

معرفی و بهینه سازی یک مدل رژیم غذایی ایجاد کننده هایپرلیپیدمی در موش صحرایی

علیرضا امیرآبادی زاده (PhD)^۱، محسن فواد الدینی (PhD)^۲، سعید خاتم ساز (PhD)^{۳*}، مختار مختاری (PhD)^۴،
مهرداد شریعتی (PhD)^۱، مهران حسینی (BSc)^۲، فاطمه جلی پور (MSc)^۲

۱- گروه زیست شناسی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی

۲- مرکز تحقیقات بیماریهای قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند

۳- مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند

دریافت: ۹۶/۱۰/۱۳، اصلاح: ۹۵/۱۲/۴، پذیرش: ۹۶/۲/۲۰

خلاصه

سابقه و هدف: ایجاد هایپرلیپیدمی در حیوانات آزمایشگاهی با رژیم غذایی، روشی مناسب جهت تحقیق بر روی بیماریهای متابولیک می باشد. این مطالعه به منظور ارائه یک رژیم کارا و سهل الوصول جهت ایجاد مدل هایپرلیپیدمی و کبد چرب غیرالکلی در موش صحرایی انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (g ۱۸۰-۲۰۰) به ۵ گروه مساوی شامل ۲ گروه کنترل دریافت کننده رژیم معمولی به مدت ۴ (C1) یا ۸ هفته (C2) و ۳ گروه تجربی دریافت کننده رژیم پرچرب به همراه ۰/۲ (E1)، یا ۰/۱ درصد تیوبوراسیل (E2) به مدت ۸ و ۴ هفته (E3) تقسیم شدند. در پایان غلظت پلاسماهای کلسترول تام (TC)، LDL، HDL و تری گلیسیرید (TG) اندازه گیری و ارزیابی تجمع چربی در بافت کبد نیز بصورت کمی انجام شد.

یافته‌ها: همه گروههای تجربی در مقایسه با کنترل بطور معنی داری ($p < 0.001$) TG، TC، LDL بالاتر و HDL کمتری داشتند. فاکتور کلسترول در گروه های E1 ($133/0 \pm 66/4$) E2 ($146/17 \pm 84/16$) و E3 ($116/28 \pm 406/83$) بطور معنی داری بیشتر از گروه‌های C1 ($16/10 \pm 87/64$) و گروه C2 ($11/37 \pm 83/76$) بود ($p < 0.001$). درجه تجمع چربی در گروه‌های E1 ($3/70 \pm 0/34$) E2 ($3/45 \pm 0/32$) و E3 ($2/83 \pm 0/25$) در مقایسه با گروه C1 ($0/25 \pm 0/01$) و C2 ($0/33 \pm 0/03$) بطور معنی داری بیشتر بود ($p < 0.001$).

نتیجه‌گیری: رژیم غذایی پرچرب معرفی شده در این مطالعه می‌تواند ظرف زمان کوتاه ۴ هفته سبب ایجاد مدل هایپرلیپیدمی و کبد چرب غیر الکلی در موش صحرایی شود.

واژه‌های کلیدی: رژیم غذایی پرچرب، هایپرلیپیدمی، کبد چرب غیر الکلی، موش صحرایی.

مقدمه

تاکنون تلاش‌های فراوانی به منظور جایگزین نمودن مدل‌های حیوانی در بیماری‌های مختلف برای انسان انجام شده که از جمله می‌توان به مدل‌های حیوانی دیابت، آترواسکلروزیس، پارکینسون، هایپرلیپیدمی و... اشاره نمود (۱-۴). مدل‌های حیوانی ایده آل برای مطالعه بیماری‌های انسانی باید از نظر ویژگی‌های متعددی از جمله در دسترس بودن، قیمت و شباهت به شرایط انسان بهترین حالت ممکن را داشته باشند. لذا دسترسی سریع و مقرون به صرفه بودن تهیه این مدل‌ها، اولین گام در انجام مطالعات تجربی است. امروزه مدل‌های حیوانی متعددی جهت بررسی پاتوژنز سندروم متابولیک استفاده می‌شوند (۵). نخستین بار عنوان رژیم غذایی باچربی بالا، توسط Masek و همکاران در سال ۱۹۵۹ برای ایجاد هایپرلیپیدمی مطرح شد (۶). مطالعات بیشتر بیان کردند که رژیم غذایی با چربی بالا موجب افزایش قندخون و اثرات متعدد آنها بر عضلات و فیزیولوژی کبد می‌شود (۷). مدل‌های هایپرلیپیدمی در چند سال گذشته اغلب بر روی موش کوچک آزمایشگاهی، موش صحرایی، خوکچه هندی، خرگوش، کبوتر و بلدرچین انجام شده است.

