Archive of SID

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره هجدهم، شماره ۱۱، آبان ۱۳۹۵، صفحه ۶۲-۵۷

مقاله تحقیقی

القای مدل حیوانی بیماری کبد چرب غیر الکلی با رژیم غذایی فرموله شده با چربی بالا

مجید عفتی (MSc)[۱]، محمود خرمی (PhD)[۱]، علی زارعی محمودآبادی (PhD)[۱*]، جواد رئوف سرشوری (PhD)[۲]

۱-گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه اله(عج)
۲-گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه اله(عج)

دریافت: ۹۵/۳/۱۳، اصلاح: ۹۵/۵/۶، پذیرش: ۹۵/۷/۶

خلاصه

سابقه و هدف: کبد چرب یک بیماری قابل برگشت است که در انسان عموما ناشی از مصرف رژیم های پر چرب می باشد. هدف از این مطالعه القای کبد چرب با استفاده از رژیم غذایی با چربی بالا در موشهای صحرائی است تا مدلی آسان و در دسترس جهت مطالعه جنبه های مختلف این بیماری مهیا کند.

مواد و روش‌ها: این مطالعه تجربی بر روی ۱۸ سر رت نر ویستار با وزن ۲۰±۱۸۰ گرم که به صورت تصادفی به دو گروه(۹ تایی) تقسیم شدند، انجام گردید. یکی از گروهها با رژیم غذایی استاندارد و گروه دوم با رژیم پرچرب (بر پایه چربی حیوانی و کلسترول) به مدت ۱۰ هفته تغذیه شدند. پس از این مدت متغیر هـای تغییـرات وزن، قنـد خـون، آنـزیم هـای کبدی، پروفایل لیپیدی سرم اندازه گیری و تغییرات هیستوپاتولوژی بافت کبد در دو گروه بررسی و مقایسه شد.

یافته‌ها: در پایان هفته دهم، میانگین تری گلیسیرید و کلسترول سرم در گروه کنترل به ترتیب ۵۳/۷۱±۹/۱ mg/dl و ۵۶/۴۲±۵/۷mg/dl بود که نسبت به گروه پرچرب (به ترتیب ۹۰/۸۵±۱۳/۴mg/dl و ۹۴/۲۸±۹/۹mg/dl) تفاوت معنی داری در این دو گروه دیده شد (p<۰/۰۵). مقدار آسپارتات آمینوترانسفراز در گروه کنترل از IU/L ۸۹/۸۵±۱۲/۷ به مقدار IU/L ۱۴۷/۸۴±۱۷/۸ در گروه پرچرب رسیده بود. همچنین مقدار آلانین آمینوترانسفراز نیز از IU/L ۴۶/۲۸±۷/۲ به IU/L ۸۶/۸۵±۹/۲ در گروه پرچرب افزایش یافت که معنی دار بود(p<۰/۰۱). همچنین در گروه پرچرب تغییرات هیستوپاتولوژیک کبد، شامل واکوئلهای چربی و تورم هپاتوسیتها مشاهده شد.

نتیجه گیری: با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه، استفاده از رژیم پرچرب فرموله شده به خوبی توانست کبد چرب غیر الکلی را در موشهای صحرائی القا کند.

واژه‌های کلیدی: کبد چرب غیر الکلی، رژیم غذایی پرچرب، موش صحرائی ویستار.

