



تأثیر عصاره هیدرو الکلی جلبک قهوه‌ای سارگاسوم اولیگوسیستوم (*Sargassum oligocystum*) بر غلظت سرمی SIRT1 و FGF21 در رت دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

ویدا سلطانی (MSc)^{۱*}، علی موحد (PhD)^۲، افشار بارگاهی (PhD)^۲، غلامرضا خمیسی پور (PhD)^۳

افشین استوار (PhD)^۴، عادل دانشی (MSc)^۵، صمد اکبرزاده (PhD)^{۲**}

^۱ کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران

^۲ گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران

^۳ گروه هماتولوژی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران

^۴ گروه اپیدمیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران

^۵ مرکز تحقیقات زیست فناوری دریایی خلیج فارس، پژوهشکده علوم زیست پزشکی خلیج فارس، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران

(دریافت مقاله: ۹۶/۸/۵ - پذیرش مقاله: ۹۶/۹/۲۵)

چکیده

زمینه: SIRT1 و FGF21 به عنوان تنظیم‌گرهای متابولیسم گلوکز شناخته شده و عوارض ناشی از بیماری دیابت را تعدیل می‌کنند. عصاره جلبک سارگاسوم اولیگوسیستوم دارای خواص درمانی است. هدف از این مطالعه ارزیابی اثرات عصاره هیدروالکلی جلبک سارگاسوم اولیگوسیستوم بر میزان سرمی فاکتورهای SIRT1 و FGF21 در رت دیابتی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در مطالعه تجربی حاضر، ۴۸ سر رت نر از نژاد ویستار به صورت تصادفی در شش گروه هشت تایی شامل کنترل بکر، کنترل دیابتی، دیابتی تیمار با عصاره (غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، دیابتی تیمار با عصاره (غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، دیابتی تیمار با عصاره (غلظت ۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، دیابتی تیمار با متفورمین (غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) قرار گرفتند. پس از ۳۰ روز درمان میزان سرمی فاکتورهای SIRT1 و FGF21 رت‌ها اندازه‌گیری گردید. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۲ تجزیه و تحلیل گردید.

یافته‌ها: عصاره سارگاسوم در غلظت ۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن رت، به طور قابل توجهی سبب کاهش میزان سرمی SIRT1 گردید. تغییراتی در میزان سرمی FGF21 و انسولین در تمامی غلظت‌های عصاره مشاهده نگردید. علاوه بر این گلوکز سرم و مقاومت انسولینی در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره کاهش یافت.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه بیان می‌کند که عصاره جلبک تغییرات قابل توجهی در سطح SIRT1 و FGF21 به منظور تنظیم متابولیسم گلوکز ندارد.

واژگان کلیدی: دیابت، سارگاسوم اولیگوسیستوم، SIRT1، FGF21

*بوشهر، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران

مقدمه

دیابت یکی از بیماری‌های سندرم متابولیک می‌باشد که در سراسر جهان در حال رشدی بسیار سریع است. این بیماری با اختلال در وضعیت گلیسمیک بدن و ایجاد نقص عملکرد بافتی موجب آسیب‌هایی جدی و گاه غیر قابل بازگشت، کاهش کیفیت زندگی و طول عمر می‌گردد. طبق نظریه سازمان جهانی بهداشت (WHO) تا سال ۲۰۳۰ حدود ۵۹۲ میلیون نفر بیمار مبتلا به دیابت در سراسر جهان خواهیم داشت (۳-۱). بنابراین مدیریت دیابت جهت جلوگیری از بروز عوارض کوتاه مدت و بلند مدت آن و بهبود کیفیت زندگی بیماران الزامی است. فاکتورهای محیطی و بیوشیمیایی مختلفی در کنترل و بهبود بیماری دیابت نقش دارند، سرتوئین ۱ و فاکتور رشد فیبروبلاستی ۲۱ از طریق تنظیم ترشح انسولین و بهبود مقاومت انسولین سبب تنظیم متابولیسم گلوکز و چربی شده و نقش مهمی در سندرم متابولیک و بیماری‌های مرتبط با آن دارند (۴). سرتوئین ۱ از پروتئین داستیلازهای وابسته به NAD می‌باشد که در کبد، عضلات اسکلتی، پانکراس، بافت چربی و مغز بیان می‌شود. در پستانداران هفت نوع SIRT وجود دارد (SIRT1-7)، که نقش بسیار مهمی در متابولیسم انرژی و سیگنالینگ داخل سلولی ایفا می‌کند (۵). از عملکردهای مهم این آنزیم می‌توان به اثرات ضدالتهابی، کاهش استرس اکسیداتیو، کاهش مقاومت انسولینی در عضلات اسکلتی، افزایش بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب و لیپولیز بواسطه افزایش

فعالیت PGC-1 α ^۳ اشاره کرد. بنابراین این آنزیم می‌تواند در کنترل و بهبود بیماری دیابت و همچنین چاقی مفید واقع گردد. علاوه بر آنزیم SIRT1 عوامل دیگری نیز در متابولیسم گلوکز و چربی دخالت دارند. خانواده فاکتور رشد فیبروبلاستی نقش‌های مهمی را در بدن ایفا می‌کنند که از میان این خانواده می‌توان به FGF21 اشاره کرد. این فاکتور عمدتاً در بافت‌های کبد، پانکراس و چربی بیان شده و دارای عملکردهایی از قبیل القای سلول‌های بتای پانکراس، افزایش ترشح انسولین، فسفریلاسیون PKB^۲، کاهش مقاومت انسولینی در بافت‌های محیطی و کاهش خروجی گلوکز کبدی است (۸-۶). بنابراین دو فاکتور SIRT1 و FGF21 تأثیرات مفیدی در مسیر انتقال پیام انسولین داشته و می‌توانند به صورت سینرژیسم در روند درمان بیماری دیابت نقش ایفا کنند (۹).

