فصلنامه (علمی)

زیست شناسی تکوینی

سال پانزدهم، شماره ۳، تابستان ۱۴۰۲ ص. ۵۰-۴۱

مقاله پژوهشی

اثر هیپولیپیدمیک عصاره هیدرومتانلی دانه شنبلیله (Trigonella foenum-graecum L.) بر سطح لیپیدهای سرم و بیان PPARγ در بافت چربی موش‌های صحرایی نر هیپرلیپیدمیک

مریم عیدی[1*]، مهدیه محسنی[1]

[1] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین - پیشوا، پیشوا، ایران.

[*] (نویسنده مسئول مکاتبات): maryameidi@gmail.com

تاریخ دریافت: مرداد ۱۴۰۱ تاریخ پذیرش: آذر ۱۴۰۱

DOI: 10.30495/jdb.2022.1964609.1325 https://dorl.net/dor/20.1001.1.2008692.1402.15.3.5.7

چکیده

هیپرلیپیدمیا به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل خطرزای بیماری‌های قلبی-عروقی مطرح می‌باشد. هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر عصاره هیدرومتانلی دانه شنبلیله بر سطح لیپیدهای سرم و بیان *PPAR* در بافت چربی موش‌های صحرایی هیپرلیپیدمیک است. در این مطالعه تجربی، ۳۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به صورت کاملاً تصادفی به شش گروه مساوی تقسیم شدند که شامل گروه کنترل سالم، گروه کنترل هیپرلیپیدمیک (دریافت کننده رژیم غذایی با ۱۰ درصد چربی)، گروه هیپرلیپیدمیک دریافت کننده آتورواستاتین (غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و گروه‌های تجربی هیپرلیپیدمیک دریافت کننده عصاره هیدرومتانلی دانه شنبلیله (غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) بودند. پس از ۸ هفته تیمار، حیوانات بمدت ۱۲ ساعت ناشتایی داده شده و سپس توزین و توسط اتر بیهوش گردیدند و نمونه خون از قلب و بافت چربی از ناحیه شکمی حیوانات جمع آوری شدند. میزان افزایش وزن، ضریب کبدی، سطح کلسترول، تری گلیسرید، LDL، HDL، AST و ALT سرم توسط کیت و تغییر بیان *PPARγ* به روش real-time PCR اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد تیمار خوراکی آتورواستاتین و عصاره دانه شنبلیله موجب کاهش معنی‌دار وزن بدن، سطح کلسترول، تری گلیسرید، LDL، ALT و AST سرم و بیان *PPAR* در بافت چربی و افزایش معنی دار سطح سرمی HDL در گروه های تجربی هیپرلیپیدمیک در مقایسه با گروه کنترل هیپرلیپیدمیک می گردد. بنابراین، عصاره هیدرومتانلی دانه شنبلیله دارای خاصیت کاهنده چربی سرم است و با بهبود پروفایل لیپیدی سرم موجب کاهش بیان رسپتور فعال کننده تکثیر پراکسیزوم‌ها می‌گردد.

کلیدواژه‌ها: دانه شنبلیله، هیپرلیپیدمیا، بیان ژن رسپتور فعال کننده تکثیر پراکسیزومی - گاما، موش صحرایی.

مقدمه

هیپرلیپیدمیا در گسترش آترواسکلروز دخالت داشته که ارتباط قوی با بیماری ایسکمی قلب دارد [۱]. بیماری‌های قلبی-عروقی از عوامل مرگ و میر در سرتاسر جهان هستند. بنابراین، درمان هیپرلیپیدمیا نقش حیاتی در مدیریت بیماری‌های قلبی - عروقی دارد. لیپیدها وظایف متضادی دارند و واحدهای سازنده ضروری سلول‌های بدن هستند [۲]. هیپرلیپیدمیا موقعیتی است که لیپید و لیپوپروتئین‌های پلاسما افزایش می‌یابند که شامل کلسترول، تری گلیسریدها، فسفولیپیدها و استرهای کلسترول می‌باشند. از سوی دیگر، در هیپرلیپیدمیا میزان لیپوپروتئین با چگالی بسیار پایین (VLDL) و لیپوپروتین چگالی پایین (LDL) افزایش و لیپوپروتئین چگالی بالا (HDL) کاهش می‌یابند [۳]. هیپرلیپیدمیا با تغییر بیان ژن‌های متعددی مانند *SREBP-1c*، *FAS*،*SCD*، *ACLY*، *ACC*، *LXRα* و *PPAR* همراه است [۴].

رسپتورهای فعال کننده تکثیر پراکسیزومی (*PPARs*) فاکتورهای رونویسی فعال شده توسط لیگاند هستند که ژن‌های مهم در تمایز سلولی و فرآیندهای متابولیکی مختلف بویژه هومئوستازی لیپید و قند را تنظیم می‌کنند. آنها متعلق به سوپرفامیلی رسپتورهای استروئیدی و شامل سه ایزوفرم *PPARα*، *PPARβ/δ* و *PPARγ* هستند. *PPARγ* در بافت چربی سفید و قهوه‌ای، روده بزرگ و طحال بیان می شود، هرچند بیشترین بیان را در آدیپوسیت‌ها داشته و یک نقش کلیدی در تنظیم آدیپوژنز، تعادل انرژی و بیوسنتز لیپید دارد. این رسپتور در متابولیسم لیپوپروتئین و حساسیت به انسولین شرکت دارد [۵].