مقدمه

کبد چرب یک بیماری قابل برگشت است که به دلیل تجمع مقادیر زیاد چربی (تری گلیسرید) در سلول های کبد به وجود می آید. در این بیماری معمولاً بیشتر از ۵٪ وزن کبد را چربی تشکیل می‌دهد (۱). کبد چرب غیرالکلی که در فقدان مصرف الکل ایجاد می‌شود، به عنوان یک مشکل عمده مرتبط با سلامت شناخته شده است. در حقیقت کبد چرب غیرالکلی یک بیماری مزمن کبدی است که دامنه گسترده ای از علایم بالینی (از کبد چرب بدون علامت تا التهاب شدید کبد به همراه فیبروز و گاهی سیروز) را در بر می گیرد. در این بیماران مقاومت به انسولین و بیماری های قلبی و عروقی نیز از شیوع بالایی برخوردار است(۲). بیماری کبد چرب برای اولین بار در سال ۱۹۸۰ شناسایی و معرفی شد. مشاهده شده بود که در گروهی از بیماران آسیب سلول‌های کبدی مشابه کسانی که الکل مصرف می‌کنند، اتفاق می افتد ولی در این بیماران سابقه ای از مصرف الکل وجود ندارد. در این بیماران شواهدی از سایر بیماری های سلول کبد نیز وجود نداشت. ولی در عوض مشاهده شد که ۹۰٪ آنان چاق بوده و ۲۵٪ آنان افزایش میزان چربی خون وبیش از ۲۵٪ نیز بیماری دیابت دارند(۳). چاقی، افزایش قند خون، دیابت نوع دو و افزایش چربی خون از جمله مهم ترین علل بروز کبد چرب غیرالکلی هستند(۴). مطالعات نشان داده اند که بیشتر از ۷۵٪ افراد چاق مبتلا به این بیماری هستند (۵). از جمله دیگر عوامل خطر این بیماری می توان به افزایش سن، سابقه خانوادگی، سوء تغذیه، کاهش وزن شدید، داروها (مانند گلوکوکورتیکوئیدها و متوترکسات) و برخی بیماری ها (نظیر بیماری التهابی روده) اشاره کرد (۶). در برخی مطالعات بین بروز این بیماری با دریافت زیاد چربی های اشباع یا کربوهیدرات ها ارتباط مشاهده شده است(۷). تعداد زیادی از بیماران مبتلا به کبد چرب دارای وزن نرمالی هستند، اگرچه این بیماران ممکن است چاقی شکمی و مقاومت به انسولین نیز داشته باشند. مطالعات نشان داده که رژیم غذایی این گروه از بیماران یک رژیم غذایی ناسالم است (۸). این بیماری یکی از بیماری های شایع کبدی است. میزان شیوع آن در جوامع مختلف از ۲/۸ تا ۳۰ ٪ و در کشورهای غربی میزان شیوع آن بین ۲۰ تا ۳۰ ٪ می باشد (۹). طبق گزارش مطالعات مختلف ۳۰ ٪ مردم کشور ما درگیر هستند که بیشترین سن درگیری بین۴۰ تا ۶۰ سال می‌باشد (۱۰). به منظور بررسی کبد چرب، چند مدل حیوانی وجود دارد. استفاده از رژیم غذایی فاقد متیونین و کولین(MCD) یکی از این مدل هاست (۱۱). دیگری رژیمی است که توسط Zou و همکارانش طراحی شده

این مقاله حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد مجید عفتی دانشجوی رشته بیوشیمی بالینی و طرح تحقیقاتی به شماره ۱۳۹۴/۱۴۸ دانشگاه علوم پزشکی بقیه اله (عج) می باشد.
*مسئول مقاله: دکتر علی زارعی محمود آبادی
آدرس: تهران، دانشگاه علوم پزشکی بقیه اله، دانشکده پزشکی. تلفن: ۰۲۱-۲۲۸۳۰۲۶۲
E-mail: alizare80@yahoo.com

Downloaded from jbums.org at 10:47 +0430 on Wednesday April 19th 2017

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jbums.org at 10:47 +0430 on Wednesday April 19th 2017

است(۱۲). در مطالعه دیگری که توسط Asgharpour و همکارانش در دانشگاه ویرجینیا بر روی موش انجام شد با استفاده از رژیم پرچرب و مقدار مشخص گلوکز و فروکتوز توانستند بعد از ۸ هفته کبد چرب را القا کنند و با ادامه تغذیه مراحل پیشرفته بیماریهای ناشی از رژیم پرچرب شامل فیبروز و سرطان هپاتوسلولار را درهفته های ۱۶ تا ۲۴ ایجاد کردند(۱۳). حیوانات نقش بسیار مهمی در پیشرفت های علوم پزشکی داشته اند و بسیاری از مطالعات علم پزشکی برای اولین بار روی حیوانات آزمایش شده است چرا که حیوانات با مدل مشابه انسانی عوامل بسیار خوبی برای انجام آزمایش ها و تحقیقات هستند(۱۴). مدل سازی بیماری ها در حیوانات، استفاده از حیوانات در تحقیقات پزشکی، تشابهات فراوان حیوانات با انسان ها، طول عمر کوتاه حیوانات و بررسی عامل مورد مطالعه در یک بازه زمانی مناسب و همچنین امکان کنترل شرایط آزمایش از مزیت های استفاده از حیوانات در تحقیقات بالینی است. در حال حاضر برای ایجاد مدل کبد چرب غیر الکلی نیاز به استفاده از رژیم غذایی آماده تولید شده در خارج از کشور است، که تامین آن از لحاظ هزینه ای بالا بوده و در دسترس بودن آن نیز دشوار می باشد.

