

بررسی اثرات متفورمین بر سطح آیریزین و پارامترهای بیوشیمیایی سرم در رت‌های نر نژاد اسپراگ - داوولی با رژیم غذایی امولسیون پرچرب

بابک حسن خان^۱، پریچه‌ره یغمایی^۱، کاظم پریور^۱ و آزاده ابراهیم حبیبی^۲

^۱گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران؛ ^۲مرکز تحقیقات اندوکرینولوژی و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

مسئول مکاتبات: پریچه‌ره یغمایی، yaghmaei_p@srbiau.ac.ir

چکیده. آیریزین یک مایوکاین است که بیشتر از عضلات پس از فعالیت‌های ورزشی ترشح می‌شود و در اختلالات متابولیک میزان ترشح آن تغییر می‌کند. هدف از این تحقیق، بررسی تاثیر متفورمین بر تغییرات سطح آیریزین پلاسما، تغییرات گلوکز خون و مقاومت به انسولین در رت‌های نژاد اسپراگ - داوولی بود که رژیم امولسیون پرچرب حاوی روغن ذرت دریافت می‌کردند. بیست و چهار سر رت نر، نژاد اسپراگ - داوولی به دو گروه کنترل نرمال ($n=8$) و رژیم پرچرب ($n=16$) تقسیم و سپس گروه رژیم پرچرب به دو زیر گروه شامل گروه کنترل رژیم پرچرب ($n=8$) و گروه متفورمین ($n=8$) تقسیم شدند. گروه کنترل نرمال رژیم استاندارد دریافت نمود. گروه کنترل رژیم پرچرب، رژیم امولسیون پرچرب حاوی روغن ذرت به صورت گاوژ روزانه و به مدت شش هفته و گروه متفورمین، رژیم امولسیون پرچرب همراه با متفورمین (به میزان ۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم روزانه) دریافت نمود. در پایان شش هفته میزان گلوکز، انسولین، آیریزین، آدیپونکتین، مقاومت به انسولین HOMA-IR، آنزیم‌های کبدی، فاکتور نکروز تومور آلفا ($TNF-\alpha$)، پروفایل چربی در سرم، پروفایل چربی و پراکسیداسیون لیپیدی در کبد، همچنین میزان بیان ژن $PGC-1\alpha$ با روش Real-time PCR در بافت چربی مورد بررسی قرار گرفت. آزمایشات بافت‌شناسی کبد شامل رنگ آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین به منظور بررسی تجمع چربی در بافت چربی مورد بررسی قرار گرفت. آزمایشات بافت‌شناسی کبد شامل رنگ همچنین پروفایل چربی سرم و کبد در گروه دریافت کننده رژیم پرچرب نسبت به گروه کنترل نرمال از نظر آماری بطور معنی‌دار افزایش یافت ($P<0/05$). تیمار با متفورمین باعث کاهش معنی‌دار در سطح این پارامترها نسبت به گروه رژیم پرچرب گردید ($P<0/05$) علاوه افزایش در میزان بیان ژن $PGC-1\alpha$ در بافت چربی در این گروه مشاهده شد. با افزایش میزان مقاومت به انسولین در رت‌های دریافت کننده رژیم پرچرب، سطح آیریزین سرم نیز افزایش یافت و با کاهش گلوکز و بهبود مقاومت به انسولین توسط متفورمین، سطح آیریزین نیز کاهش پیدا کرد. این نتایج پیشنهاد می‌کند که ممکن است افزایش سطح آیریزین، یک پاسخ جبرانی در برابر مقاومت به انسولین و اختلال در سوخت و ساز گلوکز باشد. بر این اساس شاید بتوان آیریزین را به عنوان هدفی برای درمان دیابت نوع دو مورد بررسی قرار داد.

واژه‌های کلیدی. آدیپونکتین، فعالیت ورزشی، گلوکز، مایوکاین، مقاومت به انسولین

Evaluating the effects of metformin on irisin and serum biochemical parameters in male sprague-dawley rats fed by a high-fat emulsion diet

Babak Hassan Khan¹, Parichehreh Yaghmaei¹, Kazem Parivar¹ & Azadeh Ebrahim Habibi²

¹Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Research Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran;

²Endocrinology and Metabolism Research Center, Tehran University of Medical Sciences Tehran, Iran

Correspondent author: Parichehreh Yaghmaei, yaghmaei_p@srbiau.ac.ir

Abstract. Irisin is a myokine secreted mostly by muscles after exercise, and its secretion level changes in metabolic disorders. The aim of present study was to investigate the effect of metformin on changes in the levels of plasma irisin, blood glucose and insulin resistance in male Sprague-Dawley rats receiving a high-fat emulsion diet. Twenty-four rats were divided into a normal control group ($n = 8$) and a high-fat diet group ($n = 16$). Then, high-fat diet group was divided into two subgroups, including high-fat diet control group ($n = 8$) and metformin group ($n = 8$). The normal control group

received a standard diet. The high-fat diet control group received a high-fat emulsion diet containing corn oil by gavage on a daily basis for six weeks, and the metformin group received a high-fat emulsion diet with metformin (250 mg/kg/daily). At the end of the six-week period, factors such as glucose, insulin, irisin, Adiponectin, insulin resistance, liver enzymes, tumor necrosis factor α (TNF- α), serum lipid profile, lipid profile and lipid peroxidation in liver were measured and PGC-1 α gene expression were examined in adipose tissue by Real-time PCR method. Liver histological tests with hematoxylin-eosin staining were performed to evaluate fat accumulation in liver tissue. Blood glucose level, insulin resistance, adiponectin, serum irisin level and liver lipid profile in the group receiving high-fat diet compared to the normal control group increased significantly ($P < 0.05$). Treatment with metformin caused a significant decrease in the level of these parameters compared to the high-fat diet group ($P < 0.05$) and an increase in the expression of PGC-1 α gene in adipose tissue was observed in this group. As insulin resistance increased in rats receiving the high-fat diet, serum irisin level also increased, and with improving blood glucose and insulin resistance by metformin, serum irisin level was decreased. These results suggested that the elevated irisin levels may be a compensatory response to insulin resistance and impaired glucose metabolism. Hence, irisin could be considered as a potential target for the treatment of type 2 diabetes.

Key words. adiponectin, exercise, glucose, insulin resistance, myokine

مقدمه

سندروم متابولیک از شایع‌ترین اختلالات متابولیک است و استفاده زیاد از رژیم‌های غذایی پرچرب می‌تواند یکی از دلایل آن باشد (Asrih & Jornayvaz, 2015). سندروم متابولیک در کبد به صورت بیماری کبد چرب غیرالکلی خود را نشان می‌دهد (Buzzetti et al., 2015). بیماری کبد چرب غیر الکلی شامل طیفی از اختلالات است که از تجمع ساده چربی در کبد یا استئاتوز شروع و با پیشرفت بیماری به التهاب در کبد یا استئاتوهپاتیت، فیروز و در نهایت سیروز ختم می‌شود (Paschos & Paletas, 2009). بر اساس نظریه دو ضربه‌ای، تجمع چربی به دلایلی مانند چاقی و مقاومت به انسولین، در کبد و بافت‌های محیطی بوجود می‌آید و در مراحل بعد استرس‌های اکسیداتیو و آسیب کبدی بواسطه سیتوکاین‌ها (Cytokine) ایجاد می‌شود. تحقیقات نشان داده مقاومت به انسولین نقش مهمی در اختلالات متابولیک مانند بیماری کبد چرب غیرالکلی دارد (Dowman et al., 2010). مقاومت به انسولین در بسیاری از افراد مبتلا بیماری کبد چرب دیده می‌شود هر چند ممکن است آنها چاق نباشند (Popov & Lim, 2015).