تاکنون انواع رژیم‌های غذایی پرچرب با هدف رسیدن به مدل‌هایی با سطوح کلسترول، تری گلیسیرید و LDL بالا تهیه و استفاده شدند. تمامی این مدل‌ها بعد از زمان مشخصی نظیر ۶ یا ۸ هفته سبب ایجاد هایپرلیپیدمی می‌شوند که نتایج گزارشات ارائه شده در این مدل‌ها بسیار متنوع و پراکنده می‌باشد (۱۰-۷ و ۴). هم‌اکنون رژیم‌های غذایی متعددی جهت ایجاد چاقی و هایپرلیپیدمی در حیوانات بصورت تجاری بفروش می‌رسند. با توجه به گران بودن این رژیم‌های غذایی و وجود محدودیت‌های فراوان در تهیه آنها همواره پژوهشگران علاقمند به استفاده از یک رژیم ایجاد هایپرلیپیدمی بومی کارآمد و در دسترس بوده و هستند (۱۱). با توجه به این موضوع که استفاده از رژیم‌های پرچرب برای پژوهشگران داخلی به علت قیمت بالا و دسترسی دشوار همواره امکان پذیر نیست لذا هدف از این مطالعه تهیه یک رژیم غذایی پرچرب جهت ایجاد هایپرلیپیدمی و نشانگان کبد چرب غیر الکلی در موش صحرایی است که مواد آن در دسترس و ارزان و ساخت آن نیز ساده باشد و مهمتر از همه کارایی قابل قبول نیز داشته باشد.

این مقاله حاصل بخشی از پایان نامه آقای علیرضا امیرآبادی زاده دانشجوی دکتری رشته فیزیولوژی جانوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون می‌باشد.

*مسئول مقاله: دکتر سعید خاتم ساز

آدرس: کازرون، کیلومتر ۵ جاده کازرون-بوشهر، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، دانشکده علوم. تلفن: ۴۳۲۶۴۷۰۰ - ۴۳۲۶۴۷۰۰

E-mail: saeed1617@yahoo.com

مواد و روش‌ها

حیوانات آزمایشگاهی: این مطالعه تجربی پس از تصویب در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی بیرجند با کد IR.BUMS.REC.۱۳۹۵.۲۱۴ بر روی ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با دامنه وزنی (۱۸۰-۲۰۰ گرم) و سن ۵ هفته، خریداری شده از مرکز تحقیقات طب تجربی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند انجام گردید. حیوانات پس از گروه بندی به منظور تطابق با محیط جدید به مدت یک هفته بدون مداخله نگهداری شدند. در طول مدت زمان پژوهش حیوانات دسترسی آزاد به آب شهری سالم و رژیم غذایی مربوط به هر گروه را داشتند و در زمان مداخله در شرایط دمایی ۲۴-۲۰ درجه سانتی گراد، ۴۵-۳۵ درصد رطوبت و سیکل تاریکی-روشنایی ۱۲ ساعته درون قفس هایی از جنس پروپیلن (صنایع رازی راد-ایران) نگهداری شدند.

گروه بندی و طراحی آزمایش: حیوانات بطور تصادفی به ۵ گروه مساوی (هر گروه شامل ۸ سرموش) تقسیم شدند. گروه های اول و دوم به عنوان گروه های کنترل ۱ و ۲ کنترل ۲ به ترتیب به مدت ۴ (C1) و ۸ (C2) هفته با غذای معمول حیوانات آزمایشگاهی (شرکت جوانه خراسان، ایران) تیمار شدند. گروه های تجربی ۱ (E1) و تجربی ۲ (E2) به ترتیب با رژیم پرچرب شماره ۱ (H1) و شماره ۲ (H2) به مدت ۸ هفته تیمار شدند. گروه تجربی ۳ (E3) نیز به مدت ۴ هفته رژیم H2 را دریافت نمود. در این مطالعه ۲ نوع رژیم پرچرب تهیه شد که جزئیات مواد تشکیل دهنده آنها به شرح زیر می باشد:

رژیم پرچرب شماره ۱ (H1) حاوی ۶۶٪ آرد گندم، ۳۵٪ نشاسته ذرت، ۷٪ زرده تخم مرغ، ۶/۶٪ سبوس گندم، ۴٪ چربی حیوانی، ۱٪ کلسترول، ۱٪ نمک، ۲/۰٪ اسید کولیک + ۲/۰٪ تیئوراسیل می باشد.
 رژیم پرچرب شماره ۲ (H2) شامل ترکیبات رژیم H1 + ۱/۰ درصد تیئوراسیل می باشد.

رژیم غذایی مورد استفاده در این پژوهش براساس مطالعه Pengzhan و همکاران می باشد (۱۲) که با ایجاد تغییراتی در نوع و غلظت مواد تشکیل دهنده آن و همچنین مدت زمان مصرف در این مطالعه مورد ارزیابی قرار گرفت. در این رژیم اسید کولیک، کلسترول و نمک از شرکت مرک آلمان خریداری شد. از قرص پروپیل تیئوراسیل (شرکت ایران هورمون، ایران) جهت تامین تیئوراسیل استفاده شد. نشاسته ذرت، آرد گندم و سبوس گندم از فروشگاه های عرضه کننده لوازم قنادی تهیه شدند. چربی حیوانی استفاده شده در این رژیم از منبع چربی احشایی گوسفند استفاده گردید (شکل ۱).



