6614.2748
16. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972;**18**(6):499-502. pmid: 4337382
17. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985;**28**(7):412-419. doi: 10.1007/BF00280883 pmid: 3899825
18. Goodarzi G, Shirgir A, Alavi S, Khoshi A. Effect of insulin-glucose metabolism compared with obesity on adipose omentin gene expression in different models of diabetic C57BL/6 mice.

Diabetol Metab Syndr. 2019;**11**:65. doi: 10.1186/s13098-019-0460-8 pmid: 31428203
19. Honka MJ, Latva-Rasku A, Bucci M, Virtanen KA, Hannukainen JC, Kalliokoski KK, et al. Insulin-stimulated glucose uptake in skeletal muscle, adipose tissue and liver: a positron emission tomography study. *Eur J Endocrinol*. 2018;**178**(5):523-531. doi: 10.1530/EJE-17-0882 pmid: 29535167
20. Barbosa-da-Silva S. Animal Models of Nutritional Induction of Type 2 Diabetes Mellitus. *Int J Morphol*. 2014;**32**(1). doi: 10.4067/S0717-95022014000100046
21. Chen GC, Huang CY, Chang MY, Chen CH, Chen SW, Huang CJ, et al. Two unhealthy dietary habits featuring a high fat content and a sucrose-containing beverage intake, alone or in combination, on inducing metabolic syndrome in Wistar rats and C57BL/6J mice. *Metabolism*. 2011;**60**(2):155-164. doi: 10.1016/j.metabol.2009.12.002 pmid: 20045537
22. Johnson AM, Olefsky JM. The origins and drivers of insulin resistance. *Cell*. 2013;**152**(4):673-684. doi: 10.1016/j.cell.2013.01.041 pmid: 23415219
23. Allahyari MA, Rajaie H. Fallah, IRAK inhibitor can improve insulin sensitivity in insulin-resistant mice fed with a high-fat diet. *Asia Biomed*. 2020;**14**(6):253-260. doi: 10.1515/abm-2020-0034
24. Barrios-Ramos J. A quick model for the induction of metabolic syndrome markers in rats. *Intern Med*. 2014;**4**(137):2.
25. Antunes LC, Elkfury JL, Jornada MN, Foletto KC, Bertoluci MC. Validation of HOMA-IR in a model of insulin-resistance induced by a high-fat diet in Wistar rats. *Arch Endocrinol Metab*. 2016;**60**(2):138-142. doi: 10.1590/2359-3997000000169 pmid: 27191048
26. Marques C, Meireles M, Norberto S, Leite J, Freitas J, Pestana D, et al. High-fat diet-induced obesity Rat model: a comparison between Wistar and Sprague-Dawley Rat. *Adipocyte*. 2016;**5**(1):11-21. doi: 10.1080/21623945.2015.1061723 pmid: 27144092
27. Ramalho L, da Jornada MN, Antunes LC, Hidalgo MP. Metabolic disturbances due to a high-fat diet in a non-insulin-resistant animal model. *Nutr Diabetes*. 2017;**7**(3):e245. doi: 10.1038/nutd.2016.47 pmid: 28287629
28. Diniz M, Beleigoli AMR, Schmidt MI, Duncan BB, Ribeiro ALP, Vidigal PG, et al. Homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) and metabolic syndrome at baseline of a multicentric Brazilian cohort: ELSA-Brasil study. *Cad Saude Publica*. 2020;**36**(8):e00072120. doi: 10.1590/0102-311X00072120 pmid: 32901702
29. Morris JL, Bridson TL, Alim MA, Rush CM, Rudd DM, Govan BL, et al. Development of a diet-induced murine model of diabetes featuring cardinal metabolic and pathophysiological abnormalities of type 2 diabetes. *Biol Open*. 2016;**5**(8):1149-1162. doi: 10.1242/bio.016790 pmid: 27402965
30. Runtuwene J, Cheng KC, Asakawa A, Amitani H, Amitani M, Morinaga A, et al. Rosmarinic acid ameliorates hyperglycemia and insulin sensitivity in diabetic rats, potentially by modulating the expression of PEPCK and GLUT4. *Drug Des Devel Ther*. 2016;**10**:2193-2202. doi: 10.2147/DDDT.S108539 pmid: 27462144
31. Kheirollahi A. Evaluation of Lipid Ratios and Triglyceride-Glucose (TyG) Index as Risk Markers of Insulin Resistance in Iranian Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) Woman. 2020. doi: 10.21203/rs.3.rs-38139/v1