آیریزین یک مایوکاین است که بطور عمده از عضلات و پس از فعالیت ورزشی ترشح می‌گردد. این مایوکاین از شکستن پروتئین غشایی Fibronectin type III domain-containing protein 5 (FNDC5) ایجاد می‌گردد. آیریزین با افزایش بیان ژن Uncoupling protein1 (UCP1) در میتوکندری‌های بافت چربی سفید، موجب تبدیل آن به چربی قهوه‌ای می‌شود که باعث تولید حرارت و مصرف انرژی می‌گردد. علاوه بر عضلات، بافت چربی سفید نیز یک منبع مهم برای ترشح آیریزین محسوب می‌گردد. در رت‌ها، آیریزین از بافت چربی زیر پوستی و به میزان کمتر از چربی احشایی ترشح می‌شود (Perakakis et al., 2019).

آیریزین (Puigserver & Spiegelman, 2003; 2017).

همچنین موجب بهبود هموستاز گلوکز از طریق افزایش جذب گلوکز و کاهش مقاومت به انسولین می‌گردد (Lee et al., 2015). عوامل مختلفی چون رژیم غذایی و هورمون‌ها بر میزان آیریزین تاثیر می‌گذارند (Varela-Rodriguez et al., 2016). آدیپونکتین (Adiponectin) پروتئینی است که از بافت چربی ترشح و باعث افزایش حساسیت به انسولین می‌گردد. سطح آدیپونکتین در سرم با سطح آیریزین ارتباط معکوس دارد و با کاهش آن، سطح آیریزین افزایش می‌یابد (Arias-Loste et al., 2014). نقش آیریزین در اختلالات متابولیکی و متابولیسم گلوکز بطور کامل ثابت نشده است. مطالعات انجام شده نشان می‌دهد سطح آیریزین در چاقی، مقاومت به انسولین و دیابت غیر وابسته به انسولین کاهش می‌یابد (Moreno-Navarr et al., 2013). در همین حال مطالعات دیگری نشان می‌دهند سطح سرمی آیریزین در افراد چاق افزایش می‌یابد (Stengel et al., 2014). پژوهش‌های انجام شده در بیماران مبتلا به دیابت نوع دو نشان می‌دهد، سطح سرمی آیریزین ارتباط معکوس با میزان حساسیت به انسولین دارد و در این موارد ترشح آن افزایش می‌یابد (Sesti et al., 2014).

متفورمین (Dimethyl biguanide) موجب کاهش قند خون و بهبود مقاومت به انسولین می‌گردد. متفورمین به عنوان داروی تنظیم کننده قند خون در حال حاضر در درمان بیماری‌هایی که همراه با مقاومت به انسولین هستند مانند دیابت نوع دو استفاده می‌شود. این دارو باعث افزایش فعالیت (AMP-activated protein kinase (AMPK می‌شود و از این روش موجب افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب در بافت چربی و کاهش گلوکونئوژنز و سنتز پروتئین‌ها و اسیدهای چرب می‌گردد (Esfade et al., 2019). متفورمین تجمع چربی در کبد را

کاهش داده و باعث مهار پاسخ‌های التهابی می‌گردد که این پاسخ‌ها در بروز مقاومت به انسولین نقش مهمی دارند (Woo et al., 2014). هدف از این پژوهش، بررسی سطح آیریزین پلاسما، میزان گلوکز خون و مقاومت به انسولین پس از شش هفته دریافت یک رژیم غذایی پرچرب و همچنین اثرات تیمار با متفورمین بر میزان این پارامترها در رت‌های نر نژاد اسپراگ - داولی بود.

مواد و روش‌ها

حیوانات

برای انجام این مطالعه، ۲۴ سر رت نر، نژاد اسپراگ - داولی با وزن تقریبی ۲۲۰-۲۰۰ گرم از موسسه سرم و واکسن رازی کرج - ایران خریداری شد. حیوانات در شرایط استاندارد شامل ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای ۲۴-۲۲ درجه سانتیگراد در حیوان خانه نگهداری شدند. آب و غذای استاندارد در دسترس آنها قرار گرفت. حیوانات به مدت یک هفته به منظور عادت کردن به محیط در حیوان خانه نگهداری و سپس به سه گروه تقسیم شدند. گروه کنترل و گروه رژیم پرچرب که گروه رژیم پرچرب خود به دو زیر گروه شامل گروه کنترل رژیم پرچرب و گروه متفورمین تقسیم شدند بطوری که در هر گروه هشت رت قرار گرفت. امولسیون پرچرب به شرح جدول ۱ تهیه شد. بر این اساس ۷۷ درصد انرژی این امولسیون از چربی و توسط روغن ذرت، ۱۴ درصد از پروتئین و توسط پودر شیر و ۹ درصد انرژی آن از کربوهیدرات و توسط ساکارز تامین گردید. گروه کنترل رژیم استاندارد دریافت نمود. گروه‌های دریافت کننده رژیم پرچرب علاوه بر دسترسی آزاد به رژیم استاندارد، به میزان ۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم وزن رت‌ها از امولسیون پرچرب از طریق گاواژ روزانه و به مدت شش هفته مطابق با تحقیقات گذشته دریافت کردند (Zou et al., 2006). تیمار با متفورمین در گروه Met با دوز ۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن رت‌ها روزانه همزمان با دریافت امولسیون پرچرب به مدت شش هفته ادامه یافت. دوز متفورمین با توجه به تحقیقات گذشته تعیین گردید (Jian-Gao et al., 2003). به منظور بررسی وزن اکتسابی در طول دوره، وزن رت‌ها در ابتدا و انتهای آن اندازه گیری و ثبت گردید. در پایان دوره آزمون و بعد از شش هفته گاواژ امولسیون پرچرب، حیوانات وزن شده و بوسیله دی اتیل اتر بصورت استنشاقی بیهوش شدند. بوسیله سرنگ ۵ سی سی خونگیری از بطن قلبی انجام شد. توسط دستگاه سانتریفیوژ،

سرم خون جدا و در دمای منفی ۲۰ درجه سانتیگراد تا زمان آزمایش نگهداری شد. پس از بیهوشی و خونگیری، کبد با احتیاط و به سرعت خارج شده توسط سالیین نرمال سرد شستشو داده شد و سپس وزن گردید. بخشی از بافت کبدی در محلول فرمالین ۱۰ درصد برای ارزیابی‌های بافت‌شناسی قرار داده شد. قسمتی دیگر از بافت کبدی در محلول ۵۰ میلی مولار بافر سالیین فسفات (PH 7) هموژن گردید و برای انجام آزمون‌های بیوشیمیایی در دمای منفی ۷۰ درجه سانتیگراد تا روز آزمایش نگهداری شد. بافت چربی از بخش خلفی ناحیه پشت صفاقی به منظور بررسی بیان ژن به سرعت جدا و بلافاصله در داخل نیتروژن مایع قرار داده شد. نمونه‌ها تا روز آزمایش در دمای منفی ۸۰ درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

آزمایش‌های بیوشیمیایی سرم

لیپوپروتئین‌های با دانسیته پایین Low-density lipoprotein (LDL-C)، دانسیته بالا High-density lipoprotein (HDL-C)، تری گلیسیرید Triglyceride (TG)، کلسترول تام Total cholesterol، گلوکز، آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز Alanine aminotransferase (ALT) و آسپارات آمینوترانسفراز Aspartate aminotransferase (AST) توسط معرف‌های شرکت زیست شیمی - ایران انجام شد. اندازه‌گیری Tumor necrosis factor α (TNF- α)، انسولین، آیریزین، اسیدهای چرب آزاد و آدیپونکتین با استفاده از کیت های Rat ELISA kit, CUSABIO Diagnostic, Japan انجام گردید.

