مقاله تحقیقی

مجله دانشگاه علوم پزشکی بابل
سال ۱۴۰۰، دوره ۲۳، صفحه ۳۴۴-۳۳۷

اثر همزمان رزوراترول و پروبیوتیک بر مقاومت به انسولین و میزان پپتید شبه گلوکاگون-۱ (GLP-1)، در رت های دیابتی

عاطف پگاه (MSc)[۱]، ایرج خدادادی (PhD)[۱]، فاطمه میرزایی (PhD)[۲]، حیدر طیبی نیا (PhD)[۱]، ابراهیم عباسی (PhD)[۱*]

۱-گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
۲-گروه آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

دریافت: ۱۳۹۹/۷/۲۱، اصلاح: ۱۳۹۹/۱۲/۱۶، پذیرش: ۱۴۰۰/۲/۲۹

خلاصه

سابقه و هدف: درمان اصلی و موثر دیابت استفاده از انسولین و داروهای سینتتیک و داروهای گیاهی می باشد که ممکن است دارای عوارض نامطلوب متعدد باشند. با توجه به اینکه در بیماران دیابتی ترشح GLP-1 در مقایسه با افراد سالم کاهش می یابد، هدف از این مطالعه تعیین اثر همزمان رزوراترول و پروبیوتیک بر میزان ترشح انسولین و پپتید شبه گلوکاگون-۱ (GLP-1) و بررسی مقاومت به انسولین در رت های دیابتی می باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی از ۴۰ رت نر بالغ نژاد ویستار با وزن تقریبی ۳۰۰-۲۵۰ گرم استفاده شد. حیوانات به طور تصادفی به ۵ گروه: گروه کنترل، گروه دیابتی (با استفاده از ۶۵ mg/kg استرپتوزوتوسین و ۱۱۰ mg/kg نیکوتینامید به روش داخل صفاقی)، گروه دیابتی تیمار شده با پروبیوتیک (دوز 5×10^{9} bacteria.kg body wt^{-1} daily به روش محلول در آب)، گروه دیابتی تیمار شده با رزوراترول (میزان ۱۰ mg/kg به روش گاواژ) و گروه دیابتی تیمار شده با پروبیوتیک و رزوراترول (گروه ترکیبی) تقسیم شدند. پس از چهار هفته حیوانات کشته شدند و نمونه بافت پانکراس و خون برای آزمایشات هیستوپاتولوژی و تست های بیوشیمیایی جداسازی شد. میزان قند خون، مقاومت به انسولین، GLP-1 پانکراس و همچنین هیستوپاتولوژی پانکراس بررسی شد.

یافته‌ها: گروه ترکیبی در مقایسه با گروه دیابتی سبب ۴۲٪ کاهش سطح سرمی گلوکز ($p<۰/۰۰۱$) و ۳۰٪ کاهش مقاومت به انسولین ($p<۰/۰۰۱$) شد. گروه ترکیبی همچنین سبب ۲۳/۵٪ افزایش سطح انسولین ($p<۰/۰۰۱$) و ۸۸٪ افزایش GLP-1 ($p<۰/۰۵$) شد. گروه ترکیبی سبب بهبود بافت شناسی پانکراس شد.

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان داد که رزوراترول و پروبیوتیک با افزایش سطح GLP-1 و انسولین و کاهش مقاومت به انسولین در کنترل دیابت موثر هستند.

واژه‌های کلیدی: پروبیوتیک، رزوراترول، دیابت نوع ۲، پپتید شبه گلوکاگون-۱.

مقدمه

با توجه به تغییر سبک زندگی شیوع بیماری دیابت در سراسر جهان در حال افزایش است. طبق گزارش فدراسیون بین المللی دیابت (IDF)، این بیماری باعث مرگ ۴/۲ میلیون نفر در سال ۲۰۱۹ شده و در حال حاضر حدود ۵۰۰ میلیون بزرگسال بین ۲۰ تا ۷۹ ساله به دیابت مبتلا می باشند که احتمالاً تا سال ۲۰۴۵ به ۷۰۰ میلیون نفر افزایش می یابد (۱). دیابت نوع ۲ با سه نوع ناهنجاری پاتولوژیک شامل مقاومت محیطی به انسولین و تولید بیش از حد گلوکز کبدی و اختلال در ترشح انسولین شناخته می شود (۲). دیابت به عنوان یک ریسک فاکتور مهم برای بیماری های مختلف مانند بیماری های قلبی، مغزی، کلیوی و ویروسی در نظر گرفته می شود (۵-۳). مقاومت محیطی بافت ها به انسولین می تواند به علت اختلال در گیرنده انسولین، اختلال در مسیر های داخل سلولی و وجود آنتاگونیست‌های انسولین بوجود آید (۶). در حال حاضر درمان اصلی و موثر دیابت استفاده از انسولین و داروهای سینتتیک و داروهای گیاهی می باشد (۱۰-۷) که ممکن است دارای عوارض نامطلوب متعدد باشند (۱۱). پپتید شبه گلوکاگون-۱ یا به اختصار (GLP-1) از جمله هورمون های مهم در بدن بوده که از سلول های L انتروآندوکراین روده در پاسخ به هضم مواد غذایی آزاد می شود و قوی ترین محرک ترشح انسولین القا شده توسط گلوکز است (۱۲). در بیماران دیابتی ترشح GLP-1 در مقایسه با افراد سالم کاهش می یابد و بنابراین هدف مناسبی برای توسعه داروهای ضد دیابتی جدید است (۱۳). GLP-1 سبب افزایش توده سلول‌های بتا و نیز مهار آپوپتوز می گردد (۱۴). افزایش این هورمون با ترکیبات مختلف می تواند در بهبود دیابت موثر باشد. پروبیوتیک ها میکروارگانیسم های غیرپاتوژنیک زنده می باشند که تجویز آنها یکی از روش های مفید در درمان بسیاری از بیماری ها می باشد (۱۵). اکثر پروبیوتیک ها متعلق به گونه های بیفیدیوباکتریوم و لاکتوباسیلوس ها هستند. پروبیوتیک ها می توانند به عنوان مکمل های غذایی یا عوامل درمانی مورد استفاده قرارگیرند (۱۶). از طرف دیگر رزوراترول به عنوان یک آنتی اکسیدان در گونه های مختلفی از گیاهان و میوه جات یافت می شود (۱۷). رزوراترول دارای خصوصیات ضد التهابی، ضد سرطانی، و

