DOR: 20.1001.1.23832614.1402.36.2.4.7
مقاله پژوهشی، صفحات: ۱۴۹-۱۳۲

اثرات رژیم کم فرکتوز همراه با مکمل آلفا لیپوئیک اسید بر مدل حیوانی بیماری کبد چرب غیرالکلی

بابک حسن خان[۱]، پریچهره یغمایی[۱] و آزاده ابراهیم حبیبی[۲]

[۱] ایران، تهران، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی

[۲] ایران، تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، مرکز تحقیقات اندوکرینولوژی و متابولیسم

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۵/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۰۶

چکیده

بیماری کبد چرب غیرالکلی از شایعترین اختلالات کبدی است که با مقاومت به انسولین و استرس های اکسیداتیو ارتباط دارد. هدف از این مطالعه، بررسی اثرات توام رژیم کم فروکتوز همراه با آلفا لیپوئیک اسید بر مقاومت به انسولین و برخی از نشانه های بیماری کبد چرب غیر الکلی ناشی از رژیم پرچرب در موش های صحرایی نر، نژاد اسپراگ – داولی بود. برای این منظوراز پنج گروه ۸ تایی موش صحرایی استفاده شد. گروه کنترل نرمال، رژیم طبیعی دریافت نمود. گروه پرچرب، رژیم طبیعی همراه با امولسیون پرچرب به میزان (10ml/kg) ،گروه فرکتوز، امولسیون پرچرب همراه با فرکتوز (1g/kg) ، گروه لیپوئیک اسید، امولسیون پرچرب همرا با آلفا لیپوئیک اسید (60mg/kg) و گروه فرکتوز- لیپوئیک اسید، امولسیون پرچرب همراه با فرکتوز (1g/kg) و آلفا لیپوئیک اسید (60mg/kg) بطور توام و به روش گاواژ روزانه برای شش هفته دریافت نمودند. در پایان دوره، سطح پروفایل چربی، گلوکز، مقاومت به انسولین (HOMA-IR)، آدیپونکتین، TNF-α در سرم و MDA در کبد، همچنین میزان بیان ژن PGC-1α در بافت چربی به روش Real-time PCR بررسی شد. رنگ آمیزی H&E بافت کبد برای بررسی استئاتوز انجام گردید. در گروه پرچرب میزان پروفایل چربی، گلوکز، مقاومت به انسولین و TNF-α نسبت به گروه کنترل بطور معنی دار (P<0/05) افزایش یافت و نشانه های استئاتوز مشاهده شد. رژیم کم فرکتوز موجب کاهش معنی دار (P<0/05) در میزان پروفایل چربی، گلوکز، مقاومت به انسولین، TNF-α و MDA کبدی در گروه فرکتوز نسبت به گروه پرچرب گردید. افزودن آلفا لیپوئیک اسید به رژیم کم فرکتوز موجب کاهش بیشتری در سطح این فاکتورها شد و اختلاف آماری معنی دار (P<0/05) بین گروه فرکتوز و فرکتوز– لیپوئیک اسید مشاهده گردید. نتایج این پژوهش نشان می دهد، استفاده از یک رژیم غذایی کم فرکتوز همراه با آلفا لیپوئیک اسید اثرات بیشتری در بهبود برخی از شاخص های بیماری کبد چرب غیر الکلی نسبت به استفاده هریک از آنها به تنهایی دارد.

واژه های کلیدی: گلوکز، بیماری کبد چرب غیرالکلی، رژیم کم فرکتوز، آلفا لیپوئیک اسید

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۲۶۹۳۰۲۸۸ ، پست الکترونیکی: hassankhan_babak@yahoo.com

مقدمه

بیماری کبد چرب غیر الکلی یکی از شایعترین اختلالات کبدی است که با سندروم متابولیک ارتباط دارد. این بیماری شامل طیفی از اختلالات است که با تجمع چربی در سلول های کبد به شکل تری گلیسرید شروع شده و با پیشرفت آن ممکن است به فیبروز و سیروز کبدی ختم شود. یک فرضیه مهم در پاتوژنز این بیماری، تئوری دو ضربه ای است. بر این اساس در ضربه اول تجمع چربی در کبد بعلت دلایل زمینه ای ایجاد می گردد که به دنبال آن

DOR: 20.1001.1.23832614.1402.36.2.4.7
مقاله پژوهشی، صفحات: ۱۴۹-۱۳۲

ممکن است مقاومت به انسولین در کبد و بافت های دیگر بوجود آید. در ضربه دوم استرس های اکسیداتیو و آسیب کبد بعلت افزایش تولید سایتوکاین ها و التهاب ایجاد می شود (۱۰). رژیم های غذایی و همچنین میزان و نوع چربی های موجود در آنها با این بیماری مرتبط هستند (۲۵).

فرکتوز یک قند ساده است با فرمول شیمیایی ($C_6H_{12}O_6$) مشابه گلوکز است که در عسل و میوه ها یافت می شود. بر خلاف گلوکز که یک گروه آلدهیدی به کربن شماره ۱ آن متصل است، فرکتوز دارای یک گروه کتونی است که متصل به کربن شماره ۲ می باشد (۱۶). افزایش مصرف فرکتوز یکی از دلایل شیوع بیماری کبد چرب غیرالکلی است. در صورت مصرف زیاد فرکتوز و بر اساس نظریه دو ضربه ای، در ضربه اول لیپوژنز، مهار بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب با زنجیره بلند، تشکیل تری گلسیرید ها و استئاتوز ایجاد شده و در ضربه دوم بعلت بی ثباتی حلقه فورانوز موجود در ساختمان فرکتوز، اتصال فرکتوز به پروتئین، تشکیل رادیکال های آزاد، استرس های اکسیداتیو و همچنین التهاب ایجاد می گردد (۱۷). رژیم پر فرکتوز با ایجاد لیپوژنز، مقاومت به انسولین و تولید رادیکال های آزاد در توسعه بیماری کبد چرب نیز نقش مهمی ایفا می کند (۳۲).

مطالعات انجام شده نشان می دهد، علیرغم اثرات مضر مصرف زیاد فرکتوز، یک رژیم کم فروکتوز می تواند اثرات مفیدی داشته باشد. فرکتوز ۱ فسفات ناشی از متابولیسم فرکتوز می تواند آنزیم گلوکوکیناز کبدی را فعال نماید که این آنزیم در بهبود هومئوستاز گلوکز شرکت می کند. فرکتوز به مقدار کم در رژیم غذایی موجب بهبود تحمل به گلوکز و بهبود جذب کبدی آن، کاهش تولید گلوکز و کاهش قند در بیماران مبتلا به هایپرگلایسمی می گردد (۱۴). میزان کم فرکتوز موجب افزایش سطح آدیپونکتین سرم می گردد. این آدیپوکاین توسط بافت چربی ترشح شده و در هومئوستاز گلوکز و حساسیت به انسولین نقش دارد (۳۱). کاهش میزان فرکتوز در رژیم غذایی روزانه در بهبود اختلالات کبدی و پارامترهای بیوشیمیایی سرم در بیماری کبد چرب غیرالکلی در دوران کودکی موثر است (۲۰). محدود کردن مصرف فرکتوز در رژیم غذایی موجب کاهش نشانه های بیماری های قلبی و عروقی در نوجوانان مبتلا به بیماری کبد چرب غیرالکلی می گردد (۱۱). همچنین نتایج مطالعات دیگر نشان می دهد، یک رژیم کم فرکتوز همراه با کاهش مصرف انرژی باعث کاهش چاقی و بهبود بیماری دیابت می گردد (۱۸). کاهش متوسط در مصرف فرکتوز در کاهش وزن کودکان چاق موثر است (۲۱). پژوهش دیگری نشان می دهد یک رژیم کم فرکتوز بر آنزیم گیلکوژن سنتاز کبدی اثرات تحریکی دارد که این عمل اثرات درمانی مفیدی در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۱ و ۲ دارد (۲۶). بر اساس یک مطالعه، رژیم غذایی با فرکتوز کم می تواند فشارخون و التهاب در بیماران مبتلا به بیمار های مزمن کبدی را کاهش دهد (۴).

