مقاله تحقیقی

مجله دانشگاه علوم پزشکی بابل

سال ۱۳۹۸، دوره ۲۱، صفحه ۳۳-۲۷

بررسی اثر سیلی مارین بر بیان ژن های اوروتنسین ۲ و گیرنده آن در بافت کبد رت‌های دیابتی تیپ ۲

نجات خیری پور (PhD)[۱]، جمشید کریمی (PhD)[۲*]، حیدر طویلانی (PhD)[۲]، ایرج خدادادی (PhD)[۲]، محمد تقی گودرزی (PhD)[۲]

۱-مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری‌های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۲-گروه بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

دریافت: ۹۷/۶/۱۵، اصلاح: ۹۷/۹/۳، پذیرش: ۹۷/۹/۲۰

خلاصه

سابقه و هدف: مطالعات نشان می‌دهند که افزایش U-II با اختلالات دیابت مرتبط می‌باشد. با توجه به اینکه داروهای گیاهی برای درمان بیماری نسبت به بسیاری از داروهای شیمیایی عوارض کمتری دارند، در این مطالعه اثر سیلی‌مارین بر سطوح گلوکز، انسولین و بیان ژن‌های U-II و گیرنده اوروتنسین۲ (U-II R) در رت‌های نر دیابتی تیپ۲ مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی ۳۶رت نر ویستار آلبینو به‌صورت تصادفی به ۶ گروه ۶ تایی تقسیم شدند؛ ۱- گروه کنترل، ۲و ۳-گروه‌های کنترل درمان شده با سیلی‌مارین دوز mg/kg/day ۱۲۰و۶۰، ۴-گروه دیابتی تیپ ۲ که از طریق تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین ۶۰mg/kg و نیکوتین آمید ۱۲۰ mg/kg دیابتی شده و گروه‌های ۵ و ۶-دیابتی درمان شده با سیلی‌مارین دوز ۱۲۰mg/kg/day و ۶۰، این درمان به مدت ۶۰ روز ادامه یافت. در پایان نمونه سرم و بافت کبد جمع‌آوری شد. گلوکز، انسولین، شاخص HOMA-IR و آنزیم‌های کبدی در نمونه سرم با روش اسپکتروفتومتری و الایزا، و بیان ژن در بافت کبد با روش Real-time PCR مورد ارزیابی قرار گرفتند.

یافته ها: در گروه‌های دیابتی تحت درمان با سیلی‌مارین (۱۲۰و۶۰ mg/kg) به ترتیب ۱/۱۱±۹/۶ و ۰/۹۶±۹/۸ در مقایسه با گروه دیابتی کنترل؛ انسولین ۰/۴۷±۱۱/۴۶ به طور معنی‌داری افزایش یافت (p<۰/۰۵). همچنین سطح گلوکز، HOMA-IR، آنزیم‌های کبدی، بیان ژن‌های U-II و U-II R در گروه های دیابتی تیمار شده با سیلی مارین به طور معنی‌داری نسبت به گروه دیابتی کنترل کاهش نشان داد (p<۰/۰۵).

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان داد که تجویز سیلی‌مارین باعث بهبود عملکرد کبد در موش‌های دیابتی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: دیابت ملیتوس، سیلی‌مارین، اوروتنسین ۲، گیرنده اوروتنسین ۲، کبد.

مقدمه

بیماری دیابت، یکی از اختلالات مهم متابولیک می‌باشد. این بیماری، به دلایل مختلفی نظیر کاهش ترشح انسولین و یا مقاومت به عملکرد این هورمون ایجاد می‌شود (۱). در سال۲۰۱۷ شیوع جهانی دیابت، ۳۸۲ میلیون نفر بود و این میزان به ۵۹۲ میلیون نفر در سال ۲۰۳۵ افزایش خواهد داشت، متاسفانه این افزایش در کشورهای در حال توسعه از جمله کشور ما چشمگیرتر است (۲). دیابت به عنوان یکی از عوامل اصلی شیوع اختلالات کبدی محسوب می‌شود (۳). اوروتنسین۲ (Urotensin-II (U-II)) با ۱۱ اسیدآمینه به‌عنوان قوی‌ترین عامل انقباض عروق در پستانداران شناسایی شده است. در انسان U-II mRNA در بافت‌های قلب، کبد، کلیه‌ها، غدد آدرنال، جفت، طحال و غدد تیموس کشف شده است (۴). مولکول U-II از طریق رسپتورش که G protein-coupled receptor است اعمال خود را انجام می‌دهد. سیستم U-II و U-II R در ایجاد مقاومت به انسولین، اختلال در تحمل گلوکز، اختلال در انتقال گلوکز از طریق GLUT4 به عضله، اختلال در عملکرد سلول‌های بتای پانکراس و ایجاد دیابت تیپ۲ موثر است (۵). بنابراین، سیستم U-II و U-II R یک هدف درمانی بالقوه در درمان اختلالات حاصل از دیابت است. سیلی‌مارین (Silymarin) مهمترین ماده موثره گیاه ماریتیغال یا خارمریم با نام علمی *Silybummarianum* می‌باشد که از گروهی از مواد شیمیایی به نام فلاونولیگنان‌ها تشکیل شده است (۷و۶). بذر این گیاه برای قرن‌ها به عنوان یک داروی مفید کم‌ضرر در درمان بیماری‌های کبدی استفاده و از سال ۱۹۷۰ به صورت داروی کارخانه‌ای تولید و مصرف شده است (۳). با توجه به اهمیت U-II و U-II R و اینکه اخیراً بعنوان یک هدف درمانی جدید