▣ این مقاله حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد عاطفه پگاه دانشجوی رشته بیوشیمی بالینی و طرح تحقیقاتی (گرنت) به شماره ۹۷۰۹۰۶۵۳۰۵ دانشگاه علوم پزشکی همدان می باشد.
*مسئول مقاله: دکتر ابراهیم عباسی
آدرس: همدان، دانشگاه علوم پزشکی همدان، دانشکده پزشکی، گروه بیوشیمی بالینی. تلفن: ۰۸۱-۳۲۵۲۰۱۸۲
E-mail: 7abbasi@gmail.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1400.23.1.47.6]
[DOI: 10.22088/jbums.23.1.337]

آنتی اکسیدانی بوده و می تواند طول عمر را در پستانداران افزایش دهد (۱۹و۱۸). پس با توجه به نقش بسیار موثر پروبیوتیک و رزوراترول بر دیابت نوع دو، می توان به عنوان راه درمان بیماران دیابتی پیشنهاد شود. هدف از این مطالعه بررسی تاثیر همزمان ترکیب این دو ماده بر ترشح GLP-1 و عملکرد پانکراس در رت های دیابتی می باشد.

مواد و روش ها

این مطالعه تجربی پس از تصویب در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی همدان با کد IR.UMSHA.REC.1397.551 بر روی ۴۰ سر موش صحرایی نر سالم نژاد ویستار با میانگین وزنی ۳۰۰-۲۵۰ گرم انجام شد. حیوانات طبق دستورالعمل اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب وزارت بهداشت، در شرایط دمایی ثابت، ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و بدون محدودیت در دسترسی به آب و غذا نگهداری شدند (۲۰). حیوانات به طور تصادفی به ۵ گروه ۸ تایی مورد آزمایش تقسیم و در قفس های جداگانه نگهداری و به صورت زیر تقسیم بندی شدند: گروه ۱: کنترل سالم، گروه ۲: دیابتی (با استفاده از استرپتوزوتوسین و نیکوتینامید به روش داخل صفاقی)، گروه ۳: دیابتی+پروبیوتیک (محلول در آب)، گروه ۴: دیابتی+رزوراترول (به روش گاواژ)، گروه ۵: دیابتی+رزوراترول+پروبیوتیک، قبل از شروع مطالعه (دیابتی کردن گروه های دیابتی) و شروع درمان با پروبیوتیک و رزوراترول به مدت یک هفته جهت سازش با محیط و نیز رسیدن به وزن مطالعه در محل حیوان خانه مرکز نگهداری شدند.

القای دیابت نوع ۲: پودر استرپتوزوتوسین در بافر نیکوتین آمید و سیترات سدیم ۰/۰۱ مولار با pH=۴/۵ تهیه و تا زمان تزریق داخل صفاقی بر روی یخ نگهداری شد. ۱۵ دقیقه بعد از تزریق ۶۵ mg/kg استرپتوزوتوسین، نیکوتین آمید نیز با دوز ۱۱۰ mg/kg به صورت داخل صفاقی به رت ها تزریق شد. برای تایید ایجاد دیابت ۷ روز بعد نمونه قند خون با استفاده از گلوکومتر اندازه گیری شد و قند خون بالای ۲۵۰ mg/dl به عنوان دیابتی در نظر گرفته شد. در پایان مطالعه، رت ها توسط دی اتیل اتر بیهوش و بعد از خون گیری کشته شدند. بافت پانکراس و خون برای آزمایشات بافت شناسی و تست های بیوشیمیایی جداسازی شد. برای آنالیز بیوشیمی حدود ۱۰۰میلی گرم از پانکراس توسط دستگاه هموژنایزر با استفاده از بافر لیز کننده، لیز شد. سپس این مخلوط در دور ۱۰۰۰۰×g در دمای ۴ درجه سانتی گراد و به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. محلول شفاف رویی جدا و در فریزر با دمای ۸۰- $^{\circ}C$ تا انجام آزمایشات بعدی نگهداری شد.

تجویز پروبیوتیک: مکمل پروبیوتیک حاوی باکتری های Bifidobacterium longum، Bifidobacterium breve، Bifidobacterium infantis، Lactobacillus acidophilus، Lactobacillus plantarum، Lactobacillus casei، Lactobacillus bulgaricus از شرکت Genuine Health Company (Canada) تهیه و با دوز 50×10^{9} bacteria.kg body wt^{-1} daily به مدت ۴ هفته تجویز گردید.

تجویز رزوراترول: میزان ۱۰ mg/kg پودر رزوراترول، از شرکت Natural Fact Company (USA) به صورت روزانه با توجه به تعداد رت ها در هر گروه وزن کشی شده و در آب مقطر استریل به ازای هر رت یک میلی لیتر مخلوط کرده و پس از حل شدن کامل بر روی یخ تا زمان گاواژ نگهداری شدند.

اندازه گیری GLP-1: این هورمون طبق دستور شرکت سازنده (شرکت استابیوفارم، چین) بر پایه الایزا و به روش ساندویچی انجام شد.

اندازه گیری میزان انسولین و گلوکز و پروفایل لیپیدی: میزان انسولین با استفاده از کیت الایزا (شرکت استابیوفارم، چین) انجام شد. میزان گلوکز، کلسترول تام و تری گلیسرید با استفاده از کیت شرکت پارس آزمون اندازه گیری شدند.