واژه استرس اکسیداتیو (Oxidative stress) به فرآیندی گفته می شود که در نتیجه عدم تعادل بین عوامل اکسید کننده مانند گونه های فعال اکسیژن (Reactive oxygen species) و دفاع آنتی اکسیدانی ایجاد شده و موجب آسیب به عوامل ساختمانی سلول ها می گردد. گونه های فعال اکسیژن مانند آنیون سوپر اکسید در نتیجه متابولیسم اکسیژن ایجاد می گردد و می تواند به لیپید ها و اسید های چرب غیر اشباع در سلول حمله کرده و موجب ایجاد پراکسیداسیون لیپیدی گردند. نتیجه پراکسیداسیون لیپیدی تولید ترکیباتی مانند مالون دی آلدهید (Malondialdehyde) است که می تواند اثرات مخربی بر پروتئین ها و DNA در سلول داشته باشد (۳۰).

آلفا لیپوئیک اسید (α-lipoic acid) یک ترکیب طبیعی است که در مواد غذایی مانند گوشت قرمز و اسفناج وجود دارد و به عنوان کوفاکتور برای آنزیم های میتوکندریایی عمل می کند. آلفا لیپوئیک اسید دارای خاصیت آنتی اکسیدانی

DOR: 20.1001.1.23832614.1402.36.2.4.7
مقاله پژوهشی، صفحات: ۱۴۹-۱۳۲

قوی می باشد و آن را آنتی اکسیدان آنتی اکسیدان ها نیز می نامند (۹). به دلیل اثرات آنتی اکسیدانی آلفا لیپوئیک اسید، این نظریه وجود دارد که این ترکیب ممکن است در بهبود بیماری هایی که استرس های اکسیداتیو در ایجاد آنها نقش دارند و همچنین در بهبود سندروم متابولیک موثر باشد (۲۷).

با توجه به نقش عوامل مختلف در بروز بیماری کبد چرب غیر الکلی و ارتباط این بیماری با اختلالاتی چون مقاومت به انسولین و استرس های اکسیداتیو، در این پژوهش اثرات استفاده از یک رژیم کم فرکتوز توام با آلفا لیپوئیک اسید بر مدل بیماری کبد چرب غیر الکلی ناشی از امولسیون پرچرب در موش های صحرایی اسپراگ – داولی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

برای انجام این پژوهش چهل سر موش صحرایی نر، نژاد اسپراگ – داولی با وزن تقریبی ۲۲۰-۲۰۰ گرم از موسسه سرم و واکسن رازی کرج - ایران خریداری شد. به منظور عادت به محیط، حیوانات در شرایط استاندارد حیوان خانه به صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و درجه حرارت ۲۴-۲۲ درجه سانتیگراد نگهداری و آب و غذای استاندارد در دسترس آنها قرار گرفت. پس از یک هفته موش ها وزن شده و به صورت تصادفی به پنج گروه ۸ تایی به شرح ذیل تقسیم شدند.

۱.گروه دریافت کننده رژیم طبیعی یا گروه کنترل نرمال Normal control (NC)

۲. گروه دریافت کننده امولسیون پرچرب یا گروه پرچرب High fat (HF)

۳. گروه دریافت کننده امولسیون پرچرب همراه با فرکتوز به میزان High fat + Fructose (Fru) (1g/kg)

۴. گروه دریافت کننده امولسیون پرچرب همراه با آلفا لیپوئیک اسید به میزان High fat + Lipoic acid (60mg/kg) (Lip)

۵. گروه دریافت کننده امولسیون پرچرب، فرکتوز و آلفا لیپوئیک اسید High fat + Fructose + Lipoic acid (Fru+Lip)که فرکتوز و آلفا لیپوئیک اسید را به میزان (1g/kg+60mg/kg) دریافت نمودند (۶).

مطابق با تحقیقات گذشته رژیم پر چرب به صورت امولسیون مطابق با جدول ۱ و به شکلی تهیه گردید که میزان ۷۷ درصد انرژی آن از چربی (روغن ذرت)، ۱۴ درصد از پروتئین (پودر شیر خشک) و ۹ درصد از کربوهیدرات (ساکارز) تامین گردد.

جدول ۱- ترکیبات و میزان انرژی امولسیون پرچرب (۳۶).

روغن ذرت	۴۰۰ گرم
ساکارز	۱۵۰ گرم
پودر شیر خشک کامل	۸۰ گرم
کلسترول	۱۰۰ گرم
سدیم دی اکسی کولات	۱۰ گرم
پروپیلن گلایکول	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

DOR: 20.1001.1.23832614.1402.36.2.4.7
مقاله پژوهشی، صفحات: ۱۴۹-۱۳۲

رت های گروه های دریافت کننده این امولسیون علاوه بر دسترسی آزاد به رژیم استاندارد، مقدار (10ml/kg) از این امولسیون را از طریق گاواژ روزانه و به مدت شش هفته دریافت نمودند (۳۶).

در پایان هفته ششم و بعد از ۱۰ ساعت ناشتایی، حیوانات وزن و سپس بوسیله دی اتیل اتر بصورت استنشاقی بیهوش شدند. خونگیری از بطن قلبی بوسیله سرنگ ۵ سی سی انجام شد. نمونه خون در دمای اطاق قرار داده شد سپس سرم توسط دستگاه سانتریفیوژ جدا و در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی گراد تا زمان آزمایش نگهداری گردید.

پس از انجام بیهوشی و خونگیری، کبد با احتیاط و به سرعت خارج شده، توسط محلول سالین نرمال سرد شستشو داده شد و سپس وزن گردید. بخشی از بافت کبد حیوانات در محلول فرمالین ۱۰ درصد برای بررسی های بافت شناسی قرار داده شد. قسمتی دیگر از بافت کبدی در محلول ۵۰ میلی مولار بافر سالین فسفات (PH7) هموژن گردید و برای انجام آزمون های بیوشیمیایی مربوطه در دمای منفی ۷۰ درجه سانتیگراد تا روز انجام آزمایش نگهداری شد. بافت چربی پشت صفاقی به منظور ارزیابی میزان بیان ژن به سرعت جدا و سپس در داخل نیتروژن مایع قرار داده شد. نمونه های بافت چربی تا روز آزمایش در دمای منفی ۸۰ درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

اندازه گیری میزان غلظت لیپوپروتئین های با دانسیته پایین (LDL-C)، دانسیته بالا (HDL-C) ، تری گلیسرید (TG)، کلسترول تام (TC) و گلوکز سرم توسط معرف های شرکت زیست شیمی – ایران انجام گردید. اندازه گیری سطح سرمی فاکتور نکروز تومور آلفا (Tumor necrosis factor α)، آدیپونکتین (Adiponectin) و اسیدهای چرب آزاد با استفاده از کیت های آزمایشگاهی (Rat ELISA kit, CUSABIO Diagnostic, Japan)انجام گردید. محتوی تری گلیسرید کبدی به روش اسپکتروفتومتری با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر اندازه گیری شد. میزان مالون دی آلدهید کبدی به روش اسپکتروفتومتری و توسط دستگاه (UNICO UV-2100)ارزیابی گردید.

میزان مقاومت به انسولین بوسیله (Homeostasis model assessment ; HOMA) یا مدل ارزیابی هومئوستازیس محاسبه گردید. برای این منظور از میزان قند خون ناشتا، انسولین ناشتا و فرمول زیر استفاده شد (۱۲).

HOMA-IR = Insulin (µU/ml) * Glucose (mmol/l) / 22.5

شاخص کبدی (Liver index) طبق فرمول زیر محاسبه گردید (۳۶).

Liver index = Liver weight / Body weight * 100

بافت کبد در محلول فرمالین ۱۰ درصد برای دهیدراتاسیون قرار داده شد سپس پارافین به بافت اضافه گردید و رنگ آمیزی با هماتوکسیلین – ائوزین (H&E) انجام شد. برش از نمونه تهیه و توسط میکروسکوپ، استئاتوز کبدی بررسی گردید (۱۲).