متفورمین، داروهای خانواده سولفونیل اوره، انسولین و غیره به‌عنوان درمان‌های اصلی دیابت شناخته شده‌اند (۲). علی‌رغم فواید، این داروها دارای عوارض جانبی مانند هایپوگلیسمی شدید، مقاومت انسولینی، افزایش وزن، دیس لیپیدی، لاکتواسیدوز، سرگیجه و غیره می‌باشند. بنابراین امروزه یافتن ترکیبی با کمترین اثرات جانبی بر سلامتی بیماران و مؤثر در کنترل قند خون و بهبودی بیماری دیابت، یکی از اهداف مهم محققان است (۱۰ و ۱۱). سارگاسوم اولیگوسیستم^۵ جلبک قهوه‌ای از خانواده

¹ Silent mating type information regulation 2 homolog (SIRT1)

² Fibroblast growth factor 21 (FGF21)

³ Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator

⁴ Protein kinase B

⁵ *Sargassum oligocystum*

مسیرهای درون سلولی AMPK, SIRT1, NADPH اکسیداز و همواکسیژناز ۱ و غیره اشاره کرد (۱ و ۱۷). با توجه به مطالب ذکر شده در خصوص خواص درمانی عصاره جلبک سارگاسوم اولیگوسیستم، هدف مطالعه حاضر بررسی تأثیر عصاره هیدروالکلی جلبک سارگاسوم اولیگوسیستم بر میزان سرمی SIRT1 و FGF21 به عنوان فاکتورهای مهم دخیل در مسیر متابولیسمی گلوکز و روند درمانی بیماری دیابت است.

مواد و روش‌ها

جامعه مورد مطالعه و گروه‌بندی

در این تحقیق ۴۸ سر رت نر از نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۵۰-۳۵۰ گرم به عنوان جامعه مورد مطالعه قرار گرفتند. رت‌ها از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی اهواز تهیه گردیدند. این حیوانات در شرایط محیطی استاندارد (درجه حرارت ۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۶۰ درصد، نور متناوب ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دسترسی آزاد به رژیم غذایی و آب) در حیوان‌خانه دانشگاه علوم پزشکی بوشهر نگهداری شدند. پس از سازگاری حیوانات با محیط آزمایشگاهی جدید، ۴۸ سر رت براساس وزن در شش گروه هشت تایی قرار گرفتند، که گروه‌بندی آنها در جدول ۱ نشان داده شده است (IR.BPUMS.REC.1395.103).

سارگاساسه^۶ بوده که در خلیج فارس از پراکندگی بالایی برخوردار است. جلبک‌های قهوه‌ای خانواده سارگاسوم دارای ترکیباتی از جمله فوکوئیدان، فلاونوئید، ترپنوئید، آلجینات، پلی‌فنل و همچنین انواعی از اسیدهای آمینه، پروتئین‌ها و انواع ویتامین‌ها می‌باشند که این ترکیبات دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضد التهاب، آنتی‌باکتریایی، ضد قارچی و ضد سرطانی هستند (۱۲ و ۱۳). فوکوئیدان‌ها پلی ساکاریدهای سولفات‌های هستند که به وفور در جلبک‌های قهوه‌ای یافت می‌شوند و دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، ضد باکتری و ضد توموری می‌باشند (۱۴). از جمله ترکیبات فنلی می‌توان به فلاونوئیدها اشاره کرد که در تعدیل متابولیسم انرژی نقش دارند (۱۵).

مهار آنزیم گلیکوژن فسفریلاز نیز می‌تواند به عنوان یک هدف دارویی در بهبود روند درمان بیماری دیابت مفید واقع گردد، فلاونوئیدها می‌توانند از طریق مهار این آنزیم وضعیت گلاسمیک بدن را تعدیل بخشند (۱۶). از دیگر کارکردهای فلاونوئیدها می‌توان به خاصیت آنتی‌اکسیدانی در برابر رادیکال‌های آزاد، مهار تولید فاکتورهای پیش التهابی IL6^۷ و TNF- α ^۸، القا تکثیر سلول‌های بتای پانکراس، افزایش ترشح انسولین، بهبودی مسیر سیگنالینگ انسولین به واسطه افزایش فعالیت پروتئین‌های PI3K^۹ و PKB، افزایش برداشت گلوکز توسط سلول‌های ماهیچه‌ای و بافت چربی از طریق افزایش تولید انتقال دهنده‌های گلوکز (GLUT4)، مهار عملکرد نوتروفیل و تحریک