اندازه گیری مقاومت به انسولین: در ارزیابی مدل هموستازیس (HOMA) از قند خون ناشتا و انسولین حالت ناشتا و طبق رابطه زیر برای اندازه گیری مقاومت به انسولین استفاده شد:

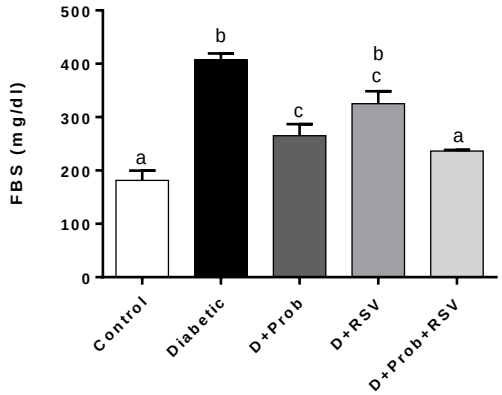
HOMA-IR= {[(fasting insulin μU/ml)]×[(fasting glucose mmol/l)]} / 22.5

بررسی تغییرات بافت شناسی: قسمتی از پانکراس در فرمالین۱۰٪ به مدت حداقل ۴۸ ساعت فیکس شد. در مرحله بعد مقاطع پارافین تهیه شده و توسط میکروتوم چرخشی برش هایی با ضخامت ۵ میکرومتر تهیه شد. برش ها سپس به وسیله هماتوکسیلین- ائوزین رنگ آمیزی شده و فیکس شدند. اسلایدهای هیستوپاتولوژیک به وسیله میکروسکوپ نوری بررسی شدند. تغییرات پاتولوژیک پانکراس بر اساس تغییرات ساختمانی و تغییرات سلولی مشاهده و گزارش شدند.

آزمون های آماری: نتایج به دست آمده در نرم افزار SPSS-16 وارد شده و با استفاده از آزمون تحلیل واریانس (ANOVA) و توکی تجزیه و تحلیل شدند و $p<0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد. از نرم افزار GraphPad Prism version 7.0 جهت رسم نمودارها استفاده گردید.

یافته‌ها

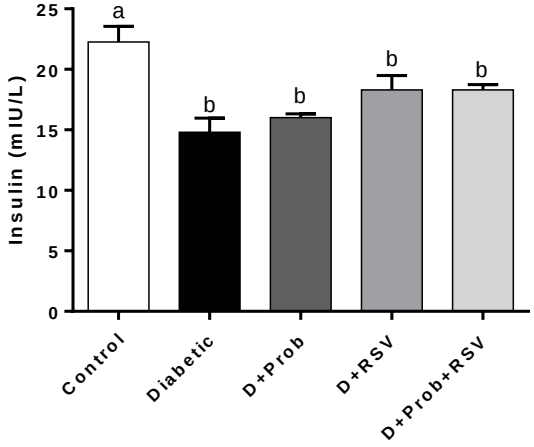
آنالیزها نشان دادند که رت های دیابتی به صورت معنی داری سطح سرمی قند خون بیشتری نسبت به گروه کنترل داشتند ($p<0/001$). تجویز پروبیوتیک ۳۵٪ کاهش نسبت به گروه دیابتی و رزوراترول ۲۰٪ کاهش نسبت به گروه دیابتی به صورت مجزا در رت های دیابتی باعث کاهش قند خون سرمی (FBS) شد. همچنین تجویز پروبیوتیک+رزوراترول به صورت همزمان در رت های دیابتی منجر به کاهش سطح سرمی قندخون در مقایسه با رت های دیابتی شد ($p<0/001$) (۴۲٪ کاهش نسبت به گروه دیابتی) (نمودار ۱).



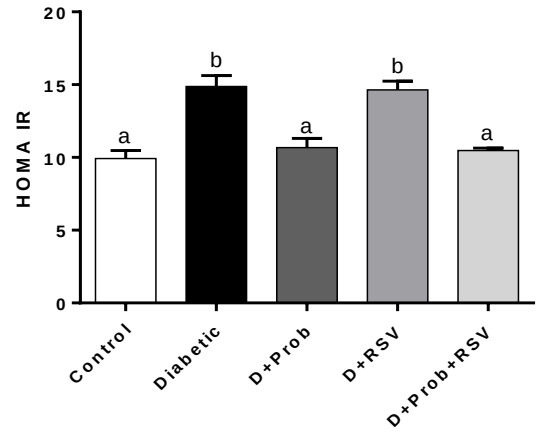
نمودار ۱. مقایسه سطح سرمی FBS در گروه های مورد مطالعه. D+Prob: گروه دیابتی دریافت کننده پروبیوتیک، D+RSV: گروه دیابتی دریافت کننده رزوراترول. GLP-1: پپتید شبه گلوکاگون-۱، Prob: پروبیوتیک، RSV: رزوراترول.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1400.23.1.47.6]
[DOI: 10.22088/jbums.23.1.337]