بنابراین هدف از این مطالعه استفاده از رژیمی است که علاوه بر دردسترس بودن مواد تشکیل دهنده آن، بتوان به راحتی و هزینه کم آنرا تهیه کرد. همچنین از لحاظ نوع ایجاد کبد چرب نیز بیشترین مشابهت را به نحوه ایجاد آن در انسان و بویژه رژیم غذایی کشور خودمان داشته باشد. به همین منظور در مطالعه حاضر با ایجاد بیماری کبد چرب غیر الکلی با کمک رژیم غذایی بر پایه چربی حیوانی و کلسترول مورد بررسی قرار گرفته و سعی شده تا بهترین مدل ممکن پیشنهاد گردد.

مواد و روش‌ها

حیوانات: این مطالعه تجربی بر روی ۱۸ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۰±۱۸۰ گرم خریداری شده از مرکز حیوانات آزمایشگاهی پژوهشگاه بقیه الله (عج) انجام گرفت. ابتدا حیوانات به مدت دو هفته جهت سازگاری با شرایط محیطی با میانگین دمای ۲±۲۲ درجه سانتیگراد و با رعایت چرخه روشنایی/تاریکی هر کدام به مدت ۱۲ ساعت و با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند.

طراحی آزمایش: بعد از دو هفته حیوانات به صورت تصادفی به ۲ گروه ۹ تایی تقسیم و به صورت مجزا در قفس های پلی استیرن قرار گرفتند. گروه اول، تحت عنوان گروه کنترل، تغذیه شده با غذای استاندارد جوندگان و گروه دوم تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب به مدت ۱۰ هفته تغذیه شدند. با توجه به عناصر تشکیل دهنده غذای نرمال جوندگان، غذای پرچرب مورد استفاده شامل غذای پایه جوندگان که با افزودن ۱۵٪ چربی حیوانی، ۴٪ کلسترول (شرکت سیگما-آمریکا) و ۱٪ اسید کولیک(شرکت سیگما-آمریکا) توسط محقق ساخته شد. این فرمول از لحاظ مقدار کالری و انرژی لازم جهت القای کبد چرب مناسب بود(جدول ۱). در طول این مدت غذا به صورت نامحدود در اختیار موش ها قرار داشت. در پایان هر هفته موشها بطور دقیق توزین و وزن حیوانات یادداشت شد. در پایان هفته دهم موشهای هر دو گروه با استفاده از اتر بیهوش و با برش در ناحیه شکم و قفسه سینه حدود ۵ میلی لیتر خون به طور مستقیم از قلب گرفته و در لوله های پلاستیکی ژل دار جمع آوری، سرم آنها را جدا نموده و تا زمان انجام آزمایشات در فریزر با دمای منفی ۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری گردید. بافت کبد نیز جدا و پس از شستشو با نرمال سالین به چند قطعه تقسیم گردید. یک بخش برای بررسی های هیستوپاتولوژیک در ظرف حاوی فرمالین ۱۰٪ قرار گرفت.

جدول ۱. ترکیبات سازنده رژیم غذایی پرچرب و رژیم استاندارد

گروه / متغیر	رژیم استاندارد (درصد)	رژیم پرچرب (درصد)
چربی	۱۲	۲۲
کربوهیدرات	۵۷	۵۰
پروتئین	۲۸	۲۴
سایر مواد	۳	۴

سنجش فاکتورهای بیوشیمیایی: در ادامه غلظت پارامترهای بیوشیمیایی شامل گلوکز، پروفایل لیپیدی (تری گلیسیرید، توتال کلسترول، LDL-C،HDL-C) و آنزیمها شامل آسپارتات ترانس آمیناز (AST)، گلوتامات ترانس آمیناز (ALT) در نمونه سرمی با استفاده از کیت های بیوشیمی شرکت بیونیک و توسط دستگاه اتوآنالایزر شرکت Hitachi (ژاپن) مدل ۹۱۲ اندازه گیری شد.