روش‌های درمانی بسیاری برای هیپرلیپیدمیا وجود دارند. استاتین‌ها آنزیم ۳- هیدروکسی - ۳ - متیل گلوتاریل کوآنزیم A ردوکتاز بیوسنتز کلسترول در بدن را کنترل می کند. از این رو، تری گلیسریدها و LDL را کاهش و اندکی سطح HDL را افزایش می‌دهند. استاتین‌ها اثرات جانبی متعددی دارند، از جمله آسیب کبدی، دیابت قندی نوع ۲ و درد عضلانی [۳].

در اوایل قرن بیستم به علت توسعه داروهای شیمیایی، نقش گیاهان به عنوان درمانگرهای شفابخش تا حدی کم‌رنگ‌تر شد، ولی امروزه توجه زیادی به گیاهان دارویی و پرورش و شناسایی مکانیسم مولکولی اثر آنها شده است.

شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum*) از گیاهان علفی یک‌ساله و جزء خانواده بقولات (Leguminosae) طبقه‌بندی می‌شود. دانه این گیاه به فراوانی در تهیه مواد غذایی به عنوان طعم‌دهنده و معطر کننده استفاده می‌شود [۶]. در مطالعات بالینی گزارش شده است که این گیاه حاوی گلوکز و میزان چربی پایین است و پروتئین‌ها، ساپونین‌ها و فلاونوئیدها از اجزای اصلی آن هستند. دانه شنبلیله دارای ۶۰-۴۵ درصد کربوهیدرات (گالاکتومان)، ۳۰-۲۰ درصد پروتئین غنی از تریپتوفان و لیزین، ۱۰-۵ درصد لیپید، آلکالوئیدهای پیریدین اساسا کولین (۰/۵ درصد)، ترگونلین (۰/۳-۰/۲ درصد)، جنتیانین و کارپاین، فلاونوئیدهای آپی‌ژنین، اورینتین، لوتئین، کوئرستین، ویتکسین و ایزوویتکسین، اسیدهای آمینه آزاد مانند ۴-هیدروکسی ایزولوسین (۰/۰۹ درصد)، آرژینین، لیزین و هیستیدین، ساپونین (۱/۷-۰/۶ درصد)، گلیکوزیدهای محصول هیدرولیز ساپونین‌های استروئیدی (دیوسژنین، یاموژنین، تریگوژنین، نئوتیگوژنین)، کلسترول و سیتوسترول، ویتامین‌های B، A، C و اسید نیکوتینیک و ۰/۰۱۵ درصد روغن‌های فرار (n-آلکان‌ها و سسکوییترپن‌ها) می‌باشد [۸،۷]. دانه گیاه دارای اثرات درمانی بسیاری است که شامل تحریک کننده اشتها، پایین آورنده قند و کلسترول خون، شیرزا، ضدنقرس، آنتی اکسیدان، ضدشوره سر و ضد التهاب، ضدسنگ ادراری و ادرارآور است [۱۰،۹].

با توجه به کاربرد درمانی وسیع گیاه شنبلیله، این مطالعه حاضر برای شناسایی اثر هیپولیپیدمیک عصاره هیدرومتانلی دانه شنبلیله با تکیه بر پروفایل لیپیدهای سرم، آسیب کبدی و تغییر بیان *PPAR* در بافت چربی موش‌های صحرایی بالغ نر هیپرلیپیدمیک انجام شد.

مواد و روش‌ها

حیوانات

در پژوهش حاضر، ۳۶ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد Wistar با محدوده وزنی ۲۰۰-۱۶۰ گرم از انستیتو پاستور تهران خریداری و در حیوانخانه دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین - پیشوا در شرایط دمای ۲±۲۲ سانتی گراد، دسترسی آزاد به آب و غذای کافی، سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی /۱۲ ساعت تاریکی

نگهداری شدند. حیوانات هر هفته در طول مدت آزمایش توزین شدند.

مواد شیمیایی

دانه شنبلیله (fenugreek) از منطقه ورامین تهیه شده و مورد تایید تاگزونومیکی در هرباریوم دانشگاه ازاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات قرار گرفت. دانه‌ها آسیاب شده و با متانل ۸۰ درصد به مدت ۷۲ ساعت مخلوط و در محل تاریک نگهداری و چند بار در روز هم‌زده شد. سپس مخلوط حاصل توسط کاغذ صافی صاف شد و حلال تحت دما و فشار توسط دستگاه روتاری جدا شد و غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن تهیه شد.

گروه‌های تجربی

حیوانات به طور تصادفی در شش گروه دسته‌بندی شدند:

گروه ۱، کنترل سالم هیچ تیماری دریافت نکردند (n=6).

گروه ۲، کنترل هیپرلیپیدمیک غذای حاوی ۱۰ درصد چربی [۱۱] و روزانه ۰/۵ سی سی آب مقطر به عنوان حلال عصاره را بصورت گاواژ دریافت کردند (n=6).

گروه ۳ یا کنترل مثبت، علاوه بر غذای ۱۰ درصد چربی، روزانه آتورواستاتین را در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن [۱۱] بصورت گاواژ دریافت کردند (n=6).

گروه‌های تجربی (۴، ۵ و ۶)، علاوه بر غذای حاوی ۱۰ درصد چربی، عصاره هیدرومتانلی دانه شنبلیله را در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بصورت گاواژ دریافت کردند (n=6).