استخراج RNA از چربی پشت صفاقی با استفاده از کیت تجاری (RNeasy mini kit) شرکت (QIAGEN) انجام گردید. پس از استخراج RNA ، غلظت آن با استفاده از بررسی جذب نور در طول موج ۲۶۰ نانومتر بوسیله دستگاه (NanoDrop)تعیین شد. خلوص نمونه ها با استفاده از نسبت جذب در ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر (۲۶۰/۲۸۰) سنجیده و درصورتی که نسبت نزدیک به مقدار ۲ بود، خلوص RNAمورد تایید قرار می گرفت. سنتز cDNA با استفاده از کیت تجاری (cDNA synthesis) شرکت (Termoscientific) انجام گردید (۱۲).

از آزمون واکنش زنجیره ای پلیمراز (Quantitative real-time polymerase chain reaction)به منظور ارزیابی میزان بیان ژن PGC-1α استفاده شد. ژن (Glyceraldehyde phosphate dehydrogenase (GAPDH))با توجه به خصوصیات بافت، به عنوان (House keeping gene) برای کنترل داخلی استفاده و میزان بیان ژن ها با استفاده از دستگاه (ABI-step 1 system)

DOR: 20.1001.1.23832614.1402.36.2.4.7

و نور ناشی از سایبرگرین شرکت یکتا تجهیز آزما، اندازه گیری شد. واکنش سه بار تکرار و ارزیابی میزان بیان ژن با استفاده از روش لیواک ($2^{-delta\ delta\ ct}$) انجام گردید (۱۲).

توالی پرایمرهای مورد استفاده در آزمون در جدول ۲ خلاصه شده اند.

جدول ۲- توالی پرایمرهای مورد استفاده در آزمون Real-time –PCR

Gen	Sequence
PGC-1α - F:	GCTGAAGCCCTCTTGCAAGAC
PGC-1α - R:	ACTGAGGACTTGCTGAGTTGTGC
GAPDH - F:	CAACTCCCATTCTTCCACCTTTG
GAPDH - R:	CTGTTGCTGTAGCCATATTCATTGTC

تجزیه و تحلیل آماری: نتایج به صورت میانگین± انحراف ازمیانگین (Mean ± SEM) نشان داده شده است. برای تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۴ و از تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA one-wey) و سپس آزمون تعقیبی توکی جهت مقایسه بین گروه ها و تعیین معنی دار بودن اختلاف بین آنها از نظر آماری استفاده گردید. میزان (P<0/05) به عنوان سطح معنی دار بودن آماری اختلاف ها در نظر گرفته شد.

این مطالعه در محل مجتمع آزمایشگاهی رازی وابسته به دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران انجام گردید. کد اخلاق (IR. IAU.SRB.REC. 1397.122) از واحد مربوطه دریافت و در مراحل مختلف تحقیق، کلیه ملاحظات اخلاقی و پروتکل های مربوط به انجام کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید.

نتایج

جدول ۳ اثرات رژیم کم فرکتوز و آلفا لیپوئیک اسید بر وزن اکتسابی در طول دوره و شاخص کبدی (Liver index) را نشان می دهد. پس از شش هفته گاواژ امولسیون پرچرب، وزن اکتسابی در طول دوره در گروه پرچرب نسبت به گروه کنترل نرمال کاهش پیدا کرد ولی این کاهش از نظر آماری معنی دار نبود (P>0/05). میزان شاخص کبدی در گروه پرچرب نسبت به گروه کنترل نرمال بطور معنی دار افزایش یافت (P<0/01). در گروه فروکتوز، تغییر معنی دار در شاخص کبدی نسبت به گروه پرچرب دیده نشد (P>0/05) ولی در گروه فرکتوز – لیپوئیک اسید، کاهش معنی دار در شاخص کبدی نسبت به گروه پرچرب مشاهده گردید (P<0/01).

نمودار ۱ اثرات رژیم کم فرکتوز وآلفا لیپوئیک اسید بر میزان گلوکز سرم و مقاومت به انسولین بر اساس (HOMA-Index) را نشان می دهد.

جدول ۳- مقایسه اثرات فرکتوز (1g/kg) ، آلفا لیپوئیک اسید (60mg/kg) و ترکیب هردو (1g/kg+60mg/kg) بر وزن اکتسابی در طول دوره و شاخص کبدی در گروه های کنترل نرمال (NC)، پرچرب (HF)، فرکتوز (Fru)، لیپوئیک اسید (Lip) و گروه فرکتور و لیپوئیک اسید (Fru+Lip).

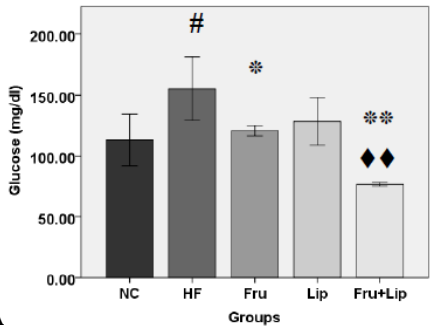
گروه ها	NC	HF	Fru	Lip	Fru+Lip
وزن اکتسابی (گرم)	۶۹,۳ ± ۶,۴	۵۲,۸ ± ۱۶,۴	۴۱,۲ ± ۱۶,۴	۱۸,۰ ± ۹,۳	۴۳,۲ ± ۲۳,۸
شاخص کبدی	۳,۶۳ ±۰,۱۷	۴,۳۶ ± ۰,۴۴ ##	۴,۴۴ ±۰,۲۵	۴,۳۷ ±۰,۴۷	۳,۶۷ ±۰,۱۹ **

(##) نشاندهنده (P<0/01) اختلاف معنی دار با گروه (NC) می باشد.

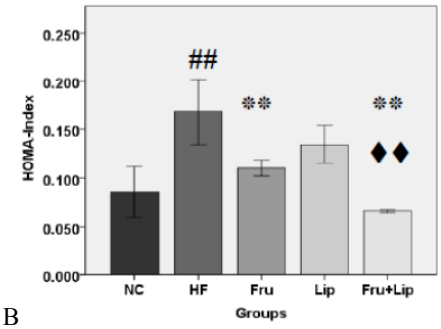
(**) نشاندهنده (P<0/01) اختلاف معنی دار با گروه (HF) می باشد.

DOR: 20.1001.1.23832614.1402.36.2.4.7
مقاله پژوهشی، صفحات: ۱۴۹-۱۳۲

میزان گلوکز سرم (P<0/05) و مقاومت به انسولین (P<0/01) در گروه پرچرب نسبت به گروه کنترل نرمال بطور معنی داری افزایش یافت. فرکتوز موجب کاهش معنی دار در سطح گلوکز سرم (P<0/05) و مقاومت به انسولین (P<0/01) در گروه فرکتوز نسبت به گروه پرچرب گردید. افزودن آلفا لیپوئیک اسید به رژیم کم فروکتوز موجب کاهش بیشتر در سطح این مشخصه ها شد به شکلی که اختلاف معنی دار در میزان گلوکز و مقاومت به انسولین بین گروه فروکتوز و گروه فرکتوز - لیپوئیک اسید مشاهده گردید (P<0/01).



A



B

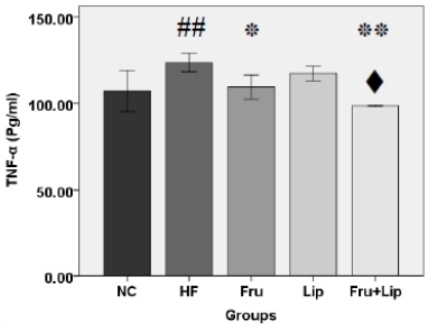
نمودار ۱- مقایسه اثرات فرکتوز (1g/kg) ، آلفا لیپوئیک اسید (60mg/kg) و ترکیب هردو (1g/kg+60mg/kg) بر میزان گلوکز سرم در نمودار (A) و مقاومت به انسولین در نمودار (B) در گروه های کنترل نرمال (NC) ، پرچرب (HF)، فرکتوز (Fru)، لیپوئیک اسید (Lip) و گروه دریافت کننده ترکیب فرکتور و لیپوئیک اسید (Fru+Lip).