⁶ Sargassaceae

⁷ Interleukin 6

⁸ Tumor necrosis factor alpha

⁹ Phosphoinositide 3-kinase

جدول ۱) توزیع و گروه‌بندی رت‌های مورد مطالعه			
گروه‌ها	القا دیابت توسط STZ	دریافت روزانه عصاره جلبک بر اساس کیلوگرم وزن بدن رت	دریافت روزانه متفورین بر اساس کیلوگرم وزن بدن رت
کنترل بکر	-	-	-
کنترل دیابتی	القا دیابت	-	-
دیابتی تیمار	القا دیابت	۱۵۰	-
دیابتی تیمار	القا دیابت	۳۰۰	-
دیابتی تیمار	القا دیابت	۴۵۰	-
دیابتی تیمار	القا دیابت	-	۱۰۰

روش القای دیابت در حیوانات

استرپتوزوتوسین (۱۸) (۱) از شرکت انزو (Enzo, Canada) خریداری شده و با استفاده از آب مقطر با رقت ۱/۲ درصد تهیه گردید. تزریق داخل صفاقی از داروی رقیق شده به مقدار ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن حیوان انجام شد. جهت بررسی ایجاد دیابت در رت‌ها، قندخون آنها پنج روز پس از تزریق STZ با استفاده از گلوکومتر و نوار تست گلوکز^{۱۱} اندازه‌گیری و ثبت گردید. در این مطالعه معیار دیابتی بودن قندخون بالای ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود. پس از تأیید دیابتی شدن، رت‌ها بر اساس میزان قندخون گروه‌بندی شدند به طوری که میان گروه‌های دیابتی از نظر میزان قند خون تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید.

جمع‌آوری جلبک و نحوه آماده‌سازی عصاره

نمونه‌های جلبک قهوه‌ای از آب‌های ساحلی استان بوشهر در تابستان ۱۳۹۵ جمع‌آوری و سپس مورد شناسایی قرار گرفتند. جلبک‌ها پس از شستشو و حذف مواد زائد در شرایط تاریکی و در دمای آزمایشگاه خشک و آسیاب شده و عصاره هیدروالکلی (اتانول و آب) آن به نسبت ۱:۱۰ تهیه

گردید. برای تهیه عصاره هیدروالکلی، ۱۰۰ گرم از پودر جلبک تازه را وزن کرده و در ۱۲۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد و ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل کرده و به مدت ۲۴ ساعت فریز شد. محلول حاصل بعد از ۲۴ ساعت فریز در ۵۲۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد و ۱۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شده و ترکیب به دست آمده به مدت ۴۸ ساعت در شیکر حرارتی با دمای ۴۰-۴۲ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و سپس محلول را صاف کرده و در نهایت توسط دستگاه تقطیر در خلا چرخان (Rotary evaporator Heidolph) تغلیظ گردید. عصاره جلبک با غلظت‌های ۱۵۰، ۳۰۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و داروی متفورمین با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت محلول در دوره درمانی سی روزه به رت‌های مورد مطالعه خوراندند گردید.

نمونه‌گیری

پس از پایان سی روز دوره مطالعه، رت‌ها پس از ۱۲ ساعت ناشتایی شبانه با ایزوفلوران بیهوش شده و خونگیری از ناحیه گردن صورت گرفت. سپس سرم آنها جدا گردید و جهت اندازه‌گیری و بررسی پروفایل قندی، پروفایل لیپیدی و فاکتورهای SIRT1 و

¹⁰ STZ

¹¹ Bionime

استفاده از فرمول فرید والد محاسبه گردید (۱۹). میزان سرمی فاکتورهای SIRT1 و FGF21 با استفاده از کیت (Crystalday Biotech, China) و دستگاه ایزاریدر Hyperion مدل MPR4+ اندازه‌گیری گردید. میزان تغییرات شاخص مقاومت انسولین و حساسیت انسولین با استفاده از دو فرمول ذیل محاسبه گردید (۲۰).

$$\text{HOMA_IR} = \{[\text{fasting insulin}(\mu\text{U/ml})] \times [\text{fasting glucose}(\text{mmol/l})]\} / 22.5$$

$$\text{QUICKI} = 1 / [\log(\text{fasting insulin}, \mu\text{U/ml}) + \log(\text{fasting glucose}, \text{mg/dl})]$$

فرمول فرید والد:

$$\text{LDLc} = (\text{T} - \text{cholesterol}) - (\text{HDL}) - (\text{TG}/5)$$

از ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر رسید و در مقایسه با گروه کنترل بکر، از غلظت معنی‌دار بالاتری برخوردار بودند. بر طبق یافته‌های مطالعه در گروه‌های دریافت کننده عصاره جلبک در غلظت‌های ۳۰۰ (Pvalue=۰/۰۰۴) و ۴۵۰ (Pvalue=۰/۰۰۳) و همچنین غلظت ۱۰۰ متفورمین (Pvalue=۰/۰۰۴) میزان گلوکز سرم در مقایسه با گروه کنترل دیابتی کاهش یافت. اختلاف معنی‌داری در میزان سطح سرمی انسولین رت‌های دیابتی در مقایسه با گروه کنترل دیابتی مشاهده نگردید. مقاومت انسولینی در غلظت ۳۰۰ عصاره جلبک (Pvalue=۰/۰۰۹) و همچنین غلظت ۱۰۰ متفورمین (Pvalue=۰/۰۰۲) کاهش یافت. حساسیت انسولینی نیز در غلظت ۳۰۰ عصاره جلبک (Pvalue=۰/۰۰۹) و همچنین غلظت ۱۰۰ متفورمین (Pvalue=۰/۰۰۲) در مقایسه با گروه کنترل دیابتی افزایش یافت (جدول ۲).