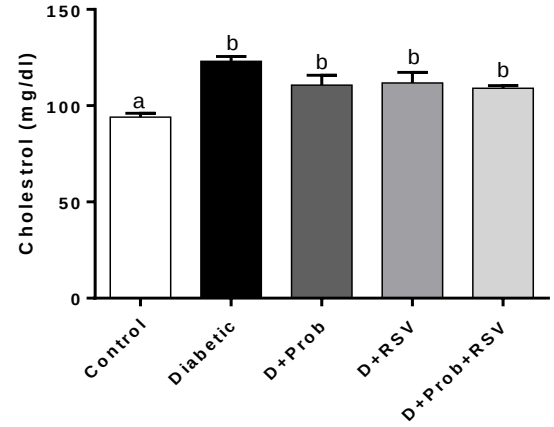
در گروه دیابتی دریافت کننده رزوراترول، سطح سرمی انسولین در مقایسه با گروه دیابتی به میزان معنی داری افزایش یافت (p<۰/۰۱) (۲۳٪ افزایش نسبت به گروه دیابتی). همچنین در گروه دیابتی دریافت کننده رزوراترول+پروبیوتیک، سطح سرمی انسولین در مقایسه با گروه دیابتی به میزان معنی داری افزایش یافت (۲۳/۵٪ افزایش نسبت به گروه دیابتی) (نمودار ۲). استفاده از پروبیوتیک در رت های دیابتی نشان داد که باعث کاهش معنی دار شاخص مقاومت به انسولین نسبت به گروه دیابتی شد (p<۰/۰۰۱) (۲۸٪ کاهش نسبت به گروه دیابتی) در گروه دیابتی دریافت کننده پروبیوتیک همزمان با رزوراترول، میزان شاخص مقاومت به انسولین در مقایسه با گروه دیابتی کاهش معنی داری یافته است (p<۰/۰۰۱) (۳۰٪ کاهش نسبت به گروه دیابتی) (نمودار ۳). تجویز پروبیوتیک (p<۰/۰۵) (۱۰٪ کاهش نسبت به گروه دیابتی) و رزوراترول (p<۰/۰۵) (۹٪ کاهش نسبت به گروه دیابتی) به صورت مجزا در رت های دیابتی باعث کاهش سطح کلسترول سرمی تام نسبت به گروه کنترل شد. همچنین تجویز گروه ترکیبی این دو مکمل همراه با هم در رت های دیابتی منجر به کاهش چشمگیر سطح سرمی کلسترول در مقایسه با رت های دیابتی شد (p<۰/۰۵) (۱۱٪ کاهش نسبت به گروه دیابتی) (نمودار ۴). تجویز پروبیوتیک (۱۰٪ کاهش نسبت به گروه دیابتی) و رزوراترول (۱۴٪ کاهش نسبت به گروه دیابتی) (p<۰/۰۰۱) به صورت مجزا در رت های دیابتی باعث کاهش سطح تری گلیسرید سرمی شد. همچنین با تجویز همزمان این دو مکمل در رت های دیابتی منجر به کاهش سطح سرمی تری گلیسرید در مقایسه با رت های دیابتی شد (p<۰/۰۰۱) (۱۹٪ کاهش نسبت به گروه دیابتی) (نمودار ۵).



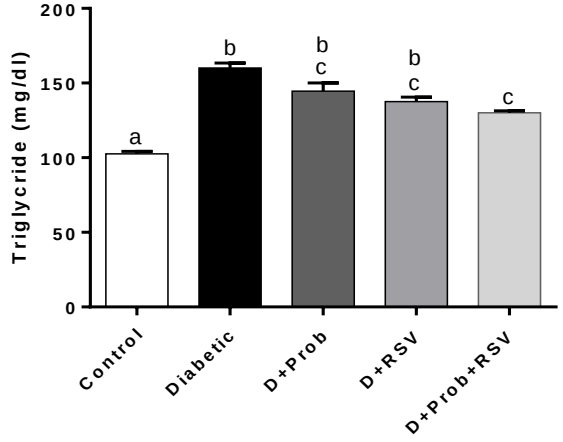
نمودار ۲. مقایسه سطح سرمی انسولین در گروه های مورد مطالعه. D+Prob: گروه دیابتی دریافت کننده پروبیوتیک، D+RSV: گروه دیابتی دریافت کننده رزوراترول. GLP-1 : پپتید شبه گلوکاگون-۱، Prob: پروبیوتیک، RSV: رزوراترول.



نمودار ۳. مقایسه میزان HOMA- IR در گروه های مورد مطالعه. D+Prob: گروه دیابتی دریافت کننده پروبیوتیک، D+RSV: گروه دیابتی دریافت کننده رزوراترول. GLP-1: پپتید شبه گلوکاگون-۱، Prob: پروبیوتیک، RSV: رزوراترول.



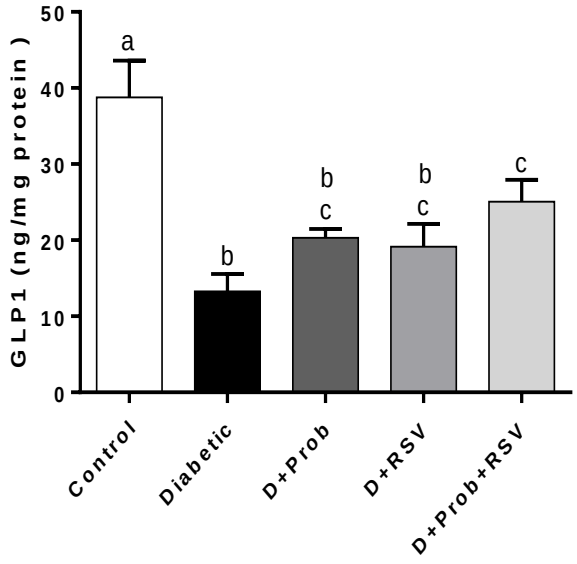
نمودار ۴. مقایسه سطح سرمی کلسترول در گروه های مورد مطالعه. D+Prob: گروه دیابتی دریافت کننده پروبیوتیک، D+RSV: گروه دیابتی دریافت کننده رزوراترول. GLP-1: پپتید شبه گلوکاگون-۱، Prob: پروبیوتیک، RSV: رزوراترول.



