

## اثرات رژیم کم فرکتوز - لیپوئیک اسید بر سطح آیریزین و FGF21 سرم در مدل حیوانی بیماری کبد چرب غیرالکلی ناشی از رژیم پرچرب

بابک حسن خان<sup>۱</sup>، پرچهره یغمایی<sup>۲</sup>، آزاده ابراهیم حبیبی<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران، ایران

۲- استاد، گروه علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران، ایران

۳- استاد، مرکز تحقیقات اندوکرینولوژی و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران

### چکیده

هدف از این مطالعه، بررسی اثرات مصرف یک رژیم کم فروکتوز همراه با لیپوئیک اسید به صورت مکمل بر میزان آیریزین و FGF21 سرم در مدل بیماری کبد چرب غیر الکلی بود. برای این منظور چهل سر رت نر، نژاد اسپراگ - داوولی به پنج گروه تقسیم شدند. گروه کنترل نرمال، رژیم طبیعی دریافت نمود. گروه پرچرب، یک رژیم امولسیون پرچرب دریافت نمود. گروه فرکتوز، امولسیون پرچرب همراه با فرکتوز به مقدار 1g/kg، گروه لیپوئیک اسید، امولسیون پرچرب همراه با لیپوئیک اسید به میزان 60mg/kg و گروه فرکتوز-لیپوئیک اسید، امولسیون پرچرب همراه با فرکتوز به میزان 1g/kg و لیپوئیک اسید به میزان 60mg/kg به صورت گاواژ روزانه و به مدت شش هفته دریافت نمود. در پایان این مدت، سطح گلوکز، انسولین، مقاومت به انسولین، آدیپونکتین، آیریزین، FGF21، TNF- $\alpha$ ، پروفایل چربی در سرم و تری گلیسیرید و MDA در کبد، بررسی شد. بر اساس یافته ها، میزان گلوکز، مقاومت به انسولین، آیریزین، پروفایل چربی، FGF21 و TNF- $\alpha$  در گروه پرچرب نسبت به گروه کنترل نرمال بطور معنی دار افزایش (P<0/05) و میزان آدیپونکتین سرم بطور معنی داری کاهش یافت (P<0/05). مصرف مکمل فرکتوز-لیپوئیک اسید موجب کاهش معنی دار در پارامترهای فوق و افزایش معنی دار در میزان آدیپونکتین سرم نسبت به گروه پرچرب گردید (P<0/05). با توجه به نتایج فوق به نظر می رسد افزایش سطح آیریزین و FGF21 سرم با بیماری کبد چرب ارتباط دارد و کاهش سطح سرمی آنها در اثر مصرف رژیم کم فرکتوز همراه با لیپوئیک اسید ممکن است نشانه ای از اثرات مکمل رژیم کم فرکتوز - لیپوئیک اسید در بهبود نشانه های بیماری کبد چرب غیرالکلی باشد.

**واژگان کلیدی:** آدیپونکتین، آیریزین، بیماری کبد چرب، FGF21

## مقدمه

سندروم متابولیک یکی از شایعترین اختلالات متابولیک است که مقاومت به انسولین در ایجاد آن نقش مهمی دارد (Eckel et al, 2005). نشانه های سندروم متابولیک در کبد به صورت بیماری کبد چرب غیرالکلی دیده می شود (Marra et al, 2007). این بیماری یکی از شایعترین اختلالات کبدی در کشورهای توسعه یافته و شامل طیفی از اختلالات است که از تجمع ساده چربی در کبد یا استئاتوز شروع شده و با پیشرفت بیماری به فیروز و در نهایت سیروز ختم می شود (Paschos and Paletas, 2009). مقاومت به انسولین در بیماری های متابولیک با تغییر در میزان هورمون هایی که در متابولیسم دخالت دارند، همراه است (Sesti et al, 2014).

آدیپونکتین پروتئینی است که از بافت چربی ترشح شده و در سوخت و ساز چربی ها و کربوهیدرات ها نقش داشته و میزان گلوکز خون را کاهش می دهد. آدیپونکتین به روش های مختلف موجب افزایش حساسیت به انسولین، بروز اثرات ضد التهابی و کاهش وزن می گردد. سطح آدیپونکتین سرم به میزان زیادی با میزان مقاومت به انسولین و التهاب ارتباط دارد (Mlinar et al, 2007).

آیریزین مایوکاینی است که توسط سلول های عضلانی ترشح می شود. آیریزین در متابولیسم نقش دارد و موجب بهبود هموستاز گلوکز از طریق افزایش جذب گلوکز و کاهش مقاومت به انسولین می گردد (Jeong Lee et al, 2015). عوامل مختلفی چون رژیم غذایی و تغییرات هورمونی بر میزان آیریزین پلاسما تاثیر می گذارند. تحقیقات نشان می دهد در رت های دیابتیک سطح آیریزین پس از درمان با انسولین افزایش می یابد (Varela-Rodriguez et al, 2016). مطالعه دیگری نشان می دهد که سطح آیریزین با میزان گلوکز خون ارتباط دارد و در افراد چاق افزایش می یابد. این افزایش ممکن یک پاسخ حفاظتی در برابر اختلال در متابولیسم گلوکز باشد (Huerta et al, 2015).

فاکتور رشد فیروبلاست ۲۱ (FGF21) Fibroblast growth factor 21 هورمونی با ساختار پپتیدی است که در اندام های مختلفی خصوصا کبد ساخته می شود و یک تنظیم کننده هومئوستاز انرژی است. FGF21 نقش مهمی در تنظیم اکسیداسیون اسیدهای چرب در حالت ناشتا و مصرف رژیم های پرچرب بازی می کند (Lee et al, 2015).

مطالعات گذشته نشان می دهد، فرکتوز ۱ فسفات که فرآورده حاصل از متابولیسم فرکتوز است می تواند آنزیم گلوکوکیناز کبدی را فعال نماید. این آنزیم موجب بهبود در هومئوستاز گلوکز می شود. فرکتوز به میزان کم جذب کبدی گلوکز را افزایش داده و میزان تولید گلوکز توسط کبد را کاهش می دهد (Le and Tappy, 2006). پژوهش دیگری نشان می دهد یک رژیم کم فرکتوز بر آنزیم گلیکوژن سنتاز کبدی اثرات تحریکی دارد که این عمل اثرات درمانی مفیدی در بیماران مبتلا به دیابت نوع یک و دو دارد (Petersen et al, 2001).