مطالعه هیستوپاتولوژی کبد: قسمتی از بافت کبد که در فرمالین ۱۰٪ قرار داده شده بود با استفاده از شیوه های رایج پاساژ بافت و تهیه مقاطع آسیب شناسی، بلوک گیری و برشهایی با ضخامت ۵ میکرون تهیه و با هماتوکسیلین- ائوزین رنگ آمیزی شد. ارزیابی مقاطع آسیب شناسی توسط یک مقیاس نیمه کمی و به صورت دو سورکور انجام شد و بر اساس میزان چربی ذخیره شده در سلولها، تورم سلولی و سایر مشخصات بافت شناسی درجه بندی گردید. تغییرات هیستوپاتولوژی از لحاظ تغییر چربی هپاتوسیتها بر اساس شدت ضایعه طبق روش ارائه شده توسط Wang و همکاران و Brunt و همکاران از صفر تا ۴ (صفر: بدون استئاتوز، یک: کمتر از ۲۵٪ هپاتوسیتها دچار استئاتوز هستند، دو: بین ۲۶ تا ۵۰٪ هپاتوسیت ها دچار استئاتوز هستند، سه : بین ۵۱ تا ۷۵٪ هپاتوسیت ها دچار استئاتوز هستند، چهار: بین ۷۶ تا ۱۰۰٪ هپاتوسیت ها دچار استئاتوز هستند) درجه بندی شد(۱۸).

آنالیز آماری: تحلیل آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS 16 انجام شد. داده های کمی به صورت Mean±SD و اختلافات معنی‌داری بین گروه ها توسط آزمون T مستقل آنالیز گردید. اختلافات در سطح $p<۰/۰۵$ معنی دار تلقی شدند. همچنین ارزیابی مقاطع آسیب شناسی توسط یک مقیاس نیمه کمی (semiquantitative scale) و به صورت دو سورکور انجام شد.

یافته ها

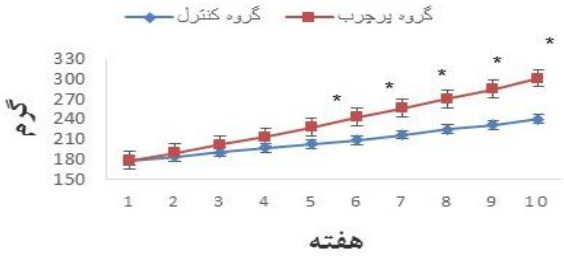
میزان وزن هر دو گروه در پایان هر هفته شد. تغذیه با رژیم پرچرب در بازه زمانی ۱۰ هفته ای توانست وزن موشها را به شکل معنی داری ($p<۰/۰۵$) افزایش دهد. این افزایش از هفته ۶ معنی دار شد که نشان از اثر رژیم غذایی بر وزن موشهای صحرائی داشت (نمودار ۱).

www.SID.ir

Archive of SID

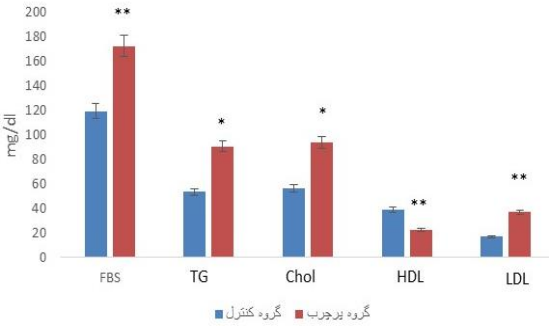
Downloaded from jbums.org at 10:47 +0430 on Wednesday April 19th 2017

بررسی تاثیر رژیم پرچرب بر میزان قند خون و پروفایل لیپیدی سرم: در پایان هفته دهم، میانگین تری گلیسیرید سرم در گروه کنترل (۹/۱±۵۳/۷۱) نسبت به گروه پرچرب (۱۳/۴±۹۰/۸۵) تفاوت داشت (p<۰/۰۵). همچنین میزان کلسترول در گروه کنترل (۵/۷±۵۶/۴۲) در مقایسه با گروه پرچرب(۹/۹±۹۴/۲۸) به شکل معنی داری افزایش داشت (p<۰/۰۵). مقادیر سرمی HDL-C درگروه پر چرب(۳/۱±۳۹/۲۸) در مقایسه با گروه کنترل(۴/۵±۲۲/۵۷) بطور معنی داری کاهش یافته بود (p<۰/۰۵) (نمودار ۲). تغذیه با رژیم پرچرب موجب افزایش معنی دار در سطوح سرمی قند خون ناشتا، تری گلیسیرید (TG)، کلسترول توتال(TC) و LDL-C در مقایسه با گروه کنترل گردید.



نمودار ۱. میانگین تغییرات وزن در دو گروه.