(#) نشاندهنده (P<0/05) و (##) نشاندهنده (P<0/01) اختلاف معنی دار با گروه (NC) می باشد.

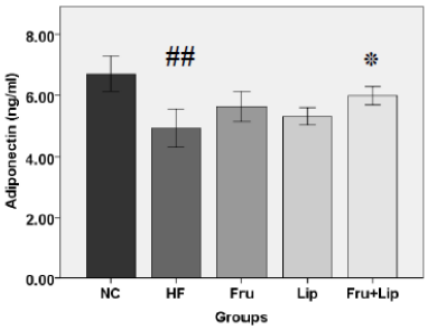
(*) نشاندهنده (P<0/05) و (**) نشاندهنده (P<0/01) اختلاف معنی دار با گروه (HF) می باشد.

(♦♦) نشاندهنده (P<0/01) اختلاف معنی دار با گروه (Fru) می‌باشد.

نمودار ۲ اثرات رژیم کم فرکتوز و آلفا لیپوئیک اسید برمیزان آدیپونکتین و TNF-α سرم را نشان می دهد. امولسیون پرچرب موجب افزایش معنی دار سطح TNF-α وکاهش معنی دار سطح آدیپونکتین سرم در گروه پرچرب نسبت به گروه کنترل نرمال گردید (P<0/01). فرکتوز موجب کاهش معنی دار در سطح TNF-α نسبت به گروه پرچرب گردید (P<0/05). افزودن ترکیب آلفا لیپوئیک اسید به رژیم کم فروکتوز موجب کاهش بیشتر در سطح TNF-α گردید (P<0/01) به شکلی که اختلاف معنی دار در سطح این مشخصه بین گروه فروکتوز و گروه فرکتوز - لیپوئیک اسید مشاهده گردید (P<0/05). تغییر معنی دار در سطح آدیپونکتین سرم پس از دریافت رژیم کم فرکتوز دیده نشد (P>0/05) ولی ترکیب فرکتوز - لیپوئیک اسید موجب افزایش معنی دار آدیپونکتین در گروه مربوطه نسبت به گروه پرچرب گردید (P<0/05).



A



B

نمودار ۲- مقایسه اثرات فرکتوز (1g/kg) ، لیپوئیک اسید (60mg/kg) و ترکیب هردو (1g/kg+60mg/kg) بر سطح سرمی (TNF-α) در

DOR: 20.1001.1.23832614.1402.36.2.4.7
مقاله پژوهشی، صفحات: ۱۴۹-۱۳۲

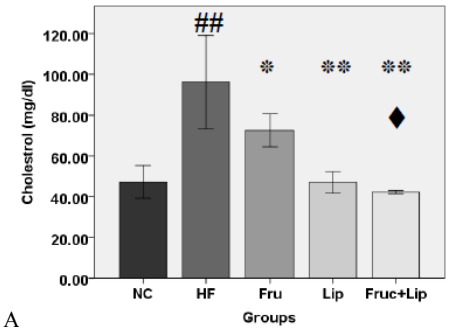
نمودار (A) و آدیپونکتین در نمودار (B) در گروه های کنترل نرمال (NC) ، پر چرب (HF)، فرکتوز (Fru)، لیپوئیک اسید (Lip) و گروه دریافت کننده ترکیب فرکتور و لیپوئیک اسید (Fru+Lip).

(##) نشاندهنده (P<0/01) اختلاف معنی دار با گروه (NC) می‌باشد.

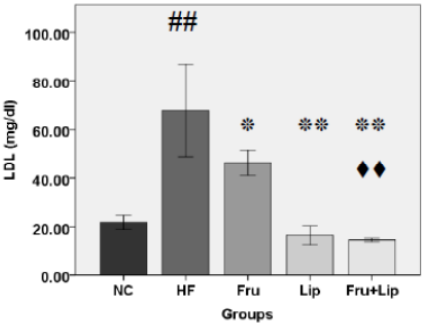
(*) نشاندهنده (P<0/05) و (**) نشاندهنده (P<0/01) اختلاف معنی دار با گروه (HF) می باشد.

(♦) نشاندهنده (P<0/05) اختلاف معنی دار با گروه (Fru) می باشد.

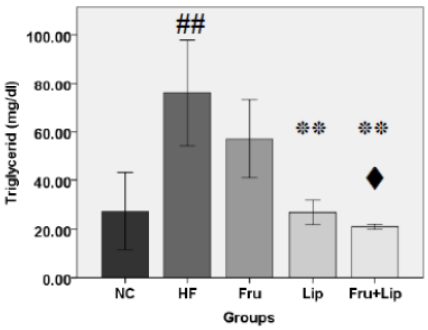
نمودار ۳ اثرات رژیم کم فرکتوز و آلفا لیپوئیک اسید بر پروفایل چربی سرم را نشان می دهد. پس از شش هفته گاواژ امولسیون پرچرب، افزایش معنی دار در سطح پروفایل چربی سرم شامل کلسترول، لیپوپروتئین های با دانسیته کم یا LDL ، تری گلیسیرید واسیدهای چرب آزاد در گروه پرچرب نسبت به گروه کنترل نرمال مشاهده شد (P<0/01). رژیم کم فرکتوز موجب کاهش معنی دار در سطح کلسترول، LDL و اسیدهای چرب آزاد سرم گردید (P<0/05). در همین حال افزودن ترکیب آلفا لیپوئیک اسید به رژیم کم فروکتوز موجب کاهش بیشتر در سطح کلسترول و تری گلیسیرید سرم همچنین میزان LDL و اسیدهای چرب آزاد در گروه مربوطه نسبت به گروه پرچرب شد (P<0/01) به شکلی که اختلاف معنی دار در سطح کلسترول و تری گلیسیرید سرم (P<0/05) همچنین لیپوپروتئین LDL و اسیدهای چرب آزاد سرم (P<0/01) بین گروه فروکتوز و گروه فرکتوز – لیپوئیک اسید مشاهده گردید.



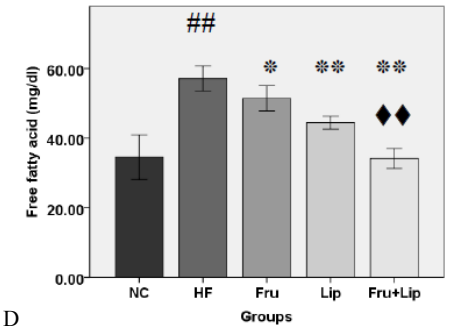
A



B



C



D

نمودار ۳- مقایسه اثرات فرکتوز (1g/kg) ، لیپوئیک اسید (60mg/kg) و ترکیب هردو (1g/kg+60mg/kg) بر سطح سرمی کلسترول در نمودار (A) ، LDL در نمودار (B) ، تری گلیسیرید در نمودار (C) و اسیدهای چرب آزاد در نمودار (D) در گروه های کنترل نرمال (NC) ، رژیم پر چرب (HF)، فرکتوز (Fru)، لیپوئیک اسید (Lip) و گروه دریافت کننده ترکیب فرکتور و لیپوئیک اسید (Fru+Lip).

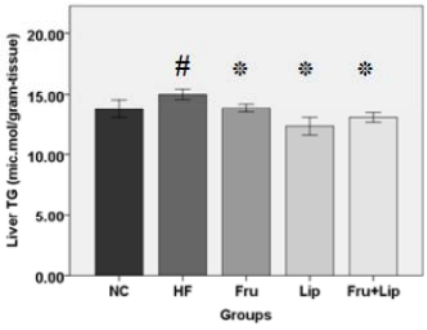
(#) نشاندهنده (P<0/05) و (##) نشاندهنده (P<0/01) اختلاف معنی دار با گروه (NC) می باشد.

(*) نشاندهنده (P<0/05) و (**) نشاندهنده (P<0/01) اختلاف معنی دار با گروه (HF) می باشد.

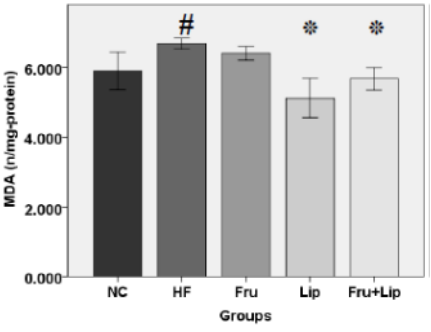
(♦) نشاندهنده (P<0/05) و (♦♦) نشاندهنده (P<0/01) اختلاف معنی دار با گروه (Fru) می باشد.