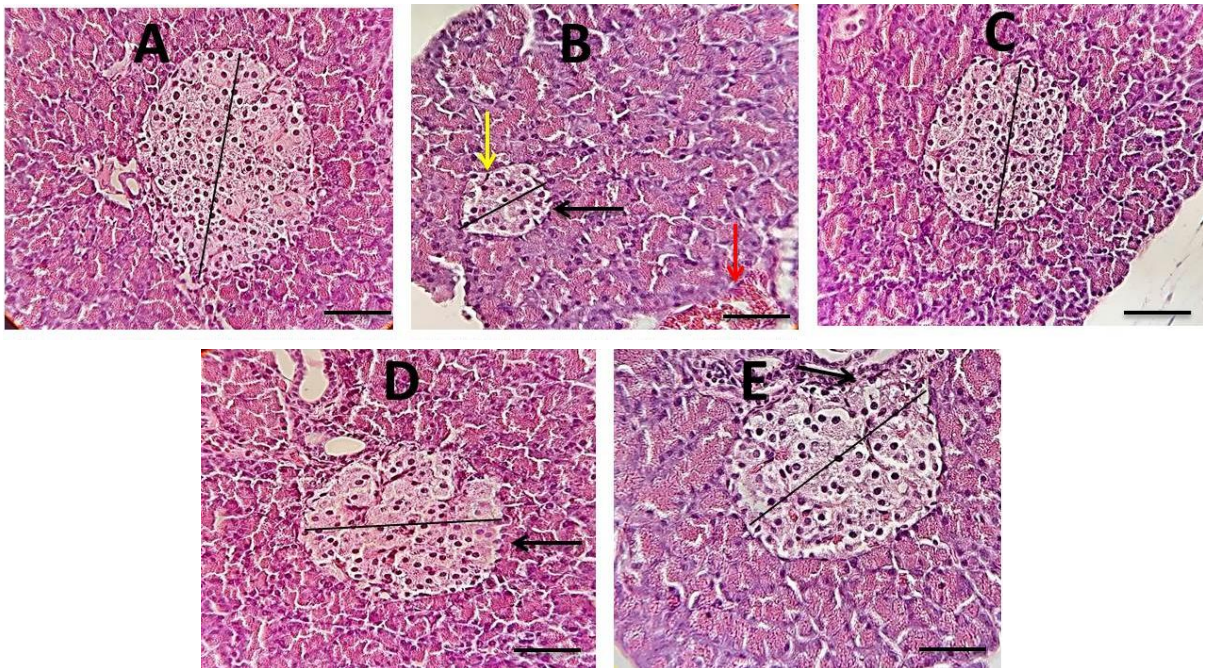
نمودار ۵. مقایسه سطح سرمی TG در گروه های مورد مطالعه. D+Prob: گروه دیابتی دریافت کننده پروبیوتیک ، D+RSV: گروه دیابتی دریافت کننده رزوراترول. GLP-1 : پپتید شبه گلوکاگون-۱، Prob: پروبیوتیک، RSV: رزوراترول.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1400.23.1.47.6]
[DOI: 10.22088/jbums.23.1.337]

نتایج نشان داد که القا دیابت در رت ها منجر به کاهش GLP-1 بافت پانکراس در مقایسه با گروه کنترل شد (p<۰/۰۰۱). تجویز پروبیوتیک (p<۰/۰۱) (۵۲٪ افزایش نسبت به گروه دیابتی) و رزوراترول (p<۰/۰۰۱) (۴۴٪ افزایش نسبت به گروه دیابتی) در رت های دیابتی به صورت مجزا منجر به جلوگیری از کاهش سطح GLP-1 بافت پانکراس در رت های دیابتی شد. از طرفی آنالیز نتایج نشان دادند که تجویز این دو مکمل به صورت همزمان در رت های دیابتی تاثیر بیشتری بر روی سطح GLP-1 بافت پانکراس رت های دیابتی شد (p<۰/۰۰۱) (۸۸٪ افزایش نسبت به گروه دیابتی) (نمودار ۶). نتایج تجزیه و تحلیل بافت شناسی پانکراس نشان می دهد که گروه کنترل دارای ظاهری طبیعی بدون پاتولوژیک مانند مرگ سلولی و به هم ریختگی نظم و آرایش سلولی است. در رت های دیابتی، تغییراتی مانند مرگ سلولی به وضوح وجود داشته و تعداد سلول های جزایر لانگرهانس و سایز جزایرکاهش یافته است و خونریزی در بافت پانکراس با شدت بالایی مشهود است. از سوی دیگر حاشیه جزایر لانگرهانس در گروه کنترل صاف بوده و جزایر دارای اشکال متقارن هستند این در حالی است که در گروه دیابتی حاشیه جزایر به حالت نامنظم دیده می شود. تجویز پرو بیوتیک و رزوراترول تا حد زیادی توانست باعث بهبودی تغییرات بافتی پانکراس شود. تغییر بافت شناسی در گروه تکی پروبیوتیک و رزوراترول تقریباً مشابه هم بود (شکل ۱).



نمودار ۶. مقایسه سطح GLP-1 در بافت پانکراس گروه های مورد مطالعه.
D+Prob: گروه دیابتی دریافت کننده پروبیوتیک، D+RSV: گروه دیابتی دریافت کننده رزوراترول.
GLP-1: پپتید شبه گلوکاگون-۱، Prob: پروبیوتیک، RSV: رزوراترول.



شکل ۱. یافته های بافت شناسی پانکراس با رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین. A: کنترل، B: دیابتی، C: پروبیوتیک، D: رزوراترول E: گروه ترکیبی (رزوراترول+پروبیوتیک).
در رت های دیابتی، تغییرات بافت شناسی شامل مرگ سلولی (نشانگر زرد)، احتقان (نشانگر قرمز)، کاهش تعداد سلول های جزایر لانگرهانس و سایز جزایر (خط ممتد) و همچنین خونریزی (نشانگر قرمز) دیده شد. در حالیکه درمان با پروبیوتیک و رزوراترول تا حد زیادی توانست باعث بهبودی تغییرات بافت پانکراس شود (بزرگنمایی ۴۰۰، Scale bar 50µm).