***p<۰/۰۵ و **p<۰/۰۱ در مقایسه با گروه کنترل. از هفته ششم افزایش وزن در گروه پرچرب نسبت به گروه کنترل معنی دار شد.**

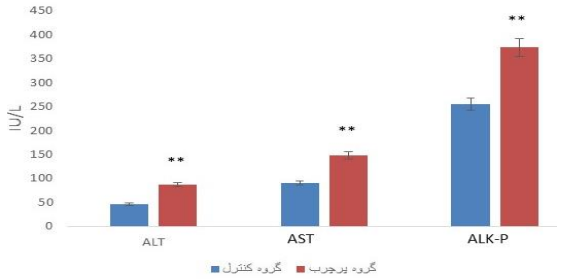


نمودار ۲. mean±SEM قند و پروفایل چربی

*** p<۰/۰۵ و ** p<۰/۰۱ در مقایسه با گروه کنترل. تغییرات در همه شاخصها در گروه پرچرب نسبت به گروه کنترل معنی دار بود**

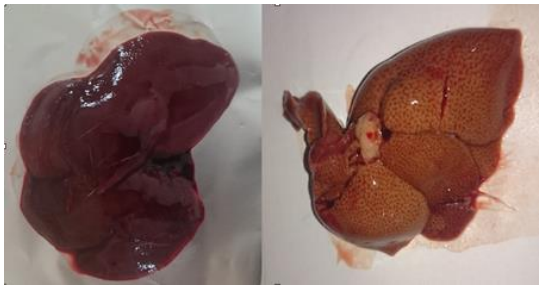
بررسی تاثیر رژیم پرچرب بر آنزیم‌های کبدی: سطوح سرمی فعالیت آنزیمهای آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) در گروه تغذیه با رژیم پر چرب، در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی داری افزایش یافته بود. بطوری که مقدار AST در گروه کنترل از IU/L ۱۲/۷±۸۹/۸۵ به مقدارIU/L ۱۷/۸±۱۴۷/۸۴در گروه پرچرب رسید(p<۰/۰۵). همچنین مقدار ALT نیز از IU/L ۷/۲±۴۶/۲۸ به IU/L ۹/۲±۸۶/۸۵ در گروه پرچرب افزایش یافت(p<۰/۰۵)(نمودار ۳).

مطالعه هیستوپاتولوژی تاثیر رژیم پرچرب بر بافت کبد: در نمای ظاهری و ماکروسکوپی تفاوت مشخصی بین کبد موش گروه تغذیه شده با رژیم پرچرب در مقایسه با گروه کنترل مشاهده می شود(شکل ۱). در مطالعات میکروسکوپی، هیچگونه علامت غیر طبیعی در بافت کبد موش های گروه کنترل مشاهده نشد (شکل۲). در حالی که، در موش های گروه پرچرب که به مدت ۱۰ هفته با رژیم پرچرب تغذیه شده بودند، تغییرات هیستوپاتولوژی کبد به صورت تجمع چربی میکروزیکولر و ماکروزیکولر همراه با تورم هپاتوسیت ها مشاهده شد(شکل ۳).

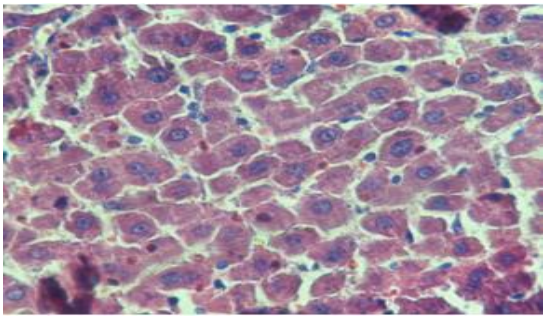


نمودار ۳. mean±SEM پارامترهای آنزیمی سرم.

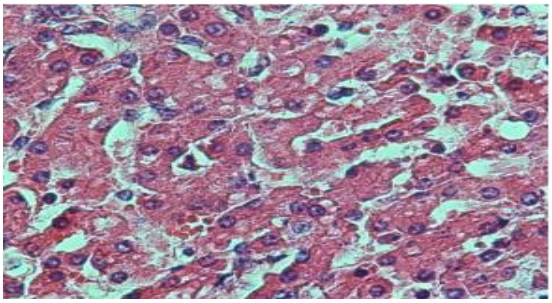
***p<۰/۰۵ و **p<۰/۰۱ در مقایسه با گروه کنترل. تغییرات آنزیم‌های کبدی با استفاده از رژیم پرچرب به شکل معنی داری نسبت به گروه کنترل افزایش نشان می دهد.**



شکل ۱. نمای ماکروسکوپی کبد چرب شده بر اثر رژیم پرچرب در مقایسه با کبد نرمال. سمت راست کبد موش گروه پرچرب و سمت چپ کبد موش گروه کنترل



شکل ۲. نمای میکروسکوپی از بافت کبد گروه شاهد سالم که هپاتوسیتها و ساختار بافت کبد طبیعی می باشد.