شکل ۱. نمونه خوراک استفاده شده جهت ایجاد هاپرلیپیدمی

در پایان زمان مداخله (۴ یا ۸ هفته) حیوانات پس از بیهوشی با اتر مورد خونگیری قلبی قرار گرفته و بلافاصله بافت کبد آنها جدا گردیده و در محلول بافر فیکساتیو حاوی ۱۰ درصد فرمالین مورد تثبیت قرار گرفت. از نمونه های خون بدست آمده پلاسما تهیه شده و غلظت هورمون های T3، TSH و چربی های

خون (تری گلیسیرید، کلسترول تام، کلسترول با دانسیته پایین و کلسترول با دانسیته بالا) با استفاده از کیت های تشخیصی شرکت های بیونیک و پارس آزمون (ساخت ایران) و دستگاه اتوآنالایزر (Roche Hitachi 912, Japan) مورد سنجش قرار گرفتند. از لوب دوم فوقانی خارجی هر کبد نیز مقطع بافتی بروش معمول پاساژ بافتی تهیه و مورد رنگ آمیزی با روش هماتوکسیلین و اتوزین قرار گرفت. از هر موش سه لام و از هر مقطع ۴-۶ فیلد با استفاده از میکروسکوپ نوری (BB.1153-PLI EUROMEX, Netherland) مورد مشاهده قرار گرفت و با دوربین (Image Focus v2, Netherland) متصل به میکروسکوپ تصاویر با کیفیت ۳۰۰ dpi تهیه گردید. سپس نشانگان تجمع چربی در هپاتوسیت ها (نظیر بالونینگ، حضور سلول های کف آلود، واکتوله شدن و رسوب چربی) بر اساس روش توضیح داده شده توسط Brunt و همکاران مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۳). در این روش در هر تصویر درصد سلول های هپاتوسیت با نشانگان حضور چربی در آنها شمرده شده و براساس شدت درگیری در چهار گرید طبقه بندی می شود. گرید شماره ۱: هیچ نشانه ای از تجمع چربی در سلول وجود ندارد، گرید شماره ۲: حداکثر ۳۳ درصد از سلول های کبدی دارای نشانگان تجمع چربی باشند، گرید شماره ۳: بین ۳۳-۶۶ درصد سلول های کبدی دارای نشانگان تجمع چربی و گرید ۴: بیش از ۶۶ درصد سلول های کبدی دارای نشانگان بافت چربی باشند. در نهایت نتایج گرید بندی گروه ها با یکدیگر مورد مقایسه قرار گرفت.

آنالیز آماری: داده های بیوشیمیایی مربوط به گروه ها وارد نرم افزار آماری SPSS گردیدند، پس از تعیین توزیع داده ها با آزمون ANOVA مقایسه بین گروهی صورت پذیرفت و از آنجائیکه توزیع واریانس ها در بین گروه ها برابر بود از تست تعقیبی توکی جهت مقایسه دو به دو گروهی استفاده شد. گروه ها بر اساس مدت زمان تیمار به صورت متناظر با گروه کنترل مربوط به خود مورد مقایسه قرار گرفتند و $p < 0.05$ معنی دار تلقی گردید.

یافته‌ها

مقایسه میانگین چربی های خون در گروه های مختلف نشان داد که در تمام پارامترها تفاوت معنی دار بین گروه ها وجود دارد (همگی $p < 0.001$). همچنین در هیچ یک از سطوح چربی های خون بین گروه های کنترل ۴ هفته (C1) و ۸ هفته (C2) تفاوت معنی داری وجود نداشت. پس از ۸ هفته تیمار با رژیم های غذایی پر چرب، میانگین تری گلیسیرید پلاسما در گروه E1 ($p = 0.003$)، $98/83 \pm 16/85$ و گروه E2 ($p = 0.011$) $68/00 \pm 4/92$ بطور معنی داری در مقایسه با گروه C2 ($50/87 \pm 6/10$) افزایش یافته بود. علاوه بر این در گروه E3 میانگین تری گلیسیرید پلاسما ($p = 0.021$) $63/50 \pm 3/78$ بطور معنی داری بیشتر از گروه C1 ($48/33 \pm 7/94$) بود (جدول ۱). مقایسه سطوح کلسترول بین گروه ها نشان داد که اختلاف فاحشی بین گروه های مورد مطالعه وجود داشت. درحالیکه مقایسه گروه های کنترل با یکدیگر تفاوت معنی داری را نشان نداد، اما موش های دریافت کننده رژیم های پرچرب بطور چشمگیری کلسترول بالاتری در مقایسه با گروه های کنترل داشتند. بالاترین سطح کلسترول ($146/14 \pm 8/84$) مربوط به موش های گروه E2 بود که رژیم H2 را به مدت هشت هفته دریافت کرده بودند که در مقایسه با گروه C2 ($76/83 \pm 11/37$) بیش از دوازده برابر افزایش یافته بود ($p < 0.0001$). مقادیر کلسترول گروه E1 نیز بطور معنی داری در مقایسه با گروه C2 ($p < 0.0001$) بیشتر بود. موش های

کنترل افزایش دادند بطوریکه میانگین غلظت پلاسمایی TSH در گروه E1 (0.25 ± 0.01) بطور معنی داری بیشتر از گروه های C1 ($p < 0.0001$)، E2 (0.106 ± 0.039)، E3 (0.222 ± 0.02) و ($p = 0.025$)، E3 (0.17 ± 0.03)، $p < 0.0001$) بود (نمودار ۲).