نمونه‌گیری

بعد از هشت هفته، حیوانات به مدت ۱۲ ساعت ناشتا شده و سپس توزین و توسط اتر بیهوش شدند. خون‌گیری از قلب حیوان انجام شد و سرم به روش سانتریوفیوژ جدا شد. سپس، کبد جدا و توزین و برای محاسبه ضریب کبدی، وزن کبد بر وزن بدن هر حیوان تقسیم شد [۱۱]. همچنین از بافت چربی شکم به منظور بررسی مولکولی نمونه‌برداری شد و در RNA-later قرار گرفته و به آزمایشگاه منتقل شده و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

پارامترهای بیوشیمیایی

غلظت سرمی کلسترول، تری گلیسرید، لیپوپروتئین با چگالی پایین (LDL)، لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) به روش آنزیمی و با استفاده کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری شدند (روش آنزیمی و دستگاه اتوماتیک مدل COBAS MIRA).

Real-time PCR

ابتدا ۵۰ میلی‌گرم بافت چربی، توسط تیغ اسکالپل جدا شده و RNA آن توسط ترایزول جداسازی و توسط دستگاه نانودراپ (Biotek) از خلوص آن اطمینان حاصل شد. پس از سنتز cDNA (کیت Takara)، به منظور بررسی کمی بیان ژن‌های *PPAR* و ژن خانه‌دار *GAPDH* از نرم‌افزار Gene Runner برای طراحی پرایمرها استفاده شد (جدول ۱).

در تحقیق حاضر جهت بررسی میزان نسبی بیان ژن *PPAR* و *GAPDH* از تکنیک real time PCR SYBR Green استفاده گردید. برنامه دمایی و زمانی مورد استفاده در جدول ۲ نشان داده شده است.

آنالیز آماری

به منظور آنالیز داده های بیانی ژن‌های هدف و مرجع در مورد نمونه‌های موردنظر، CT هر نمونه از CT ژن مرجع کم شد و شاخص ΔCT در نمونه های کنترل و تست بدست آمد. از تفاضل دو ΔCT، $\Delta\Delta CT$ محاسبه شد. نسبت تغییرات بیانی (Fold change) بین دو نمونه تست و کنترل با استفاده از رابطه $2^{-\Delta\Delta CT}$ تعیین شد. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و تست تعقیبی توکی و با نرم‌افزار SPSS 21 از نظر آماری بررسی گردید. همه‌ی داده‌ها به صورت Mean ± SD ارائه شدند. مرز استنتاج آماری $p< 0.05$ بود. نمودارها توسط برنامه Excel رسم شدند.

جدول ۱ - سکانس پرایمرهای *PPAR* و *GAPDH*.

Gene	primer 3'	primer 5'	Annealing temperature (°C)	Size of Product (bp)	Accession No
PPAR	TGTCATCTTCTGGAGCACCTTG	ATCGAGGACATCCAAGACAACC	62	105	NM_013124.3
GAPDH	GGTCGTTGATGGCAACAATG	GAGACAGCCGCATCTTCTTG	62	109	NM_017008.4

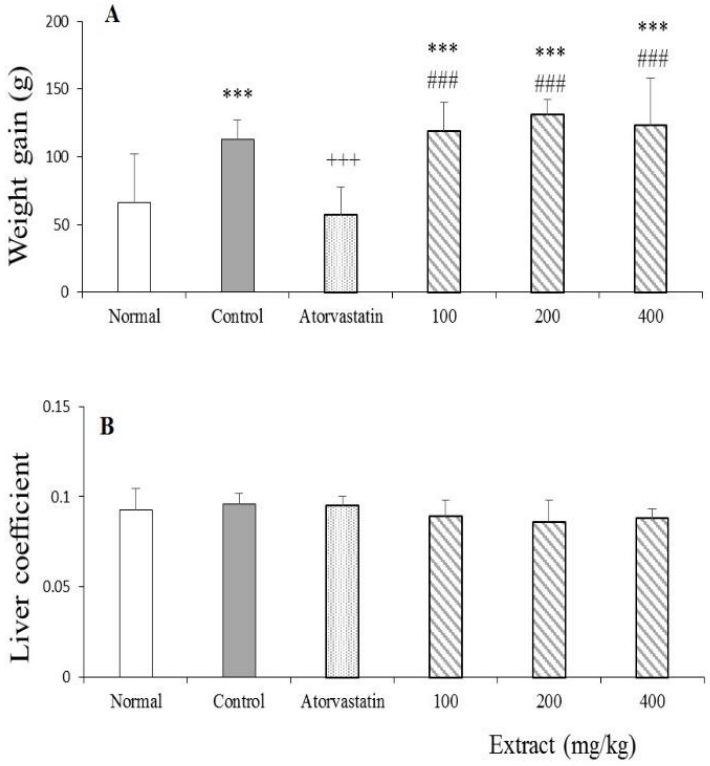
جدول ۲ - برنامه زمانی و دمایی واکنش PCR real time جهت بررسی بیان ژن.

مرحله	مدت زمان	درجه حرارت	انجام واکنش	سیکل
۱	۱۵ دقیقه	۹۵	واسرشته شدن ابتدایی	۱
۲	۳۰ثانیه	۹۵	واسرشته شدن	
	۶۰ ثانیه	۶۰	اتصال	۴۰
	۶۰ ثانیه	۶۰	تکثیر	
۳	۶۰ دقیقه	۹۵	تکثیر نهایی	۱

