Evaluation of the effect of interleukin-1 receptor associated kinase (IRAK) inhibitor on *PPAR.γ* and *GLUT.4* genes expression in muscle tissueof insulin resistant mice

Beydolah Shahouzehi [1], Saeedeh Moinaldini [2], Mostafa Allahyari [3], Hossein Fallah [4]

1. Assistant Professor, Physiology Research Center, Institute of Basic and Clinical Physiology Sciences, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran, ORCID ID: 0000-0002-8758-6686
2. Department of Clinical Biochemistry, Afzalipour School of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran ORCID ID:0000-0003-4800-7247
3. Department of Biochemistry, Biophysics, Genetics and Nutrition, School of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran, ORCID ID: 0000-0002-1569-5015
4. Associate Professor, Department of Clinical Biochemistry, Afzalipou School of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran, , (Corresponding Author), Tel:03433257448. Email: hf59ma@gmail.com, ORCID ID: 0000-0001-6196-0775

ABSTRACT

Background and Aim: Diabetes mellitus is a metabolic disorder with an increasing prevalence in the world. Obesity plays a pivotal role in increasing the risk of diabetes, metabolic syndrome, hypertension and cardiovascular diseases. Obesity dependent mild-inflammation leads to an imbalance in the secretion of adipokines and thereby reduces insulin sensitivity. The TLR family plays an important role in these inflammatory pathways, and therefore inhibition of IRAK, as a key mediator of the pathway, plays a role in inhibiting inflammation and insulin resistance. In this study we investigated the effect of this inhibitor on the expression levels of PPAR-γ and GLUT.4, which are involved in insulin sensitivity.

Materials and Methods: In this study, male C57BL/6J mice were used for induction of insulin resistance. Mice were divided into 6 groups including standard diet, high fat diet, high fat diet + solvent, high fat diet + pioglitazone, high fat diet + IRAK inhibitor and high fat diet + combination of pioglitazone-IRAK inhibitor. At the end of the study, the mice were killed and expression levels of GLUT4 and TPPAR-γ in muscle tissue of the mice were measured by Real Time PCR**.**

Results: This study showed that pioglitazone, IRAK inhibitor, and the combination of IRAK inhibitor- Pioglitazone increased PPAR-γ expression in muscle tissue, but IRAK inhibitor unlike pioglitazone had no effect on GLUT.4 expression**.**

Conclusion: The results of this study suggested that insulin sensitizing effects of IRAK inhibitor may be induced by increasing PPAR-γ expression level**.**

Keywords: Diabetes mellitus, Insulin resistance, IRAK inhibitor, GLUT4, PPAR-γ, Pioglitazone

Received: Oct 26, 2021 **Accepted:** Dec 21, 2021

How to cite the article: Beydolah Shahouzehi, Saeedeh Moinaldini, Mostafa Allahyari, Hossein Fallah. Evaluation of the effect of interleukin-1 receptor associated kinase (IRAK) inhibitor on *PPAR.γ* and *GLUT.4* genes expression in insulin resistant muscle tissue of mice.ŚJKU 2023;28(2):1-11.

Copyright © 2018 the Author (s). Published by Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-05]

[DOI: 10.61186/sjku.28.2.1]

بررسی اثر مهارکننده کیناز وابسته به گیرنده اینترلوکین ۱ (IRAK) بر بیان ژن‌های *PPAR.γ* و *GLUT.4* در بافت عضله موش‌های مقاوم به انسولین

بیدالله شاهوزهی[۱]، سعیده معین الدینی[۲]، مصطفی اللهیاری[۳]، حسین فلاح[۴]

۱. استادیار، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، پژوهشکده علوم پایه و بالینی فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران، کد ارکید: ۶۶۸۶-۸۷۵۸-۰۰۰۲-۰۰۰۰

۲. گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی افضلی‌پور، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران، کد ارکید: ۷۲۴۷-۴۸۰۰-۰۰۰۳-۰۰۰۰

۳. گروه بیوشیمی، بیوفیزیک، ژنتیک و تغذیه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران، کد ارکید: ۵۰۱۵-۱۵۶۹-۰۰۰۲-۰۰۰۰