شکل ۳. نمای میکروسکوپی از بافت کبد گروه تغذیه شده با رژیم پرچرب که تغییرات چربی به صورت میکرو و ماکروزیکولر مشاهده می شود

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jbums.org at 10:47 +0430 on Wednesday April 19th 2017

بحث و نتیجه گیری

در مطالعه حاضر بیماری کبد چرب غیرالکلی در موشهای صحرائی (بدون دخالت ژنتیکی) از طریق تغذیه با رژیم غذایی پرچرب فرموله شده القا شد. بیماری کبد چرب غیر الکلی (NAFLD) یکی از بیماری های مزمن کبدی است که می تواند در نهایت به سیروز کبدی و کارسینومای هپاتو سلولار تبدیل شود. این بیماری با افزایش سطوح آنزیم های کبدی اسپارتات آمینو ترانسفراز (AST) و آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) در خون همراه می باشد. افزایش چربی ها، کلسترول، تری گلیسیرید، که میزان افزایش این فاکتور ها بیشتر از افزایش دیده شده در سندرم متابولیک بود(۱۵).

با توجه به افزایش شیوع این بیماری در جهان و بویژه در کشور ما اهمیت مطالعات در این زمینه بیش از پیش جلوه پیدا می کند. از آنجا که ابتلا به بیماری کبد چرب غیر الکلی ارتباط مستقیم با سبک زندگی و بالاخص رژیم غذایی مردم دارد ایجاد چنین مدلی که نحوه ایجاد آن بسیار مشابه شیوه ابتلا انسان می باشد(رژیم غذایی) می تواند به عنوان یکی از مناسبترین مدلها جهت انجام تحقیقات و مطالعات درمانی این بیماری مورد استفاده محققین قرار گیرد. مدل ایده ال حیوانی در القای کبد چرب باید منعکس کننده همه جنبه های آسیب شناسی در انسان و مراحل مختلف بیماری را شامل شود(۱۶). مدل حیوانی باید قابلیت بازگشت داشته باشد، قابل اعتماد، ساده، مقرون به صرفه و با حداقل معایب از نظر عملی امکانپذیر باشد(۱۶). استفاده از رژیم غذایی فاقد متیونین و کولین(MCD) یکی از این مدل هاست (۱۱).