بحث و نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان دادند که استفاده از پروبیوتیک ها در رت های دیابتی می تواند از افزایش قند خون جلوگیری کند. پروبیوتیک ها از طریق چند مکانیسم اصلی اثرات مفید خود را بر دیابت اعمال می کند: یکی از مکانیسم های پیش بینی شده این است که پروبیوتیک ها باعث بهبود ترشح GLP-1 از روده شده و در نتیجه بهبود متابولیسم کربوهیدرات، کاهش میزان گلوکز و افزایش حساسیت به انسولین می شوند (۲۱). همسو با نتایج ما، در مطالعه ای که توسط Yousaf و همکاران و Al-Salami و همکاران انجام شد، نشان داد که استفاده از پروبیوتیک‌ها به طور موثری منجر به کاهش سطح گلوکز خون موش های دیابتی

[DOR: 20.1001.1.15614107.1400.23.1.47.6]
[DOI: 10.22088/jbums.23.1.337]

گردید (۲۳و۲۲). با توجه با نتایج قند خون به دلیل اثرات سینرژیستی رزوراترول و پروبیوتیک در رت های دیابتی خاصیت هیپوگلیسمیک آنها در مطالعه حاضر در زمان تجویز رزوراترول و پروبیوتیک به صورت همزمان به خوبی مشاهده شد. رزوراترول با اتصال به گیرنده های سولفونیل اوره در سلول بتا در پانکراس باعث تحریک ترشح انسولین می شود (۲۴). در مطالعه مشابهی که توسط Kang و همکاران انجام شد نشان دادند که استفاده از رزوراترول تاثیر مهاری بر مسیر سیگنالینگ انسولین در سلول های مختلف دارد که می‌تواند از دلایل اصلی مقاومت به انسولین و کاهش حساسیت به آن باشد (۲۵).

به نظر می رسد این اثر مهاری رزوراترول در پایین دست مسیر سیگنالینگ انسولین بر روی فاکتورهای Insulin Receptor Substrate 1 (IRS-1) اتفاق می‌افتد و عنوان کرده اند که اثرات درمانی رزوراترول ممکن است وابسته به شرایط متابولیکی، طول دوره درمان و نوع بافتی که به عنوان بافت هدف در نظر گرفته می شود بستگی داشته باشد. از سوی دیگر استفاده از پروبیوتیک ها در رت های مبتلا به دیابت نوع ۲ منجر به بهبود وضعیت مقاومت به انسولین شد که در مقایسه با رزوراترول تاثیر بهتری داشت. همسو با نتایج ما در مطالعات مختلفی اثرات سودمند استفاده از پروبیوتیک ها جهت کاهش سطح گلوکز خون و بهبود وضعیت مقاومت انسولینی گزارش شده است (۲۸-۲۶).

از طرفی به نظر می رسد که استفاده از پروبیوتیک ها با تولید اسید های چرب کوتاه زنجیر باعث القا تولید اینکرتین هایی مانند GLP-1 می شوند که به دلیل خاصیت انسولینوتروپیک این هورمون ها، میزان مقاومت به انسولین در بیماران دیابتی کاهش می یابد (۲۹). یافته های بافت شناسی تایید کننده اثرات GLP-1 می باشند که نشان داد سایز و تعداد سلول های بتا در گروه های درمانی، به ویژه گروه ترکیبی در مقایسه با گروه دیابتی افزایش داشت. در مطالعات مختلف گزارش شده است که اثر رزوراترول و پروبیوتیک ها بر کاهش میزان چربی ها موثر هستند. Singh و همکاران نشان دادند که استفاده از رزوراترول با توجه به خاصیت آنتی اکسیدانی آن قادر به کاهش سطح قند خون، کلسترول و تری گلیسیرید در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ می باشد (۳۰). در این مطالعه همانند مطالعات دیگر دیس لیپیدمی در حیوانات دیابتی دیده شد که این تغییرات ممکن است بیمار دیابتی را در معرض عوارض ناشی از دیابت از جمله تخریب کبد در اثر تجمع چربی و مقاومت به انسولین قرار دهد (۳۱).

نتایج این مطالعه نشان داد رزوراترول و پروبیوتیک در رت های مبتلا به دیابت نوع ۲ به طور موثری سطح GLP-1 را در بافت پانکراس در مقایسه با رت های دیابتی افزایش داد. همسو با نتایج ما Dao و همکاران نشان دادند که که حذف ژن مربوط به GLP-1 در موش های دیابتی باعث از بین رفتن اثر ضد دیابتی رزوراترول در این رت ها می شود که نشان دهنده ارتباط مستقیم رزوراترول و GLP-1 دررت های دیابتی می باشد (۳۲). پروبیوتیک ها با تولید متابولیت های اسید چرب های کوتاه زنجیر نقش اساسی در القاء ترشح GLP-1 در شرایط دیابت ایفا می کند (۳۳). همسو با نتایج مطالعه ما نقش پروبیوتیک ها در افزایش GLP-1 در بیماران دیابتی در مدل انسانی و حیوانی در مطالعات اخیر به خوبی نشان داده شده است (۳۵-۳۳و۲۷). استفاده همزمان از پروبیوتیک ها و رزوراترول نشان داد که میزان GLP-1 را در بافت پانکراس به صورت معنی داری در رت های دیابتی افزایش داد.