DOR: 20.1001.1.23832614.1402.36.2.4.7
مقاله پژوهشی، صفحات: ۱۴۹-۱۳۲

امولسیون پرچرب موجب افزایش معنی دار در محتوی تری گلیسیرید و مالون دی آلدهید بافت کبد در گروه پرچرب نسبت به گروه کنترل نرمال گردید (P<0/05). تیمار با رژیم کم فروکتوز موجب کاهش معنی دار در محتوی تری گلیسیرید بافت کبد در گروه فرکتوز نسبت به گروه پرچرب گردید (P<0/05). در گروه فرکتوز – لیپوئیک اسید، کاهش معنی دار در محتوی تری گلیسیرید و مالون دی آلدهید بافت کبد نسبت به گروه پرچرب دیده شد (P<0/05). اختلاف معنی دار آماری در سطح این مشخصه ها بین گروه فرکتوز و گروه فرکتوز – لیپوئیک اسید مشاهده نگردید (P>0/05).



A

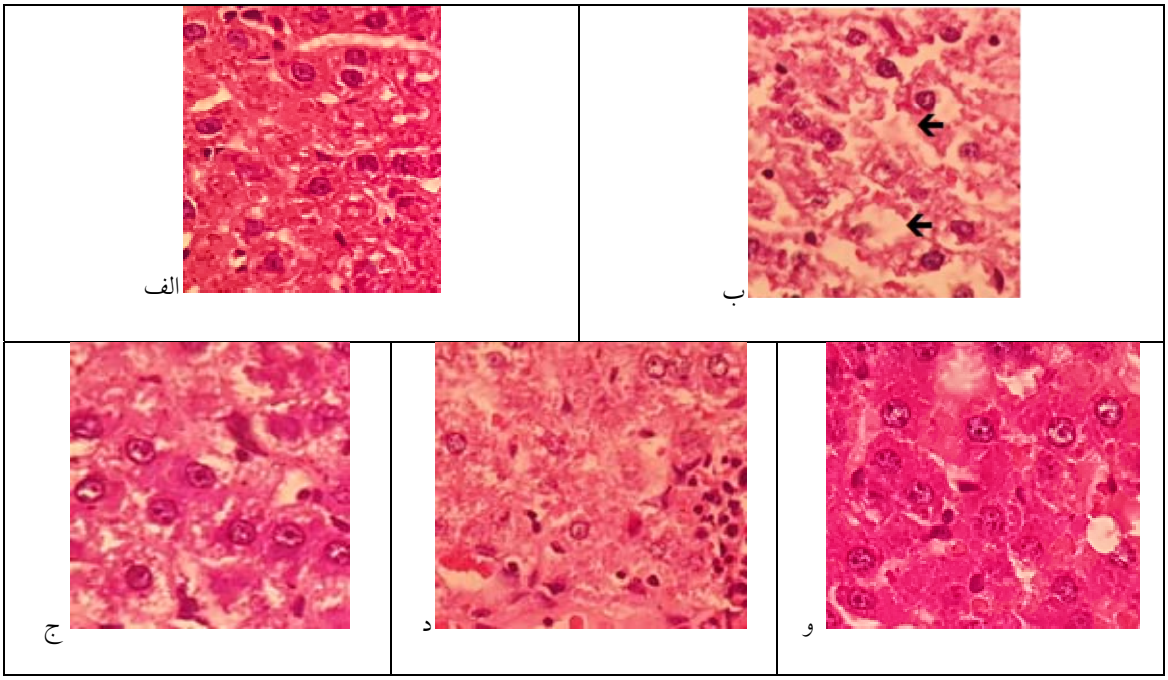


B

نمودار ۴- مقایسه اثرات فرکتوز (1g/kg) ، لیپوئیک اسید (60mg/kg) و ترکیب هردو (1g/kg+60mg/kg) بر محتوی تری گلیسیرید کبد در نمودار (A) و میزان مالون دی آلدهید کبد در نمودار (B) درگروه های کنترل نرمال (NC) ، پر چرب (HF)، فرکتوز (Fru)، لیپوئیک اسید (Lip) و گروه دریافت کننده ترکیب فرکتور و لیپوئیک اسید (Fru+Lip).

(#) نشاندهنده (P<0/05) اختلاف معنی دار با گروه (NC) می باشد.

(*) نشاندهنده (P<0/05) اختلاف معنی دار با گروه (HF) می باشد.

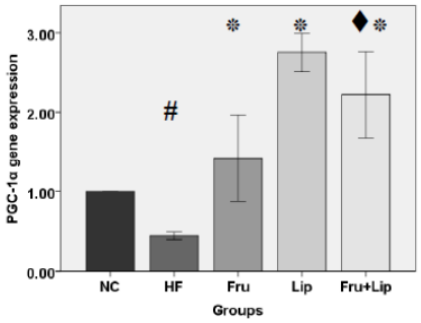


شکل ۱- تصویر بافت کبد گروه های مورد مطالعه پس از رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین. (الف): گروه کنترل نرمال که در آن ساختار بافت کبد

DOR: 20.1001.1.23832614.1402.36.2.4.7
مقاله پژوهشی، صفحات: ۱۴۹-۱۳۲

طبیعی بود. (ب): گروه پرچرب که در آن تشکیل و تجمع چربی در کبد مشاهده گردید و در اینجا با نشانه مشخص شده است. (ج): گروه پرچرب همراه با رژیم کم فرکتوز که در آن کاهش میزان قطرات چربی نسبت به گروه پرچرب مشاهده گردید. (د): گروه پرچرب همراه با آلفا لیپوئیک اسید، تشکیل و تجمع کمتری از قطرات چربی در آن نسبت به گروه پرچرب دیده شد. (و): در گروه دریافت کننده امولسیون پرچرب همراه با رژیم کم فرکتوز – لیپوئیک اسید نیز علیرغم دریافت یک رژیم امولسیون پرچرب، تشکیل و تجمع کمتری از قطرات چربی در بافت کبد آن نسبت به گروه پرچرب مشاهده گردید (بزرگنمایی X۱۰۰).

نمودار ۵ اثرات رژیم کم فرکتوز وآلفا لیپوئیک اسید بر میزان بیان ژن PGC -1α در بافت چربی را نشان می دهد. میزان بیان ژن PGC-1α در بافت چربی در گروه پر چرب نسبت به گروه کنترل نرمال کاهش یافت (P<0/05). فرکتوز، آلفا لیپوئیک اسید و ترکیب هردو موجب افزایش میزان بیان ژن PGC-1α در گروه های مربوطه نسبت به گروه پرچرب گردیدند (P<0/05). علاوه بر این، تفاوت معنی داری نیز در میزان بیان ژن PGC-1α بین گروه فروکتوز و گروه فرکتوز – لیپوئیک اسید مشاهده گردید (P<0/05).



نمودار ۵- مقایسه اثرات فرکتوز (1g/kg) ، لیپوئیک اسید (60mg/kg) و ترکیب هردو (1g/kg+60mg/kg) بر میزان بیان ژن PGC-1α در بافت چربی گروه های کنترل نرمال (NC) ، پر چرب (HF)، فرکتوز (Fru)، لیپوئیک اسید (Lip) و گروه دریافت کننده ترکیب فرکتور و لیپوئیک اسید (Fru+Lip).

(#) نشاندهنده (P<0/05) اختلاف معنی دار با گروه (NC) می باشد.

(*) نشاندهنده (P<0/05) اختلاف معنی دار با گروه (HF) می باشد.

(♦) نشاندهنده (P<0/05) اختلاف معنی دار با گروه (Fru) می باشد.

بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد، استفاده از یک رژیم غذایی کم فرکتوز موجب بهبود متابولیسم گلوکز و کاهش مقاومت به انسولین ناشی از رژیم غذایی پرچرب می شود. در همین حال با افزودن آلفا لیپوئیک اسید به این رژیم می‌توان اثرات بهتری در بهبود متابولیسم گلوکز و کاهش مقاومت به انسولین مشاهده نمود.