لیپوئیک اسید یک آنتی اکسیدان قوی است که دارای خواصی همچون کاهش مصرف غذا، افزایش مصرف انرژی، افزایش بیوژنز میتوکندری ها و افزایش اکسیداسیون چربی ها می باشد. لیپوئیک اسید باعث کاهش تری گلیسرید سرم در رت ها شده و بر تجمع چربی ها اثرات مهاری دارد (Fernandez – Galilea et al, 2013).

بر اساس یک پژوهش، رژیم کم فرکتوز موجب کاهش مقاومت به انسولین و بهبود علائم و نشانه های بیماری کبد چرب غیر الکلی می شود در همین حال مصرف همزمان لیپوئیک با آن باعث تقویت اثرات رژیم کم فرکتوز در بهبود علائم این بیماری می گردد (Hassankhan et al. 2020).

با توجه به این پژوهش ها، در این مطالعه اثرات استفاده از رژیم کم فرکتوز همراه با لیپوئیک اسید به صورت یک مکمل غذایی بر میزان آیریزین و FGF21 سرم در مدل بیماری کبد چرب غیر الکلی ناشی از رژیم پرچرب در رت های نر نژاد اسپراگ - داوولی مورد بررسی قرار گرفت.

### روش تحقیق

**حیوانات و گروه بندی:** تعداد ۴۰ سر رت نر، نژاد اسپراگ - داوولی با وزن تقریبی ۲۲۰-۲۰۰ گرم از موسسه سرم و واکسن رازی کرج - ایران خریداری شد. رت ها در حیوانخانه در شرایطی شامل ۱۲ ساعت روشنایی - تاریکی و دمای ۲۲-۲۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند و آب و غذای استاندارد آزادانه در دسترس آنها قرار گرفت. پس از یک هفته و عادت به محیط، حیوانات وزن شده و سپس به پنج گروه هشت تایی به شرح ذیل تقسیم شدند.

۱. گروه کنترل نرمال (NC) Normal control

۲. گروه پرچرب (HF) High fat

۳. گروه پرچرب همراه با فرکتوز (Fru) High fat + Fructose

۴. گروه پرچرب همراه با لیپوئیک اسید (Lip) High fat + Lipoic acid

۵. گروه پرچرب همراه با فرکتوز و لیپوئیک اسید (Fru+Lip) High fat + Fructose+ Lipoic acid

**القا مدل حیوانی بیماری کبد چرب غیر الکلی و دریافت مکمل:** بیماری کبد چرب غیر الکلی در رت ها بوسیله یک امولسیون پرچرب ایجاد گردید. این امولسیون به شرح جدول شماره ۱ تهیه شد. در این امولسیون ۷۷ درصد انرژی از چربی (روغن ذرت)، ۱۴ درصد از پروتئین (پودر شیر) و ۹ درصد از کربوهیدرات (ساکارز) تامین گردید. گروه های دریافت کننده این امولسیون، علاوه بر دسترسی آزاد به رژیم استاندارد، مقدار 10ml/kg از این امولسیون را از طریق گاوژ روزانه و به مدت شش هفته مطابق با تحقیقات گذشته دریافت نمودند (Zou et al, 2006). در گروه فرکتوز، هر رت مقدار 1g/kg فرکتوز همراه با امولسیون، در گروه لیپوئیک اسید، هر رت مقدار 60mg/kg لیپوئیک اسید همراه با امولسیون و در گروه فرکتوز - لیپوئیک اسید، هر رت مقدار 1g/kg فرکتوز به علاوه 60mg/kg لیپوئیک اسید همراه با امولسیون از طریق گاوژ روزانه و به مدت شش هفته دریافت نمودند (Cremer et al, 2006).

جدول ۱: ترکیبات استفاده شده در امولسیون پرچرب (Zou et al, 2006)

روغن ذرت	۴۰۰ گرم
ساکارز	۱۵۰ گرم
پودر شیر خشک کامل	۸۰ گرم
کلسترول	۱۰۰ گرم
سدیم دی اکسی کولات	۱۰ گرم
پروپیلن گلاکول	۳۱/۱ گرم
ویتامین ترکیبی	۱/۵ گرم
نمک خوراکی	۱۰ گرم
مواد معدنی	۱/۵ گرم
آب	۳۰۰ میلی لیتر
کل انرژی	۴۳۴۲ کیلو کالری در لیتر

**تهیه نمونه سرم و بافت:** در پایان دوره و بعد از ۱۰ ساعت ناشتایی، حیوانات وزن شده و سپس بوسیله دی اتیل اتر بصورت استنشاقی بیهوش شدند. توسط سرنگ ۵ سی سی خونگیری از بطن قلبی انجام و سپس کبد به سرعت خارج و وزن گردید. قسمتی از بافت کبدی برای ارزیابی میزان پروفایل لیپیدی و محتوی مالون دی آلدهید کبدی آماده شد. برای این منظور بافت کبد در محلول ۵۰ میلی مولار بافر سالین فسفات هموزن گردید (pH 7) سپس سانتریفیوژ در دور ۹۰۰۰ و دمای ۴ درجه سانتی گراد برای ۲۰ دقیقه انجام شد. پس از جدا سازی مواد روی سطح، ترکیبات باقیمانده در دمای ۷۰- درجه سانتی گراد تا روز آزمایش نگهداری شد.

**شاخص (اندکس کبدی):** شاخص کبدی طبق فرمول زیر محاسبه گردید (Zou et al, 2006).

$$\text{Liver index} = \text{Liver weight} / \text{body weight} \times 100$$

**ارزیابی میزان مقاومت به انسولین:** میزان مقاومت به انسولین بوسیله Homeostasis model assessment ; HOMA-IR یا مدل ارزیابی هومئوستازیس بررسی گردید. برای این منظور از میزان قند خون ناشتا و انسولین ناشتا با استفاده از فرمول زیر استفاده شد (Lovati et al, 2011).

$$\text{HOMA-IR} = \text{Insulin} [\mu\text{U/ml}] * \text{Glucose} [\text{mmol/l}] / 22.5$$

**اندازه گیری پارامترهای بیوشیمیایی کبد:** میزان تری گلیسیرید کبد بوسیله معرف شرکت زیست شیمی - ایران و به روش اسپکتروفتومتری اندازه گیری شد. برای اندازه گیری محتوی مالون دی آلدهید کبد از کیت شرکت پارس آزمون استفاده گردید.