به دلیل فقدان کولین و متیونین در این رژیم، حیوانات آزمایشگاهی تغذیه شده با آن، توانایی سنتز فسفاتیدیل کولین و در نتیجه خروج تری گلیسرید از کبد را از دست خواهند داد، که در نهایت منجر به استئاتوز کبدی می شود. این رژیم به طور قابل ملاحظه ای میزان گونه های فعال اکسیژن و در نتیجه استرس اکسیداتیو بالا می برد(۱۷). بنابراین استفاده از این رژیم غذایی اشکالات عمده ای بر پارامترهای مورد بررسی وارد می کند، بعلاوه حذف این دو ماده می تواند عوارض جانبی بر مکانیسمهای دیگر سلول گذاشته که به صورت غیر مستقیم بر پارامترهای بیوشیمیایی و مولکولی مورد بررسی در کبد چرب غیر الکلی اثر می گذارد. همچنین فقدان این دو ماده علاوه بر اینکه در تهیه آن محدودیتهایی بوجود می آورد از لحاظ مشابهت با نحوه ایجاد کردن بیماری در انسان که عمدتا بر اثر مصرف بیش از حد و کم تحرکی می باشد به طور کامل در تضاد است. در حالی که مدل مورد بررسی در این مطالعه از لحاظ مشابهت با نمونه انسانی و همچنین از نظر عدم ایجاد استرس اکسیداتیو بسیار مناسبتر می باشد. یکی از مدلهای رژیم پرچرب، رژیمی است که توسط Zou و همکارانش طراحی شده است (۱۲). این رژیم غذایی، رژیمی مناسب‌تر نسبت به رژیم فاقد متیونین و کولین برای بررسی پارامترهای کبدی ناشی از کبد چرب غیر الکلی می باشد ولی باید توجه داشت که استفاده از این رژیم برخلاف رژیم غذایی قبلی الزاما از طریق گاواژ روزانه امکانپذیر می باشد که با توجه به استرس های وارد شده بر حیوان ناشی از گاواژ روزانه، به عنوان محدودیت در اجرای این رژیم می باشد. عمل گاواژ علاوه بر خطرات احتمالی در آسیب فیزیکی به موش در حین این کار، استرس زیادی به حیوان وارد می کند که نتیجه آن احتمالا بر پارامترهای مورد مطالعه خصوصا شاخصهای استرس اکسیداتیو و التهابی تاثیر گذار خواهد بود. با توجه به هدف مطالعه مبنی بر مشابهت رژیم غذایی مورد استفاده در ایجاد مدل با رژیم غذایی استفاده شده به وسیله عموم مردم، از رژیمی بر پایه چربی حیوانی همراه با افزودن درصد مشخصی کلسترول و اسید کولیک جهت افزایش میزان جذب چربی در روده تهیه شد. مصرف چربی با منشا حیوانی با بالا رفتن سطح گلوکز، پروفایل لیپیدی و آنزیمهای کبدی نشاندهنده افزایش احتمال بیمار یزایی و خطر مصرف این گونه چربی ها هست. همانطور که نتایج شاخصهای بیوشیمیایی مطالعه نشان می دهد ترکیبات افزوده شده در رژیم غذایی توانسته اهداف مورد نظر در مطالعه را به نتیجه برساند. یافته های آنزیم های کبدی نیز همسو با پروفایل لیپیدی نشاندهنده استئاتوز کبدی می باشد. نتیجه مطالعه هیستوپاتولوژی وجود تجمعات چربی و تورم هپاتوسیتها را نشان داده که القای کبد چرب را تایید می‌کند. در جامعه ما این نوع چربی با عنوان چربی حیوانی طرفداران خاصی دارد و فرد را در خطر بر هم خوردن تعادل لیپیدی و همچنین ابتلا به کبد چرب غیر الکلی قرار می‌دهد. یافته های این مطالعه حاکی از آن است که استفاده از این مدل چه از بعد کارایی و چه از لحاظ هزینه تحمیلی و در دسترس بودن ترکیبات مورد استفاده مدلی مناسب جهت مطالعات محققین می باشد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تشکر و قدردانی می گردد.

www.SID.ir

Archive of SID

Induction of an Animal Model of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease Using a Formulated High-Fat Diet

M. Efati (MSc)[1], M. Khorrami (PhD)[1], A. Zarei Mahmmudabadi (PhD)*[1] , J. Raouf Sarshoori (PhD)[2]

1.Department of Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran
2.Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 18(11); Nov 2016; PP: 57-62
Received: Jun 2nd 2016, Revised: Jul 27th 2016, Accepted: Sep 27th 2016.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a reversible disease that is mainly a result of high-fat diets in humans. This study aims to induce fatty liver by formulating a high-fat diet in rats to provide a simple and accessible model for investigating various aspects of this disease.

METHODS: This experimental study was conducted using 18 male Wistar rats weighing 180±20 g, randomly divided into two groups (n=9). One group was fed with standard diet whereas the other group was fed with high-fat diet (based on animal fat and cholesterol) for 10 weeks. After this period, variables of weight change, glucose, liver enzymes and serum lipid profile were measured and histopathological changes in the liver tissue were investigated and compared between the two groups.

FINDINGS: At the end of the tenth week, the mean triglycerides and serum cholesterol were 53.71±9.1 mg/dl and 56.42±5.7 mg/dl, respectively in control group, revealing a significant difference compared with the high-fat group (90.85±13.4 mg/dl and 94.28±9.9 mg/dl, respectively) ($p<0.05$). The level of aspartate aminotransferase increased from 89.85±12.7 IU/L in the control group to 147.84±17.8 IU/L in the high-fat group. Moreover, the level of alanine aminotransferase increased from 46.28±7.2 IU/L in the control group to 86.85±9.2 IU/L in the high-fat group, which was statically significant ($p<0.01$). In addition, histopathological changes in liver including fat vacuole and hepatocyte swelling were observed in the high-fat group.

CONCLUSION: According to the results of this study, a formulated high-fat diet can well induce a non-alcoholic fatty liver in rats.