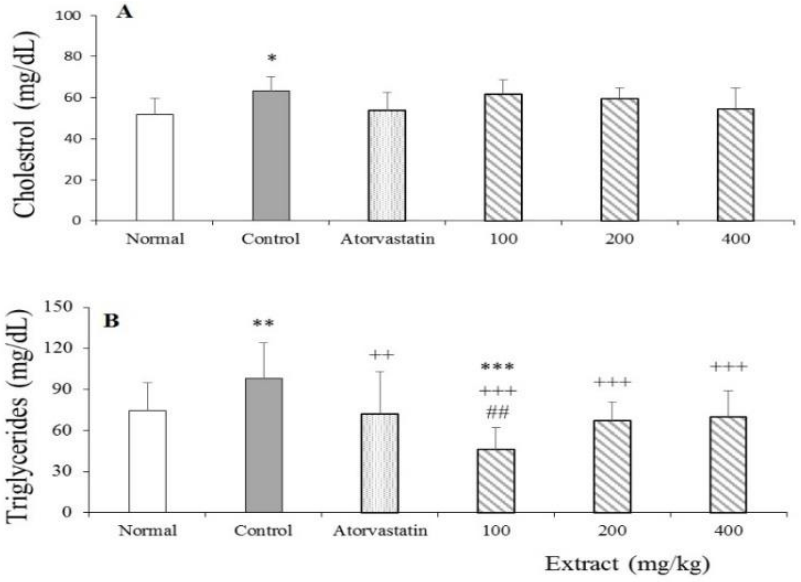
نتایج

نتایج تحقیق حاضر نشان داد تیمار خوراکی رژیم غذایی پرچرب (۱۰%) به مدت ۸ هفته موجب افزایش معنی‌دار وزن بدن در گروه کنترل هیپرلیپیدمیک (Control) در مقایسه با گروه سالم (Normal) می‌شود ($p<0.001$). تیمار خوراکی روزانه آتورواستاتین در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موجب کاهش معنی‌دار وزن بدن در مقایسه با گروه کنترل هیپرلیپیدمیک می‌شود ($p<0.001$). تیمار خوراکی عصاره هیدرومتانلی دانه شنبلیله در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تاثیری معنی‌داری بر کاهش وزن بدن در مقایسه با گروه کنترل ندارد ($p<0.001$). بنابراین، آتورواستاتین اثر قوی‌تری نسبت به عصاره دانه شنبلیله در کاهش وزن دارد ($p<0.001$) (نمودار ۱A). از طرف دیگر، تیمار خوراکی رژیم غذایی پرچرب به مدت ۸ هفته تغییر معنی‌داری در ضریب کبدی در گروه کنترل هیپرلیپیدمیک در مقایسه با گروه سالم ایجاد نکرد و تیمار خوراکی روزانه آتورواستاتین و عصاره هیدرومتانلی دانه شنبلیله نیز موجب تاثیر معنی‌داری در ضریب کبدی نشد (نمودار ۱B).

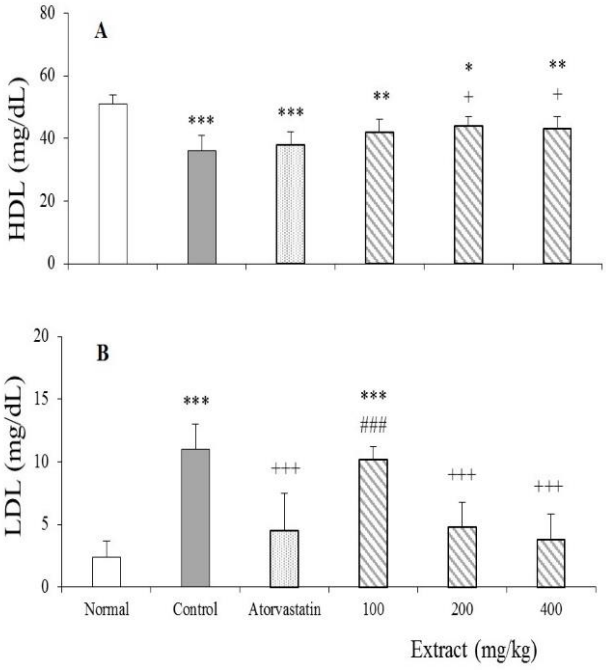
تیمار خوراکی رژیم غذایی پرچرب به مدت ۸ هفته موجب افزایش معنی‌دار کلسترول (نمودار ۲A) و تری‌گلیسرید (نمودار ۲B) در گروه کنترل هیپرلیپیدمیک در مقایسه با گروه سالم می‌شود (به‌ترتیب $p<0.05$، $p<0.01$). تیمار آتورواستاتین و عصاره شنبلیله تاثیر معنی‌داری بر کلسترول سرم در مقایسه با گروه کنترل نداشت، در حالی‌که هر دو موجب کاهش معنی‌دار سطح تری‌گلیسرید سرم شدند (به‌ترتیب $p<0.001$، $p<0.01$). غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره تاثیر معنی‌دارتری نسبت به آتورواستاتین نشان داد ($p<0.01$). تیمار خوراکی رژیم غذایی پرچرب به مدت ۸ هفته موجب کاهش معنی‌دار HDL و افزایش LDL سرم در گروه کنترل هیپرلیپیدمیک در مقایسه با گروه سالم می‌شود ($p<0.001$). تیمار خوراکی آتورواستاتین و عصاره موجب افزایش معنی‌دار HDL و کاهش معنی‌دار LDL سرم در مقایسه با گروه کنترل می‌گردد (به‌ترتیب $p<0.05$ و $p<0.001$). اثربخشی گیاه شنبلیله بیشتر از داروی آتورواستاتین بود (نمودار ۳). نتایج تحقیق حاضر نشان داد تیمار خوراکی رژیم غذایی پرچرب به مدت ۸ هفته موجب افزایش غیرمعنی‌دار AST سرم در گروه کنترل هیپرلیپیدمیک در مقایسه با گروه سالم شد. تیمار خوراکی روزانه آتورواستاتین و عصاره شنبلیله تاثیر معنی‌داری بر سطح AST سرم ایجاد نکرد (نمودار ۴A). از طرف دیگر، رژیم غذایی پرچرب موجب افزایش معنی‌دار ALT سرم در گروه کنترل هیپرلیپیدمیک در مقایسه با گروه سالم شد ($p<0.01$) و عصاره شنبلیله موجب کاهش معنی‌دار سطح ALT سرم در مقایسه با گروه کنترل گردید (نمودار ۴B). همچنین، تیمار غذای پرچرب به مدت ۸ هفته موجب ۲ برابر بیان *PPARγ* در بافت چربی گروه کنترل هیپرلیپیدمیک در مقایسه با گروه سالم شد و تیمار خوراکی آتورواستاتین (۳ برابر) و عصاره شنبلیله (۷ برابر) موجب کاهش بیان *PPARγ* در بافت چربی حیوانات هیپرلیپیدمیک تیمار شده در مقایسه با گروه کنترل هیپرلیپیدمیک شد. تیمار عصاره گیاه اثر قوی‌تری نسبت به آتورواستاتین در کاهش بیان *PPARγ* در بافت چربی داشت (نمودار ۵).