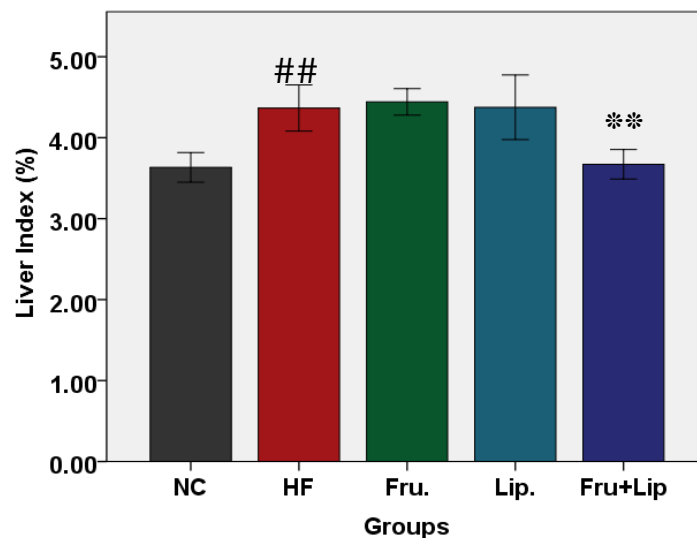
### تجزیه تحلیل آماری

نتایج به صورت میانگین  $\pm$  انحراف از میانگین نشان داده شده است. برای مقایسه نتایج بین گروه ها از نرم افزار SPSS ورژن ۲۴ استفاده شد. از تحلیل واریانس یک طرفه (one-way ANOVA) و Tukey's post hoc test جهت مقایسه گروه ها و بررسی وجود اختلاف معنی دار بین آنها، استفاده گردید. میزان  $P < 0/05$  به عنوان سطح معنی دار بودن اختلاف ها از نظر آماری، در نظر گرفته شد.

## یافته ها

## تغییرات شاخص (اندکس) کبدی:

پس از شش هفته گاوآژ امولسیون پرچرب، شاخص کبدی در گروه دریافت کننده امولسیون پرچرب نسبت به گروه کنترل بطور معنی دار افزایش یافت ( $P < 0/01$ ). در گروه فروکتوز و گروه لیپوئیک اسید، تغییر معنی دار در شاخص کبدی نسبت به گروه پرچرب دیده نشد ( $P > 0/05$ ) ولی در گروه دریافت کننده مکمل فرکتوز - لیپوئیک اسید، کاهش معنی دار در شاخص کبدی نسبت به گروه پرچرب مشاهده گردید ( $P < 0/01$ ) (نمودار ۱).



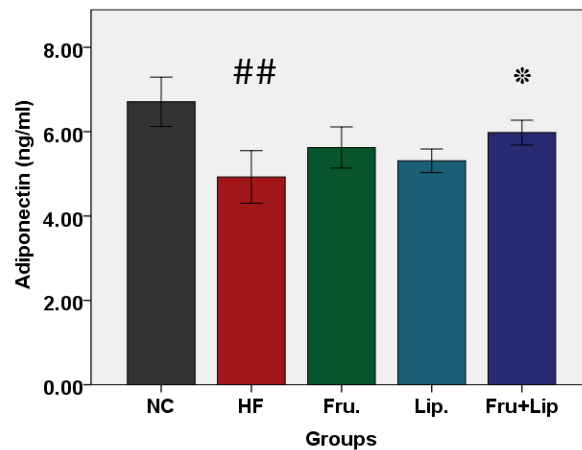
**نمودار ۱:** مقایسه اثرات رژیم کم فرکتوز، لیپوئیک اسید، و ترکیب هردو بر اندکس کبدی در گروه های کنترل نرمال (NC)، رژیم پرچرب (HF)، فرکتوز (Fru)، لیپوئیک اسید (Lip) و گروه فرکتوز - لیپوئیک اسید (Fru+Lip).  
 (##) نشاندهنده ( $P < 0/01$ ) اختلاف معنی دار با گروه کنترل نرمال می باشد.  
 (\*\*\*) نشاندهنده ( $P < 0/01$ ) اختلاف معنی دار با گروه پرچرب می باشد.

تغییرات آدیپونکتین، آیریزین، FGF21 و TNF- $\alpha$  سرم:

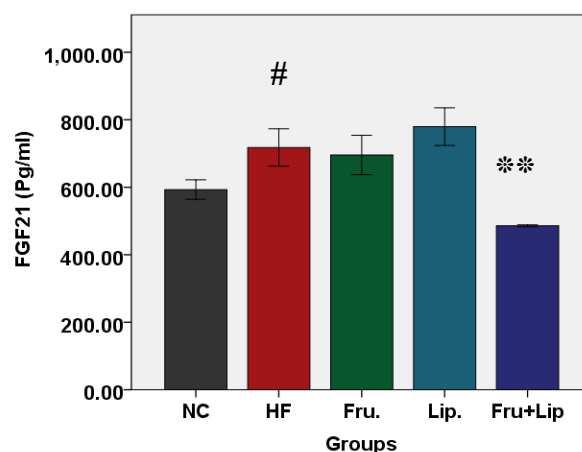
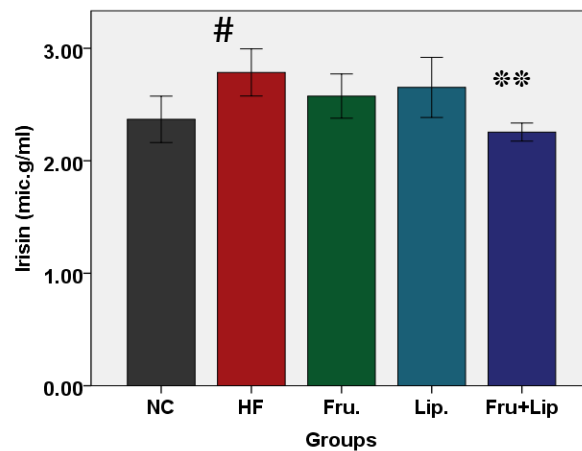
گاوآژ امولسیون پرچرب موجب افزایش معنی دار سطح آیریزین، FGF21 و TNF- $\alpha$  ( $P < 0/05$ ) و همچنین کاهش معنی دار سطح آدیپونکتین سرم ( $P < 0/01$ ) در گروه پرچرب نسبت به گروه کنترل نرمال گردید. رژیم کم فرکتوز به تنهایی موجب کاهش معنی دار در سطح TNF- $\alpha$  نسبت به گروه پرچرب گردید ( $P < 0/01$ ). افزودن لیپوئیک اسید به رژیم کم فرکتوز علاوه بر کاهش بیشتر در سطح TNF- $\alpha$  سرم ( $P < 0/01$ )، موجب کاهش معنی دار در میزان

آیریزین و FGF21 سرم ( $P < 0/01$ ) همچنین افزایش معنی دار در سطح آدیپونکتین سرم ( $P < 0/05$ )، در گروه های مربوطه نسبت به گروه پرچرب گردید (نمودار ۲).