آزمایش‌های کبدی: محتوی کلسترول و تری گلیسیرید کبد با استفاده از دستگاه اتوانالایزر اندازه‌گیری شد. سطح آنزیم سوپراکسید دیسموتاز کبدی با استفاده از پیروگالول و میزان مالون دی آلدئید کبدی با استفاده از تیوباربی‌توریک اسید به روش اسپکتروفتومتری توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل UNICO UV-2100 اندازه‌گیری گردید.

مقاومت به انسولین

برای ارزیابی میزان مقاومت به انسولین از مدل ارزیابی هومئوستازیس یا HOMA-IR استفاده گردید. این شاخص با استفاده از میزان قند خون ناشتا و انسولین ناشتا طبق فرمول زیر محاسبه شد (Lovati, et al., 2012).

$$\text{HOMA-IR} = \frac{\text{Insulin } [\mu\text{U/ml}] * \text{Glucose } [\text{mmol/l}]}{22.5}$$

شاخص کبدی

از آزمون واکنش زنجیره‌ای پلیمرز برای ارزیابی میزان بیان ژن Peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) Coactivator-1- α (PGC-1 α) استفاده شد. با توجه به خصوصیات بافت، از Glyceraldehyde phosphate dehydrogenase (GAPDH) House keeping gene برای کنترل داخلی و برای بررسی بیان ژن‌ها از ABI-step 1 system, USA و نور ناشی از سایبرگرین، شرکت یکتا تجهیز آژما، ایران استفاده گردید. واکنش‌ها به ترتیب، واسرشتگی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد برای ۱۰ ثانیه و واسرشتگی ثانویه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد برای ۵ ثانیه و اتصال و گسترش به مدت ۳۴ ثانیه در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد انجام پذیرفت. واکنش سه بار تکرار گردید و ارزیابی میزان بیان ژن با استفاده از روش لیاوک $2^{-\Delta\Delta CT}$ انجام شد (Karkhaneh, et al., 2016). توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۲ خلاصه شده‌اند.

تجزیه تحلیل آماری

نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف از میانگین نشان داده شده است. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SPSS ورژن ۲۴، تحلیل واریانس یک طرفه ANOVA one-vey و آزمون تعقیبی Tukey's post hoc test به منظور مقایسه بین گروه‌ها و وجود اختلاف معنی‌دار بین آنها استفاده گردید. اختلاف بین گروه‌ها در سطح $(P<0.05)$ به عنوان سطح معنی‌دار بودن در نظر گرفته شد.

برای محاسبه شاخص کبدی از فرمول زیر استفاده شد (Zou, et al., 2006).

$$\text{Liver index} = \text{Liver weight} / \text{Body weight} * 100$$

تهیه نمونه بافت و رنگ آمیزی

بافت کبدی در محلول فرمالین ۱۰ درصد برای دهیدراتاسیون قرار داده شد سپس پارافین به بافت اضافه و رنگ آمیزی با هماتوکسیلین - ائوزین انجام گردید. برش از نمونه گرفته شد و توسط میکروسکوپ نوری، رسوب چربی و استئاتوز در کبد مورد بررسی قرار گرفت (Zou et al., 2006).

جداسازی RNA و سنتز cDNA

استخراج RNA از بافت چربی با استفاده از کیت تجاری RNeasy mini kit شرکت QIAGEN, USA انجام شد. پس از استخراج RNA، غلظت آن با استفاده از خواندن جذب نور در طول موج ۲۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه NanoDrop, Thermoscientific، همچنین خلوص نمونه‌ها با استفاده از USA اندازه‌گیری گردید. همچنین خلوص RNA تایید می‌گردید. نسبت جذب در ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر (۲۶۰/۲۸۰) سنجیده شد به شکلی که اگر نسبت نزدیک به ۲ بود، خلوص RNA تایید می‌گردید. با استفاده از کیت cDNA synthesis kit, Thermoscientific، سنتز cDNA انجام گردید.

بررسی بیان نسبی ژن به روش Real-time PCR

جدول ۱- ترکیبات و میزان انرژی رژیم امولسیون پرچرب (Zou et al., 2006).

Table 1. The composition and caloric content of the high-fat emulsion diet.

Component	High-fat emulsion
Corn oil (g)	400
Saccharose (g)	150
Total milk powder (g)	80
Cholesterol (g)	100
Sodium deoxycholate (g)	10
Tween 80 (g)	36.4
Propylene glycol (g)	31.1
Vitamin mixture (g)	2.5
Cooking salt (g)	10
Mineral mixture (g)	1.5
Distilled water (ml)	300
Total energy (kcal/l)	4342

جدول ۲- توالی پرایمرهای مورد استفاده در Real-time PCR.

Table 2. Sequences of primer used in real-time PCR.

Gen Amp. Size	Sequence	Size	TM	GC (%)
PGC1a-F:144	GCTGAAGCCCTCTTGCAAGAC	21	60	57
PGC1a-R: 144	ACTGAGGACTTGCTGAGTTGTGC	23	60	52
GAPDH-F:105	CAACTCCCATCTTCCACCTTTG	23	60.5	43
GAPDH-R: 105	CTGTTGCTGTAGCCATATTCATTGTC	26	60	42

نتایج

پس از شش هفته دریافت امولسیون پرچرب، تغییر معنی‌دار در وزن اکتسابی در طول دوره در گروه رژیم پرچرب نسبت به گروه کنترل نرمال دیده نشد ($P>0.05$)، ولی در گروه دریافت کننده متفورمین، کاهش معنی‌دار در وزن اکتسابی در طول دوره نسبت به گروه رژیم پرچرب مشاهده گردید ($P<0.05$). اندکس کبدی در گروه رژیم پرچرب نسبت به گروه کنترل بطور معنی‌دار افزایش یافت ($P<0.05$). تیمار با متفورمین در گروه مربوطه تغییر معنی‌دار در اندکس کبدی نسبت به گروه رژیم چرب ایجاد نکرد ($P>0.05$) (جدول ۳).

رژیم امولسیون پرچرب باعث افزایش معنی‌دار سطح سرمی کلسترول تام، تری گلیسیرید، اسیدهای چرب آزاد و لیپوپروتئین‌های با دانسیته پایین و خیلی پایین در گروه رژیم پرچرب نسبت به گروه کنترل گردید ($P<0.05$). تیمار با متفورمین موجب کاهش معنی‌دار در میزان این پارامترها در گروه متفورمین نسبت به گروه رژیم پرچرب گردید ($P<0.05$). امولسیون پرچرب موجب افزایش سطح سرمی $TNF-\alpha$ و کاهش سطح سرمی آدیپونکتین بطور معنی‌دار در گروه رژیم پرچرب نسبت به گروه کنترل نرمال گردید ($P<0.05$) ولی در گروه دریافت کننده متفورمین، سطح سرمی $TNF-\alpha$ کاهش و سطح آدیپونکتین بطور معنی‌دار نسبت به گروه رژیم پرچرب افزایش یافت ($P<0.05$) (جدول ۴). شش هفته گاوژ امولسیون پرچرب موجب افزایش معنی‌دار در محتوی کلسترول و تری گلیسیرید بافت کبد در گروه رژیم پرچرب نسبت به گروه کنترل نرمال گردید ($P<0.05$). در این مدت تیمار با متفورمین موجب کاهش معنی‌دار در میزان این پارامترها در گروه متفورمین نسبت به گروه رژیم پرچرب گردید. ($P<0.05$) امولسیون پرچرب موجب افزایش معنی‌دار در محتوی مالون دی آلدئید بافت کبد در گروه رژیم پرچرب نسبت به گروه کنترل نرمال شد ($P<0.05$). متفورمین باعث کاهش معنی‌دار در محتوی مالون دی آلدئید بافت کبد در گروه متفورمین نسبت به گروه رژیم پرچرب گردید ($P<0.05$) (جدول ۴).