۴. دانشیار، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی افضلی‌پور، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران، (نویسنده مسئول)، تلفن: ۰۳۴۳۳۲۵۷۴۴۸، ایمیل:hf59ma@gmail.com، کد ارکید: ۰۷۷۵-۶۱۹۶-۰۰۰۱-۰۰۰۰

چکیده

زمینه و هدف: دیابت ملیتوس یک اختلال متابولیک با شیوع در حال افزایش در سراسر دنیا است. چاقی نقش مهمی در افزایش خطر ابتلا به دیابت، سندروم متابولیک، فشار خون و بیماری‌های قلبی عروقی دارد. التهاب خفیف ناشی از چاقی منجر به عدم تعادل در ترشح آدیپوکاین ها می‌شود و از این طریق حساسیت به انسولین را کاهش می‌دهد. خانواده TLR در این مسیرهای التهابی نقش اساسی دارند ؛ بنابراین مهار IRAK، به‌عنوان یک واسطه کلیدی این مسیر، در مهار التهاب و مقاومت انسولینی نقش دارد. به همین دلیل اثر این مهارکننده بر بیان *PPAR-γ* و *GLUT.4* را که در حساسیت انسولینی نقش دارند، بررسی کردیم.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه از موش‌های نر نژاد C57BL/6J برای ابتلا به مقاومت انسولینی استفاده شد. موش‌ها به ۶ گروه غذای استاندارد، غذای پرچرب، غذای پرچرب+حلال، غذای پرچرب+پیوگلیتازون، غذای پرچرب+مهارکننده IRAK و غذای پرچرب+ترکیب پیوگلیتازون - مهارکننده IRAK تقسیم شدند. در پایان مطالعه، موش‌ها کشته شدند و بافت عضلانی جمع‌آوری شد. بیانGLUT4 و γ-TPPAR با روش Real Time PCR در بافت عضلانی اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: داده‌های این مطالعه نشان داد که پیوگلیتازون، مهارکننده IRAK و ترکیب IRAKi + Pioglitazone باعث افزایش بیان *PPAR-γ* در بافت عضلانی می‌شود؛ ولی مهارکننده IRAK بر خلاف پیوگلیتازون اثری بر بیان *GLUT.4* ندارد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که احتمالاً اثرات حساس کنندگی مهارکننده IRAK به انسولین از طریق افزایش بیان *PPAR-γ* القا می‌شود.

واژه‌های کلیدی: دیابت ملیتوس، مقاومت به انسولین، مهارکننده IRAK، GLUT4، PPAR-γ، پیوگلیتازون

وصول مقال:۱۴۰۰/۸/۴ اصلاحیه نهایی:۱۴۰۰/۸/۲۹ پذیرش:۱۴۰/۸/۳۰

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-05]

[DOI: 10.61186/sjku.28.2.1]

مقدمه

دیابت ملیتوس یک اختلال متابولیک با شیوع بالا در جهان است که با هایپرگلیسمی ناشی از نقص در ترشح و یا عملکرد انسولین همراه است (۱). شیوع دیابت در سراسر دنیا در حال افزایش است و پیش‌بینی می‌شود که تعداد بالغین مبتلا به دیابت، از ۴۶۳ میلیون نفر به ۷۰۰ میلیون نفر تا سال ۲۰۴۵ برسد (۲). شایع‌ترین نوع دیابت، دیابت نوع ۲ است که عمدتاً از مقاومت به انسولین در بافت‌های هدف اصلی یعنی کبد، بافت چربی و عضلانی ناشی می‌شود(۳).

چاقی یک مشکل اساسی بهداشت عمومی، با شیوع در حال افزایش است که یک عامل خطر اصلی در ابتلا به دیابت، سندروم متابولیک، فشار خون و بیماری‌های قلبی - عروقی محسوب می‌شود(۴). چاقی یک حالت التهابی درجه پایین مزمن است که با هیپرپلازی و هیپرتروفی سلول های چربی مشخص می‌گردد که منجر به عدم تعادل در ترشح آدیپوکاین ها می‌شود. این به نوبه خود حساسیت به انسولین را کاهش می‌دهد و باعث افزایش التهاب می‌گردد**(۵).** التهاب مزمن سیستمیک که در نتیجه چاقی ایجاد می‌شود(۶) و در سطح مولکولی از طریق فعال کردن کینازهای مختلفی که باعث سرین و ترئونین فسفریله شدن مولکول‌های سیگنالینگ بجای تیروزین فسفریله شدن آن‌ها می‌شود در ایجاد مقاومت به انسولین نقش ایفا کند (۷،۸).