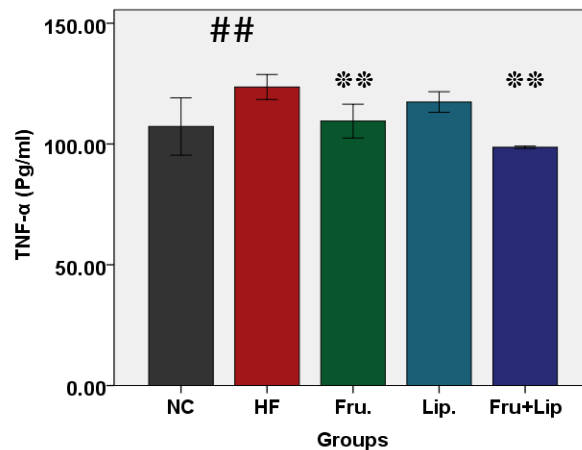
(A)



(B)



(C)



(D)

**نمودار ۲:** مقایسه اثرات رژیم کم فرکتوز، لیپوئیک اسید، و ترکیب هر دو بر سطح سرمی آدیپونکتین در نمودار (A)، آیر یزین در نمودار (B)، FGF21 در نمودار (C) و TNF-α در نمودار (D) در گروه های مورد مطالعه شامل کنترل نرمال (NC)، رژیم پر چرب (HF)، فرکتوز (Fru)، لیپوئیک اسید (Lip) و گروه فرکتور - لیپوئیک اسید (Fru+Lip).

(#) نشاندهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل نرمال می باشد.

(##) نشاندهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل نرمال می باشد

(\* ) نشاندهنده اختلاف معنی دار با گروه رژیم پرچرب می باشد.

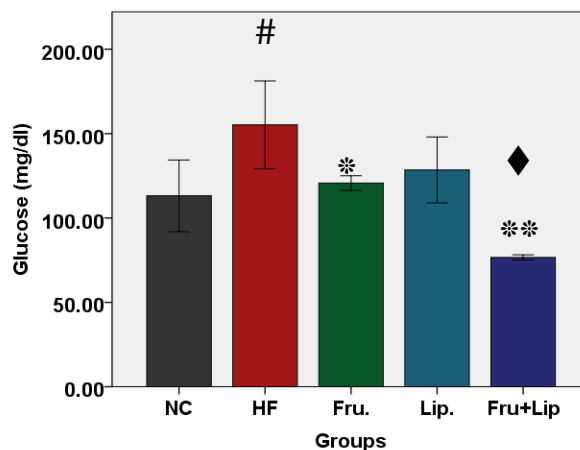
(\*\* ) نشاندهنده اختلاف معنی دار با گروه رژیم پرچرب می باشد.

### تغییرات سطح گلوکز و مقاومت به انسولین:

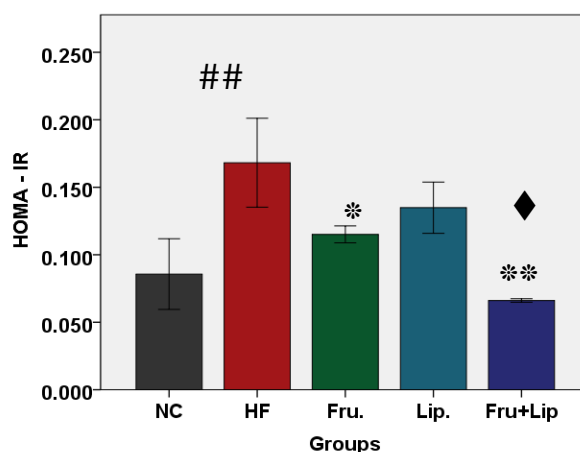
سطح گلوکز سرم و میزان مقاومت به انسولین بر اساس HOMA-IR در گروه پرچرب نسبت به گروه کنترل نرمال بطور معنی دار افزایش یافت ( $P < 0/05$ ). رژیم کم فرکتوز موجب کاهش معنی دار در سطح این فاکتورها نسبت به گروه پرچرب گردید ( $P < 0/05$ ). افزودن لیپوئیک اسید به رژیم کم فرکتوز موجب کاهش بیشتر در سطح این فاکتورها نسبت به گروه پرچرب شد ( $P < 0/05$ ) در همین حال اختلاف معنی دار در سطح گلوکز و میزان مقاومت به انسولین بین گروه فرکتوز و گروه فرکتوز - لیپوئیک اسید مشاهده گردید ( $P < 0/05$ ) (نمودار ۳).



(A)



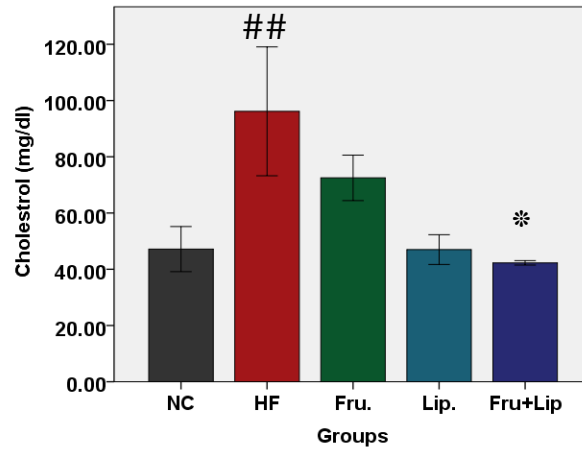
(B)



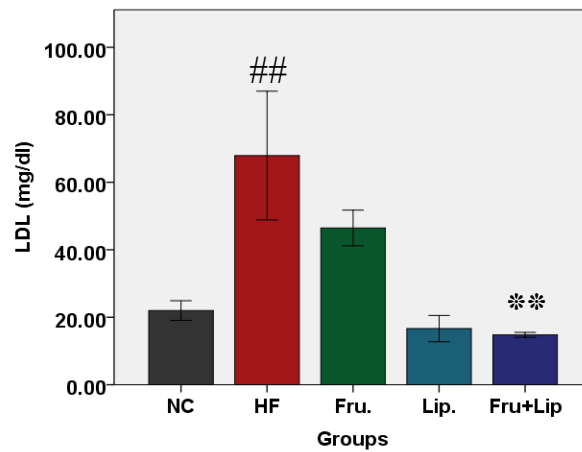
**نمودار ۳:** مقایسه اثرات رژیم کم فرکتوز، لیپوئیک اسید، و ترکیب هر دو بر میزان قند خون (A) و مقاومت به انسولین (B) در گروه های کنترل نرمال (NC)، پر چرب (HF)، فرکتوز (Fru)، لیپوئیک اسید (Lip) و گروه فرکتوز - لیپوئیک اسید (Fru+Lip).  
 (#) نشاندهنده ( $P < 0/05$ ) و (##) نشاندهنده ( $P < 0/01$ ) اختلاف معنی دار با گروه کنترل نرمال می باشد.  
 (\*) نشاندهنده ( $P < 0/05$ ) و (\*\*\*) نشاندهنده ( $P < 0/01$ ) اختلاف معنی دار با گروه رژیم پر چرب می باشد.  
 (♦) نشاندهنده ( $P < 0/05$ ) اختلاف معنی دار با گروه فرکتوز می باشد.