این مقاله حاصل پایان نامه نجات خیری پور دانشجوی دکتری بیوشیمی بالینی و طرح تحقیقاتی به شماره ۹۵۰۵۰۵۲۶۱۷ دانشگاه علوم پزشکی همدان می‌باشد.

* مسئول مقاله: دکتر جمشید کریمی

آدرس: همدان، دانشگاه علوم پزشگی همدان، دانشکده پزشکی، گروه بیوشیمی بالینی. تلفن: ۳۸۳۸۰۲۵۴ -۰۸۱

E-mail: jamshidkarimi2013@gmail.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1398.21.1.5.0]

[DOI: 10.22088/jbums.21.1.27]

در بیماری‌های متابولیک مورد توجه قرار گرفته است، پیدا کردن ترکیبات مخصوصا با منبع گیاهی که در مسیرهای مربوط به این هورمون دخیل هستند، از اهمیت بسزایی برخوردار است. بنابراین، مطالعه حاضر با هدف بررسی تاثیر سیلی‌مارین بر میزان گلوکز، انسولین، HOMA-IR، آنزیم‌های کبدی و بیان ژن‌های U-II و U-II R در بافت کبد رت‌های نر دیابتی تیپ ۲ انجام شده است.

مواد و روش ها

این مطالعه تجربی پس از تصویب در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی همدان با کد IR.UMSHA.REC.1395.205 بر روی ۳۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (۱۰±۲۲۰ گرم) انجام شد. حیوانات در شرایط حیوانخانه با دسترسی آزاد به آب و غذا و برخوردار بودن از ۱۲/۱۲ ساعت روشنایی/تاریکی نگهداری شدند. سپس حیوانات به طور تصادفی به ۶ گروه ۶ تایی شامل گروه کنترل: تغذیه ساده، گروه‌های کنترل درمان شده با سیلی‌مارین دوز ۱۲۰mg/kg و۶۰ گروه دیابتی تیپ۲، گروه‌های دیابتی تیپ ۲ درمان شده با سیلی‌مارین دوز ۱۲۰mg/kg و۶۰ به مدت ۶۰ روز تقسیم شدند. جهت القای دیابت تیپ۲ از پودر استرپتوزوتوسین (STZ) و نیکوتین‌آمید (NIC) استفاده گردید. ۱۵ دقیقه بعد از تزریق ۶۰ mg/kg استرپتوزوتوسین، نیکوتین‌آمید با دوز ۱۲۰mg/kg بصورت داخل صفاقی به رت‌ها تزریق شد. برای تایید دیابت، ۷ روز بعد، نمونه قند خون با گلوکومتر اندازه‌گیری شد.

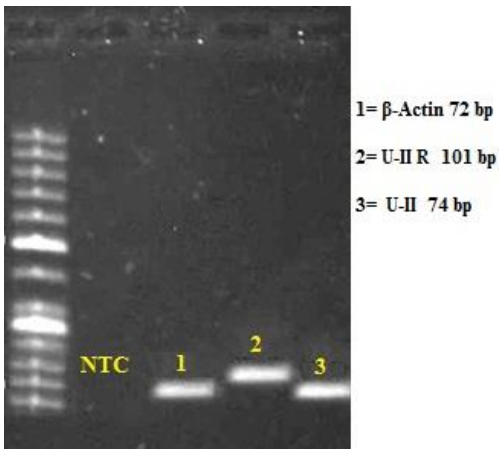
رت‌های دارای قند خون بالای۱۵۰ وارد مطالعه شدند. سپس دوره تیمار با سیلی‌مارین (قرص لیورگل بصورت سوسپانسیون در نرمال سالین و یک بار در روز بمدت ۶۰ روز بصورت گاواژ دهانی) شروع گردید (۸). تمام نکات کار با حیوانات بر اساس راهنمای اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد. در پایان مطالعه رت‌ها پس از یک شب ناشتایی، با کتامین (۵۰ mg/kg) بیهوش شدند و نمونه سرم جهت اندازه‌گیری آنزیم‌های کبدی و انسولین جداسازی و نگهداری گردید. همچنین بافت کبد در دمای منفی ۸۰°C تا زمان انجام آزمایشات بیان ژن نگهداری شد.