نتیجه مشاهدات ما اثرات سودمند پروبیوتیک و رزوراترول در افزایش GLP-1 و ترشح انسولین را در رت های دیابتی آشکار کرد و داده ها به وضوح اثرات مفید درمان ترکیبی را به دلیل کاهش هیپرگلیسمی نشان می دهد. برای مشخص شدن جزئیات بیشتر از مکانیسم اثر پروبیوتیک ها و رزوراترول مطالعات بیشتری مورد نیاز است.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از حمایت مالی و همکاری دانشگاه علوم پزشکی همدان تقدیر و تشکر می گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1400.23.1.47.6]
[DOI: 10.22088/jbums.23.1.337]

Simultaneous Effect of Resveratrol and Probiotics on Insulin Resistance and Glucagon-Like Peptide (GLP-1) Levels in Diabetic Rats

A. Pegah (MSc)[1], I. Khodadadi (PhD)[1], F. Mirzaei (PhD)[2], H. Tayebinia (PhD)[1], E. Abbasi (PhD)*[2]

1.Department of Biochemistry, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, I.R.Iran

2.Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 23; 2021; PP: 337-344

Received: Oct 12nd 2020, Revised: Mar 6th 2021, Accepted: May 19th 2021.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: The main and effective treatment for diabetes is the use of insulin and synthetic drugs and herbal medicines, which may be accompanied by several side effects. Given that GLP-1 secretion is reduced in diabetic patients compared to healthy individuals, the aim of this study was to determine the simultaneous effect of resveratrol and probiotics on insulin secretion and glucagon-like peptide (GLP-1) and to evaluate insulin resistance in diabetic rats.

METHODS: In this experimental study, 40 adult male Wistar rats weighing approximately 250-300 g were used. Animals were randomly divided into 5 groups: control group, diabetic group (using 65 mg/kg streptozotocin and 110 mg/kg nicotinamide intraperitoneally), diabetic group treated with probiotics (50×10^9 bacteria/kg body wt^{-1} daily by dissolving in water), diabetic group treated with resveratrol (10 mg/kg by gavage method) and diabetic group treated with probiotics and resveratrol (co-administration group). After four weeks, the animals were sacrificed and pancreatic tissue and blood samples were isolated for histopathological tests and biochemical tests. Blood glucose, insulin resistance, pancreatic GLP-1 as well as pancreatic histopathology were assessed.

FINDINGS: The co-administration group compared with the diabetic group caused a 42% reduction in serum glucose levels ($p<0.001$) and a 30% reduction in insulin resistance ($p<0.001$). The co-administration group also caused a 23.5% increase in insulin levels ($p<0.001$) and an 88% increase in GLP-1 ($p<0.05$). The co-administration group improved the histology of the pancreas.

CONCLUSION: The results of the study showed that resveratrol and probiotics are effective in controlling diabetes by increasing the levels of GLP-1 and insulin and decreasing insulin resistance.

KEY WORDS: *Probiotics, Resveratrol, Type 2 Diabetes, Glucagon-Like Peptide (GLP-1).*

Please cite this article as follows:

Pegah A, Khodadadi I, Mirzaei F, Tyebinia H, Abbasi E. Simultaneous Effect of Resveratrol and Probiotics on Insulin Resistance and Glucagon-Like Peptide (GLP-1) Levels in Diabetic Rats. J Babol Univ Med Sci. 2021; 23: 337-44.

***Corresponding Author: E. Abbasi (PhD)**

Address: Department of Biochemistry, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, I.R.Iran

Tel: +98 81 32520182

E-mail: 7abbasi@gmail.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1400.23.1.47.6]

[DOI: 10.22088/jbums.23.1.337]

References

1.Galicia-Garcia U, Benito-Vicente A, Jebari S, Larrea-Sebal A, Siddiqi H, Uribe KB, et al. Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus. Int J Mol Sci. 2020;21(17):6275.

2.American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care. 2005;28 Suppl 1:S37-42.

3.Abbasi-Oshaghi E, Mirzaei F, Khodadadi I. Letter to the Editor regarding 'COVID-19 and diabetes: What does the clinician need to know?'. Prim care diabetes. 2021;15(1):30.

4.Farahani F, Mirzaei F, Khodadadi I, Abbasi-Oshaghi E. Importance of hyperglycemia in preoperative, intraoperative and postoperative periods in COVID-19 patients. Int J Surg (London, England). 2020;83:1-2.

5.Mirzaei F, Khodadadi I, Vafaei SA, Abbasi-Oshaghi E, Tayebinia H, Farahani F. Importance of hyperglycemia in COVID-19 intensive-care patients: Mechanism and treatment strategy. Prim Care Diabetes. 2021;15(3):409-416.

6.Abbasi-Oshaghi E, Khodadadi I, Tavilani H, Mirzaei F, Goodarzi MT. Dill-normalized liver lipid accumulation, oxidative stress, and low-density lipoprotein receptor levels in high cholesterol fed hamsters. ARYA Atheroscler. 2018;14(5):218-24.

7.Abbasi-Oshaghi E, Khodadadi I, Mirzaei F, Ahmadi M, Tayebinia H, Goodarzi MT. Anethum graveolens L. Alleviates Sperm Damage by Limiting Oxidative Stress and Insulin Resistance in Diabetic Rats. Open Med Chem J. 2020;14:35-44.

8.Arsang M, Khodadadi I, Tyebinia H, Abbasi-Oshaghi E. The Protective Effects of Virgin Coconut Oil on High-Fat Diet Induced Rat Liver. J Babol Univ Med Sci. 2020;22(1):245-52. [In Persian]

9.Mohammadi A, Mirzaei F, Jamshidi M, Yari R, Pak S, Norouzian P, et al. Influence of flaxseed on lipid profiles and expression of LXRα, in intestine of diabetic rat. Int J Biol. 2013;5(4):23-8.

10. Kassaee SM, Goodarzi MT, Abbasi Oshaghi E. Antioxidant, antiglycation and anti-hyperlipidemic effects of Trigonella foenum and Cinnamon in type 2 diabetic rats. Jundishapur J Nat Pharm Prod. 2018;13(1): e38414.