پس از شش هفته گاوژ امولسیون پرچرب، سطح گلوکز سرم (شکل ۱)، مقاومت به انسولین HOMA-IR (شکل ۲) و آیریزین سرم (شکل ۳) در گروه رژیم پرچرب نسبت به گروه کنترل نرمال بطور معنی‌دار افزایش یافت ($P<0.05$) ولی در گروه دریافت کننده متفورمین میزان این پارامترها بطور معنی‌دار نسبت به گروه رژیم پرچرب کاهش یافت ($P<0.01$).

سطح بیان ژن PGC-1 α در بافت چربی در گروه رژیم پرچرب نسبت به گروه کنترل نرمال کاهش یافت ولی در گروه

دریافت کننده متفورمین، افزایش سطح بیان ژن PGC-1 α نسبت به گروه رژیم پرچرب مشاهده شد (شکل ۴).

برش بافت کبد در گروه‌های مورد مطالعه پس از رنگ آمیزی با هماتوکسیلین - اتوزین در شکل ۵ نشان داده شده است. در بررسی برش‌های گروه کنترل نرمال، ساختار کبد طبیعی بود و ضایعه خاصی مشاهده نشد (شکل A - ۵). در برش‌های گروه رژیم پرچرب که به مدت شش هفته امولسیون پرچرب دریافت کرده بودند، تشکیل قطرات لیپیدی به شکل میکرو و ماکرو مشاهده شد که توسط پیکان‌های مشکی مشخص شده است (شکل B - ۵). در گروه متفورمین علیرغم دریافت امولسیون پرچرب، قطرات چربی به شکل میکرو و ماکرو در بین سلول‌های کبدی در مقایسه با گروه رژیم پرچرب مشاهده نگردید (شکل C - ۵).

بحث

تحقیقات گذشته نشان داده‌اند رژیم غذایی پرچرب می‌تواند موجب ایجاد کبد چرب، هایپرتری گلیسیریدمیا و مقاومت به انسولین گردد (Dowman et al., 2010; Zou et al., 2006; Patterson et al., 2011). از طرفی بیماری کبد چرب غیر الکلی ارتباط نزدیکی با مقاومت به انسولین دارد (Buzzetti et al., 2015). هماهنگ با این مطالعات در این پژوهش، گاوژ رژیم امولسیون پرچرب طی شش هفته موجب تجمع قطرات چربی و استرس‌های اکسیداتیو در کبد، افزایش گلوکز و پروفایل چربی در سرم و بروز مقاومت به انسولین گردید که آزمایش‌های بیوشیمیایی سرم و بررسی‌های بافت‌شناسی آن را تایید می‌کند.

نتایج این مطالعه نشان داد، شش هفته گاوژ امولسیون پرچرب حاوی روغن ذرت باعث افزایش وزن و چاقی نشد در همین حال متفورمین باعث کاهش وزن گردید. نوع چربی و ترکیب اسیدهای چرب رژیم غذایی با افزایش وزن و چاقی ارتباط دارد. بر این اساس اسیدهای چرب اشباع تمایل بیشتری برای ذخیره شدن، ایجاد چاقی و افزایش وزن نسبت به اسیدهای چرب غیر اشباع دارند. اسیدهای چرب غیر اشباع بیشتر در سوخت و ساز و تولید انرژی شرکت می‌کنند و تمایل کمتری برای ذخیره شدن و ایجاد چاقی دارند (Hariri & Thibault, 2010). روغن ذرت دارای مقادیر زیادی از اسیدهای چرب غیر اشباع و مقدار کمی از اسیدهای چرب اشباع است (Dupont et al., 1990). علاوه بر این، متفورمین که در درمان دیابت غیروابسته به انسولین استفاده می‌شود، تولید گلوکز در کبد را کاهش داده و بطور غیرمستقیم باعث افزایش فعالیت AMP-activated protein kinase (AMPK) می‌گردد. این ترکیب انرژی مصرفی را افزایش و

جدول ۳- نتایج وزن اکتسابی در طول دوره و اندکس کبدی.

Table 3. Results of body weight gain and liver index.

Groups	Normal control (n=8)	High fat diet (n=8)	Metformin (n=8)
weight gain (g)	68.00 ± 6.83	52.72 ± 17.17	34.66 ± 9.85 *
Liver index (%)	3.64 ± 0.17	4.35 ± 0.46 #	0.37±4.21

اثرات متفورمین بر میزان وزن اکتسابی و اندکس کبدی در گروه‌های کنترل نرمال، رژیم پرچرب و گروه متفورمین که روزانه به میزان ۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن رت‌ها متفورمین دریافت نمود.

* نشان دهنده تفاوت آماری معنی‌دار ($P < 0.05$) با گروه رژیم پرچرب است.

نشان دهنده تفاوت آماری معنی‌دار ($P < 0.05$) با گروه کنترل نرمال است.

Effect of metformin on Body weight gain (g) and Liver index (%) in normal control group (NC), high fat diet group (HFD) and metformin group (Met) that received HFD with metformin (250 mg/kg/daily).

* represents $p < 0.05$ compared with the HFD group.

represents $p < 0.05$ compared with the NC group.

جدول ۴- نتایج پارامترهای بیوشیمیایی سرم و کبد.

Table 4. Results of serum and liver biochemical parameters.

Groups	Normal control (n=8)	High fat diet (n=8)	Metformin (n=8)
Triglycerides (mg / dL)	25.97 ± 14.13	63.88 ± 19.48 #	20.32 ± 0.51 *
Total cholesterol (mg / dL)	46.10 ± 7.50	79.90 ± 13.50 #	42.18 ± 0.49 *
HDL-C (mg / dL)	32.18 ± 11.41	42.67 ± 10.28	23.01 ± 0.68 *
LDL-C (mg / dL)	21.17 ± 3.35	61.54 ± 21.39 #	15.63 ± 0.38 *
VLDL (mg / dL)	5.18 ± 2.83	15.49 ± 7.12 #	4.06 ± 0.1 *
Free fatty acid (mg / dL)	35.56 ± 6.20	56.9 ± 5.84 #	31.9 ± 0.66 *
Aspartate aminotransferase (units per liter)	269 ± 45	286 ± 42	304 ± 8
Alanine aminotransferase (units per liter)	84 ± 9	88 ± 15	85 ± 5
Adiponectin (pg/dl)	6.76 ± 0.53	5.10 ± 1.01 #	6.23 ± 0.24 *
Insulin (nano U/ml)	331.13 ± 52.5	434.31 ± 35.8 #	345.23 ± 3.2 *
Tumor necrosis factor α (pg / ml)	104.3 ± 9.3	120.9 ± 10.36 #	98.52 ± 0.43 *
Liver triglycerides (μ m/g of tissue)	13.50 ± 0.75	14.40 ± 0.74 #	13.37 ± 0.58 *
Liver cholesterol (μ m/g of tissue)	11.70 ± 0.64	12.80 ± 0.52 #	11.91 ± 0.89 *
Liver Superoxide dismutase (unit per mg of protein)	81.84 ± 4.65	76.47 ± 5.63	76.41 ± 4.89
Liver Malondialdehyde (nm/g of protein)	5.91 ± 0.46	6.65 ± 0.24 #	5.84 ± 0.57 *

اثرات متفورمین بر میزان پارامترهای بیوشیمیایی سرم و کبد در گروه‌های کنترل نرمال، رژیم پرچرب و گروه متفورمین که روزانه به میزان ۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن رت‌ها متفورمین دریافت نمود.