اندازه‌گیری میزان گلوکز، انسولین و HOMA-IR: میزان گلوگز ناشتا توسط دستگاه گلوکومتر Accu-Chek ساخت کشور آلمان از طریق خون‌گیری از ورید دمی اندازه‌گیری شد. انسولین با استفاده از کیت الایزای شرکت مرکودیا، ساخت کشور سوئد اندازه‌گیری شد. شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR) با استفاده از فرمول زیر مورد ارزیابی قرار گرفت (۴).

HOMA-IR=Fasting insulin (µU/ml) x Fasting glucose (mg/dl) /405

اندازه‌گیری آنزیم‌های کبدی: سطوح سرمی آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و آلکالین آمینوترانسفراز (ALP) با کیت شرکت پارس‌آزمون با روش رنگ‌سنجی با دستگاه اسپکتروفتومتر در حالت ناشتا تعیین شد.

بررسی بیان ژن‌های U-II و U-II R: جهت بررسی بیان ژن‌های U-II و U-II R ابتدا استخراج RNA توسط محلول RNX-Plus شرکت سیناکلون انجام گرفت. کیفیت و کمیت RNA استخراج شده توسط الکتروفورز و نانودراپ تعیین شد (شکل۱).



شکل ۱. الکتروفورز محصول ژن‌های U-II، U-II R و β-Actin در کنار Ladder 100bp بر روی الکتروفورز آگارز ۱٪

سپس سنتز cDNA توسط کیت تاکارا انجام گردید. در ادامه میزان یک میکروگرم از cDNA سنتز شده وارد واکنش Real time PCR گردید که با کمک کیت سایبرگرین شرکت تاکارا انجام گرفت. پرایمرهای مورد نیاز جهت انجام واکنش توسط نرم افزار Primer 3 طراحی گردید (جدول۱)، همچنین از β- Actin به عنوان ژن رفرانس (House Keeping) استفاده شد. در انتها نتایج به روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ مورد آنالیز قرار گرفتند(۹).

آنالیز آماری: داده‌ها پس از جمع‌آوری با استفاده از نرم افزار SPSS-16 و آزمون تحلیل واریانس (ANOVA) و Post Hoc توکی تجزیه و تحلیل شدند و $p<۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد. جهت تأیید برخورداری متغیرهای مطالعه از وضعیت نرمال از آزمون کولموگروف–اسمیرنوف استفاده شد.

جدول ۱. اطلاعات پرایمرهای مورد استفاده

نام ژن		توالی پرایمر('3->'5)	طول پرایمر (bp)	طول محصول(bp)
Urotensin II	Forward	5′GTCGTCATGGACAGGGTG3′	۱۸	۷۴
	Reverse	5′GAGGGTTTATTTCTCATAGTGG3′	۲۲	
Urotensin II receptor	Forward	5′GCACGCCAGCATCTTCAC3′	۱۸	۱۰۱
	Reverse	5′TGGTCCCAAAGAGCAACG3′	۱۸	
β- Actin	Forward	5′CCCGCGAGTACAACCTTCT 3′	۱۹	۷۲
	Reverse	5′CGTCATCCATGGCGAACT 3′	۱۸	

[DOR: 20.1001.1.15614107.1398.21.1.5.0]
[DOI: 10.22088/jbums.21.1.27]