11. Zar A, Hoseini A, Ahmadi F, Rezaei M. Effects of ginger together with swimming training on blood fat profiles in adult diabetic rats with streptozotocin. Iranian J Nutr Sci Food Technol. 2016;11(2):65-74. [In Persian]

12. Kheder MH, Bailey SR, Dudley KJ, Sillence MN, de Laat MA. Equine glucagon-like peptide-1 receptor physiology. Peer J. 2018;6:e4316.

13. Meier JJ, Nauck MA, Schmidt WE, Gallwitz B. Gastric inhibitory polypeptide: the neglected incretin revisited. Regul pept. 2002;107(1-3):1-13.

14. Habener JF, Stanojevic V. Pancreas and Not Gut Mediates the GLP-1-Induced Glucoincretin Effect. Cell Metab. 2017;25(4):757-8.

15. Pegah A, Abbasi-Oshaghi E, Khodadadi I, Mirzaei F, Tayebinai H. Probiotic and resveratrol normalize GLP-1 levels and oxidative stress in the intestine of diabetic rats. Metabol Open. 2021;10:100093.

16. Sadeghi S, Jaberi Ansari F, Jalili H. Obstacles and Challenges in the Use of Probiotics. J Babol Univ Med Sci. 2018;20(6):53-61. [In Persian]

17. Baur JA, Sinclair DA. Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence. Nat Rev Drug Discov. 2006;5(6):493-506.

18. Lagouge M, Argmann C, Gerhart-Hines Z, Meziane H, Lerin C, Daussin F, et al. Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1alpha. Cell. 2006;127(6):1109-22.

19. Hashemian M, Zand H. The Cellular and Molecular Mechanisms involved in the Effects of Resveratrol on Cardiovascular Diseases. J Babol Univ Med Sci. 2015;17(4):51-60. [In Persian]

20. Abbasi-Oshaghi E, Mirzaei F, Mirzaei A. Effects of ZnO nanoparticles on intestinal function and structure in normal/high fat diet-fed rats and Caco-2 cells. Nanomedicine (Lond). 2018;13(21):2791-816.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1400.23.1.47.6]
[DOI: 10.22088/jbums.23.1.337]

21. Miraghajani M, Shahraki Dehsoukhteh S, Rafie N, Golpour Hamedani S, Sabihi S, Ghiasvand R. Potential mechanisms linking probiotics to diabetes: a narrative review of the literature. Sao Paulo Med J. 2017;135(2):169-78.
22. Yousaf S, Hussain A, Rehman S, Aslam MS, Abbas Z. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of Lactobacillus fermentum, fruit extracts of Syzygium cumini and Momordica charantia on diabetes induced mice. Pak J Pharm Sci. 2016;29(5):1535-40.
23. Al-Salami H, Butt G, Fawcett JP, Tucker IG, Golocorbin-Kon S, Mikov M. Probiotic treatment reduces blood glucose levels and increases systemic absorption of gliclazide in diabetic rats. Eur J Drug Metab Pharmacokinet. 2008;33(2):101-6.
24. Bhatt JK, Thomas S, Nanjan MJ. Resveratrol supplementation improves glycemic control in type 2 diabetes mellitus. Nutr Res. 2012;32(7):537-41.
25. Kang W, Hong HJ, Guan J, Kim DG, Yang E-J, Koh G, et al. Resveratrol improves insulin signaling in a tissue-specific manner under insulin-resistant conditions only: in vitro and in vivo experiments in rodents. Metabolism. 2012;61(3):424-33.
26. Andreasen AS, Larsen N, Pedersen-Skovsgaard T, Berg RM, Møller K, Svendsen KD, et al. Effects of Lactobacillus acidophilus NCFM on insulin sensitivity and the systemic inflammatory response in human subjects. Br J Nutr. 2010;104(12):1831-8.
27. Kim YA, Keogh JB, Clifton PM. Probiotics, prebiotics, synbiotics and insulin sensitivity. Nutr Res Rev. 2018;31(1):35-51.
28. Bagarolli RA, Tobar N, Oliveira AG, Araújo TG, Carvalho BM, Rocha GZ, et al. Probiotics modulate gut microbiota and improve insulin sensitivity in DIO mice. J Nutr Biochem. 2017;50:16-25.
29. Yadav H, Lee J-H, Lloyd J, Walter P, Rane SG. Beneficial metabolic effects of a probiotic via butyrate-induced GLP-1 hormone secretion. J Biol Chem. 2013;288(35):25088-97.
30. Singh CK, Kumar A, Hitchcock DB, Fan D, Goodwin R, LaVoie HA, et al. Resveratrol prevents embryonic oxidative stress and apoptosis associated with diabetic embryopathy and improves glucose and lipid profile of diabetic dam. Mol Nutr Food Res. 2011;55(8):1186-96.
31. Hamadi N, Mansour A, Hassan MH, Khalifi-Touhami F, Badary O. Ameliorative effects of resveratrol on liver injury in streptozotocin-induced diabetic rats. J Biochem Mol Toxicol. 2012;26(10):384-92.
32. Dao T-M, Waget A, Klopp P, Serino M, Vachoux C, Pechere L, et al. Resveratrol increases glucose induced GLP-1 secretion in mice: a mechanism which contributes to the glycemic control. PLoS One. 2011;6(6):e20700.
33. Panwar H, Rashmi HM, Batish VK, Grover S. Probiotics as potential biotherapeutics in the management of type 2 diabetes–prospects and perspectives. Diabetes Metab Res Rev. 2013;29(2):103-12.
34. Delzenne NM, Neyrinck AM, Bäckhed F, Cani PD. Targeting gut microbiota in obesity: effects of prebiotics and probiotics. Nat Rev Endocrinol. 2011;7(11):639-46.
35. Yoo JY, Kim SS. Probiotics and prebiotics: Present status and future perspectives on metabolic disorders. Nutrients. 2016;8(3):173.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1400.23.1.47.6]
[DOI: 10.22088/jbums.23.1.337]