FGF21 در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد فریز گردید. گلوکز سرم و پروفایل لیپیدی (تری‌گلیسرید، توتال کلسترول، HDL-کلسترول) رت‌های مورد مطالعه با استفاده از کیت‌های بیوشیمیایی شرکت پارس آزمون و توسط دستگاه اتوآنالیزور (Selectra 2) اندازه‌گیری و مورد بررسی قرار گرفتند. LDL-کلسترول نیز با

تجزیه و تحلیل آماری

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار آماری SPSS ویرایش ۲۲ استفاده گردید. توصیف داده‌های کمی به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شدند. برای تعیین تأثیر مداخله از آزمون (Independent Sample T Test) یا معادل ناپارامتریک آن (Mann-whitney) استفاده شد. همچنین جهت بررسی ارتباط بین پارامترها از ضریب همبستگی پیرسون استفاده گردید. سطح معنی‌داری در تجزیه و تحلیل داده‌ها $Pvalue \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

پروفایل قندی

میزان گلوکز سرم ناشتای تمامی گروه‌های مورد مطالعه متعاقب پنج روز پس از تزریق STZ به بالاتر

جدول ۲) غلظت سرمی پارامترهای قندی

پارامترها	گروه اول (کنترل بکر)	گروه دوم (کنترل دیابتی)	گروه سوم (دوز ۱۵۰)	گروه چهارم (دوز ۳۰۰)	گروه پنجم (دوز ۴۵۰) (متفورمین)	گروه ششم (متفورمین)
گلوکز (میلی گرم در دسی لیتر)	۹۹±۱۷/۰۲	۲۸۰/۶۷±۱۰۱/۷۵°	۲۱۱±۱۳۹/۸۳	۱۰۷/۸۳±۲۸/۴۷°	۱۴۴/۶۰±۷۷/۸۹°	۱۴۳±۵۸/۶۳°
انسولین (میکروبیونیت در میلی لیتر)	۲/۹۵±۰/۰۹	۲/۹±۰/۵۵	۳/۱۵±۰/۳۲	۲/۹±۰/۵۶	۳/۰۶±۰/۴۶	۲/۵۸±۱/۲۳
مقاومت انسولینی (HOMA.IR)	۰/۸۵±۰/۴۸	۲/۰۶±۱/۰۸°	۱/۶۳±۱/۰۸	۰/۷۷±۰/۲۹°	۱/۱۴±۰/۷۸	۰/۷۹±۰/۴۱°
حساسیت انسولینی (QUIKY)	۰/۴۰±۰/۰۳	۰/۳۴±۰/۰۲°	۰/۳۶±۰/۰۳	۰/۴±۰/۰۲°	۰/۳۸±۰/۰۳	۰/۴۱±۰/۰۶°

* نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه کنترل دیابتی با گروه کنترل بکر (Pvalue≤0.05).
** نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه‌های دریافت کننده عصاره و متفورمین با کنترل دیابتی (Pvalue≤0.05).

بررسی سطوح سرمی SIRT1 و FGF21

مشاهده نگردید بجز در غلظت ۴۵۰ عصاره جلبک که کاهش معنی داری در میزان سرمی SIRT1 در مقایسه با گروه کنترل دیابتی مشاهده گردید (جدول ۳).

اختلاف معنی داری در سطح سرمی SIRT1 و FGF21 در گروه‌های دیابتی دریافت کننده عصاره جلبک و متفورمین نسبت به گروه کنترل دیابتی

جدول ۳) سطح سرمی SIRT1 و FGF21

پارامترها	گروه اول (کنترل بکر)	گروه دوم (کنترل دیابتی)	گروه سوم (دوز ۱۵۰)	گروه چهارم (دوز ۳۰۰)	گروه پنجم (دوز ۴۵۰) (متفورمین)	گروه ششم (متفورمین)
SIRT1 (ng/ml)	۲/۰۱±۰/۱۷	۲/۲۰±۰/۳۲	۲/۷۷±۰/۸۱	۱/۹۳±۰/۳۹	۱/۵۵±۰/۲۵°	۲/۱۳±۰/۳۷
FGF21 (ng/ml)	۱۱۹/۰۵±۷/۸۱	۱۳۳/۷۰±۲۱/۵۰	۱۴۰/۳۸±۳۳/۷۱	۱۲۲/۰۷±۲۱/۰۶	۱۱۱/۶۵±۳۰/۰۸	۱۲۰/۷۰±۳۰/۹۷

* نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه‌های دریافت کننده عصاره و متفورمین با کنترل دیابتی (P.value≤۰/۰۵)

بررسی پروفایل لیپیدی در رت‌های دیابتی در اتمام دوره درمان

عصاره جلبک و همچنین غلظت ۱۰۰ متفورمین سبب کاهش میزان سرمی کلسترول در رت‌های دیابتی در مقایسه با گروه کنترل دیابتی شدند. تغییرات معنی داری در سطح سرمی HDL و LDL در هیچ یک از گروه‌های تیمار در مقایسه با گروه کنترل دیابتی مشاهده نگردید (جدول ۴).