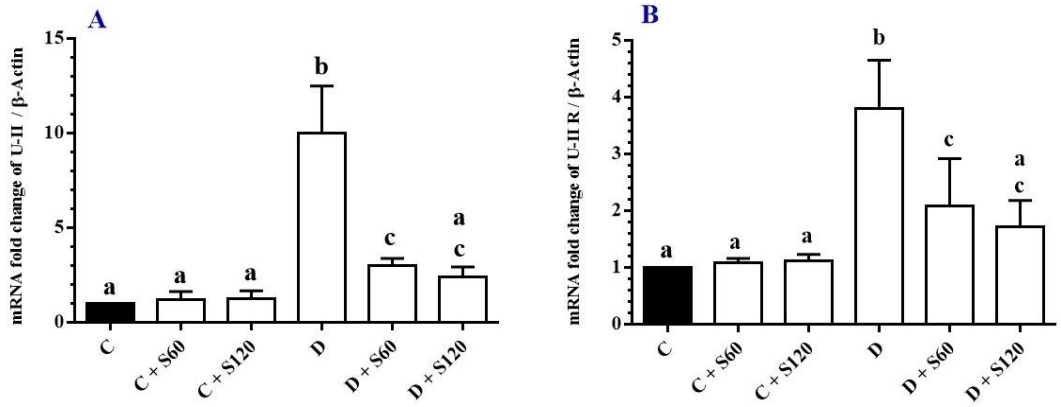
یافته ها

تزریق STZ/NIC باعث افزایش قند خون در گروه دیابتی (۲۹۹/۳±۲۷/۰) نسبت به گروه کنترل سالم (۸۳/۳±۱۰/۹) شد (p<۰/۰۱). در گروه‌های دیابتی تیمار شده با دوزهای ۶۰ mg/kg و ۱۲۰ (۲۰۲/۶±۴۵/۱و ۱۸۲/۵±۳۵/۸) سیلی-مارین قند خون کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه دیابتی نشان دادند (p<۰/۰۱): همچنین القاء دیابت سبب کاهش انسولین سرم در گروه دیابتی (۷/۱۰±۱/۰۶) نسبت به گروه کنترل (۱۱/۴۶±۰/۴۷) شد (p<۰/۰۱) (جدول ۲). در گروه‌های دیابتی درمان شده با دوزهای ۶۰mg/kg و ۱۲۰ (۹/۶۰±۱/۱۱ و ۹/۸۰±۰/۹۶) سیلی‌مارین افزایش معنی‌داری در میزان انسولین نسبت به گروه دیابتی مشاهده شد (p<۰/۰۱). همچنین القاء دیابت باعث افزایش میزان HOMA-IR در گروه دیابتی (۵/۷۹±۰/۹۰) نسبت به گروه کنترل (۲/۳۵±۰/۲۷) شده است (p<۰/۰۱). گروه‌های دیابتی درمان شده با دوزهای ۶۰mg/kg و ۱۲۰ (۴/۷۱±۰/۶۴ و ۴/۳۵±۰/۵۶) سیلی‌مارین کاهش معنی‌داری در میزان HOMA-IR را نسبت به گروه دیابتی نشان دادند (p<۰/۰۵). فعالیت آنزیم‌های ALT (۱۶۰/۶۶±۷/۱۱)، AST (۲۳۹/۱۶±۱۴/۱۷) و ALP (۷۳۰/۱۶±۴۱/۸۸) در گروه دیابتی افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل سالم (۵۳/۰۰±۶/۱۰، ۱۰۸/۳۳±۶/۵۹ و ۲۵۰/۵۰±۱۹/۵۹) داشت (p<۰/۰۱) (جدول ۲). در گروه دیابتی درمان شده با دوزهای ۶۰mg/kg (۷۳/۵۰±۲/۰۷، ۱۵۲/۰۰±۶/۷۱ و۳۹۶/۵۰±۳۴/۵۶) و ۱۲۰ (۷۰/۵۰±۳/۰۴، ۱۴۰/۵۰±۱۰/۴۴ و ۴۳۱/۸۳±۲۴/۹۲) کاهش معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های ALT،AST و ALP نسبت به گروه دیابتی مشاهده شد (p<۰/۰۱). میزان بیان ژن‌های U-II و U-II R در گروه دیابتی (۱۰/۰۲±۲/۴۷ و ۳/۸۰±۰/۸۵) افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل (۱±۰/۰۰ و ۱±۰/۰۰) نشان داد (p<۰/۰۱). تیمار با سیلی‌مارین سبب کاهش معنی‌داری بیان ژن‌های U-II (۳/۰۱±۰/۳۷ در دوز ۶۰ و ۲/۴۰±۰/۵۳ در دوز ۱۲۰) و U-II R (۲/۰۹±۰/۸۳ در دوز ۶۰ و ۱/۷۱±۰/۴۷ در دوز ۱۲۰) نسبت به گروه دیابتی شد (p<۰/۰۱) (نمودار ۱).

جدول ۲. میزان گلوکز، انسولین، شاخص مقاومت به انسولین و آنزیم‌های کبدی در گروه‌های (n=۶) مورد مطالعه پس از ۶۰ روز تیمار با سیلی‌مارین (۱۲۰ mg/kg و ۶۰)

گروه ها	متغیر ها	گلوکز ناشتایی (mg/dl)	انسولین (µU/ml)	شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR)	آلانین ترانس آمیناز (U/L)	آسپارتات ترانس آمیناز (U/L)	آلکالین فسفاتاز (U/L)
کنترل		۸۳/۳±۱۰/۹ a	۱۱/۴۶±۰/۴۷ a	۲/۳۵±۰/۲۷ a	۵۳/۰۰±۶/۱۰ a	۱۰۸/۳۳±۶/۵۹ a	۲۵۰/۵۰±۱۹/۵۹ a
کنترل دریافت کننده سیلی-مارین (mg/kg ۶۰)		۷۶/۵±۱۲/۲ a	۱۱/۹۶±۰/۶۷ a	۲/۲۴±۰/۲۶ a	۴۷/۱۶±۵/۲۶ a	۱۱۹/۱۶±۱۱/۱۶ a	۲۶۷/۱۶±۲۰/۷۴ a
کنترل دریافت کننده سیلی-مارین (mg/kg ۱۲۰)		۷۹/۵±۱۳/۸ a	۱۱/۶۵±۱/۶۴ a	۲/۲۸±۰/۴۱ a	۵۵/۰۰±۵/۵۱ a	۱۱۵/۶۶±۹/۷۹ a	۲۷۰/۳۳±۲۱/۴۴ a
دیابتی		۲۹۹/۳±۲۷/۰ b	۷/۱۰±۱/۰۶ b	۵/۷۹±۰/۹۰ b	۱۶۰/۶۶±۷/۱۱ b	۲۳۹/۱۶±۱۴/۱۷ b	۷۳۰/۱۶±۴۱/۸۸ b
دیابتی دریافت کننده سیلی-مارین (mg/kg ۶۰)		۲۰۲/۶±۴۵/۱ c	۹/۶۰±۱/۱۱ c	۴/۷۱±۰/۶۴ c	۷۳/۵۰±۲/۰۷ a	۱۵۲/۰۰±۶/۷۱ c	۳۹۶/۵۰±۳۴/۵۶ c
دیابتی دریافت کننده سیلی-مارین (mg/kg ۱۲۰)		۱۸۲/۵±۳۵/۸ c	۹/۸۰±۰/۹۶ c	۴/۳۵±۰/۵۶ c	۷۰/۵۰±۳/۰۴ a	۱۴۰/۵۰±۱۰/۴۴ c	۴۳۱/۸۳±۲۴/۹۲ c