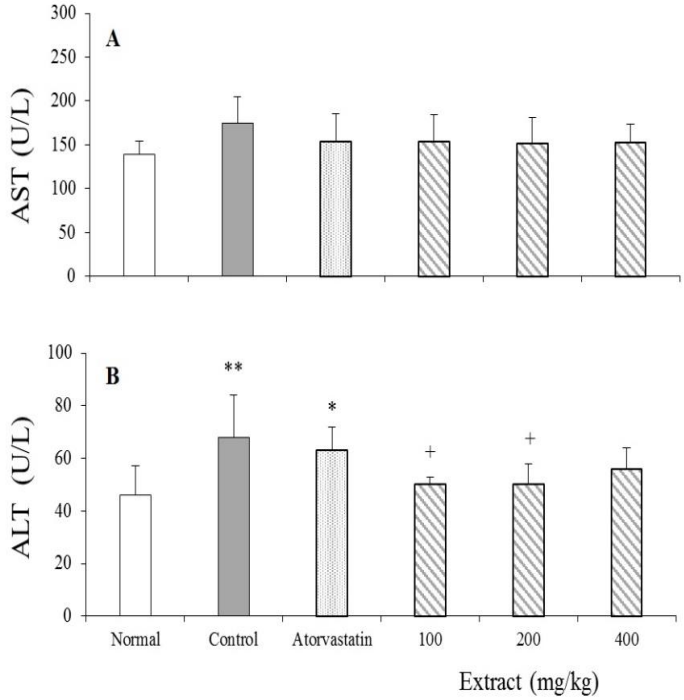
نمودار ۱ - اثر تیمار خوراکی روزانه عصاره هیدرومتانلی دانه شنبلیله و آتورواستاتین در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۸ هفته بر افزایش وزن (A) و ضریب کبدی (B) در موش‌های صحرایی هیپرلیپیدمیک. هر ستون Mean ± SEM را نشان می‌دهد. ***p<0.001 اختلاف از گروه سالم (Normal)، +++p<0.001 اختلاف از گروه کنترل هیپرلیپیدمیک (Control) و ###p<0.001 اختلاف از گروه آتورواستاتین را نشان می‌دهند.



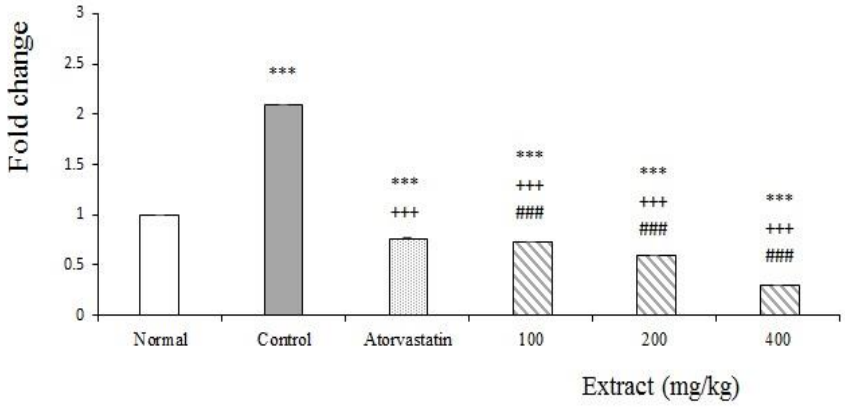
نمودار ۲ - اثر تیمار خوراکی روزانه عصاره هیدرومتانلی دانه شنبلیله و آتورواستاتین در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۸ هفته بر سطح کلسترول (A) و تری‌گلیسرید سرم (B) در موش‌های صحرایی هیپرلیپیدمیک. هر ستون Mean ± SEM را نشان می‌دهد. **p<0.01, ***p<0.001 اختلاف از گروه سالم، ++p<0.01, +++p<0.001 اختلاف از گروه کنترل و ##p<0.01 اختلاف از گروه آتورواستاتین را نشان می‌دهند.



نمودار ۳ - اثر تیمار خوراکی روزانه عصاره هیدرومتانلی دانه شنبلیله و آتورواستاتین بر سطح HDL (A) و LDL (B) سرم در موش‌های صحرایی هیپرلیپیدمیک. هر ستون Mean ± SEM را نشان می‌دهد. ***p<0.001, **p<0.01, *p<0.05 اختلاف از گروه سالم، +++p<0.001, ++p<0.01, +p<0.05 اختلاف از گروه کنترل و ###p<0.001 اختلاف از گروه آتورواستاتین را نشان می‌دهند



نمودار ۴ - اثر تیمار خوراکی روزانه عصاره هیدرومتانلی دانه شنبلیله و آتورواستاتین در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۸ هفته بر سطح AST (A) و ALT (B) سرم در موش‌های صحرایی هیپرلیپیدمیک. هر ستون Mean ± SEM را نشان می‌دهد. **p<0.01, *p<0.05 اختلاف از گروه سالم و +p<0.05 اختلاف از گروه کنترل را نشان می‌دهند.