KEY WORDS: *Non-Alcoholic Fatty Liver, High-Fat Diet, Wistar Rat.*

Please cite this article as follows:

Efati M, Khorrami M, Zarei A, Raouf Sarshoori J. Induction of an Animal Model of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease Using a Formulated High-Fat Diet. J Babol Univ Med Sci. 2016;18(11):57-62.

***Corresponding author: A. Zarei Mahmmudabadi (PhD)**
Address: Faculty of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran
Tel: +98 21 22830262
E-mail: alizare80@yahoo.com

Downloaded from jbums.org at 10:47 +0430 on Wednesday April 19th 2017

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jbums.org at 10:47 +0430 on Wednesday April 19th 2017

References

1.Sherlock S, Dooley J. Diseases of the liver and biliary system. 11th ed. Wiley-Blackwell. 2008.

2.Targher G, Bertolini L, Padovani R, Rodella S, Tessari R, Zenari L, et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and its association with cardiovascular disease among type 2 diabetic patients. Diabetes Care. 2007;30(5):1212-8.

3.Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Oh BJ. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. Mayo Clin Proc. 1980;55(7):434-8.

4.Farrell GC, George J, de la M. Hall P, McCullough AJ. Overview: An Introduction to NASH and Related Fatty Liver Disorders. Blackwell Pub Ltd; 2007. p. 1-12.

5.Hamaguchi M, Kojima T, Takeda N, Nakagawa T, Taniguchi H, Fujii K, et al. The metabolic syndrome as a predictor of nonalcoholic fatty liver disease. Ann Intern Med. 2005;143(10):722-8.

6.Valenti L, Dongiovanni P, Piperno A, Fracanzani AL, Maggioni M, Rametta R, et al. Alpha 1-antitrypsin mutations in NAFLD: high prevalence and association with altered iron metabolism but not with liver damage. Hepatology. 2006;44(4):857-64.

7.Musso G, Gambino R, De Michieli F, Cassader M, Rizzetto M, Durazzo M, et al. Dietary habits and their relations to insulin resistance and postprandial lipemia in nonalcoholic steatohepatitis. Hepatology. 2003;37(4):909-16.

8.Assy N, Nasser G, Kamayse I, Nseir W, Beniashvili Z, Djibre A, et al. Soft drink consumption linked with fatty liver in the absence of traditional risk factors. Can J Gastroenterol. 2008;22(10):811-6.

9.Bellentani S, Saccoccio G, Masutti F, Croce LS, Brandi G, Sasso F, et al. Prevalence of and risk factors for hepatic steatosis in Northern Italy. Ann Intern Med. 2000;132(2):112-7.

10.Lankarani KB, Ghaffarpasand F, Mahmoodi M, Lotfi M, Zamiri N, Heydari ST, et al. Non alcoholic fatty liver disease in southern Iran: a population based study. Hepat Mon. 2013;13(5):e9248.

11.Anstee QM, Goldin RD. Mouse models in non-alcoholic fatty liver disease and steatohepatitis research. Int J Exp Pathol. 2006;87(1):1-16.

12.Zou Y, Li J, Lu C, Wang J, Ge J, Huang Y, et al. High-fat emulsion-induced rat model of nonalcoholic steatohepatitis. Life Sci. 2006;79(11):1100-7.

13.Asgharpour A, Cazanave SC, Pacana T, Seneshaw M, Vincent R, Banini BA, et al. A diet-induced animal model of non-alcoholic fatty liver disease and hepatocellular cancer. Journal of hepatology. 2016;65(3):579-88.

14.Baxter JT. Book Review of: Research animals and concepts of applicability to clinical medicine. Veterinary Research Communications. 1383;6(1):309-10. Available from: http://link.springer.com/article/10.1007/BF02214927

15.Willebrords J, Pereira IVA, Maes M, Crespo Yanguas S, Colle I, Van Den Bossche B, et al. Strategies, models and biomarkers in experimental non-alcoholic fatty liver disease research. Progress in Lipid Research. 2015;59:106-25.

16. Kucera O, Cervinkova Z. Experimental models of non-alcoholic fatty liver disease in rats. World J Gastroenterol. 2014;20(26):8364-76.

17.Ustundag B, Bahcecioglu IH, Sahin K, Duzgun S, Koca S, Gulcu F, et al. Protective effect of soy isoflavones and activity levels of plasma paraoxonase and arylesterase in the experimental nonalcoholic steatohepatitis model. Dig Dis Sci. 2007;52(8):2006-14.

www.SID.ir