* نشان دهنده تفاوت آماری معنی‌دار ($P < 0.05$) با گروه رژیم پرچرب است.

نشان دهنده تفاوت آماری معنی‌دار ($P < 0.05$) با گروه کنترل نرمال است.

High density lipoprotein (HDL-C).

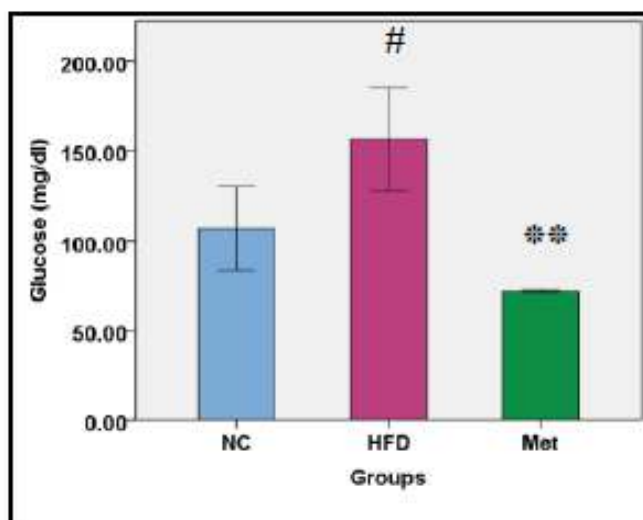
Low density lipoprotein (LDL-C).

Very low density lipoprotein (VLDL-C).

Effect of metformin on serum and liver parameters in normal control group (NC), high fat diet group (HFD) and metformin group (Met) that received HFD with metformin (250 mg/kg/daily).

* represents $p < 0.05$ compared with the HFD group.

represents $p < 0.05$ compared with the NC group.



شکل ۱- اثرات متفورمین بر گلوکز سرم (میلی گرم در دسی لیتر) در گروه‌های، کنترل نرمال (NC)، رژیم پر چرب (HFD) و گروه متفورمین (Met) که روزانه به میزان ۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن رت‌ها متفورمین دریافت نمود.

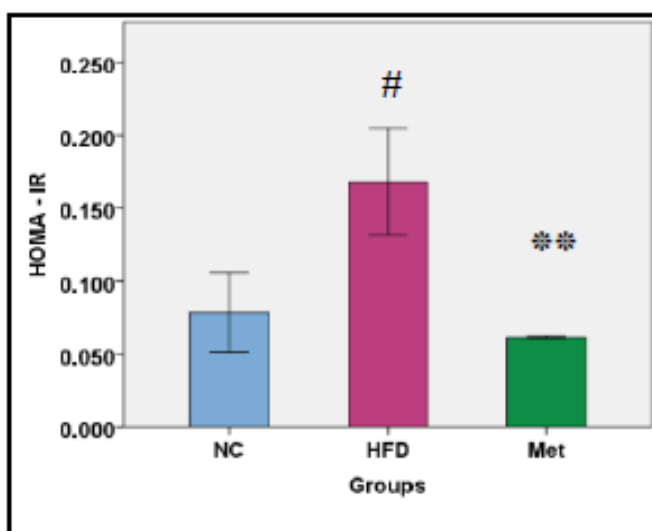
** نشان دهنده تفاوت آماری معنی دار ($P < 0.01$) با گروه رژیم پر چرب است.

نشان دهنده تفاوت آماری معنی دار ($P < 0.05$) با گروه کنترل نرمال است.

Figure 1. Effect of metformin on serum glucose level in normal control group (NC), high fat diet group (HFD) and metformin group (Met) that received HFD with metformin (250 mg/kg/daily).

** represents $p < 0.01$ compared with the HFD group.

represents $p < 0.05$ compared with the NC group.



شکل ۲- اثرات متفورمین بر مقاومت به انسولین HOMA-IR^a در گروه‌های، کنترل نرمال (NC)، رژیم پر چرب (HFD) و گروه متفورمین (Met) که روزانه به میزان ۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن رت‌ها متفورمین دریافت نمود.

a: $\text{HOMA-IR} = \text{Insulin } [\mu\text{U/ml}] * \text{Glucose } [\text{mmol/l}] / 22.5$

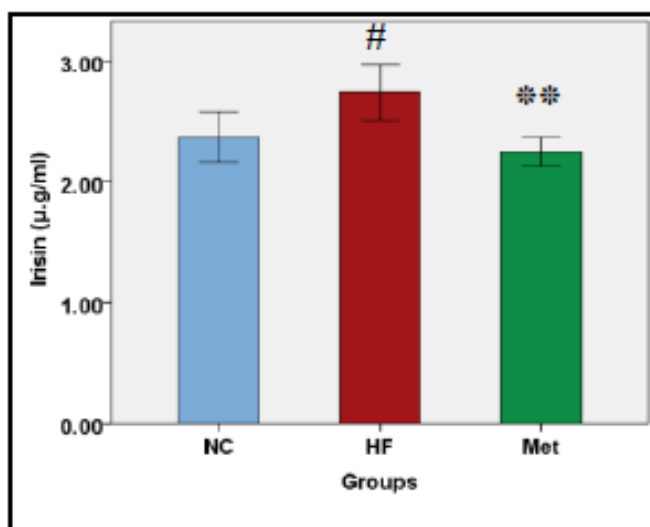
** نشان دهنده تفاوت آماری معنی دار ($P < 0.01$) با گروه رژیم پر چرب است.

نشان دهنده تفاوت آماری معنی دار ($P < 0.05$) با گروه کنترل نرمال است.

Figure 2. Effect of metformin on Insulin resistance HOMA – IR in normal control group (NC), high fat diet group (HFD) and metformin group (Met) that received HFD with metformin (250 mg/kg/daily).

** represents $p < 0.01$ compared with the HFD group.

represents $p < 0.05$ compared with the NC group.



شکل ۳- اثرات متفورمین بر سطح آیریزین سرم (میکروگرم بر میلی لیتر) در گروه کنترل نرمال (NC)، رژیم پرچرب (HFD) و گروه متفورمین (Met) که روزانه به میزان ۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن رت‌ها متفورمین دریافت نمود.

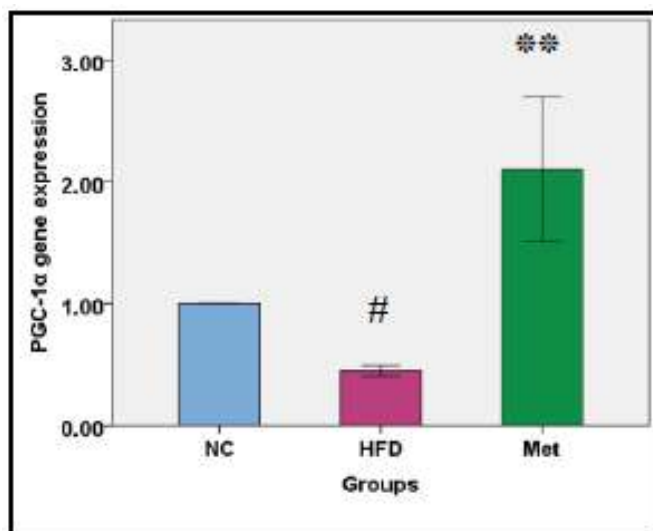
** نشان دهنده تفاوت آماری معنی دار ($P < 0.01$) با گروه رژیم پرچرب است.