### تغییرات پارامترهای بیوشیمیایی سرم:

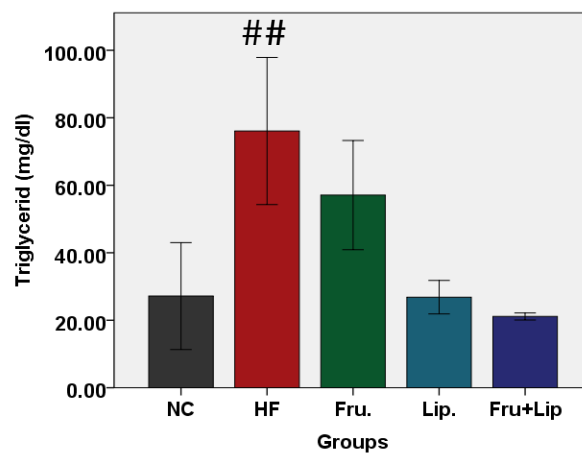
در پایان شش هفته گاوآژ امولسیون پرچرب، افزایش معنی دار پروفایل چربی سرم شامل کلسترول، لیپوپروتئین های با دانسیته کم یا LDL، تری گلیسیرید و اسیدهای چرب آزاد در گروه پرچرب نسبت به گروه کنترل نرمال مشاهده گردید ( $P < 0/01$ ). مصرف رژیم کم فرکتوز - لیپوئیک اسید موجب کاهش میزان کلسترول و تری گلیسیرید سرم در سطح ( $P < 0/05$ ) همچنین کاهش میزان LDL و اسیدهای چرب آزاد سرم در سطح ( $P < 0/01$ ) گردید (نمودار ۴).



(A)

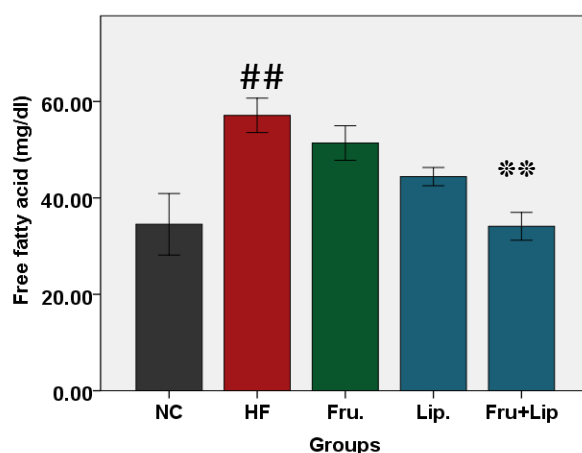


(B)



\*

(C)



(D)

**نمودار ۴:** مقایسه اثرات رژیم کم فرکتوز، لیپوئیک اسید، و ترکیب هر دو بر کلسترول سرم در نمودار (A)، LDL در نمودار (B)، تری گلیسیرید در نمودار (C) و اسیدهای چرب آزاد در نمودار (D) در گروه های مورد مطالعه شامل کنترل نرمال (NC)، رژیم پر چرب (HF)، فرکتوز (Fru)، لیپوئیک اسید (Lip) و گروه فرکتوز - لیپوئیک اسید (Fru+Lip).

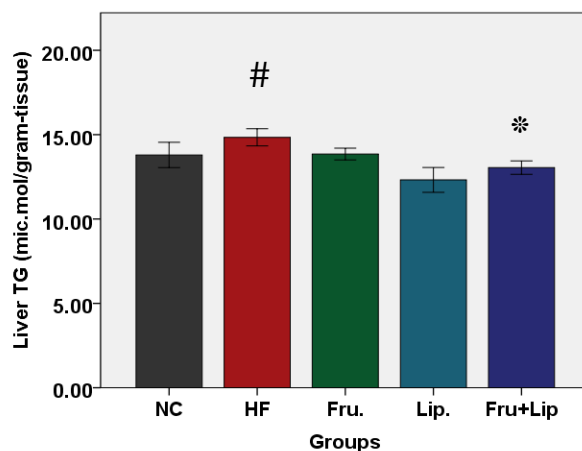
(##) نشاندهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل نرمال می باشد.

(\*) نشاندهنده اختلاف معنی دار با گروه رژیم پرچرب می باشد.

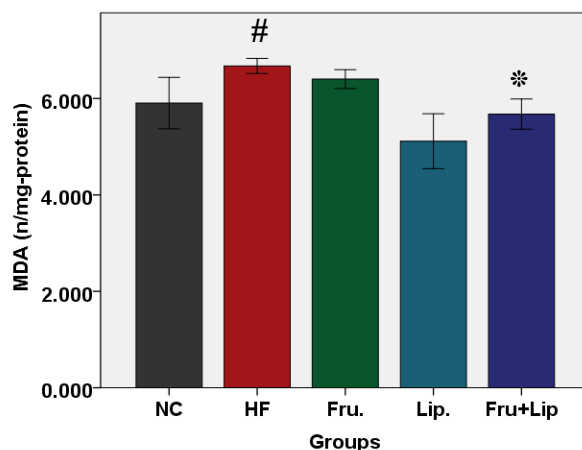
(\*\*) نشاندهنده اختلاف معنی دار با گروه رژیم پرچرب می باشد.

### تغییرات پارامترهای بیوشیمیایی کبد:

شش هفته گاوآژ امولسیون پرچرب موجب افزایش معنی دار محتوی تری گلیسیرید و MDA بافت کبد در گروه پرچرب نسبت به گروه کنترل نرمال گردید ( $P < 0/05$ ). تیمار با رژیم فرکتوز همراه با لیپوئیک اسید موجب کاهش معنی دار در محتوی تری گلیسیرید و MDA بافت کبد در گروه فرکتوز - لیپوئیک اسید نسبت به گروه پرچرب گردید ( $P < 0/05$ ) (نمودار ۵).