پژوهش های گذشته نشان داده اند که استفاده از رژیم غذایی پر چرب در طولانی مدت یکی از دلایل ابتلا به بیماری کبد چرب غیر الکلی می باشد (۲۲). رژیم های پرچرب باعث ایجاد مقاومت به انسولین، هایپر گلیسیریدمیا، دیس لیپیدمیا و اختلال در سوخت و ساز چربی ها می گردند. این اختلالات با افزایش سطح پروفایل چربی و میزان اسیدهای چرب آزاد در سرم و سپس تجمع و رسوب چربی ها در کبد، موجب ایجاد بیماری کبد چرب غیر الکلی می شوند (۳۶). یافته های این پژوهش نشان داد شش هفته گاواژ امولسیون پرچرب موجب افزایش گلوکز، مقاومت به انسولین، رسوب چربی در بافت کبد و بروز نشانه های بیماری کبد چرب در موش های صحرایی گردید. همسو با پژوهش های گذشته و بر اساس نتایج این تحقیق، افزایش میزان گلوکز، پروفایل چربی سرم، تجمع و افزایش تری گلیسیریدها در کبد حیوانات ممکن است به علت ایجاد مقاومت به انسولین و دیس لیپیدمیا ناشی از مصرف رژیم غذایی پرچرب باشد.

بر اساس مطالعات انجام شده، تجمع چربی در کبد باعث اختلال در سوخت و ساز سلولی، افزایش تولید رادیکال های آزاد و بروز استرس های اکسیداتیو و به دنبال آن افزایش ترشح سایتوکاین ها می گردد (۱۰). مهمترین عامل در ایجاد این اختلالات و همچنین پیشرفت و توسعه بیماری کبد چرب، بروز مقاومت به انسولین است (۵). در

DOR: 20.1001.1.23832614.1402.36.2.4.7
مقاله پژوهشی، صفحات: ۱۴۹-۱۳۲

اثر ایجاد مقاومت به انسولین، اثرات تنظیم کننده انسولین بر سوخت و ساز گلوکز و میزان جذب سلولی آن کاهش یافته لذا سطح گلوکز و به دنبال آن میزان اسیدهای چرب آزاد در سرم، افزایش می یابد (۲۲). تحقیقات نشان داده، کاهش میزان فرکتوز در رژیم غذایی در کاهش مقاومت به انسولین و بهبود سوخت و ساز گلوکز در بیماران مبتلا به کبد چرب نقش دارد (۲۰). بر اساس مطالعات گذشته، فرکتوز ۱ فسفات که از متابولیسم فرکتوز در سلول تولید می شود می تواند آنزیم گلوکوکیناز کبدی را فعال نماید که این آنزیم موجب بهبود سوخت و ساز گلوکز می شود (۱۴). از طرفی آلفا لیپوئیک اسید یک ترکیب طبیعی است که موجب افزایش فعالیت (Adenosine monophosphate–activated protein kinase (AMPK) می گردد. ترکیبات دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بر سطح گلوکز سرم موثر هستند (۳). آلفا لیپوئیک اسید اثرات آنتی اکسیدانی داشته و میزان استئاتوز در کبد را کاهش می دهد لذا در بهبود بیماری کبد چرب غیرالکلی که همراه با مقاومت به انسولین می باشد، مفید است (۱۳). نتایج این مطالعه نشان داد، رژیم کم فرکتوز موجب کاهش گلوکز سرم و میزان مقاومت به انسولین شد در همین حال افزودن آلفا لیپوئیک اسید به این رژیم باعث کاهش بیشتری در سطح این فاکتورها گردید. در راستای تحقیقات گذشته و هماهنگ با این یافته ها، کاهش بیشتر گلوکز سرم و میزان مقاومت به انسولین پس از استفاده توام از رژیم کم فرکتوز همراه با آلفا لیپوئیک اسید ممکن است به علت اثرات فرکتوز در تحریک آنزیم گلوکوکیناز، افزایش فعالیت AMPK به دلیل مصرف آلفا لیپوئیک اسید و در نهایت تداخل اثر این دو عامل باشد.

فاکتور نکروز تومور آلفا (Tumor necrosis factor α (TNF-α)) از سایتوکاین هایی است که در ایجاد آسیب های کبدی نقش مهمی دارد. این عامل موجب توسعه و پیشرفت بیماری کبد چرب غیرالکلی می گردد (۱۹). مطالعات گذشته نشان می دهد مقاومت به انسولین در بافت چربی با میزان ترشح سایتوکاین هایی مانند TNF-α ارتباط دارد (۳۳). از طرفی TNF-α خود بر مسیر پیام رسانی انسولین تاثیر گذاشته و موجب مقاومت به انسولین می گردد (۲۳). فرکتوز ۱ فسفات که از متابولیسم فرکتوز بدست می آید 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 و میزان تولید گلوکز توسط کبد را کاهش می دهد (۱۴). آلفا لیپوئیک اسید باعث افزایش فعالیت AMPK می گردد که با افزایش سوخت و ساز در سلول همراه است (۱۳). نتایج این مطالعه نشان داد، رژیم کم فرکتوز موجب کاهش سطح سرمی TNF-α گردید در همین حال افزودن آلفا لیپوئیک اسید به این رژیم، کاهش بیشتری در سطح TNF-α ایجاد کرد. همسو با این مطالعات و بر اساس نتایج این پژوهش، کاهش بیشتر سطح TNF-α در اثرمصرف توام رژیم کم فرکتوز همراه با آلفا لیپوئیک اسید ممکن است به علت کاهش مقاومت به انسولین ناشی از مصرف مقادیر کم فرکتوز و افزایش میزان فرکتوز ۱ فسفات، همچنین افزایش سوخت و ساز به دلیل اثرات آلفا لیپوئیک اسید بطور همزمان باشد.

با توجه به مطالعات انجام شده، دیس لیپیدمیا با مقاومت به انسولین ارتباط دارد و از نشانه های سندروم متابولیک است که علائم آن شامل افزایش کلسترول، تری گلیسیرید و لیپوپروتئین های با چگالی کم است. با بروز مقاومت به انسولین، سطح اسید های چرب آزاد سرم افزایش می یابد که این از عوامل افزایش سطح لیپوپروتئین های سرم است (۵). از طرفی مطالعه دیگری نشان می دهد، رژیم کم فرکتوز می تواند موجب کاهش سطح کلسترول، تری گلیسیرید و لیپوپروتئین های سرم گردد (۲۰). بر اساس تحقیقات گذشته، فرکتوز ۱ فسفات که از متابولیسم فرکتوز بدست می آید می تواند آنزیم گلوکوکیناز کبدی را فعال نماید که این آنزیم موجب بهبود در هومئوستاز گلوکز می‌شود (۹). کاهش استرس های اکسیداتیو بر میزان

DOR: 20.1001.1.23832614.1402.36.2.4.7

مقاومت به انسولین و متابولیسم چربی ها تاثیر دارد (۲ و ۱). آلفا لیپوئیک اسید موجب افزایش حساسیت به انسولین شده و از طریق اثرات آنتی اکسیدانی خود موجب بهبود اختلالات چربی می گردد (۳۵). آلفا لیپوئیک اسید با افزایش بتا اکسیداسیون و کاهش سنتز کلسترول از دیس لیپیدمیا جلوگیری می کند (۳۴). بر اساس نتایج این مطالعه، مصرف همزمان رژیم کم فرکتوز همراه با آلفا لیپوئیک اسید نسبت به استفاده از رژیم کم فرکتوز به تنهایی، کاهش بیشتری در سطح کلسترول و لیپوپروتئین ها همچنین میزان تری گلیسرید و اسیدهای چرب آزاد سرم ایجاد کرد. همسو با این مطالعات و با توجه به نتایج این تحقیق، کاهش بیشتر سطح پروفایل چربی سرم در اثر مصرف توام رژیم کم فرکتوز همراه با آلفا لیپوئیک اسید ممکن است به علت کاهش مقاومت به انسولین ناشی از افزایش میزان فرکتوز ۱ فسفات و اثرات آلفا لیپوئیک اسید در بهبود متابولیسم چربی ها همچنین اثرات سینرژیکی این دو به دلیل مصرف توام و همزمان آنها باشد.