نشان دهنده تفاوت آماری معنی دار ($P < 0.05$) با گروه کنترل نرمال است.

Figure 3. Effect of metformin on serum Irisin level in normal control group (NC), high fat diet group (HFD) and metformin group (Met) that received HFD with metformin (250 mg/kg/daily).

** represents $p < 0.01$ compared with the HFD group.

represents $p < 0.05$ compared with the NC group.



شکل ۴- اثرات متفورمین بر بیان ژن PGC-1α که توسط GAPDH نرمالایز شده بود در گروه‌های کنترل نرمال (NC)، رژیم پرچرب (HFD) و گروه متفورمین (Met) که روزانه به میزان ۲۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن رت‌ها متفورمین دریافت نمود.

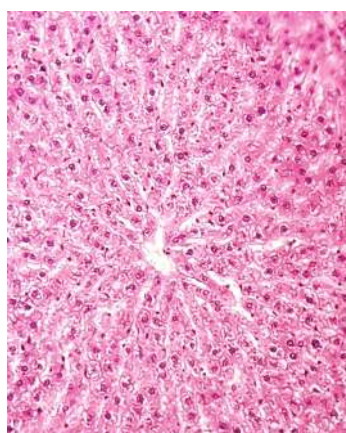
** نشان دهنده تفاوت آماری معنی دار ($P < 0.01$) با گروه رژیم پرچرب است.

نشان دهنده تفاوت آماری معنی دار ($P < 0.05$) با گروه کنترل نرمال است.

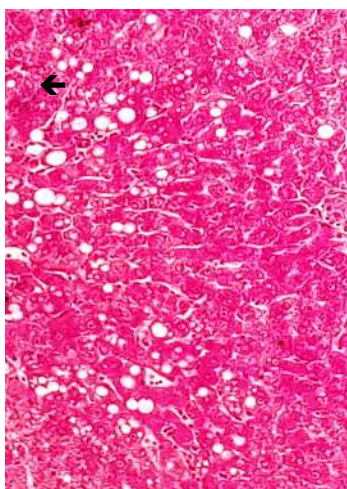
Figure 4. Effect of metformin on PGC-1α gene expression (Normalized with GAPDH) in normal control group (NC), high fat diet group (HFD) and metformin group (Met) that received HFD with metformin (250 mg/kg/daily).

** represents $p < 0.01$ compared with the HFD group.

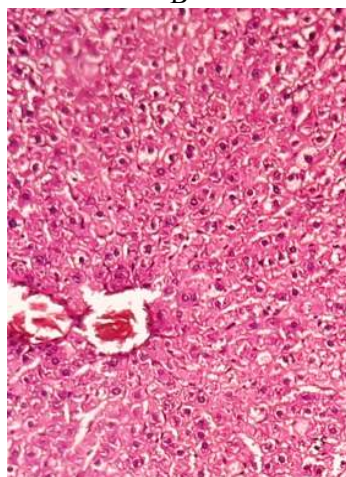
represents $p < 0.05$ compared with the NC group.



A



B



C

شکل ۵ - تصاویر برش‌های بافت کبد به منظور بررسی هیستولوژیکی در گروه‌های مورد مطالعه پس از رنگ آمیزی با هماتوکسیلین - انوزین. A: گروه کنترل نرمال که بافت کبد ساختاری طبیعی داشت و تغییرات بافتی قابل توجهی در آن مشاهده نشد. B: گروه رژیم پر چرب که تشکیل قطرات لیپیدی به شکل میکرو و زیکول‌ها و ماکرو و زیکول‌ها در آن قابل مشاهده بوده و در تصویر توسط پیکان‌های مشکی مشخص شده است. C: گروه متفورمین که در آن با وجود شش هفته گاوژ رژیم پرچرب، میکرو و زیکول‌ها و ماکرو و زیکول‌ها لیپیدی که در گروه پرچرب ایجاد شده بود در آن مشاهده نشد (درشتنمایی ۱۰۰).

Figure 5. Photomicrograph of liver tissue slices in all groups after hematoxylin - eosin staining. Liver tissue in normal control group was normal (A). Liver sections from the high-fat diet group displayed obvious macro and microvesicular fat droplets (B). In Met group after six weeks of a high-fat emulsion diet feeding, did not observed obvious macro and microvesicular fat droplets (C) (X 100).

افزایش آزادسازی اسیدهای چرب آزاد و افزایش بتا اکسیداسیون، موجب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد، بروز استرس‌های اکسیداتیو و آسیب به کبد می‌شود (Hebbard & George, 2012; Rolo et al., 2011). از نتایج بروز استرس‌های اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدی، ایجاد تغییر در ساختمان لیپدها و تولید مالون دی آلدئید است (Robertson et al., 2001; Esterbauer et al., 1991; Negre-Salvayre et al., 2010). مالون دی آلدئید به عنوان نشانه‌ای از استرس‌های اکسیداتیو در نظر گرفته می‌شود (Del Rio et al., 2005). علاوه بر این، مطالعات نشان داده، متفورمین استئاتوز کبدی را کاهش می‌دهد و می‌تواند بر میزان $\text{TNF-}\alpha$ تأثیر بگذارد (Raso et al., 2009). متفورمین خواص ضدالتهابی و اثرات محافظتی در کاهش استرس‌های اکسیداتیو، و میزان مالون دی آلدئید دارد (Dai et al., 2014). متفورمین بر فعالیت آنزیم‌هایی که در مهار رادیکال‌های آزاد نقش دارند مانند کاتالاز تأثیر گذاشته و از این طریق میزان مالون دی آلدئید را کاهش می‌دهد (Buldak et al., 2014). در راستای این تحقیقات و با توجه به نتایج این پژوهش، کاهش محتوی کبدی مالون دی آلدئید در گروه تحت تیمار با متفورمین ممکن است به دلیل اثرات متفورمین در کاهش استرس‌های اکسیداتیو و همچنین تأثیر بر آنزیم‌های مهارکننده رادیکال‌های آزاد مانند کاتالاز باشد.

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد، متفورمین موجب افزایش میزان بیان ژن $\text{PGC-1}\alpha$ در بافت چربی می‌گردد. Peroxisome proliferator-activated receptor γ Coactivator-1- α ($\text{PGC-1}\alpha$) یک کوفاکتور فعال کننده نسخه برداری است که در هومئوستاز انرژی و تنظیم متابولیسم در پاسخ به محرک‌های محیطی شرکت می‌کند و در متابولیسم گلوکز و اسیدهای چرب نقش دارد (Puigserver & Spiegelman, 2003; Hesselink et al., 2016). نشان می‌دهد $\text{PGC-1}\alpha$ اثرات محافظتی در برابر توسعه مقاومت به انسولین داشته و موجب افزایش بیان ناقل GLUT4 و تقویت عملکرد میتوکندری‌ها می‌شود (Finck & Kelly, 2006). کاهش بیان $\text{PGC-1}\alpha$ در بافت چربی با مقاومت به انسولین همراه است (Kleiner et al., 2012). علاوه بر این متفورمین موجب افزایش میزان بیان ژن $\text{PGC-1}\alpha$ می‌گردد (Aatsinki et al., 2014). متفورمین با افزایش بیان ژن $\text{PGC-1}\alpha$ و همچنین افزایش سوخت و ساز موجب تولید انرژی در بافت چربی قهوه‌ای می‌شود (Karise et al., 2019; Yang et al., 2016). هماهنگ با این یافته‌ها و با توجه به نتایج این پژوهش، افزایش میزان بیان ژن $\text{PGC-1}\alpha$ در اثر تیمار با متفورمین ممکن است