غلظت ۳۰۰ عصاره جلبک (Pvalue=۰/۰۰۲) در مقایسه با گروه کنترل دیابتی سبب کاهش میزان سطح سرمی تری گلیسرید گردید. غلظت‌های ۱۵۰ و ۳۰۰

جدول ۴) غلظت سرمی پارامترهای لیپیدی و لیپوپروتئینی

پارامترها	گروه اول (کنترل بکر)	گروه دوم (کنترل دیابتی)	گروه سوم (دوز ۱۵۰)	گروه چهارم (دوز ۳۰۰)	گروه پنجم (دوز ۴۵۰) (متفورمین)	گروه ششم (متفورمین)
تری گلیسرید (میلی گرم در دسی لیتر)	۴۲/۴۳±۴/۹۹	۷۱/۶۷±۱۸°	۵۰/۵۰±۲۸/۳۷	۳۸/۱۷±۱۲/۳۵°	۵۵±۴۷/۶۵	۴۰±۱۶/۲۷
کلسترول (میلی گرم در دسی لیتر)	۷۷/۱۴±۸/۶۴	۸۷/۱۷±۱۱/۳۰	۶۳/۱۷±۹/۵۳°	۶۵/۵۰±۱۶/۸۴°	۷۲±۱۷/۶۰	۶۰/۸۳±۱۶/۲۴°
HDL (میلی گرم در دسی لیتر)	۴۲±۲/۱۶	۳۸/۶۷±۱۵/۵۰	۳۹/۱۷±۵/۱۵	۴۲/۶۷±۴/۷۱	۴۱/۲۰±۸/۱۶	۳۷/۵۳±۳/۶۱
LDL (میلی گرم در دسی لیتر)	۲۵/۱۴±۶/۹۱	۲۰/۶۷±۷/۳۴	۲۰/۶۷±۳/۰۱	۲۲/۱۷±۵/۶۳	۲۴±۹/۳۰	۲۱/۳۳±۷/۳۴

* نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه کنترل دیابتی با گروه کنترل بکر (Pvalue≤۰/۰۵).

** نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه‌های دریافت کننده عصاره و متفورمین با کنترل دیابتی (Pvalue≤۰/۰۵).

بحث

با توجه به نتایج حاصل از مطالعه حاضر از میان غلظت‌های مصرفی عصاره جلبک قهوه‌ای، غلظت ۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن رت در مقایسه با گروه کنترل دیابتی سبب کاهش میزان سرمی SIRT1 گردید. با توجه به اینکه افزایش SIRT1 می‌تواند نقش مهمی در بهبود دیابت داشته باشد و در غلظت بالای عصاره مورد استفاده SIRT1 کاهش یافته، این ذهنیت را به وجود می‌آورد که افزایش غلظت جلبک بر غلظت SIRT1 بر علیه بهبود دیابت می‌باشد. در مطالعه ون چون (Wen-Chun Yu) اثرات ضد دیابتیک فوکوئیدان استخراج شده از جلبک قهوه‌ای مشاهده گردید. در واقع فوکوئیدان به واسطه افزایش میزان SIRT1 سبب حفاظت از سلول‌های بتای پانکراس و بهبود ترشح انسولین گردید (۲۱).

اریون (Erion) در مطالعه خود به سرکوب SIRT1 اشاره کرده و بیان می‌کند که مهار عملکرد SIRT1 در بافت کبد از طریق مهار گلوکوئوتوژنز کبدی به بهبود پاسخ‌دهی انسولین در مدل حیوانات دیابتی می‌شود (۲۲).

در مطالعه حاضر سطح FGF21 در گروه کنترل دیابتی و گروه‌های دریافت کننده عصاره در غلظت‌های ۱۵۰ و ۳۰۰ و همچنین غلظت ۱۰۰ متفورمین افزایش یافت اما این میزان افزایش در مقایسه با گروه کنترل دیابتی معنی‌دار نیست.

در مطالعه‌ای که بر روی موش‌های دیابتی تحت درمان با FGF21 انجام شد نتایج حاکی از آن بود که در موش‌های دیابتی نسبت به موش نرمال افزایش سطح FGF21 دیده می‌شود. در واقع افزایش سطح FGF21 در موش دیابتی سبب افزایش حساسیت انسولینی و همچنین افزایش ترشح آدیپونکتین شده

که بر مسیر انتقال پیام انسولین مؤثرند و در برداشت گلوکز توسط سلول‌های عضلانی و بافت چربی و بهبود وضعیت گلاسمیک بدن نقش بسزایی دارند (۲۳). در مطالعه حاضر غلظت‌های ۳۰۰ عصاره جلبک و همچنین ۱۰۰ متفورمین با کاهش مقاومت انسولینی سبب بهبود پاسخ‌دهی میزان انسولین ترشح شده از بافت پانکراس رت‌های دیابتی شده و در نتیجه کاهش سطح سرمی گلوکز خون در مقایسه با گروه کنترل دیابتی مشاهده گردید. تغییرات معنی‌داری متعاقب غلظت ۴۵۰ عصاره در حساسیت انسولین و کاهش مقاومت انسولینی در مقایسه با گروه کنترل دیابتی مشاهده نشد.