بر اساس نتایج پژوهش های قبل، استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی در بیماری کبد چرب غیرالکلی موجب ایجاد التهاب می گردد (۱۰). رادیکال های آزاد با ایجاد استرس های اکسیداتیو باعث پراکسیداسیون لیپیدی، آسیب به سلول ها و التهاب می گردند (۲۹). از علائم ایجاد پراکسیداسیون لیپیدی تولید مالون دی آلدهید است (۳۰). در مطالعات دیگری دیده شده، محدود کردن میزان مصرف فرکتوز باعث بهبود استرس های اکسیداتیو می گردد (۲۶). آلفا لیپوئیک اسید ترکیبی با خاصیت آنتی اکسیدانی قوی می باشد (۹). با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش، رژیم کم فرکتوز تغییری در میزان مالون دی آلدهید بافت کبد نسبت به گروه پر چرب ایجاد نکرد ولی در مقابل استفاده از رژیم کم فرکتوز همراه با آلفا لیپوئیک اسید موجب کاهش میزان مالون دی آلدهید کبد گردید. همسو با مطالعات گذشته و با توجه به نتایج این تحقیق، اثرات مصرف توام رژیم کم فرکتوز همراه با آلفا لیپوئیک اسید در کاهش محتوی مالون دی آلدهید کبدی ممکن است به دلیل اثرات آنتی اکسیدانی ترکیب آلفا لیپوئیک اسید و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی باشد.

فاکتور γ (Peroxisome proliferator-activated receptor (PPARγ) Coactivaror-1-alfa (PGC-1α)) یک فاکتور فعال کننده نسخه برداری است که در هومئوستاز انرژی و متابولیسم گلوکز شرکت می کند و موجب افزایش بیان ژن پروتئین های جدا کننده در بافت چربی قهوه ای می گردد (۲۸). مطالعات نشان می دهد PGC-1α اثرات محافظتی در برابر توسعه مقاومت به انسولین داشته و موجب افزایش بیان ترانسپورتر گلوکز GLUT4 و تقویت عملکرد میتوکندری ها می شود (۸). کاهش میزان بیان PGC-1α در بافت چربی با بروز مقاومت به انسولین همراه است (۱۵). در همین حال مطالعات انجام شده نشان می دهد آلفا لیپوئیک اسید باعث افزایش بیان ژن PGC-1α می گردد (۷ و ۲۴). با توجه به یافته های این پژوهش و همسو با تحقیقات گذشته، ممکن است افزایش بیان ژن PGC-1α بعلت بهبود مقاومت به انسولین ناشی از مصرف رژیم کم فرکتوز و افزایش فعالیت آنزیم گلوکوکیناز و اثرات آلفا لیپوئیک باشد.

با توجه به نتایج این مطالعه به نظر می رسد رژیم کم فرکتوز با کاهش مقاومت به انسولین موجب بهبود علائم و نشانه های بیماری کبد چرب غیر الکلی ناشی از رژیم پرچرب شده و مصرف همزمان آلفا لیپوئیک با اثرات آنتی اکسیدانی خود و افزایش بیان ژن PGC-1α باعث تقویت اثرات رژیم کم فرکتوز در بهبود نشانه های این بیماری گردیده لذا ممکن است مصرف توام یک رژیم کم فرکتوز همراه با آلفا لیپوئیک اسید بصورت مکمل غذایی برای جلوگیری از پیشرفت و بهبود علائم سندروم متابولیک و بیماری کبد چرب غیرالکلی مفید باشد.

سپاسگزاری

این تحقیق در محل مجتمع آزمایشگاه رازی وابسته به

DOR: 20.1001.1.23832614.1402.36.2.4.7

دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران انجام شد که بدینوسیله از واحد مربوطه تشکر و قدردانی می گردد.

منابع

۱- بینا، ر.، حیدری، ر.، محمدزاده، م.، ایلخانی پور، م.، ۱۳۹۸. تأثیر عصاره آبی گیاه آویشن (*Thymus vulgaris L.*) بر روی پارامترهای بیوشیمیایی خون و بافت کبدی در موش های صحرایی ماده تحت استرس بی حرکتی، مجله پژوهشهای جانوری (مجله زیست شناسی ایران)، جلد ۳۲ شماره ۱، صفحات ۱۰-۱.

۲- شریعت زاده، س. م.، مقدمی، ف.، مالکی، پ.، ۱۳۹۹. ارزیابی اثر حفاظتی روغن سیاه دانه بر بافت کبد موش های نر NMRI متعاقب سمیت نانو ذرات نقره، مجله پژوهشهای جانوری (مجله زیست شناسی ایران)، جلد ۳۳ شماره ۳، صفحات ۲۰۷-۱۹۵.

۳- نوروزی، م.، ولی پور چهارده چریک، س.، ۱۴۰۰. اثر عصاره هیدرو الکلی گیاه بوقناق (*Eryngium campestre*) بر میزان شاخص های لیپیدی سرم در موشهای صحرایی نر بالغ دیابتی، مجله پژوهشهای جانوری (مجله زیست شناسی ایران)، جلد ۳۴ شماره ۳، صفحات ۱۱-۱.

4- Brymora, A., Flisinski, M., Johnson, R.J., Goszka, G.Z., Stefanska, A., and Manitius, J., 2012. Low-fructose diet lowers blood pressure and inflammation in patients with chronic kidney disease. Nephrol Dial Transplant, 27, PP: 608-612.

5- Chitturi, S., Abeygunasekera, S., Farrell, G.C., Holmes-Walker, J., Hui, J.M., Fung, C., Karim, R., Lin, R., Samarasinghe, D., Liddle, C., Weltman, M. 2002. NASH and Insulin Resistance: Insulin Hypersecretionand Specific Association with the Insulin Resistance Syndrome. Hepatology, 35, PP: 373-379.

6- Cremer, D. R., Rabeler, R., Roberts, A., and Lynch, B., 2006. Safety evaluation of a-lipoic acid (ALA). Regulatory Toxicology and Pharmacology, 46, PP: 29-41.

7- Fernandez–Galilea, M., Prieto–Hontoria, P. L., Martinez, J. A., Moreno–Aliaga, M. G., 2013. Antiobesity effects of a–lipoic acid supplementation. Clin. Lipidol, 8, PP: 371–383.

8- Finck, B. N., and Kelly, D. P., 2006. PGC-1 coactivators: inducible regulators of energy metabolism in health and disease. The Journal of Clinical Investigation, 116, PP: 615-622.

9- Goraca, A., Huk-Kolega, H., Piechota, A., Kleniewska, P., Ciejka, E., and Skibska, B., 2011. Lipoic acid – biological activity and therapeutic potential. Pharmacological Reports, 63, PP: 849-858.

10- Hebbard, L., and George, G., 2012. Animal models of nonalcoholic fatty liver disease. Nature reviews. Gastroenterology & Hepatology, 8, PP: 34-44.

11- Jin. R., Welsh, J.A., Le, L.A., Holzberg, J., Sharma, P., Martin, D.R., and Miriam, B.V., 2014. Dietary Fructose Reduction Improves Markers of Cardiovascular Disease Risk in Hispanic-American Adolescents with NAFLD. Nutrients, 6, PP: 3187-3201.

12- Karkhaneh, L., Yaghmaei, P., Parivar, K., Sadeghizadeh, M., and Ebrahim-Habibi, A., 2016. Effect of trans-chalcone on atheroma plaque formation, liver fibrosis and adiponectin gene expression in cholesterol-fed NMRI mice. Pharmacological Reports, 462, PP: 1-8.

13- Keun-Gyu, P., Ae-Kyung, M., Eun Hee, K., Hyoun Sik, K., Mi-Ok, K., Hye-Sun, P., Yong-Deuk, K., and, et al., 2008. Alpha-Lipoic Acid Decreases Hepatic Lipogenesis through Adenosine Monophosphate-Activated Protein Kinase (AMPK)-Dependent and AMPK-Independent. Hepatology, 48, PP: 1477-1486.