یافته‌های این تحقیق نشان داد، سطح گلوکز، انسولین و پروفایل چربی سرم در گروه رژیم پر چرب افزایش یافت ولی متفورمین موجب کاهش میزان این فاکتورها شد. بیماری کبد چرب غیرالکلی با اختلال در متابولیسم گلوکز، مقاومت به انسولین و همچنین دیس لیپیدمیا همراه است که علائم آن شامل افزایش گلوکز، انسولین و همراه با آن پروفایل چربی در سرم است (Buzzetti et al., 2015; Dowman et al., 2010; Lovati et al., 2012). تحقیقات گذشته نشان می‌دهد متفورمین باعث افزایش حساسیت به انسولین و متابولیسم همچنین کاهش پروفایل چربی سرم می‌گردد (Jian-Gao et al., 2003; Schommers et al., 2017; Raso et al., 2009). متفورمین موجب افزایش میزان بیان ژن $\text{PGC-1}\alpha$ در بافت چربی قهوه‌ای و به دنبال آن افزایش سوخت و ساز، تولید انرژی و کاهش تری گلیسیرید های سرم می‌شود (Karise et al., 2016; Yang et al., 2019). موافق با این مطالعات و با توجه به یافته‌های این تحقیق، کاهش میزان گلوکز، انسولین و پروفایل چربی سرم توسط متفورمین احتمالاً از طریق افزایش فعالیت AMPK ، افزایش بیان ژن $\text{PGC-1}\alpha$ و متابولیسم گلوکز و بهبود حساسیت به انسولین اعمال می‌گردد.

بر اساس نتایج این مطالعه، سطح سرمی آیریزین و میزان گلوکز سرم در گروه رژیم پر چرب افزایش یافت ولی در گروه تحت تیمار با متفورمین، تغییری در میزان گلوکز و آیریزین سرم مشاهده نگردید. مطالعات گذشته نشان داده‌اند که آیریزین مایوکایینی است که در هومئوستاز گلوکز نقش دارد (Perakakis et al., 2017). این ترکیب باعث بهبود جذب سلولی گلوکز و افزایش متابولیسم آن می‌گردد (Lee et al., 2014; Arias-Loste et al., 2015). آیریزین بازجذب گلوکز را از مسیر پیام رسانی p38 , MAPK-GLUT4 تحریک می‌نماید (Gizaw et al., 2017). سطح آیریزین سرم در چاقی و مقاومت به انسولین افزایش می‌یابد (Huerta et al., 2014; Sesti et al., 2015). همسو با این تحقیقات و با توجه به نتایج این مطالعه، افزایش سطح سرمی آیریزین همراه با گلوکز سرم در گروه رژیم پر چرب امکان دارد نشان دهنده ارتباط میزان گلوکز سرم با تولید آیریزین بوده و افزایش سطح آیریزین سرم ممکن است یک پاسخ جبرانی در برابر افزایش گلوکز و اختلال در متابولیسم آن به علت مصرف رژیم غذایی پر چرب باشد.

یافته‌های این مطالعه نشان داد، پس از شش هفته گاوژ امولسیون پرچرب، محتوی مالون دی آلدئید کبدی افزایش یافت ولی در گروه تحت تیمار با متفورمین، تغییری در محتوی مالون دی آلدئید کبد مشاهده نشد. مقاومت به انسولین با

REFERENCES

- Aatsinki, S.M., Buler, M., Salomaki, H., Koulu, M., Pavek, P. & Hakkola, J.** 2014. Metformin induces PGC-1 α expression and selectively affects hepatic PGC-1 α functions. *British Journal of Pharmacology* 171: 2351-2363.
- Arias-Loste, M.T., Ranchal, I., Romero-Gómez, M. & Crespo, J.** 2014. Irisin, a link among fatty liver disease, physical inactivity and insulin resistance. *International Journal of Molecular Sciences* 15: 23163-23178.
- Asrih, M. & Jornayvaz, F.R.** 2015. Metabolic syndrome and nonalcoholic fatty liver disease: Is insulinresistance the link? *Molecular and Cellular Endocrinology* 418: 55-65.
- Buldak, L., Labuzek, K. & Buldak, R.J.** 2014. Metformin affects macrophages' phenotype and improves the activity of glutathione peroxidase, superoxide dismutase, catalase and decreases malondialdehyde concentration in a partially AMPK-independent manner in LPS-stimulated human monocytes/macrophages. *Pharmacological Reports* 66: 418-429.
- Buzzetti, E., Pinzani, M. & Tsochatzis, E.A.** 2015. The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Metabolism* 65: 1038-1048.
- Dai, J., Liu, M., Ai, Q., Lin, L., Wud, K., Deng, X., Jing, Y., Jia, M. Wane, J. & Zhang, L.** 2014. Involvement of catalase in the protective benefits of metformin in mice with oxidative liver injury. *Chemico-Biological Interactions* 216: 34-42.
- Del Rio, D., Stewart, A.J. & Pellegrini, N.** 2005. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases* 15: 315-328.
- Dowman, J.K., Tomlinson, J.W. & Newsome, P.N.** 2010. Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *QJM: An International Journal of Medicine* 103: 71-83.
- Dupont, J., Carpenter, M.P., Schaefer, E.J., Meydani, S.N., Elson, C.E., Woods, M. & Gorbach, S.L.** 1990. Food uses and health effects of corn oil. *Journal of the American College of Nutrition* 9: 438-470.
- Esfade H., Mirabolghasemi G., Azarnia M.** 2019. The joint effect of hydro-alcoholic extract of nettle root and metformin on ovarian tissue of diabetic model of Wistar rat. *Nova Biologica Reperta* 6: 131-139.
- Esterbauer, H., Schaur, R.J. & Zollner, H.** 1991. Chemistry and biochemistry of 4-Hydroxynonenal, Malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radical Biology & Medicine* 11: 81-128.
- Finck, B.N. & Kelly, D.P.** 2006. PGC-1 coactivators: inducible regulators of energy metabolism in health and disease. *Journal of Clinical Investigation* 116: 615-622.
- Gizaw, M., Anandakumar, P. & Debela, T.** 2017. Review on the role of irisin in insulin resistance and type 2 diabetes mellitus. *Journal of Pharmacopuncture* 20: 235-242.

یکی از دلایل کاهش مقاومت به انسولین و کاهش وزن ناشی از مصرف متفورمین باشد.

نتیجه‌گیری

یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد با کاهش سطح سرمی گلوکز، انسولین و مقاومت به انسولین در رت‌های مبتلا به بیماری کبد چرب توسط متفورمین، سطح سرمی آیریزین نیز کاهش می‌یابد لذا به نظر می‌رسد سطح آیریزین سرم با سطح گلوکز ارتباط داشته و ممکن است افزایش سطح آیریزین در بیماری کبد چرب، یک پاسخ جبرانی در برابر افزایش گلوکز پلاسما ناشی از مصرف طولانی مدت یک رژیم غذایی پرچرب باشد. به این دلیل شاید بتوان در پژوهش‌های بعدی اثرات آیریزین را به عنوان هدفی در درمان بیماری دیابت غیر وابسته به انسولین مورد بررسی قرار داد.

سپاسگزاری

این پژوهش در محل مجتمع آزمایشگاه رازی وابسته به دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران انجام شد و کلیه ملاحظات اخلاقی و پروتکل‌های مربوط به کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید. پروپوزال تحقیق در دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات مورد بررسی قرار گرفت و مورد تصویب کمیته اخلاق دانشگاه واقع گردید (IR. IAU. SRB. REC. 1397. 122). بدینوسیله از واحد مربوطه تشکر و قدردانی می‌گردد.