نمودار ۵ - اثر تیمار خوراکی روزانه عصاره هیدرومتانلی دانه شنبلیله و آتورواستاتین در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۸ هفته بر تغییر بیان *PPAR* در بافت چربی موش‌های صحرایی هیپرلیپیدمیک. هر ستون Mean ± SEM را نشان می‌دهد. 0.001>p*** اختلاف از گروه سالم (Normal)، 0.001>p+++ اختلاف از گروه کنترل (Control)، 0.001>p### اختلاف از گروه آتورواستاتین را نشان می‌دهد.

بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد تیمار خوراکی روزانه عصاره هیدرومتانلی دانه شنبلیله و آتورواستاتین موجب کاهش معنی‌دار سطوح کلسترول، تری‌گلیسرید، LDL سرم و بیان *PPARγ* در بافت چربی و افزایش معنی‌دار سطح HDL سرم در موش‌های صحرایی هیپرلیپیدمیک تیمار شده در مقایسه با گروه کنترل هیپرلیپیدمیک می‌گردد. احتمال می رود بهبود پروفایل لیپیدی در حیوانات هیپرلیپیدمیک تیمار شده موجب کاهش بیان ژن *PPARγ* در بافت چربی می‌گردد.

در توافق با تحقیق حاضر، Roughani و همکاران (۲۰۰۵) اثر هیپولیپیدمیک عصاره آبی دانه شنبلیله را در موش‌های صحرایی نر بررسی کردند. نتایج نشان داد تیمار عصاره تغییر معنی‌داری در سطح کلسترول و تری‌گلیسرید سرم ایجاد نکرد، ولی موجب کاهش معنی‌دار LDL و افزایش معنی‌دار HDL در موش‌های صحرایی دیابتی شد [۱۲].

همچنین، Roohbakhsh و همکاران (۲۰۲۱) اثر تمرین دوره‌ای همراه با مصرف عصاره دانه شنبلیله را بر بیان ژن‌های FGF-21 و VEGF در بیماران مرد میانسال مبتلا به بیماری شریان کورونر بررسی کردند. نتایج تحقیق نشان داد میانگین نسبت بیان ژن‌های *FGF-21* و *VEGF* در گروه‌های فقط تمرین، فقط شنبلیله و تمرین+ شنبلیله به طور قابل توجهی بالاتر از گروه کنترل بود و گروه تمرین + شنبلیله از نظر آماری افزایش معنی‌دار بیشتری نسبت به گروه‌های فقط تمرین و فقط شنبلیله داشت. بنابراین پیشنهاد کردند ورزش بهمراه مصرف شنبلیله می‌تواند اثرات مفیدی در مسیر آنژیوژنز در بیماران با انسداد شریان کورونر داشته باشد [۱۳].

Yousefi و همکاران (۲۰۱۵) اثر مصرف پودر دانه شنبلیله را در ۲۹ بیمار با چربی خون بالا بررسی کردند. نتایج نشان داد مصرف شنبلیله موجب کاهش قند خون ناشتا، کلسترول تام، تری‌گلیسرید و LDL در این بیماران شد، ولی میزان HDL و شاخص توده بدن در این بیماران تغییر نکرد [۱۴].

Muraki و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند دانه شنبلیله تری‌گلیسرید کبدی و سطوح کلسترول تام را کاهش داده و بصورت وابسته به دوز دفع کلسترول و اسیدهای صفراوی را بداخل مدفوع زیاد می‌کند [۱۵].

Kassaee و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند دانه شنبلیله موجب کاهش موثر تری‌گلیسرید، کلسترول تام، LDL، VLDL، آسپارتات و آلانین ترانسفراز و افزایش موثر سطح HDL سرم و افزایش ۷/۸ برابر بیان ژن *LDLR* در گروه تیمار شده در مقایسه با گروه کنترل شد و نتیجه گرفتند دانه شنبلیله با تنظیم افزایشی بیان ژن *LDLR* می‌تواند علیه هیپرکلسترولمیا

مفید باشد [۱۶].

Mohammad-Sadeghipour و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند ترکیبات موثره دانه شنبلیله پس از ۲۴ ساعت تیمار موجب تنظیم کاهشی موثر بیان ژن‌های *ACC* و *FAS* و تنظیم افزایشی موثر ژن‌های *PPARγ* و *LDLR* در سلول‌های SW480 گردد [۱۷].

Vijayakumar و همکاران (۲۰۱۰) اثر هیپولیپیدمیک دانه شنبلیله را با بررسی انباشته شدن چربی در سلول‌های 3T3-L1 با واسطه تغییر بیان فاکتورهای آدیپوژنیک مانند *PPARγ*، *SREBP-1* و رسپتور LDL مطالعه کردند. غلظت سلولی کلسترول و تری‌گلیسرید بدنبال تیمار گیاه بطور موثری در سلول‌های HepG2 کاهش یافت که از طریق کاهش بیان *SREBP-1* در هر دو سطح mRNA و پروتئین بود. همچنین، تیمار دانه شنبلیله موجب تنظیم افزایشی رسپتور LDL و بدنبال آن جذب بیشتر LDL شد [۱۸].

Ibarra و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند عصاره دانه شنبلیله با مهار اکسیداسیون LDL از طریق *PPARα* شانس حملات قلبی را کاهش می‌دهد [۱۹].