مطالعه یانگ (Yang) و همکاران نیز حاکی از عملکرد ضد دیابتیک فوکوئیدان‌ها از طریق مهار استرس اکسیداتیو در مدل موش‌های دیابتی بود (۲۴).

غلظت سرمی انسولین در گروه‌های دریافت کننده عصاره و متفورمین در مقایسه با گروه کنترل دیابتی اختلاف معنی‌داری نداشتند، ممکن است بتوان چنین استنباط کرد که عصاره جلبک توانسته با کاهش مقاومت انسولین و افزایش حساسیت انسولین سبب بهبود مسیر سیگنالینگ انسولین و عملکرد آن شده و در نهایت سبب کاهش میزان سرمی گلوکز شود. طبق مطالعه یو (Yue Cao) مشخص گردید که در بیماران مبتلا به دیابت افزایش بیان miR-181a سبب مهار بیان پروتئین SIRT1 شده و در نهایت منجر به ایجاد مقاومت انسولینی می‌شود بنابراین فعالیت SIRT1 نقش بسزایی را در مسیر انتقال پیام انسولین و هموستاز گلوکز ایفا می‌کند (۲۵).

مهار آنزیم‌های آلفا- آمیلاز و آلفا- گلوکوزیداز نیز می‌تواند با تأخیر در هضم و جذب گلوکز روند درمانی بیماری دیابت را بهبود بخشند. مطالعه انجام شده بر

روی فوکوئیدان‌های استخراج شده از جلبک‌های قهوه‌ای بیانگر اثرات آنتی آلفا- آمیلازی و آنتی آلفا- گلوکوزیدازی آنها است (۲۶). همچنین فوکوئیدان‌ها از طریق مهار آنزیم گلیکوژن فسفریلاز نیز می‌توانند در کاهش سطح گلوکز خون مؤثر واقع گردند.

در مطالعه حاضر ممکن است بتوان علت اصلی کاهش میزان گلوکز سرم را به کاهش مقاومت انسولینی مربوط دانست. اما نمی‌توان از اثرات ضدالتهابی، تأثیر بر کاهش التهاب بافتی و در نهایت اثرات آنتی آلفا- آمیلازی و آلفا- گلوکوزیدازی فوکوئیدان‌های موجود در عصاره جلبک سارگازوم چشم‌پوشی کرد. در واقع موارد ذکر شده نیز می‌توانند در بهبود میزان سرمی گلوکز مؤثر واقع گردند.

مطالعه جیمز (Guan-James) بر روی گونه‌هایی از جلبک قهوه‌ای سارگاسوم کریستیفیلیوم^{۱۲}، جلبک قرمز پورفیرا تنارا^{۱۳} و جلبک سبز مونوستروما نیتیدوم^{۱۴} بیانگر اثرات ضد التهابی پلی ساکاریدهای سولفاته استخراج شده از عصاره جلبک قهوه‌ای سارگازوم کریستیفیلیوم به واسطه مهار بیان ژن NO سنتاز و مهار عملکرد MAPK بود (۲۷).

متشکری و همکاران نیز اثرات عصاره جلبک قهوه‌ای سارگازوم پلیسیستوم^{۱۵} را بر روی موش‌های دیابتی مورد بررسی قرار دادند، نتایج حاکی از آن بود که عصاره جلبک دارای مواد بیولوژیکی مفیدی است که می‌تواند سبب کاهش هایپرگلیسمی، HbA1c، دیس لیپیدمی، استرس اکسیداتیو و افزایش حساسیت انسولینی در مدل موش‌های دیابتی تیپ ۲ شود (۲۸).

در مطالعه حاضر نیز به بررسی اثرات هیپولیپیدمی عصاره جلبک سارگازوم و متفورمین در مقایسه با گروه کنترل دیابتی پرداخته شد. غلظت ۳۰۰ عصاره جلبک موجب کاهش سطح تری گلیسرید و کلسترول گردید اما تغییرات معنی‌داری بر غلظت سرمی HDL و LDL نداشت. غلظت ۱۰۰ داروی متفورمین عملی مشابه غلظت ۳۰۰ عصاره جلبک بر روی پارامترهای لیپیدی و لیپوپروتئینی داشت با این تفاوت که متعاقب مصرف داروی متفورمین غلظت تری گلیسرید سرم فاقد تغییرات معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل دیابتی است.

در سری مطالعات دیگر فوکوئیدان‌ها اثراتی کاهنده بر سطح تری گلیسرید، کلسترول، LDL-C و اثر افزایشنده بر سطح HDL-C داشتند. در مطالعه ما کاهش سطح تری گلیسرید و کلسترول در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم عصاره جلبک ممکن است به دلیل اثرات فوکوئیدان‌ها در عدم تجمع لیپیدها و تحریک لیپولیز باشد (۲۹).