14- Kim-Anne, L. and Tappy, L., 2006. Metabolic effects of fructose. Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic. Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care, 9, PP: 469–475.

15- Kleiner, S., Mepani, R. J., Laznik, D., Ye, L., Jurczak, M. J., Jornayvaz, F. R., and et al., 2012. Development of insulin resistance in mice lacking PGC-1α in adipose tissues. PNAS, 109, PP: 9635-9460.

16- Kretowicz, M., Johnson, R.J., Ishimoto, T,. Nakagawa, T., and Manitius, J., 2011. The Impact of Fructose on Renal Function and Blood Pressure. International Journal of Nephrology, 1, PP: 1-5.

17- Lim, J.S., Mietus-Snyder, M., Valente. A., Schwarz, J.M., and Lustig, R.H., 2010. The role of fructose in the pathogenesis of NAFLD and the metabolic syndrome. nature reviews. Gastroenterology & hepatology, 7, PP: 251-264.

18- Madero, M., Arriaga, J.C., Jalal, D., Rivard, C., McFann, K., Perez-Mendez, O., and et al., 2011. The effect of two energy-restricted diets, a low-fructose diet versus a moderate natural fructose

diet, on eight loss and metabolic syndrome parameters: a randomized controlled trial. Metabolism clinical and experimental, 60, PP: 1551-1559.

19- Mae Diehl, A., 2002. Nonalcoholic Steatosis and Steatohepatitis IV. Nonalcoholic fatty liver disease abnormalities in macrophage function and cytokines. Am J. Physiol Gastrointest Liver Physiol, 282, PP: 1-5.

20- Mager, D.R., Iniguez, I.R., Gilmour, S., and Yap. J., 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, PP:1-12.

21- Maier, I.B., Stricker, L., Ozel. Y., Wagnerberger, S., Bischoff, S.C., and Bergheim, I., 2011. A low fructose diet in the treatment of pediatric obesity: A pilot study. Pediatrics International, 53, PP: 303–308.

22- Marra, F., Gastaldelli, A., Baroni, G.S., Tell, G. and Tiribelli, C., 2008. Molecular basis and mechanisms of progression of non-alcoholic Steatohepatitis. Trends in Molecular Medicine, 14, PP: 72-81.

23- Nieto-Vazquez, I., Fernandez-veledo, S., Kramer, D.K., Vila-Bedmar, R., Garcia-Guerra, L., and Lorenzo, M., 2008. Insulin resistance associated to obesity: the link TNF-alpha. Archives of Physiology and Biochemistry, 114, PP: 183-194.

24- Nikolai, S., Huebbe, P., Metges, C., Schloesser, A., Dose, J., Ikuta, N. and et al., 2014. R-a lipoic acid g-cyclodextrin complex increases energy expenditure: A 4-month feeding study in mice. Nutrition, 30, PP: 228–233.

25- Niloofar, H., and Thibault, L., 2010. High-fat diet-induced obesity in animal models. Nutrition Research Reviews, 23, PP: 270-299.

26- Petersen, K.F., Laurent, D., Yu, C., Cline, G.W., and Shulman, G.I.,2001. Stimulating Effects of Low-Dose Fructose on Insulin-Stimulated Hepatic Glycogen Synthesis in Humans. Diabetes, 50, PP: 1263-1268.

27- Petersen, K.F., Laurent, D., Yu, C., Cline, G.W., and Shulman, G.I., 2001. Stimulating Effects of Low-Dose Fructose on Insulin-Stimulated Hepatic Glycogen Synthesis in Humans. Diabetes, 50, PP: 1263-1268.

28- Puigserver, P., and Spiegelman, B. M., 2003. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ Coactivator1a (PGC1-α) : Transcriptional Coactivator and Metabolic Regulator. Endocrine Reviews, 24, PP: 78 –90.

29- Robertson, G., Leclercq, I., and Farrell, G.C., 2001. Nonalcoholic Steatosis and Steatohepatitis II.Cytochrome P-450 enzymes and oxidative stress. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 281, PP: 1135-1139.

30- Rolo, A.P., Teodoro, G.S. and Palmeira, C.M., 2012. Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. Free Radical Biology & Medicine, 52, PP: 50-65.

31- Tran, L.T., Yuen, V.G., and McNeill, G.H., 2009. The fructose-fed rat: a review on the mechanisms of fructose-induced insulin resistance and hypertension. Mol Cell Biochem, 332, PP: 145-159.

32- Vos, M.B., and Lavine, J.E., 2013. Dietary Fructose in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. Hepatology, 57, PP: 2525-2531.

33- Winkler, G., Kiss, S., Keszthelyi, L., Sapi, Z., Ory, I., Salamon, F., and et al., 2003. Expression of tumor necrosis factor (TNF)-a protein in the subcutaneous and visceral adipose tissue in correlation with adipocyte cell volume, serum TNF-a, soluble serum TNF-receptor-2 concentrations and C-peptide level. European Journal of Endocrinology, 149, PP: 129-135.

34- Yang, R., Li, W., Shi, Y., and Le, G., 2008. Lipoic acid prevents high-fat diet–induced dyslipidemia and oxidative stress: A microarray analysis. Nutrition, 24, PP: 582-588.

35- Zhang, Y., Han, P., Wu, N., He, B., Lu, Y., Li, S., Liu, Y., and et al., 2011. Amelioration of Lipid Abnormalities by α-Lipoic acid through Antioxidative and Anti-Inflammatory Effects. Obesity, 19, PP: 1647-1653.

36- Zou, Y., Li, J., Ge, J., Huang, Y., Zhang, L., and Wang, Y., 2006. High-fat emulsion-induced rat model of nonalcoholic steatohepatitis. Life Sciences, 79, PP: 1100-1107.

مقاله پژوهشی، صفحات: ۱۴۹-۱۳۲ DOR: 20.1001.1.23832614.1402.36.2.4.7

The effects of low fructose dietcombined with α-lipoic acidsupplementation on rat model of non-alcoholic fatty liver disease

Hassankhan B.[1*], Yaghmaei P.[1] and Ebrahim-Habibi A.[2]

[1] Dept. of Biology, Faculty of Basic Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, I.R. of Iran

[2] Endocrinology and Metabolism Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, I.R. of Iran

Abstract

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a common liver disorder that relevant to insulin resistance and oxidative stress. In this study, a low-fructose diet combined with α-lipoic acid was used to evaluate its effect on insulin resistance and some parameters of NAFLD due to high fat diet in the *Sprague-Dawley* rats. Male rats were divided into five group (n=8). Normal control group (NC), High fat diet group (HF), Fructose group (Fru), Lipoic acid group (Lip) and Fructose - Lipoic acid group (Fru+Lip). NC group received a standard chow. HF group was orally treated with the high fat emulsion diet (HFD) and Fru group orally treated with the HFD plus fructose (1g/kg), Lip group orally treated with the HFD plus lipoic acid (60g/kg) and Fru+Lip group orally treated with the HFD plus fructose (1g/kg) combined with lipoic acid (60g/kg) once per day via gavage for six weeks. After six weeks, serum lipid profile, glucose, Adiponectin, insulin resistance (HOMA-IR), TNF-α and also lipid profile and MDA in liver was evaluate. PGC-1α gene expression was examined in adipose tissue by Real-time PCR method. Liver tissue staining with H&E was performed to evaluate hepatic steatosis. In HF group, serum glucose, insulin resistance, serum and liver lipid profile, TNF-α and hepatic MDA significantly increased compared to the NC group (P<0/05) and hepatic steatosis was observed. In Fru group, serum glucose, insulin resistance, serum and liver lipid profile, TNF-α and hepatic MDA significantly decreased compared to the HF group (P<0/05). In addition, in Fru+Lip group, these parametrs significantly decreased compared to the Fru group (P<0/05).The results of this study showed that a low-fructose diet combined with α-lipoic acid has higher improvement effect on some parametrs of NAFLD compared to the low-fructose diet alone.

Key words: Glucose, Non-alcoholic fatty liver disease, Low-fructose diet, α-lipoic acid