Ilavenil و همکاران (۲۰۱۴) مکانیسم مولکولی تریگونلین که آلکالوئید مهم دانه شنبلیله است را بر مهار تمایز آدیپوسیت و انباشته شدن لیپید در سلول‌های 3T3-L1 بررسی کردند. تریگونلین انباشته شدن قطرات لیپید را متوقف می‌کند. تیمار آدیپوسیت‌ها با تریگونلین موجب تنظیم کاهشی بیان mRNA ژن‌های *PPARγ* و *C/EBP-* می گردد. تریگونلین توسط تاثیر بر *PPAR* آدیپوژنز را مهار می‌کند [۲۰].

Zayed و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند روغن دانه شنبلیله و متفورمین موجب کاهش افزایش وزن، گلوکز، انسولین و اصلاح هیپرلیپیدمیا ناشی از سندرم متابولیک می‌گردد. تیمار آنها بیان پروتئین *GLUT-4* و *PPARγ* را نیز افزایش می‌دهد [۲۱].

با توجه به تحقیقات انجام شده اثر هیپولیپیدمیک عصاره دانه شنبلیله می‌تواند بدلایل زیر باشد: مقدار زیاد فیبر در دانه شنبلیله که جذب لیپیدها را بوسیله روده کوچک کاهش می‌دهد [۲۲]، ساپونین‌های استروئیدی موجود در عصاره گیاه جذب کلسترول را کاهش داده و تولید آن را در کبد با کاهش فعالیت آنزیم‌های سنتز کننده کلسترول مانند b-hydroxy b-methylglutaryl CoA آهسته می‌کند [۲۳]، 4-hydroxy isoleucine موجود در عصاره دانه شنبلیله روی سلول‌های کبدی و آدیپوسیت‌ها اثر کرده و سنتز تری‌گلیسرید و کلسترول را در آنها کاهش داده و جذب LDL با واسطه رسپتور LDL را بالا می‌برد، فعالیت لسیتین کلسترول آسیل ترانسفراز را افزایش داده و از این رو میزان HDL را بالا برده و جذب کلسترول توسط کبد را زیاد می‌کند [۱۸].

نتایج تحقیق حاضر نشان داد عصاره دانه شنبلیله موجب بهبود پروفایل لیپیدی و آنزیم های کبدی در سرم، کاهش وزن و تنظیم کاهشی بیان *PPARγ* در بافت چربی حیوانات هیپرلیپیدمیک تیمارشده می‌گردد که احتمالااین کاهش نتیجه اصلاح وضعیت لیپیدهای سرم و بهبود عملکرد کبد در حیوانات هیپرلیپیدمیک تیمار شده می باشد. اثر عصاره دانه شنبلیله قوی تر از داروی آتورواستاتین بوده و با توجه به اثرات جانبی این دارو در بیماران استفاده از دانه شنبلیله برای درمان هیپرلیپیدمیا پیشنهاد می‌گردد.

تقدیر و تشکر

از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین - پیشوا قدردانی می گردد.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله اعلام می دارند که در این مطالعه هیچگونه تعارض منافع وجود ندارد.

منابع

[1] Altmann SW, Davis HR Jr, Zhu LJ, Yao X, Hoos LM, Tetzloff G, Iyer SP, Maguire M, Golovko A, Zeng M, Wang L, Murgolo N, Graziano MP. Niemann-pick C1 like 1 protein is critical for intestinal cholesterol absorption. Science, 2004; 303(5661): 1201-1204.

[2] Brouwers MC, van Greevenbroek MM, Stehouwer CD, de Graaf J, Stalenhoef AF. The genetics of familial combined hyperlipidaemia. Nat Rev Endocrinol, 2012; 8(6): 352-362.

[3] Ezeh KJ, Ezeudemba O. Hyperlipidemia: A review of the novel methods for the management of lipids. Cureus, 2021; 13(7): e16412.

[4] Tien N, Wu TY, Lin CL, Wu CJ, Hsu CY, Fang YJ, Lim YP. Impact of inflammatory bowel disease (IBD) and IBD medications on risk of hyperlipidemia and in vitro hepatic lipogenic-related gene expression: A population-based cohort study. Front Med, 2022; 9: 910623.

[5] Rogue A, Lambert C, Jossé R, Antherieu S, Spire C, Claude N, Guillouzo A. Comparative gene expression profiles induced by PPARγ and PPARα/γ agonists in human hepatocytes. PLoS One, 2011; 6(4): e18816-10.

[6] Acharya S, Srichamroen A, Basu S, Ooraikul B, Basu T. Improvement in the nutraceutical properties of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). Songklanakarin. J Sci Technol, 2006; 28(1-9): 1-9.

[7] Kumar D, Singhal A, Bansal S, Gupta SK. Extraction, islolation and evaluation *Trigonella foenum-graecum* as mucoadhesive agent for nasal gel drug delivery. J NPA, 2014; 27(1): 1-7.

[8] Verma S, Bansal J, Kumar N, Malviya R, Sharma PK. Isolation and characterization studies of mucilage obtained from *Trigonella foenum-graecum* L. seed and *Tamarindus indica* polysaccharide as a pharmaceutical excipient. J Drug Delivery & Therapy, 2014; 4(3): 106-109.

[9] Wani SA, Kumar P. Fenugreek: A review on its nutraceutical properties and utilization in various food products. J Saudi Soc Agric Sci, 2018; 17(2): 97-106.

[10] Yadav R, Kaushik R, Gupta D. The health benefits of *Trigonella foenum-graecum*: a review. Int J Eng Res Appl, 2011; 1(1): 32-35.