داده‌ها به صورت mean±SD نشان داده شده‌اند. حروف غیرمشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار میباشند. p<۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شده است.



نمودار ۱. بیان ژن‌های U-II (A) و U-II R (B) در بافت کبد گروه‌های (n=۶) مورد مطالعه پس از ۶۰ روز تیمار با سیلی‌مارین (۱۲۰ mg/kg و ۶۰). داده‌ها به صورت mean±SD نشان داده شده‌اند. C: کنترل سالم، S: سیلی‌مارین،D: دیابتی. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشند. p<۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شده است.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1398.21.1.5.0]
[DOI: 10.22088/jbums.21.1.27]

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه القای دیابت تیپ۲ در موش‌های صحرایی، موجب کاهش انسولین، افزایش گلوکز، HOMA-IR و افزایش بیان ژن‌های U-II و U-II R نسبت به گروه کنترل سالم شد. همچنین تیمار حیوانات دیابتی با سیلی‌مارین، موجب بهبود میزان گلوکز، انسولین و بیان ژن‌های U-II و U-II R ناشی از دیابت در مقایسه با موش‌های دیابتی کنترل شده است.

در دیابت میزان انتقال گلوکز به عضلات کاهش یافته و در نتیجه میزان گلوکز خون افزایش می‌یابد (۱۰). همچنین ترکیب استرپتوزوتوسین از طریق یک انتقال-دهنده گلوکز (GLUT2) به سلول‌های بتای پانکراس وارد شده و باعث آلکیلاسیون DNA می‌گردد. آسیب به DNA باعث القاء Poly ADP-ribosylation می‌گردد. فرایند Poly ADP-ribosylation منجر به کاهش مقادیر ATP و NAD در سلول می‌شود. تشدید دفسفریلاسیون ATP، بعد از اثر کردن استرپتوزوتوسین، سوبسترایی برای آنزیم گزانتین‌اکسیداز فراهم می‌کند که منجر به تشکیل رادیکال‌های سوپراکسید و آسیب به DNA می‌شود، که سبب نکروز سلول‌های بتا پانکراس می‌شود، در نتیجه این امر میزان انسولین سرم کاهش یافته و گلوکز سرم افزایش می‌یابد (۱۱). در گروه‌های دیابتی تیمار شده با دوزهای mg/kg ۱۲۰و ۶۰ سیلی‌مارین، بهبود در میزان قند خون، ترشح انسولین و HOMA-IR نسبت به گروه دیابتی مشاهده گردید. در مطالعه Soto و همکاران گزارش شد که سیلی‌مارین از طریق افزایش بیان ژن (Pdx1) Pancreatic duodenal homeobox سبب بهبود سلول‌های بتای پانکراس، افزایش تولید انسولین و در نتیجه کاهش قند خون می‌گردد (۱۲).

هایپرگلایسمی و دیس‌لیپیدمی، که از ویژگی‌های اصلی دیابت تیپ۲ هستند، با کاهش بیان Pdx1 باعث اختلال در عملکرد سلول‌های بتا می‌شوند. Pdx1 همچنین سبب افزیش بیان ژن انسولین، تکثیر و بقاء سلول‌های بتای پانکراس می گردد (۱۴و۱۳). همچنین در مطالعه Pferschy-Wenzig و همکاران گزارش شد که ماده موثره Isosilybin A موجود در سیلی‌مارین دارای خواص آگونیستی PPARγ می‌باشد. مولکول PPAR γ یک هدف برای تیازولیدین دیون‌ها مانند پیوگلیتازون هستند، این داروها حساسیت به انسولین را افزایش می‌دهند تا سطح گلوکز خون را در بیماران دیابتی تیپ۲ کاهش دهند (۱۵). در مطالعات Alabdan، Tuorkey و Feng نشان داده شد که، درمان رت‌های دیابتی با سیلی‌مارین سبب بهبود قند خون، محافظت سلول‌های بتای پانکراس، افزایش ترشح انسولین و بهبود HOMA-IR می‌شود (۱۸-۱۶).