نتیجه‌گیری

عصاره جلبک سارگاسوم اولیگوسیستوم به‌خصوص در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن توانست اثرات سودمندی را در تغییرات پارامترهای قندی و لیپیدی، مشابه یا حتی بهتر نسبت به غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم متفورمین بر کیلوگرم وزن بدن بر جای بگذارد. با توجه به اینکه تغییرات قابل توجهی بر روی SIRT1 و FGF21 به عنوان اهداف اصلی مطالعه و تنظیم‌گرهای مهم مسیر انتقال پیام انسولین

¹² *Sargassum cristaefolium*

¹³ *Porphyra tenera*

¹⁴ *Monostroma nitidum*

¹⁵ *Sargassum polycystum*

مشاهده نشد ممکن است با طولانی تر نمودن دوره مداخله بتوان تأثیراتی چشم‌گیرتر نیز در روند بهبودی بیماری دیابت ایجاد کرد.

پیشنهادات پژوهشی

در مطالعات آتی بررسی بافت پانکراس و بکارگیری رژیم غذایی همراه ورزش در کنار مصرف عصاره جلبک قهوه‌ای سارگاسوم اولیگوسیستوم پیشنهاد می‌گردد. همچنین با افزایش حجم نمونه و در نهایت افزایش طول دوره درمان می‌توان به نتایج مطلوب‌تری دسترسی پیدا کرد.

سپاس و قدردانی

از معاونت محترم تحقیقات و فناوری بخاطر حمایت‌های مادی و معنوی و مرکز تحقیقات زیست فناوری دریایی خلیج فارس بخاطر همکاری‌های لازم قدردانی می‌گردد.

تضاد منافع

هیچ گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

References:

1. Rasines-Perea Z, Teissedre P-L. Grape Polyphenols' Effects in Human Cardiovascular Diseases and Diabetes. *Molecules* 2017; 22(1): 68.
2. Lin H-TV, Tsou Y-C, Chen Y-T, et al. Hwang P-A. Effects of Low-Molecular-Weight Fucoïdan and High Stability Fucoxanthin on Glucose Homeostasis, Lipid Metabolism, and Liver Function in a Mouse Model of Type II Diabetes. *Marine drugs* 2017; 15(4): 113.
3. Lechner J, O'Leary OE, Stitt AW. The pathology associated with diabetic retinopathy. *Vision Research* 2017; 139: 7-14
4. Başaranoğlu M, Örmeci N. Nonalcoholic fatty liver disease: diagnosis, pathogenesis, and management. *Turk J Gastroenterol* 2014; 25: 127-32.
5. Li X. SIRT1 and energy metabolism. *Acta Biochim Biophys Sin* 2013; 45(1): 51-60.
6. Zhang X, Yeung DC, Karpisek M. et al. Serum FGF21 levels are increased in obesity and are independently associated with the metabolic syndrome in humans. *Diabetes* 2008; 57(5): 1246-53.
7. Mu J, Pinkstaff J, Li Z, et al. FGF21 analogs of sustained action enabled by orthogonal biosynthesis demonstrate enhanced antidiabetic pharmacology in rodents. *Diabetes* 2012; 61(2): 505-12.
8. Fisher FM, Chui PC, Antonellis PJ, et al. Obesity Is a Fibroblast Growth Factor 21 (FGF21)-Resistant State. *Diabetes* 2010; 59(11): 2781-89.
9. Chau MD, Gao J, Yang Q, et al. Fibroblast growth factor 21 regulates energy metabolism by activating the AMPK-SIRT1-PGC-1 α pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2010; 13; 107(28):12553-8.
10. Kashi Z, Akha O, Borzouei S, et al. Insulin therapy: Side effects and their management. *Journal of Clinical Excellence* 2013; 1(2):1-16. (Persian)
11. Peters N, Jay N, Barraud D. et al. Metformin-associated lactic acidosis in an intensive care unit. *Critical Care* 2008; 26; 12(6):R149.
12. Yende SR, Harle UN, Chaugule BB. et al. Therapeutic potential and health benefits of Sargassum species. *Pharmacognosy reviews* 2014; 8(15):1-7.
13. Baleta FN, Bolaños JM, Ruma OC, et al. Phytochemicals screening and antimicrobial properties of *Sargassum oligocystum* and *Sargassum crassifolium* Extracts *Journal of Medicinal Plants Studies* 2017;5(1):382-7.
14. Wang PC, Zhao S, Yang BY, et al. Anti-diabetic polysaccharides from natural