(A)



(B)

**نمودار ۵:** مقایسه اثرات رژیم کم فرکتوز، لیپوئیک اسید، و ترکیب هر دو بر محتوی تری گلیسیرید کبد در نمودار (A) و MDA کبد در نمودار (B) در گروه های کنترل نرمال (NC)، رژیم پر چرب (HF)، فرکتوز (Fru)، لیپوئیک اسید (Lip) و گروه فرکتور - لیپوئیک اسید (Fru+Lip). (#) نشاندهنده اختلاف معنی دار با گروه کنترل نرمال می باشد. (\*) نشاندهنده اختلاف معنی دار با گروه رژیم پرچرب می باشد.

### بحث و نتیجه گیری

در این پژوهش برای ایجاد مدل بیماری کبد چرب در رت ها از یک امولسیون پرچرب استفاده شد و سپس اثرات رژیم کم فرکتوز همراه با لیپوئیک اسید بر میزان آدیپونکتین، آیریزین و FGF21 سرم، مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت. یافته های این مطالعه نشان داد، گاوژ امولسیون پرچرب به مدت شش هفته موجب افزایش گلوکز، مقاومت به انسولین، رسوب چربی در کبد، افزایش شاخص (اندکس) کبدی و بروز نشانه های بیماری کبد چرب غیر الکلی در رت ها گردید. بر اساس تحقیقات انجام شده در حیوانات آزمایشگاهی، رژیم های غذایی پرچرب موجب افزایش قند خون،

انسولین و مقاومت به انسولین و همچنین تجمع چربی در کبد می گردد که نتایج این مطالعه با پژوهش های گذشته هماهنگی داشت (Hebbard and George, 2011) (Zou et al, 2006).

بر اساس نتایج این تحقیق، رژیم کم فرکتوز میزان گلوکز سرم و مقاومت به انسولین (HOMA-IR) را کاهش داد در همین حال افزودن لیپوئیک اسید به این رژیم موجب کاهش بیشتری در سطح این فاکتورها گردید. مطالعات گذشته نشان می دهد، رژیم غذایی پرچرب بر سلامتی انسان تاثیر می گذارد و موجب اختلال در متابولیسم چربی، بروز دیس لیپیدمیا و استرس های اکسیداتیو می شود (Yang et al, 2008). بیماری کبد چرب غیر الکلی با دیس لیپیدمیا و مقاومت به انسولین همراه است (Hebbard and George, 2011). یک رژیم غذایی با فرکتوز کم در کاهش مقاومت به انسولین موثر است (Mager et al, 2014). فرکتوز در سلول ها تبدیل به فرکتوز ۱ فسفات می شود و گلوکوکیناز کبد را فعال می نماید. افزایش فعالیت این آنزیم موجب بهبود هومئوستاز گلوکز می شود (Le and Tappy, 2006). لیپوئیک اسید فعالیت Adenosine monophosphate activated protein kinase (AMPK) را افزایش و از این طریق در متابولیسم سلولی اثر گذاشته می تواند در بهبود نشانه های بیماری کبد چرب غیر الکلی مفید باشد (Keun-Gyu et al, 2008). با توجه به این پژوهش ها، کاهش بیشتر گلوکز سرم و بهبود مقاومت به انسولین پس از استفاده از ترکیب رژیم کم فرکتوز - لیپوئیک اسید در این تحقیق ممکن است به علت افزایش همزمان میزان فرکتوز ۱ فسفات به دلیل مصرف رژیم کم فرکتوز، افزایش فعالیت AMPK به علت استفاده از لیپوئیک اسید و به دنبال آن، تداخل اثرات این دو ترکیب باشد.

نتایج این مطالعه نشان داد، مصرف یک رژیم کم فرکتوز همراه با لیپوئیک اسید موجب افزایش سطح آدیپونکتین و کاهش  $TNF-\alpha$  در سرم گردید. تحقیقات نشان داده اند که، کاهش سطح آدیپونکتین یا هایپوآدیپونکتینمیا می تواند به عنوان نشانه ای از بیماری کبد چرب غیر الکلی تلقی گردد (Hui et al, 2004). در بیماران مبتلا به کبد چرب، سطح آدیپونکتین کاهش می یابد که این حالت همراه با مقاومت به انسولین می باشد (Paschos and Paletas, 2009).  $TNF-\alpha$  یکی از سیتوکاین هایی است که در بروز آسیب های کبدی نقش دارد (Diehl, 2002). افزایش میزان  $TNF-\alpha$  با مقاومت به انسولین ارتباط دارد (Winkler et al, 2003). آدیپونکتین و  $TNF-\alpha$  بر یکدیگر اثر گذاشته و با یکدیگر ارتباط متقابل دارند، به همین دلیل عدم تعادل بین آنها می تواند منجر به بروز مقاومت به انسولین و التهاب گردد (Polyzos et al, 2009). بر اساس مطالعات گذشته، ترکیب فرکتوز ۱ فسفات جذب کبدی گلوکز را افزایش داده و میزان تولید گلوکز توسط کبد را کاهش می دهد (Le and Tappy, 2006). لیپوئیک اسید با افزایش فعالیت AMPK و کاهش تجمع چربی در بهبود بیماری کبد چرب غیر الکلی مفید است (Keun-Gyu et al, 2008). هماهنگی با این یافته ها، افزایش آدیپونکتین و کاهش سطح  $TNF-\alpha$  در اثر مصرف توام رژیم کم فرکتوز - لیپوئیک اسید در این مطالعه ممکن است به علت کاهش مقاومت به انسولین ناشی از افزایش میزان فرکتوز ۱ فسفات، افزایش فعالیت AMPK به دلیل مصرف لیپوئیک اسید و همچنین تداخل اثر این ترکیبات به دلیل مصرف همزمان آنها باشد.