ادعا شده است که ترکیبات فلاونوییدی موجود در عصاره سیلی‌مارین مانند سیلی‌بین و سیلی‌دیانین و افزایش سطح گلوتاتیون سلولی احتمالاً موجب کاهش مقاومت انسولین و بهبود متابولیسم گلوکز در بیماران دیابتی می‌شود (۱۹). کاهش انسولین، ایجاد دیس‌لیپیدمی و افزایش گلوکز خون در شرایط دیابتیک به بسیاری از بافت‌ها از جمله بافت کبد آسیب وارد می‌کند (۲۰). افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های AST، ALT، ALP برای سنجش میزان آسیب سلول‌های کبدی نشانگرهای مناسبی هستند (۲۱). در مراحل اولیه آسیب کبد، آنزیم‌های سیتوپلاسمی به دلیل افزایش نفوذپذیری غشای هپاتوسیت‌ها از این سلول‌ها به داخل جریان خون نشت می‌کنند (۲۲). همچنین، افزایش کاتابولیسم پروتئین‌ها همراه با گلوکونئوژنز و تشکیل اوره که در بیماری دیابت دیده می‌شود، احتمالا مسئول افزایش این ترانس-آمینازها در خون است (۲۳).

از طرف دیگر، چون انسولین ژن‌های تولیدکننده آنزیم‌های گلوکونئوژنیک را سرکوب می‌کند و ALT نیز یک آنزیم گلوکونئوژنیک است، در جریان دیابت که سیگنال انسولین دچار نقص می‌شود، تولید ALT افزایش می‌یابد (۲۴). در مطالعه حاضر نتایج بیانگر افزایش میزان مارکرهای آسیب کبدی در گروه دیابتی در مقایسه با گروه کنترل سالم بود. همچنین نشان داده شد که تیمار با سیلی‌مارین سبب کاهش معنی‌دار مارکرهای آسیب کبدی در سرم شد. سیلی‌مارین یک درمان معمول جهت بیماری‌های کبدی می‌باشد. گزارش شده است که بیش از ۳۳ درصد از افراد مبتلا به عفونت مزمن Hepatitis C virus و سیروز از سیلی‌مارین جهت درمان استفاده می‌کنند (۲۶و۲۵).

سیلی‌مارین به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی، افزایش میزان گلوتاتیون سلولی و ثبات غشای سلولی در طب سنتی جهت بهبود اختلالات کبدی تجویز می‌شود و با این مکانیسم سبب کاهش میزان مارکرهای آسیب کبدی می‌شود (۲۷). در مطالعه حاضر همچنین نشان داده شد که تیمار با سیلی‌مارین سبب کاهش معنی‌دار در بیان ژن‌های U-II و U-II R در بافت کبد گروه‌های دیابتی تیمار شده نسبت به گروه کنترل دیابتی شد. در مطالعه Rahimi و همکاران همسو با مطالعه حاضر نتایج نشان‌دهنده تاثیر سیلی‌مارین بر کاهش بیان ژن‌های U-II و U-II R در بافت قلب رت‌های دیابتی شده بود، در مطالعه نامبرده ذکر شده است که سیلی‌مارین از طریق تاثیر بر بیان ژن‌های U-II و U-II R سبب بهبود اختلالات قلبی ناشی از دیابت می‌شود (۴). همچنین در مطالعه Cheng و همکاران از ترکیب گیاهی بنام *Rhododendron simsii* Planch. Total flavones from Flower (TFR) بر روی موش صحرایی استفاده کردند. این گیاه حاوی فلاونوئیدهای است که خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و ضد فیبروز دارد. این تحقیق نشان داد که TFR از طریق کاهش بیان ژن‌های U-II و U-II R موجب محافظت قلب رت‌ها در برابر سکته قلبی شد (۲۸). نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که سیلی‌مارین خصوصیات هایپوگلاسمیک بالقوه داشته و سطح انسولین را افزایش داد و در نتیجه موجب بهبود حساسیت به انسولین گردید. سیلی‌مارین بیان ژن‌های U-II و U-II R را در بافت کبد رت‌های دیابتی تیپ ۲ را کاهش داد که ممکن است از این طریق سبب کاهش مقاومت به انسولین بشود.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی همدان به خاطر حمایت مالی از این مطالعه، تقدیر و تشکر می گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1398.21.1.5.0]
[DOI: 10.22088/jbums.21.1.27]

The Effect of Silymarin on the Expression of Urotensin–II and Urotensin–II Receptor Genes in the Liver Tissue of Type 2 Diabetic Rats