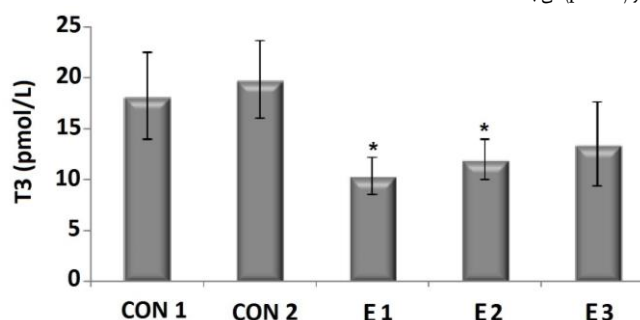
بررسی بافت شناسی کبد نشانگر وجود اختلاف چشمگیر در تجمع ذرات چربی در بین گروه های مختلف بود. نمونه میکروگراف های بافت کبد مربوط به گروه های مختلف در شکل ۲ ارائه شده است. مقایسه بین گروهی گریدهای استئاتوز کبدی در نمودار ۳ ارائه شده است. گروه های دریافت کننده رژیم های هایپرلیپیدمیک بطور معنی داری درجه بالاتری از استئاتوز کبدی را در مقایسه با گروه های کنترل داشتند. گروه E1 که به مدت هشت هفته رژیم H1 را دریافت کرده بود بالاترین گرید استئاتوز را (3.70 ± 0.34) در بین گروه های تجربی داشت که در مقایسه با گروه های C2 (0.25 ± 0.014)، E3 و ($p = 0.0001$)، $p = 0.002$) بود. بطور معنی داری بیشتر بود.

گروه E3 نیز بطور متوسط سطح کلسترول حدود ۶ برابر ($406/83 \pm 116/28$) گروه C1 ($44/33 \pm 4/63$) داشتند که این تفاوت از نظر آماری معنی دار بود ($p < 0.0001$). علاوه بر تری گلیسیرید و کلسترول تیمار موش ها با هر دو رژیم پرچرب (H1, H2) هم در ۴ هفته و هم در ۸ هفته سبب افزایش معنی دار سطوح LDL-C و کاهش معنی دار HDL-C در آنها گردید ($p < 0.05$). در بین گروه های کنترل هیچ تفاوت معنی داری در هورمونهای T3 و TSH وجود نداشت. بررسی و مقایسه میانگین هورمون T3 در بین گروه ها نشان داد که سطح آن در موش های تیمار شده با رژیم های هایپرلیپیدمیک در مقایسه با گروه های کنترل کاهش پیدا کرده است. بیشترین کاهش در گروه E1 ($10/35 \pm 1/80$) مشاهده شد که در مقایسه با گروه C2 ($p = 0.002$)، E2 ($19/88 \pm 3/80$) بطور معنی داری کمتر بود اما در قیاس با گروه های E3 ($p = 0.83$) و ($p = 0.36$) تفاوت معنی داری نداشت (نمودار ۱). بطور کلی رژیم های غذایی همگی هورمون TSH را در موش ها در مقایسه با گروه های

جدول ۱. میانگین مقادیر چربی های خون در گروه های مورد مطالعه

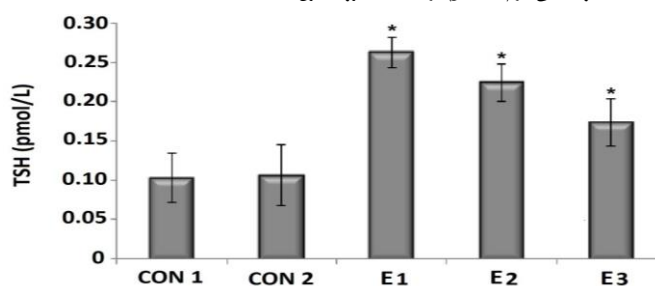
گروه	تری گلیسیرید Mean±SD	کلسترول تام Mean±SD	LDL کلسترول Mean±SD	HDL کلسترول Mean±SD
C1	44/33±4/63	64/87±16/10 a	44/33±4/63	26/33±3/32
C2	45/87±6/10	76/82±11/37 a	49/16±3/42	27/25±4/34
E1	98/83±16/85	642/66±133/01	602/83±128/34	16/16±1/47 b
E2	68/00±4/92	848/16±146/17	679/66±181/85	16/16±2/22
E3	63/50±3/78	406/83±116/28	369/50±119/36	17/66±5/60

C1: گروه کنترل دریافت کننده رژیم غذایی معمولی برای ۸ هفته؛ C2: گروه کنترل دریافت کننده رژیم هایپرلیپیدمی (حاوی ۰/۲ درصد تیئوراسیل) به مدت ۸ هفته؛ E2: دریافت کننده رژیم هایپرلیپیدمی (حاوی ۰/۱ درصد تیئوراسیل) به مدت ۸ هفته؛ E3: دریافت کننده رژیم هایپرلیپیدمی (حاوی ۰/۱ درصد تیئوراسیل) به مدت ۴ هفته (a, b, c). حروف مشابه در هر ستون نشانگر عدم اختلاف و حروف غیر مشابه نشانگر اختلاف معنی دار ($p < 0.05$) می باشد.