بر اساس نتایج بدست آمده از این تحقیق، سطح سرمی آیریزین و FGF21 پس از دریافت امولسیون پرچرب افزایش یافت ولی در گروه تحت تیمار با رژیم کم فرکتوز همراه با لیپوئیک اسید، افزایش سطح آیریزین سرم و FGF21 مشاهده نگردید. آیریزین یک مایوکاین است که از عضلات ترشح می شود و در متابولیسم گلوکز دخالت دارد. آیریزین موجب بهبود هموستاز گلوکز و حساسیت به انسولین می گردد (Jeong Lee et al, 2015). سطح آیریزین سرم در چاقی و کاهش حساسیت به انسولین افزایش می یابد (Sesti et al, 2014). مطالعات نشان می دهد که سطح آیریزین با سطح گلوکز خون ارتباط دارد و با توجه به اثرات آیریزین این افزایش ممکن یک پاسخ حفاظتی در برابر افزایش میزان گلوکز خون باشد (Huerta et al, 2015). FGF21 یک فاکتور رشد است که در تنظیم میزان قند و چربی نقش مهمی دارد. این فاکتور موجب بهبود استتاز و افزایش حساسیت به انسولین می شود (Xu et al, 2009). بر اساس مطالعات گذشته، فرکتوز ۱ فسفات می تواند آنزیم گلوکوکیناز کبدی را فعال نماید. این آنزیم موجب بهبود در هموستاز گلوکز می شود. فرکتوز به میزان کم جذب کبدی گلوکز را افزایش داده و میزان تولید گلوکز توسط کبد را کاهش می دهد (Le and Tappy, 2006). از طرفی لیپوئیک اسید به عنوان یک کوآنزیم نقش مهمی در گلیکولیز و تنظیم متابولیسم گلوکز دارد و می تواند موجب بهبود حساسیت به انسولین گردد (Yang et al, 2014). بر اساس یک مطالعه، رژیم کم فرکتوز موجب بهبود نشانه های بیماری کبد چرب غیر الکلی می شود در همین حال مصرف همزمان لیپوئیک با آن اثرات رژیم کم فرکتوز در بهبود علائم این بیماری را تقویت می کند (Hassankhan et al, 2020). همسو با این پژوهش ها و نتایج این تحقیق، کاهش سطح آیریزین و FGF21 سرم همزمان با کاهش گلوکز خون توسط رژیم کم فرکتوز همراه با لیپوئیک اسید ممکن است به علت ارتباط این فاکتورها با سطح گلوکز سرم و میزان مقاومت به انسولین باشد و احتمالاً به دلیل بهبود هموستاز گلوکز توسط رژیم کم فرکتوز همراه با لیپوئیک اسید، سطح آیریزین و FGF21 سرم نیز، کاهش یافته است.

### نتیجه گیری

با توجه به نتایج این مطالعه به نظر می رسد با مصرف رژیم پرچرب و بروز نشانه های بیماری کبد چرب غیر الکلی، سطح آدیپونکتین سرم کاهش یافته و میزان آیریزین و FGF21 سرم افزایش می یابد ولی با کاهش سطح گلوکز خون توسط رژیم کم فرکتوز همراه با لیپوئیک اسید، سطح آدیپونکتین سرم افزایش یافته و میزان آیریزین و FGF21 سرم کاهش می یابد که بر این اساس و با توجه به نتایج این مطالعه به نظر می رسد افزایش سطح آیریزین و FGF21 سرم با بیماری کبد چرب ارتباط دارد لذا کاهش میزان آیریزین و FGF21 سرم در اثر مصرف رژیم کم فرکتوز همراه با لیپوئیک اسید را ممکن است بتوان به عنوان نشانه ای از اثرات مکمل رژیم کم فرکتوز - لیپوئیک اسید در بهبود علائم بیماری کبد چرب غیر الکلی در نظر گرفت.



### تشکر و قدردانی

این پژوهش در محل مجتمع آزمایشگاه رازی وابسته به دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران انجام شد که بدینوسیله از واحد مربوطه تشکر و قدردانی می گردد.



- Cremer, D.R. Rabeler, R. Roberts, A. and Lynch, B. (2006). Safety evaluation of  $\alpha$ -lipoic acid (ALA). *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 46 (2006). 29-41
- Diehl, Anna Mae. (2002). Nonalcoholic Steatosis and Steatohepatitis IV. Nonalcoholic fatty liver disease abnormalities in macrophage function and cytokines. *Am J. Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 282 (2002). 1-5
- Eckel, Robert H. Grundy, Scott M. and Zimmet, Paul Z. (2005). The metabolic syndrome. *Lancet*. 365 (2005). 1415–1428
- Fernandez Galilea, M. Prieto Hontoria, P. Martinez, J. Moreno Aliaga, M. (2013). Antiobesity effects of  $\alpha$ -lipoic acid supplementation. *Clin. Lipidol*. 8 (2013). 371-383
- Hassankhan, Babak. Yaghmaei, Parichehreh. Parivar, Kazem. and Ebrahim-Habibi, Azadeh. (2020). Introducing a new combined supplementation of low fructose diet with  $\alpha$ -lipoic acid and improvement effects of it on high-fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease Rat model. 21th. National & 9th. International Congress on Biology. Iran. (2020).
- Hebbard, Lionel and George, Jacob. (2011). Animal models of nonalcoholic fatty liver disease. *Nature reviews. Gastroenterology & Hepatology*. 8 (2011). 34-44
- Huerta, A. E. Prieto-Hontoria, P. L. Fernandez-Galilea, M. Sainz, N. Cuervo, M. Martinez, J. A. and Moreno-Aliaga, M. J. (2015). Circulating irisin and glucose metabolism in overweight/obese women: effects of  $\alpha$ -lipoic acid and eicosapentaenoic acid. *J Physiol Biochem*. (2015). Online, 1-12,.
- Hui, Jason M. Hodge, Alex. Farrell, Geoffrey C. Kench, James G. Kriketos, Adamandia and George, Jacob. (2004). Beyond Insulin Resistance in NASH: TNF -  $\alpha$  or Adiponectin? *Hepatology*. 40 (2004). 46-54
- Jeong Lee, Hye. Ok Lee, Jung. Kim, Nami. Kwan Kim, Joong. Ip Kim, Hyung. Woo Lee, Yong. Jin Kim, Su. Choi, Jong-II. Oh, Yoonji. Hyun Kim, Jeong. Suyeon-Hwang. Hwa Park, Sun and Soo Kim, Hyeon. (2015). Irisin, a Novel Myokine, Regulates glucose uptake in skeletal muscle cells via AMPK. *Mol Endocrinol*. 29 (2015). 873-881
- Jeong Lee, Hye. Ok Lee, Jung. Kim, Nami. Kwan Kim, Joong. Ip Kim, Hyung. Woo Lee, Yong. Jin Kim, Su. Choi, Jong-II. Oh, Yoonji. Hyun Kim, Jeong. Suyeon-Hwang. Hwa Park, Sun and Soo Kim, Hyeon. (2015). Irisin, a Novel Myokine, Regulates glucose uptake in skeletal muscle cells via AMPK. *Mol Endocrinol*. 29 (2015). 873-881
- Keun-Gyu, Park. Ae-Kyung, Min. Eun Hee, Koh. Hyoun Sik, Kim. Mi-Ok, Kim. Hye-Sun Park,3 Yong-Deuk Kim, Tae-Seung Yoon,1 Byoung Kuk Jang,1 Jae Seok Hwang,1 Jae Bum, Kim. Hueng-Sik, Choi. Joong-Yeol, Park. In-Kyu, Lee and Ki-Up, Lee. (2008). Alpha-Lipoic Acid Decreases Hepatic Lipogenesis Through Adenosine Monophosphate-Activated Protein Kinase (AMPK)-Dependent and AMPK-Independent. *Hepatology*. 48 (2008). 1477-1486
- Le, Kim-Anne and Tappy, Luc. (2006). Metabolic effects of fructose. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. 9 (2006). 469-475
- Lee, Paul. Swarbrick, Michael M. and Greenfield, Jerry R. (2016). The Sum of All Browning in FGF21 Therapeutics. *Cell Metabolism*. 21 (2016). 795-796
- Lovati, Maria Rosa. Manzoni, Cristina. Castiglioni, Silvia. Parolari, Anna. Magni, Chiara and Duranti, Marcello. (2012). Lupin seed g-conglutin lowers blood glucose in hyperglycaemic rats and increases glucose consumption of HepG2 cells. 107 (2012). 62-73
- Mager, Diana R. Iniguez, Ingrid Rivera. Gilmour, Susan and Yap, Jason. (2013). The Effect of a Low Fructose and Low Glycemic Index/Load (FRAGILE) Dietary Intervention on Indices of Liver Function, Cardiometabolic Risk Factors, and Body Composition in Children and Adolescents With





- Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). *Journal of parenteral and enteral nutrition*. 10 (2013). 1-13
- Marra, Fabio. Gastaldelli, Amali. Baroni, Gianluca Svegliati. Tell, Gianluca and Tiribelli, Claudio. (2008). Molecular basis and mechanisms of progression of non-alcoholic steatohepatitis. *Trends in Molecular Medicine*. 14 (2008). 72-81
- Mlinar, Barbara. Marc, Janja. Janez, Andrej and Pfeifer, Marija. (2007). Molecular mechanisms of insulin resistance and associated diseases. *Clinica Chimica Acta*. 375 (2007). 20-35
- Paschos, P and Paletas, K. (2009). Non alcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome. *Hippokratia*. 13 (2009). 9-19
- Petersen, Kitt Falk. Laurent, Didier. Yu, Chunli. Cline, Gary W. and Shulman, Gerald I. (2001). Stimulating Effects of Low-Dose Fructose on Insulin-Stimulated Hepatic Glycogen Synthesis in Humans. *Diabetes*. 50 (2001). 1263-1268
- Polyzos, S.A. Kountouras, J. and Zavos, C. (2009). The multi-hit process and the antagonistic roles of tumor necrosis factor-alpha and adiponectin in non alcoholic fatty liver disease. *Hippokratia*. 13 (2009). 127
- Sesti, G. Andreozzi, F. Fiorentino, T.V. Mannino, G.C. Sciacqua, A. Marini, M.A. and Perticone, F. (2014). High circulating irisin levels are associated with insulin resistance and vascular atherosclerosis in a cohort of nondiabetic adult subjects. *Acta Diabetol*. (2014). Published online; DOI 10.1007/s00592-014-0576-0
- Sesti, G. Andreozzi, F. Fiorentino, T.V. Mannino, G.C. Sciacqua, A. Marini, M.A. and Perticone, F. (2014). High circulating irisin levels are associated with insulin resistance and vascular atherosclerosis in a cohort of nondiabetic adult subjects. *Acta Diabetol*. (2014). Published online; DOI 10.1007/s00592-014-0576-0
- Varela-Rodriguez, B. M. Pena-Bello, L. Juiz-Valina, P. Vidal-Bretal, B. Cordido, F. and Sangiao-Alvarellos, S. (2016). FNDC5 expression and circulating irisin levels are modified by diet and hormonal conditions in hypothalamus, adipose tissue and muscle. *Scientificreports*. 6 (2016). 1-13
- Winkler, Gabor. Kiss, Sandor. Keszthelyi, Laszlo. Sapi, Zoltan. Ory, Ivan. Salamon, Ferenc. Kovacs, Margit. Vargha, Peter. Szekeres, Orsolya. Speer, Gabor. Istvan, Karadi. Sikter, Marta. Kaszas, Edit. Dworak, Otto. Gero, Gabor and Cseh Karoly. (2003). Expression of tumor necrosis factor (TNF) -  $\alpha$  protein in the subcutaneous and visceral adipose tissue in correlation with adipocyte cell volume, serum TNF- $\alpha$ , soluble serum TNF-receptor-2 concentrations and C-peptide level. *European Journal of Endocrinology*. 149 (2003). 129-135
- Xu, Jing. Lloyd, David J. Hale, Clarence. Stanislaus, Shanaka. Chen, Michelle. Sivits, Glenn. Vonderfecht, Steven. Hecht, Randy. Li, Yue-Sheng. Lindberg, Richard A. Chen, Jin-Long. Jung, Dae Young. Zhang, Zhiyou. Ko, Hwi-Jin. Kim, Jason K. and Veniant, Murielle M. (2009). Fibroblast Growth Factor 21 Reverses Hepatic Steatosis, Increases Energy Expenditure, and Improves Insulin Sensitivity in Diet-Induced Obese Mice. *Diabetes*. 58 (2009). 250-259
- Yang, Rui-li. Li, Wu. Shi, Yong-Hui and Le, Guo-Wei. (2008). Lipoic acid prevents high-fat diet-induced dyslipidemia and oxidative stress: A microarray analysis. *Nutrition*. 24 (2008). 582-588
- Yang, Yi. Li, Wang. Liu, Yang. Li, Yan. Gao, Ling and Zhao, Jia-jun. (2014). Alpha-lipoic acid attenuates insulin resistance and improves glucose metabolism in high fat diet-fed mice. *Acta Pharmacologica Sinica*. 35 (2014). 1258-1292
- Zou, Yuhong. Li, Jun. Lu, Chao. Wang, Jianqing. Ge, Jinfang. Huang, Yan. Zhang, Lei and Wang, Yuanyuan. (2006). High-fat emulsion-induced rat model of nonalcoholic steatohepatitis. *Life Sciences*. 79 (2006). 1100-1107