N. Kheiripour (PhD)[1], J. Karimi (PhD)*[2], H. Tavilani (PhD)[2], I. Khodadadi (PhD)[2], M.T. Goodarzi (PhD)[2]

1.Research Center for Biochemistry and Nutrition in Metabolic Diseases, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I.R.Iran
2.Department of Clinical Biochemistry, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 21; 2019; PP: 27-33

Received: Sep 6th 2018, Revised: Nov 24th 2018, Accepted: Dec 11th 2018.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Studies have shown that the increase in urotensin – II is associated with diabetes disorders. Considering that using herbal medicines for the treatment of diseases leads to fewer complications compared to most chemical drugs, the present study was conducted to investigate the effect of silymarin on glucose, and insulin levels and the expression of urotensin – II (U–II) and urotensin – II receptor (U–II R) genes in the liver tissue of type 2 diabetic male rats.

METHODS: In this experimental study, 36 male albino Wistar rats were randomly divided into 6 groups (n=6): 1. Control group; 2 and 3. Control groups treated with 60 and 120 mg / kg / day silymarin; 4. Type 2 diabetic group which received an intraperitoneal (i.p.) injection of 60 mg / kg streptozotocin and 120 mg / kg nicotinamide; 5 and 6. Diabetic rats treated with 60 and 120 mg/kg/day silymarin. After 60 days of treatment, serum and liver tissue samples were collected. Glucose, insulin, HOMA-IR index and liver enzymes were evaluated by spectrophotometry and ELISA methods, while gene expression in liver tissue was analyzed by Real-time PCR method.

FINDINGS: Insulin levels increased significantly in diabetic groups treated with silymarin (60 and 120 mg/kg) (9.6±1.11 and 9.8±0.96, respectively) in comparison with the diabetic control group (7.10±1.06) ($p<0.05$). Moreover, glucose level, HOMA-IR, liver enzymes, U–II and U – II R expression in diabetic group treated with silymarin significantly decreased compared to diabetic control group ($p<0.05$).

CONCLUSION: The results of this study showed that administration of silymarin improves liver function in diabetic rats.

KEY WORDS: *Diabetes Mellitus, Silymarin, Urotensin – II, Urotensin – II Receptor, Liver.*

Please cite this article as follows:

Kheiripour N, Karimi J, Tavilani H, Khodadadi I, Goodarzi MT. The Effect of Silymarin on the Expression of Urotensin–II and Urotensin–II Receptor Genes in the Liver Tissue of Type 2 Diabetic Rats. J Babol Univ Med Sci. 2019;21:27-33.

***Corresonding Author: J. Karimi (PhD)**
Address: Department of Clinical Biochemistry, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, I.R.Iran
Tel: +98 81 38380452
E-mail: jamshidkarimi2013@gmail.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1398.21.1.5.0]
[DOI: 10.22088/jbums.21.1.27]

References

1.Bolbol Haghighi N, Molzemi S, Goli S, Mohammad Sadeghi H, Aminian M. The effect of hydroalcoholic extract of ziziphora clinopodioides lam on testicular damage caused by diabetes mellitus in male rats. J Babol Univ Med Sci. 2017;19(12):43-9. [In Persian]

2.DeFronzo RA, Ferrannini E, Groop L, Henry RR, Herman WH, Holst JJ, et al. Type 2 diabetes mellitus. Nat Rev Dis Primers. 2015;1: 15019.

3.Mohamed J, Nazratun Nafizah AH, Zariyantey AH, Budin SB. Mechanisms of Diabetes-Induced Liver Damage: The role of oxidative stress and inflammation. Sultan Qaboos Univ Med J. 2016;16(2): e132-41.

4.Rahimi R, Karimi J, Khodadadi I, Tayebinia H, Kheiripour N, Hashemnia M, et al. Silymarin ameliorates expression of urotensin II (U-II) and its receptor (UTR) and attenuates toxic oxidative stress in the heart of rats with type 2 diabetes. Biomed Pharmacother. 2018;101:244-50.

5.Barrette PO, Schwertani AG. A closer look at the role of urotensin II in the metabolic syndrome. Front Endocrinol. 2012;3:165-75.

6.Goli F, Karimi J, Khodadadi I, Tayebinia H, Kheiripour N, Hashemnia M, et al. Silymarin attenuates ELMO-1 and KIM-1 expression and oxidative stress in the kidney of rats with type 2 diabetes. Ind J Clin Biochem. 2018;1-8.

7.Mohamadifard M, Nazem H, Mottaghipisheh J. The effects of copper oxide nanoparticles and hydroalcoholic extracts of berberis vulgaris, descurainia sophia and silybum marianum on catalase, glutathione peroxidase, and malondialdehyde concentration in male diabetic rats. J Babol Univ Med Sci. 2016;18(3):54-61. [In Perian]

8.Kheiripour N, Karimi J, Khodadadi I, Tavilani H, Goodarzi MT, Hashemnia M. Silymarin prevents lipid accumulation in the liver of rats with type 2 diabetes via sirtuin1 and SREBP-1c. J Basic Clin Physiol Pharmacol. 2018:29(3):301-8.