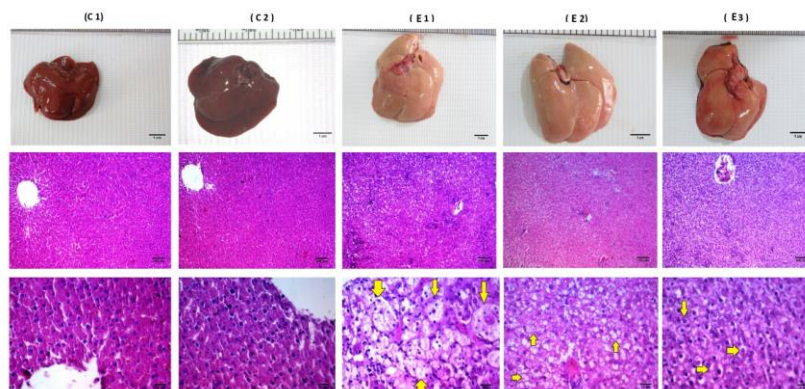
نمودار ۱. مقایسه میانگین هورمون تیروئید تیرونین (T3) در گروه های مورد مطالعه

مقادیر بصورت انحراف معیار میانگین برای ۸ سر موش صحرایی برای هر گروه ارائه شده است. C1: گروه کنترل دریافت کننده رژیم غذایی معمولی برای ۸ هفته؛ C2: گروه کنترل دریافت کننده رژیم غذایی معمولی برای ۴ هفته؛ H1: دریافت کننده رژیم هایپرلیپیدمی (حاوی ۰/۲ درصد تیئوراسیل) به مدت ۸ هفته؛ H2: دریافت کننده رژیم هایپرلیپیدمی (حاوی ۰/۱ درصد تیئوراسیل) به مدت ۸ هفته؛ H3: دریافت کننده رژیم هایپرلیپیدمی (حاوی ۰/۱ درصد تیئوراسیل) به مدت ۴ هفته *تفاوت معنی دار ($p \leq 0.05$) در مقایسه با گروه کنترل.

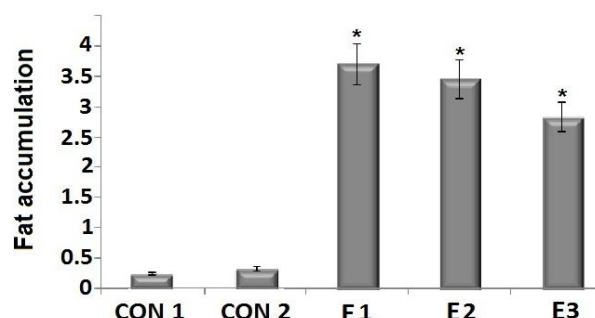


نمودار ۲. مقایسه میانگین هورمون محرک تیروئید (TSH) در گروه های مورد مطالعه

مقادیر بصورت انحراف معیار میانگین برای ۸ سر موش صحرایی برای هر گروه ارائه شده است. C1: گروه کنترل دریافت کننده رژیم غذایی معمولی برای ۸ هفته؛ C2: گروه کنترل دریافت کننده رژیم غذایی معمولی برای ۴ هفته؛ H1: دریافت کننده رژیم هایپرلیپیدمی (حاوی ۰/۲ درصد تیئوراسیل) به مدت ۸ هفته؛ H2: دریافت کننده رژیم هایپرلیپیدمی (حاوی ۰/۱ درصد تیئوراسیل) به مدت ۸ هفته؛ H3: دریافت کننده رژیم هایپرلیپیدمی (حاوی ۰/۱ درصد تیئوراسیل) به مدت ۴ هفته *تفاوت معنی دار ($p \leq 0.05$) در مقایسه با گروه کنترل.



شکل ۲. نمای ماکروسکوپی (ردیف اول) و میکروسکوپی کبد (ردیف دوم و سوم) [بزرگنمایی $100\times$ (ردیف دوم) و بزرگنمایی $400\times$ (ردیف سوم)]. رنگ آمیزی شده با تکنیک هماتوکسیلین و اتوزین. C1: گروه کنترل دریافت کننده رژیم غذایی معمولی برای ۴ هفته؛ E1: دریافت کننده رژیم هایپرلیپیدمی (حاوی ۰/۲ درصد تیوراسیل) به مدت ۸ هفته؛ E2: دریافت کننده رژیم هایپرلیپیدمی (حاوی ۰/۱ درصد تیوراسیل) به مدت ۸ هفته؛ E3: دریافت کننده رژیم هایپرلیپیدمی (حاوی ۰/۱ درصد تیوراسیل) به مدت ۴ هفته. فلش های زرد رنگ نشانگر تجمع چربی در سلول های کبدی می باشد.