اسیدهای چرب آزاد به‌عنوان لیگاندهای خانواده گیرنده‌های شبه Toll (Toll Like Receptors, TLR) عمل می‌کنند. TLR2 و TLR4 نقش مهمی در سیستم ایمنی و فعال شدن مسیرهای التهابی در چاقی بازی می‌کنند(۹). اعضای خانواده TLR، باعث راه افتادن مسیر التهاب از طریق فعال‌سازی مسیر NF-κB با واسطه‌گری MYD88 (Myeloid differentiation primary response protein 88) می‌شوند. هنگامی که TLR با MYD88 ارتباط برقرار می‌کند باعث فعال شدن کیناز وابسته به گیرنده اینترلوکین ۱ (Interleukin-1 receptor associated Kinase,IRAK) می‌شود(۱۰) و از این طریق IRAK1 به عنوان یک واسطه‌ی اصلی در زنجیره التهابی عمل می‌کند (۱۱).

پروتئین انتقال‌دهنده گلوکز ۴ (Glucose Transporter 4, GLUT4) یکی از اعضای خانواده انتقال‌دهنده گلوکزاست(۱۲،۱۳) که در بافت چربی و عضلات اسکلتی بیان می‌شود(۱۴،۱۵). این ناقل در وضعیت پایه بیشتر در داخل سلول قرار دارد که درنتیجه عملکرد انسولین غشای پلاسمایی منتقل می‌شود (۱۵،۱۶) و نقش کلیدی در حساسیت انسولین بازی می‌کند (۱۷).

گیرنده فعال‌کننده - تکثیرکننده پراکسیزوم گاما (Peroxisome proliferative-activated receptors ,PPAR-γ) از فاکتورهای فعال کننده رونویسی ژن ها هستند. بیان ژن‌های مهمی را که در تکثیر سلولی و بسیاری از فرآیندهای متابولیک به ویژه آن‌هایی که در متابولیسم کربوهیدرات نقش دارند را تنظیم می‌کنند (۱۸). این گیرنده به فراوانی در بافت چربی بیان می‌شود(۱۹) ؛ اما بیان نسبتاً بالای آن در بافت هایی مانند کبد و عضلات اسکلتی نیز گزارش شده است (۱۸). نقش این گیرنده در افزایش عملکرد انسولین به حدی است که لیگاندهای سنتتیک آن (تیازولیدین دیون‌ها) به‌عنوان حساس کننده های انسولینی در درمان دیابت مصرف می‌شوند (۲۰).

ما در مطالعات قبلی خود بر روی نقش مهارکننده IRAK در افزایش حساسیت انسولینی دریافتیم که این مهارکننده میزان قند خون را کاهش داده و حساسیت انسولینی را از طریق افزایش ترشح آدیپونکتین، تحریک بیان PPAR-γ و کاهش بیان سیتوکین های التهابی در بافت چربی، افزایش می‌دهد (۲۳-۲۱) در ادامه مطالعات قبلی و در تکمیل نتایج آن‌ها بیان PPAR-γ و GLUT-4 را در بافت عضلانی اندازه‌گیری کردیم و اثر این مهارکننده را بر عملکرد

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-05]

[DOI: 10.61186/sjku.28.2.1]

پیوگلیتازون نیز، به‌عنوان یک لیگاند اختصاصی PPAR-γ مورد بررسی قرار دادیم.

مواد و روش‌ها:

این مطالعه یک مطالعه تجربی است که بر روی موش‌های C57BL/6J انجام شده است.