[11] Reddy GD, Reddy AG, Rao GS, Kumar MV. Pharmacokinetic interaction of garlic and atorvastatin in dyslipidemic rats. Indian J Pharmacol, 2012; 44(2): 246-252.

[12] Roughani M, Baluchnejadmojarad T, Roghani Dehlordi F. Hypolipidemic effect of aqueous leaf extract of *Trigonella foenum-graecum* in diabetic rats. Iranian J Endocrinol Metab, 2005; 7(2): 167-171.

[13] Roohbakhsh E, Barari AR, Abbaszadeh H. The effect of interval training and consuming fenugreek seed extract on Fgf21 and Vegf gene expression in patients with coronary artery diseases. Ofogh-E-Danesh, 2021; 27(2): 130-146.

[14] Yousefi E, Zavoshy R, Noroozi M, Jahani Hashemi H, Zareiy S, Alizadeh K, Ziari K. Effect of oral administration of fenugreek seeds powdered on lipid profile. Ebnesina, 2015; 17(1): 33-38.

[15] Muraki E, Hayashi Y, Chiba H, Tsunoda N, Kasono K. Dose-dependent effects, safety and tolerability of fenugreek in diet-induced metabolic disorders in rats. Lipids Health Dis, 2011; 10: 240.

[16] Kassaee SM, Goodarzi MT, Kassaee SN. Ameliorative effect of *Trigonella foenum-graecum* L. on lipid profile, liver histology and LDL-receptor gene expression in high cholesterol-fed hamsters. Acta Endocrinol (Buc), 2021; 17(1): 7-13.

[17] Mohammad-Sadeghipour M, Mahmoodi M, Noroozi Karimabad M, Mirzaei MR, Hajizadeh MR. Diosgenin and 4-hydroxyisoleucine from fenugreek are regulators of genes involved in lipid metabolism in the human colorectal cancer cell line SW480. Cell J, 2021; 22(4): 514-522.

[18] Vijayakumar MV, Pandey V, Mishra GC, Bhat MK. Hypolipidemic effect of fenugreek seeds is mediated through inhibition of fat accumulation and upregulation of LDL receptor. Obesity, 2010; 18(4): 667-674.

[19] Ibarra A, He K, Bai N, Bily A, Roller M, Coussaert A, Provost N, Ripoll C. Fenugreek extract rich in 4-hydroxyisoleucine and trigonelline activates PPARα and inhibits LDL oxidation: Key mechanisms in controlling the metabolic syndrome. Nat Prod Commun, 2008; 3(9): 1509-1513.

[20] Ilavenil S, Arasu MV, Lee JC, Kim DH, Roh SG, Park HS, Choi GJ, Mayakrishnan V, Choi KC. Trigonelline attenuates the adipocyte differentiation and lipid accumulation in 3T3-L1 cells. Phytomedicine, 2014; 21(5): 758-765.

[21] Zayed EA, Ainshoka AA, El-Shazly KA, El-Mosallamy AEMK, Zayed AA, El-Latif HAA. Fenugreek oil and metformin improve insulin resistance via increase of GLUT4 and PPARγ in metabolic syndrome-induced rats. Asian J Res Reports Endocrinol, 2021; 4(1): 29-30.

[22] Roberts KT. The potential of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) as a functional food and nutraceutical and its effects on glycemia and lipidemia. J Med Food, 2011; 14(12): 1485e1489.

[23] Abedinzade M, Nasri S, Omidi MJ, Porramezan B, Khanaki K. The effect of

fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seed and 17-bestradiol on serum apelin, glucose, lipids and insulin in ovariectomized rats. Biotech Health Sci, 2015; 2(3): e30402.

Hypolipidemic effect of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) on serum lipid profile and *PPARγ* gene expression in adipose tissue of hyperlipidemic male rats

Eidi M.[1*], Mohseni M.[2]

[1] Department of Biology, Biological Sciences College, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin-Pishva, Iran

* (Corresponding author): maryameidi@gmail.com

DOI: 10.30495/jdb.2022.1964609.1325 https://dorl.net/dor/20.1001.1.2008692.1402.15.3.5.7

Received: July 2022 Accepted: November.2022

Abstract

Hyperlipidemia is one of the most important risk factors of cardiovascular disease. The aim of present study was to evaluate the effect of hydro-methanolic extract of fenugreek on the serum lipids and PPARγ gene expression in the adipose tissue of hyperlipidemic rats. Thirty-six adult male rats randomly were divided into 6 groups including normal group, control hyperlipidemic group (received 10% lipid in food), positive control hyperlipidemic rats (received atorvastatin at dose of 10 mg/kg, daily) and experimental hyperlipidemic rats (received extract at doses 100, 200 and 400 mg/kg, daily). After 8 weeks and 12 h fastening, the animals were weighted and anesthetized by ether. The liver was removed and weighted. The blood and adipose tissue sampling were done. The weight gain, liver index, serum cholesterol, triglyceride, LDL, HDL, AST and ALT levels were measured by kit and *PPARγ* gene expression in the adipose tissue was evaluated by real-time PCR. The results showed that oral treatment of atorvastatin and extract of fenugreek decreased weight gain, serum cholesterol, triglyceride, LDL, AST and ALT levels and *PPARγ* gene expression in adipose tissue, while increased serum HDL level in experimental hyperlipidemic rats compared to control hyperlipidemic rats, significantly. So, the extract of fenugreek improved lipid profile and then down-regulated *PPARγ* gene expression in adipose tissue.

Keywords: Fenugreek, Hyperlipidemia, *PPARγ* gene expression, Rats.