- Hariri, N. & Thibault, L.** 2010. High-fat diet-induced obesity in animal models. *Nutrition Research Reviews* 23: 270-299.
- Hebbard, L. & George, J.** 2011. Animal models of nonalcoholic fatty liver disease. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 8: 34-44.
- Hesselink, M. K., Schrauwen-Hinderling, V. & Schrauwen, P.** 2016. Skeletal muscle mitochondria as a target to prevent or treat type 2 diabetes mellitus. *Nature reviews endocrinology* 12: 633-645.
- Huerta, A.E., Prieto-Hontoria, P.L., Fernandez-Galilea, M., Sainz, N., Cuervo, M., Martinez, J.A. & Moreno-Aliaga, M.J.** 2015. Circulating irisin and glucose metabolism in overweight/obese women: effects of α -lipoic acid and eicosapentaenoic acid. *Journal of Physiology and Biochemistry* 71: 547-558.
- Jian-Gao, F., Xiao-Dong, D., Zeng-Jie, X., Xiao-Ying, Z. & Tian, L.Y.** 2003. Preventive effects of Metformin on rats with Nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 34: 501-502.
- Karise, I., Bargut, T.C., Del Sol, M., Pacilio, M. & Mandarim-de-Lacerda, C.A.** 2019. Metformin enhances mitochondrial biogenesis and thermogenesis in brown adipocytes of mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 111: 1156-1165.
- Karkhaneh, L., Yaghmaei, P., Parivar, K., Sadeghizadeh, M. & 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: 1-8.
- Kleiner, S., Mepani, R.J., Laznik, D., Ye, L., Jurczak, M.J., Jornayvaz, F.R. & Spiegelman, B.M.** 2012. Development of insulin resistance in mice lacking PGC-1 α in adipose tissues. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109: 9635-9640.
- Lee, H.J., Lee, J.O., Kim, N., Kim, J.K., Kim, H.I., Lee, Y.W. & Kim, H.S.** 2015. Irisin, a novel myokine, regulates glucose uptake in skeletal muscle cells via AMPK. *Molecular Endocrinology* 29: 873-881.
- Lovati, M. R., Manzoni, C., Castiglioni, S., Parolari, A., Magni, C. & Duranti, M.** 2012. Lupin seed γ -conglutinin lowers blood glucose in hyperglycaemic rats and increases glucose consumption of HepG2 cells. *British Journal of Nutrition* 107: 67-73.
- Moreno-Navarrete, J.M., Ortega, F., Serrano, M., Guerra, E., Pardo, G., Tinahones, F. & Fernández-Real, J.M.** 2013. Irisin is expressed and produced by human muscle and adipose tissue in association with obesity and insulin resistance. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 98: 769-778.
- Negre-Salvayre, A., Auge, N., Ayala, V., Basaga, H., Boada, J., Brenke, R. & Zarkovic, N.** 2010. Pathological aspects of lipid peroxidation. *Free Radical Research* 44: 1125-1171.
- Paschos, P. & Paletas, K.** 2009. Non alcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome. *Hippokratia* 13: 9-19.
- Patterson, E., Wall, R., Fitzgerald, G.F., Ross, R.P. & Stanton, C.** 2011. Health Implications of High Dietary Omega-6 Polyunsaturated Fatty Acids. *Journal of Nutrition and Metabolism* 2012: 1-16.
- Perakakis, N., Triantafyllou, G.A., Fernández-Real, J.M., Huh, J.Y., Park, K.H., Seufert, J. & Mantzoros, C.S.** 2017. Physiology and role of irisin in glucose homeostasis. *Nature Reviews Endocrinology* 13: 324-337.
- Popov, V.B. & Lim, J.K.** 2015. Treatment of nonalcoholic fatty liver disease: the role of medical, surgical, and endoscopic weight loss. *Journal of Clinical and Translational Hepatology* 3: 230-238.
- Puigserver, P. & Spiegelman, B.M.** 2003. Peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator 1 α (PGC-1 α): transcriptional coactivator and metabolic regulator. *Endocrine Reviews* 24: 78-90.
- Raso, G.M., Esposito, E., Iacono, A., Pacilio, M., Cuzzocrea, S., Canani, R.B. & Meli, R.** 2009. Comparative therapeutic effects of metformin and vitamin E in a model of non-alcoholic steatohepatitis in the young rat. *European Journal of Pharmacology* 604: 125-131.
- Robertson, G., Leclercq, I. & Farrell, G.C.** 2001. II. Cytochrome P-450 enzymes and oxidative stress. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 281: 1135-1139.
- Rolo, A.P., Teodoro, J.S. & Palmeira, C.M.** 2012. Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Free Radical Biology & Medicine* 52: 59-69.
- Schommers, P., Thureau, A., Bultmann-Mellin, I., Guschlbauer, M., Klatt, A.R., Rozman, J. & Wiesner, R.J.** 2017. Metformin causes a futile intestinal-hepatic cycle which increases energy expenditure and slows down development of a type 2 diabetes-like state. *Molecular Metabolism* 6: 737-747.
- Sesti, G., Andreozzi, F., Fiorentino, T.V., Mannino, G.C., Sciacqua, A., Marini, M.A. & Perticone, F.** 2014. High circulating irisin levels are associated with insulin resistance and vascular atherosclerosis in a cohort of nondiabetic adult subjects. *Acta Diabetologica* 51: 705-713.
- Stengel, A., Hofmann, T., Geobel-Stengel, M., Elbelt, U., Kobelt, P. & Klapp, B.F.** 2013. Circulating levels of irisin in patients with anorexia nervosa and different stages of obesity- Correlation with body mass index. *Peptides* 39: 125-130.
- Varela-Rodríguez, B. M., Pena-Bello, L., Juiz-Valiña, P., Vidal-Bretal, B., Cordido, F. & Sangiao-Alvarellos, S.** 2016. FNDC5 expression and circulating irisin levels are modified by diet and hormonal conditions in hypothalamus, adipose tissue and muscle. *Scientific Reports* 6: 1-13.
- Woo, S.L., Xu, H., Li, H., Zhao, Y., Hu, X., Zhao, J. & Wu, C.** 2014. Metformin ameliorates hepatic steatosis and inflammation without altering adipose phenotype in diet-induced obesity. *Plos One* 9: 1-13.
- Yang, Q., Liang, X., Sun, X., Zhang, L., Fu, X., Rogers, C.J. & Du, M.** 2016. AMPK/ α -ketoglutarate axis dynamically mediates DNA demethylation in the Prdm16 promoter and brown adipogenesis. *Cell Metabolism* 24: 542-554.

Zou, Y., Li, J., Lu, C., Wang, J., Ge, J., Huang, Y. & Wang, Y. 2006. High-fat emulsion-induced rat

model of nonalcoholic steatohepatitis. Life Sciences 79: 1100-1107.

How to cite this article:

Hassan Khan, B., Yaghmaei, P., Parivar, K. & Ebrahim Habibi, A. 2022. Evaluation of the Effects of Metformin on the Level of Irisin and Serum Biochemical Parameters in Male Sprague-Dawley Rats Fed High-fat Emulsion Diet. Nova Biologica Reperta 9: 169-181. (In Persian).

حسن خان، ب.، یغمایی، پ.، پریور، ک. و ابراهیم حبیبی، آ. ۱۴۰۱. بررسی اثرات متفورمین بر سطح آیریزین و پارامترهای بیوشیمیایی سرم در رت‌های نر نژاد اسپراگ - داوولی با رژیم غذایی امولسیون پرچرب. یافته‌های نوین در علوم زیستی ۹: ۱۶۹-۱۸۱.