نمودار ۳. مقایسه میانگین ایندکس تجمع قطره های چربی در بافت کبد در گروه های مورد مطالعه

مقادیر بصورت انحراف معیار $\pm$ میانگین برای ۸ سر موش صحرایی برای هر گروه ارائه شده است. C1: گروه کنترل دریافت کننده رژیم غذایی معمولی برای ۴ هفته؛ E1: دریافت کننده رژیم هایپرلیپیدمی (حاوی ۰/۲ درصد تیوراسیل) به مدت ۸ هفته؛ E2: دریافت کننده رژیم هایپرلیپیدمی (حاوی ۰/۱ درصد تیوراسیل) به مدت ۸ هفته؛ E3: دریافت کننده رژیم هایپرلیپیدمی (حاوی ۰/۱ درصد تیوراسیل) به مدت ۴ هفته *تفاوت معنی دار ($P \leq 0.05$) در مقایسه با گروه کنترل.

بحث و نتیجه گیری

Elhemely را دریافت کرده بودند؛ کلسترول تام حدود ۸ برابر، تری گلیسیرید ۲ برابر و $LDL-C$ ۱۲ برابر افزایش یافت و $HDL-C$ نیز حدود ۶۰ درصد کاهش نشان داد. از این رو می توان استنباط کرد که نتایج استفاده از این رژیم غذایی قابل تکرار بوده و حتی می توان بر اساس نیاز با تغییر در مدت زمان مداخله به حد مطلوب هایپر لیپیدمی در حیوانات دست یافت. مطالعه Fatemi و همکاران، ۸ هفته رژیم غذایی پرچرب حاوی کلسترول، دانه، کازئین، مخمر و نمک منجر به افزایش معنی داری در میزان کلسترول تام و $LDL-C$ گردید (۱۵). اما در مقایسه با پژوهش حاضر افزایش پارامتر های ذکر شده بسیار کمتر بود. Homayounfar و همکاران به منظور ایجاد مدل سندرم، به مدت ۱۲ هفته رژیم غذایی پرکالری با منشا چربی نشخوار کنندگان را تجویز نمودند و نهایتاً تفاوت محسوسی در وزن و پروفایل های لیپیدی موش های صحرایی گروه هایپر و کنترل مشاهده گردید، اما افزایش چربی های خون در مقایسه با این مطالعه خیلی کمتر بود بطوریکه در مطالعه یاد شده میانگین کلسترول تام در گروه دریافت کننده رژیم پرچرب بعد از ۱۲ هفته 60.70 ± 6.88 میلی گرم بر دسی لیتر بود (۱۶) در حالیکه در این پژوهش گروه تجربی ۳ که دریافت کننده ضعیف ترین و کوتاه مدت ترین رژیم پیشنهاد شده در این پژوهش بود میانگین کلسترول تام $40.6/83 \pm 11.6/28$ میلی

یافته های این پژوهش نشان داد که در تمام گروه های تجربی مقادیر چربی های خون موش ها بطور معنی داری افزایش یافته بود. این نتایج نشان داد که در مدت زمان کمتر و دوز کمتر تیوراسیل (گروه E3) نیز می توان با استفاده از این رژیم غذایی به هایپرلیپیدمی مطلوب دست یافت. بررسی بافت شناسی کبد نیز نشان داد که تغییرات مبنی بر ایجاد استئاتوز کبدی در گروه های تجربی در مقایسه با گروه های کنترل مشاهده گردید که بیشترین درجه تجمع ویزیکولهای چربی در گروه E1 که بمدت هشت هفته با رژیم H1 تیمار شده بود، مشاهده شد. Elhemely و همکاران به منظور ایجاد مدل هایپرلیپیدمی به مدت ۷ هفته موش های صحرایی را با یک رژیم غذایی حاوی ۱ درصد کلسترول، ۰/۲ درصد اسید کولیک، ۰/۲ درصد متیل تیوراسیل، ۷ درصد زرده تخم مرغ، ۴ درصد پیه گاو، ۱ درصد کلرید سدیم، ۴۵ درصد آرد گندم، ۶/۶ درصد سبوس گندم، ۳ درصد نشاسته ذرت تیمار کردند (۱۴). نتایج پژوهش آنها نشان داد که رژیم غذایی مربوطه توانست بطور معنی داری کلسترول تام، تری گلیسیرید و $LDL-C$ را افزایش (افزایش ۵ برابری کلسترول تام، ۲ برابری تری گلیسیرید، حدود ۸ برابری LDL و $HDL-C$ را کاهش (بیش از ۵۰٪) دهد. یافته های مطالعه ما نیز نتایج مشابهی را نشان داد بنحوی که در گروه E1 که رژیم مشابه مطالعه