9.Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. Methods. 2001;25(4):402-8.

10.Kheiripour N, Karimi J, Khodadadi I, Tavilani H, Goodarzi MT, Hashemnia M. Hepatoprotective effects of silymarin on liver injury via irisin upregulation and oxidative stress reduction in rats with type 2 diabetes. Iran J Med Sci. 2018; 1-10.

11.Pieper AA, Brat DJ, Krug DK, Watkins CC, Gupta A, Blackshaw S, et al. Poly(ADP-ribose) polymerase-deficient mice are protected from streptozotocin-induced diabetes. Proc Natl Acad Sci. 1999;96(6):3059-64.

12.Soto C, Mena R, Luna J, Cerbon M, Larrieta E, Vital P, et al. Silymarin induces recovery of pancreatic function after alloxan damage in rats. Life Sci. 2004;75(18):2167-80.

13.Fujimoto K, Polonsky KS. Pdx1 and other factors that regulate pancreatic beta-cell survival. Diabetes Obes Metab. 2009;11 (4):30-7.

14.Kim SK, Hebrok M. Intercellular signals regulating pancreas development and function. Genes Dev. 2001;15(2):111-27.

15.Pferschy-Wenzig EM, Atanasov AG, Malainer C, Noha SM, Kunert O, Schuster D, et al. Identification of isosilybin a from milk thistle seeds as an agonist of peroxisome proliferator-activated receptor gamma. J Nat Prod. 2014;77(4):842-7.

16.Alabdan MA. Silymarin ameliorates Metabolic Risk Factors and Protects against Cardiac Apoptosis in Streptozotocin-induced Diabetic Rats. Biomed Biotechnol. 2015;3(2):20-7.

17.Tuorkey MJ, El-Desouki NI, Kamel RA. Cytoprotective effect of silymarin against diabetes-induced cardiomyocyte apoptosis in diabetic rats. Biomed Environ Sci. 2015;28(1):36-43.

18.Feng B, Meng R, Huang B, Shen S, Bi Y, Zhu D. Silymarin alleviates hepatic oxidative stress and protects against metabolic disorders in high-fat diet-fed mice. Free Radic Res. 2016;50(3):314-27.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1398.21.1.5.0]
[DOI: 10.22088/jbums.21.1.27]

19.Altorjay I, Dalmi L, Sari B, Imre S, Balla G. The effect of silibinin (Legalon) on the the free radical scavenger mechanisms of human erythrocytes in vitro. Acta Physiol Hung. 1992;80(1-4):375-80.
20.Tangvarasittichai S. Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus. World J Diabetes. 2015;6(3):456-80.
21.Cetinkunar S, Tokgoz S, Bilgin BC, Erdem H, Aktimur R, Can S, et al. The effect of silymarin on hepatic regeneration after partial hepatectomy: is silymarin effective in hepatic regeneration? Int J Clin Exp Med. 2015;8(2):2578-85.
22.Chin J, Abas H, Sabariah I. Toxicity study of orthosiphon stamineus benth (misai kucing) on Sprague dawley rats. Trop Biomed. 2008;25(1):9-16.
23.Prakasam A, Sethupathy S, Pugalendi KV. Influence of Casearia esculenta root extract on protein metabolism and marker enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats. Pol J Pharmacol. 2004;56(5):587-93.
24.Vozarova B, Stefan N, Lindsay RS, Saremi A, Pratley RE, Bogardus C, et al. High alanine aminotransferase is associated with decreased hepatic insulin sensitivity and predicts the development of type 2 diabetes. Diabetes. 2002;51(6):1889-95.
25.Seeff LB, Curto TM, Szabo G, Everson GT, Bonkovsky HL, Dienstag JL, et al. Herbal product use by persons enrolled in the hepatitis C Antiviral Long-Term Treatment Against Cirrhosis (HALT-C) Trial. Hepatology. 2008;47(2):605-12.
26.Fried MW, Navarro VJ, Afdhal N, Belle SH, Wahed AS, Hawke RL, et al. Effect of silymarin (milk thistle) on liver disease in patients with chronic hepatitis C unsuccessfully treated with interferon therapy: a randomized controlled trial. JAMA. 2012;308(3):274-82.
27.Valenzuela A, Aspillaga M, Vial S, Guerra R. Selectivity of silymarin on the increase of the glutathione content in different tissues of the rat. Planta Med. 1989;55(05):420-2.
28.Cheng X, Zhang J, Chen Z. Effects of Total Flavone from Rhododendron simsii Planch. Flower on Postischemic Cardiac Dysfunction and Cardiac Remodeling in Rats. Evid Based Complement Alternat Med. 2017; 2017:1-9.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1398.21.1.5.0]
[DOI: 10.22088/jbums.21.1.27]