- sources: A review. Carbohydrate polymers 2016; 148(5): 86-97.
15. Williamson G. The role of polyphenols in modern nutrition. Nutrition Bulletin 2017; 42(3): 226-35.
16. A Stravodimos, George A, Chetter B, et al. Phytogetic polyphenols as glycogen phosphorylase inhibitors: the potential of triterpenes and flavonoids for glycaemic control in type 2 diabetes. Current medicinal chemistry 2017; 24(4): 384-403.
17. Babu PVA, Liu D, Gilbert ER. Recent advances in understanding the anti-diabetic actions of dietary flavonoids. The Journal of nutritional biochemistry 2013; 24(11): 1777-89.
18. Gondi M, Basha SA, Salimath PV, Rao UJ. Supplementation of Mango (*Mangifera indica* L.) Peel in Diet Ameliorates Cataract in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. Journal of Food Biochemistry 2017; 41(1): e12300.
19. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. Clin Chem 1972; 18(6): 499-502.
20. Song Y, Manson JE, Tinker L, et al. Insulin sensitivity and insulin secretion determined by homeostasis model assessment and risk of diabetes in a multiethnic cohort of women the Women's Health Initiative Observational Study. Diabetes care 2007; 30(7): 1747-52.
21. Yu WC, Chen YL, Hwang PA, et al. Fucooidan ameliorates pancreatic β -cell death and impaired insulin synthesis in streptozotocin-treated β cells and mice via a Sirt-1-dependent manner. Molecular Nutrition & Food Research 2017; 61(10): 1700136.
22. Erion DM, Yonemitsu S, Nie Y, et al. Sirt1 knockdown in liver decreases basal hepatic glucose production and increases hepatic insulin responsiveness in diabetic rats. Proceedings of the National PNAS 2009; 106(27): 11288-93.
23. Eckardt K, Görgens SW, Raschke S, et al. Myokines in insulin resistance and type 2 diabetes. Diabetologia 2014; 57(6): 1087-99.
24. Yang X-D, Liu CG, Tian Y-J, et al. Inhibitory effect of fucooidan on hypoglycemia in diabetes mellitus anim. Int J Clin Exp Med 2017; 10(5): 8529-34.
25. Cao Y, Jiang X, Ma H, et al. SIRT1 and insulin resistance. Journal of Diabetes and its Complications 2016; 30(1): 178-83.
26. Kim KT, Rioux LE, Turgeon SL. Alpha-amylase and alpha-glucosidase inhibition is differentially modulated by fucooidan obtained from *Fucus vesiculosus* and *Ascophyllum nodosum*. Phytochemistry 2014; 98: 27-33.
27. Wu GJ, Shiu SM, Hsieh MC, et al. Anti-inflammatory activity of a sulfated polysaccharide from the brown alga *Sargassum cristaefolium*. Food Hydrocolloids 2016; 53: 16-23.
28. Motshakeri M, Ebrahimi M, Goh YM, et al. *Sargassum polycystum* reduces hyperglycaemia, dyslipidaemia and oxidative stress via increasing insulin sensitivity in a rat model of type 2 diabetes. Journal of the Science of Food and Agriculture 2013; 93(7): 1772-8.
29. Park J, Yeom M, Hahm DH. Fucooidan improves serum lipid levels and atherosclerosis through hepatic SREBP-2-mediated regulation. Journal of pharmacological sciences 2016; 30: 131(2): 84-92.

Original Article

Effects of Hydroalcoholic Extract of *Sargassum Oligocystum* on Serum Concentration of SIRT1 and FGF21 in Streptozotocin Induced Diabetic Rat

V. Soltani (MSc)^{1*}, A. Movahed (PhD)², A. Bargahi (PhD)², Gh. Khamisipour (PhD)³, A. Ostovar (PhD)⁴, A. Daneshi (MSc)⁵, S. Akbarzadeh (PhD)^{2**}

¹ Student Research Committee, School of Medicine, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

² Department of Biochemistry, School of Medicine, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

³ Department of Hematology, School of Paramedical, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

⁴ Department of Epidemiology, School of Medicine, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

⁵ The Persian Gulf Marine Biotechnology Research Center, The Persian Gulf Biomedical Sciences Research Institute, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

(Received 27 Oct, 2017 Accepted 16 Dec, 2017)

Abstract

Background: SIRT1 and FGF21 are known to regulate glucose metabolism and moderate diabetes complications. Sargassum oligocystum extract has therapeutic characteristics. This study aimed to evaluate the effects of hydroalcoholic extract of sargassum oligocystum on serum levels of SIRT1 and FGF21 in diabetic rats.

Materials and methods: In this experimental study, 48 male Wistar rats were randomly assigned into six groups: the non-diabetic control, the diabetic control, the diabetic treated with 150mg/kg of the extract, the diabetic treated with 300mg/kg of extract, the diabetic treated with 450mg/kg of the extract and the diabetic treated with 100mg/kg of Metformin. After 30 days of treatment, serum levels of SIRT1 and FGF21 of rats were measured. The data was analyzed in SPSS software version 22.

Results: The extract of sargassum at the dose of 450mg/kg significantly reduced the SIRT1 serum level, but no changes were observed in the serum level of FGF21 and insulin at any of the doses. Moreover, serum glucose and insulin resistance were decreased at the doses of 300mg/kg of the extract.

Conclusion: The results of this study suggest that the algae extract did not significantly change SIRT1 and FGF21 levels in order to regulate the glucose metabolism.

Keywords: Diabetes, *Sargassum oligocystum*, SIRT1, FGF21

©Iran South Med J. All rights reserved.

Cite this article as: Soltani V, Movahed A, Bargahi A, Khamisipour Gh, Ostovar A, Daneshi A, Akbarzadeh S. Effects of Hydroalcoholic Extract of *Sargassum Oligocystum* on Serum Concentration of SIRT1 and FGF21 in Streptozotocin Induced Diabetic Rat. Iran South Med J 2018; 21(2): 92-102

Copyright © 2018 Soltani, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

**Address for correspondence: Department of Biochemistry, School of Medicine, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran. Email: smdakbarzadeh@yahoo.com

*ORCID: 0000-0001-9842-4431

**ORCID: 0000-0002-0187-5509

Website: <http://bpums.ac.ir>

Journal Address: <http://ismj.bpums.ac.ir>