رژیم کاهش یافته بود. بدین معنی که موش های دریافت کننده رژیم به هیپوتیروئیدیسم نیز مبتلا شده بودند هرچند در گروه E3 این نشانگان بسیار خفیف تر بود. بررسی های اخیر نشان دادند که کبد و تیروئید در متابولیسم چربی ها و هموستاز بصورت پیچیده و تنگاتنگی ایفای نقش می کنند به نحوی که حیوانات دچار هیپوتیروئیدی سطح کلسترول بالاتری در مقایسه با موش های صحرایی با عملکرد نرمال غده تیروئید دارند(۲۰). یافته های این پژوهش نشان داد که رژیم غذایی معرفی شده در این تحقیق با ایجاد هایپرلیپیدمی شدید و استئاتوز کبدی در موش های صحرایی می تواند برای پژوهشگران علاقه مند به حیطه متابولیسم و مدل های حیوانی ایجاد هایپرلیپیدمی به عنوان یک روش ارزان، سهل الوصول و با کار آیی بالا مورد استفاده قرار گیرد.

تقدیر و تشکر

این پژوهش در فضای آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، مرکز تحقیقات طب تجربی اجرا شده است. نویسندگان از همکاری معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی بیرجند تشکر می نمایند.

گرم بر دسی لیتر را نشان داد. مهمترین شاخصه پاتولوژیک کبد چرب، تجمع چربی (فرم تری گلیسیرید) درون سلول های کبد می باشد که استئاتوز نامیده می شود. استئاتوز کبدی نهایتاً می تواند به سیروز کبدی و یا نارسایی کامل کبدی ختم شود (۱۷). برای تشخیص استئاتوز کبدی باید حداقل بیش از ۵ درصد سلول های کبدی دارای علائمی دال بر تجمع چربی باشند (۱۸). در این مطالعه بین ۳۳-۶۶ درصد سلول های کبدی موش های دریافت کننده رژیم هایپرلیپیدمی دارای علائم تجمع چربی بودند که بیشترین وسعت درگیری در گروه E1 و کمترین مربوط به گروه E3 بود. در مطالعه Meli و همکاران برای ایجاد کبد چرب در موش های صحرایی از رژیم پرچرب خریداری شده از کمپانی Gessate ایتالیا استفاده نموده بودند که در آن رژیم ۵۸ درصد انرژی توسط منبع چربی تامین می گردید. محققین در پژوهش یاد شده به مدت ۵ و ۸ هفته حیوانات را با رژیم پرچرب تیمار کردند و در نهایت نتایج بافت شناسی کبد نشان داد که رژیم مذکور در ۵ هفته توانسته بود حدود ۵۰ درصد و در ۸ هفته بیش از ۶۶ درصد سلول های کبد را دچار آسیب تجمع چربی نماید(۱۹). یافته های این مطالعه نشان داد که TSH در گروه های دریافت کننده رژیم هایپرلیپیدمی بطورمعنی دار و وابسته به دوز تیوبوراسیل و زمان مداخله افزایش یافت و به همین ترتیب T3 در گروه های دریافت کننده

Introduction and Optimization of a Dietary Model for Inducing Hyperlipidemia in Rats

A. Amirabadizadeh (PhD)¹, M. Foaddodini (PhD)², S. Khatamsaz (PhD)^{*1}, M. Moktari (PhD)¹,
M. Shariati (PhD)¹, M. Hosseini (BSc)³, F. Hajipoor (MSc)²

1. Department of Biology, Islamic Azad University, Kazerun Branch, Kazerun, I.R.Iran

2. Cardiovascular Diseases Research Center, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, I.R.Iran

3. Cellular and Molecular Research Center, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 19(7); Jul 2017; PP: 35-41

Received: Jan 3rd 2017, Revised: Feb 22th 2017, Accepted: May 10th 2017.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Inducing hyperlipidemia in laboratory animals through diet is a good way to study metabolic disorders. This study was conducted to provide an effective and accessible diet for generating hyperlipidemia and non-alcoholic fatty liver models in rats.

METHODS: In this experimental study, 40 male Wistar rats (180-200 g) were divided into 5 equal groups including 2 control groups receiving regular diet for 4 (C1) or 8 weeks (C2), and 3 experimental groups receiving high fat diet along with 0.2% (E1) or 0.1% thiouracil (E2) for 8 and 4 weeks (E3). Finally, the concentration of total cholesterol (TC), LDL, HDL, and triglyceride (TG) was measured and the fat accumulation in the liver tissue was measured quantitatively.

FINDINGS: All experimental groups had significantly higher TC, TG, LDL and lower HDL compared to control ($p < 0.0001$). The cholesterol level was significantly higher in E1 (642.66 ± 133.01), E2 (848.16 ± 146.17) and E3 (406.83 ± 116.28) groups, compared with the C1 (64.87 ± 16.10) and C2 (76.83 ± 11.37) groups ($p < 0.0001$). The degree of fat accumulation in the groups E1 (3.70 ± 0.34), E2 (3.45 ± 0.32) and E3 (2.83 ± 0.25) was significantly higher than the groups C1 (0.25 ± 0.01) and C2 (0.33 ± 0.03) ($p < 0.0001$).

CONCLUSION: The high-fat diet introduced in this study can cause hyperlipidemia and non-alcoholic fatty liver rats within 4 weeks.

KEY WORDS: High-fat diet, Hyperlipidemia, Non-alcoholic fatty liver, Rat

Please cite this article as follows:

Amirabadizadeh A, Foaddodini M, Khatamsaz S, Moktari M, Shariati M, Hosseini M, Hajipoor F. Introduction and Optimization of a Dietary Model for Inducing Hyperlipidemia in Rats. J Babol Univ Med Sci. 2017;19(7):35-41.

***Corresponding author: S.Khatamsaz (PhD)**

Address: Kazerun Branch, Islamic Azad University, the 5th kilometer of Kazerun-Bushehr road, Kazerun, I.R.Iran

Tel: +98 34 4326700

E-mail: Saeed1617@yahoo.com

References

1. Gajda AM, Pellizzon MA, Ricci MR, Ulman EA. Diet-induced metabolic syndrome in rodent models. *Animal Lab New*. 2007;74:775-93.
2. Shahi S, Ebrahimi VKS, Hami J, Hosseini M, Lotfi N, Afshar M. Comparison of the intranasal and intraperitoneal injection of MPTP on density of dark neurons in pars compacta of substantia nigra in animal model of Parkinson's disease. *J Gorgan Uni Med Sci*. 2015;17(3):55-61. [In Persian].
3. HassanpourFard M, Naseh G, Lotfi N, Hosseini M. Effect of aqueous extract of turnip root on glucose and lipid profile in Alloxan induced diabetic rats. *J Gorgan Uni Med Sci*. 2016;17(4):36-41.
4. Vafaei nejad S, Serki E, Hassanpour fard M, Hosseini M. Hypolipidemic activity of aqueous extract of turnip (*Brassica rapa*) root in hyperlipidemic rats. *Horizon Med Sci*. 2015;21(1):45-51.
5. Ghiravani Z, Hosseini M, Hassanzadeh Taheri MM, Fard MH, Abedini MR. Evaluation of hypoglycemic and hypolipidemic effects of internal septum of walnut fruit in Alloxan-induced diabetic rats. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 2016;13(2):94-100.
6. Mašek J, Fabry P. High-fat diet and the development of obesity in albino rats. *Experientia*. 1959;15(11):444-5.
7. Buettner R, Parhofer K, Woenckhaus M, Wrede C, Kunz-Schughart L, Schölmerich J, et al. Defining high-fat-diet rat models: metabolic and molecular effects of different fat types. *J Mol Endocrinol*. 2006;36(3):485-501.
8. Dourandishan M, Hossieni M, Malekaneh M, Bagherzade G. Effect of *Otostegia persica*'s root extract on the blood biochemical factors in diabetic hyperlipidemic rats. *Horizon Med Sci*. 2014;20(1):17-21.
9. Gao Y, Li K, Tang S, Xiao Y. Study on animal models for hyperlipidemia. *J Hygiene Res*. 2002;31(2):97-9.
10. 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.
11. Efati M, Khorrami M, Zarei Mahmmoudabadi 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. [In Persian].
12. Pengzhan Y, Ning L, Xiguang L, Gefei Z, Quanbin Z, Pengcheng L. Antihyperlipidemic effects of different molecular weight sulfated polysaccharides from *Ulva pertusa* (Chlorophyta). *Pharmacol Res*. 2003;48(6):543-9.
13. Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol*. 1999;94(9):2467-74.
14. Elhemely MA, Omar HA, Ain-Shoka AA, El-Latif HAA, Abo-youssef AM, El Sherbiny GA. Rosuvastatin and ellagic acid protect against isoproterenol-induced myocardial infarction in hyperlipidemic rats. *Beni-seuf Univ J Appl Sci*. 2014;3(4):239-46.
15. Fatemi Tabatabaei SR, Shahriari A, Abaszadeh M. Effect of vitamin c on the obesity indices of high fat fed diet rats. *Jundishapur Sci Med J*. 2014;1(13):1.
16. Homayounfar R, Ehrampoush E, Koohpaye SA, Meshkibaf MH, Taghizade S, Almasi A, et al. Diet-induced metabolic syndrome model in rats. *J Fasa Univ Med Sci*. 2013;2(4):288-96.
17. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice guideline by the american association for the study of liver diseases, american college of gastroenterology, and the american gastroenterological association. *Hepatology*. 2012;55(6):2005-23.
18. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2005;41(6):1313-21.
19. Meli R, Mattace Raso G, Irace C, Simeoli R, Di Pascale A, Paciello O, et al. High fat diet induces liver steatosis and early dysregulation of iron metabolism in rats. *Plos One*. 2013; 21;8(6):e66570.
20. Welch-White V, Dawkins N, Graham T, Pace R. The impact of high fat diets on physiological changes in euthyroid and thyroid altered rats. *Lipids Health Dis*. 2013;12(1):1.