شرایط نگهداری حیوانات:

در این مطالعه از ۴۸ سر موش نر نژاد C57BL/6j برای ایجاد چاقی و مقاومت انسولینی استفاده شد و انجام آزمایش‌ها بر روی حیوانات در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کرمان با شماره کد IR.KMU.REC.1396.1359 مصوب گردید. موش‌ها از موسسه‌ی انستیتو پاستور ایران – تهران خریداری شدند و در حیوان خانه دانشکده پزشکی در شرایط استاندارد ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و در دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد بعد از اتمام دوره‌ی قرنطینه، نگهداری شدند.

تهیه غذای پرچرب:

برای ساخت هر کیلوگرم رژیم پرچرب، غذای پودر شده موش به میزان ۳۶۵ گرم، کازئین به مقدار ۲۵۰ گرم، چربی گاو و به مقدار ۳۱۰ گرم، مکمل ویتامین و مواد معدنی (گلبار نوید بهار) به مقدار ۶۰ گرم، کلسترول (Merck) به مقدار ۱۰ گرم، متیونین (فیدار) به مقدار ۳ گرم و کولیک اسید به مقدار ۲ گرم با یکدیگر مخلوط شد و سپس خمیر حاصل با استفاده از چرخ گوشت به شکل پلت‌های استاندارد تبدیل و پس از خشک کردن در مجاورت هوا، در یخچال نگهداری شد.

تیمار حیوانات:

حیوانات به شش گروه هشت‌تایی تقسیم و به مدت دو هفته به منظور تطابق با محیط جدید در شرایط عادی نگهداری شدند، سپس به‌صورت زیر در یک دوره‌ی ۱۴ هفته‌ای تیمار شدند:

گروه اول: گروه کنترل سالم که ۱۴ هفته با رژیم غذایی استاندارد تغذیه شدند.

گروه دوم: گروه کنترل مقاوم به انسولین که ۱۴ هفته با رژیم غذایی پرچرب تغذیه شدند.

گروه سوم: گروه مهارکننده IRAK (IRAKi) (سیگما آلدریچ: I5409) که با غذای پرچرب در ۱۲ هفته آغازی تغذیه شدند و در دو هفته پایانی، همراه غذای پرچرب، مهارکننده IRAK را که در DMSO حل شده بود به میزان 2mg/kg (۲۴) و به صورت داخل صفاقی دریافت نمودند.

گروه چهارم: گروه پیوگلیتازون که با رژیم غذایی پرچرب در ۱۲ هفته آغازی تغذیه شدند و در ۲ هفته پایانی، همراه غذای پرچرب، پیوگلیتازون به مقدار mg/kg ۱۰ به صورت گاواژ به آن‌ها خورانده شد(۲۵).

گروه پنجم: با غذای پرچرب در ۱۲ هفته‌ی آغازی تغذیه شدند و در دو هفته پایانی، همراه غذای پرچرب، پیوگلیتازون به مقدار mg/kg ۱۰ به صورت گاواژ به آن‌ها خورانده شد و مهار IRAK را که در DMSO حل شده بود مقدار mg/kg ۲ و به صورت داخل صفاقی دریافت کردند (۲۴).

گروه ششم: گروه sham که با رژیم غذایی پر چرب در ۱۲ هفته آغازی تغذیه شدند و در دو هفته پایانی، همراه غذای پرچرب، مقدار µl ۱۰۰ مطابق گروه سوم، DMSO و PBS استریل را به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

در پایان دوره تیمار موش‌ها پس از ۱۲ ساعت ناشتایی، با اتر بیهوش شدند. نمونه بافت عضله برای آنالیزهای مولکولی جدا و بلافاصله در نیتروژن مایع فریز شد و سپس برای نگهداری به فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شد.

استخراج RNA توتال:

برای استخراج RNA توتال از کیت استخراج RNA از بافت (یکتا تجهیز آزما، ایران) استفاده شد و مطابق روش توصیه شده در کیت تمامی مراحل استخراج انجام گردید. RNA استخراج شده با نانودراپ (NanoDrop ND-

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-05]

[DOI: 10.61186/sjku.28.2.1]

Spectrophotometer 1000) و الکتروفورز روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد از نظر کمی و کیفی ارزیابی و سپس در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

رونویس معکوس برای سنتز cDNA:

برای سنتز cDNA از RNA استخراج شده از نمونه‌ها یک میکروگرم برداشته شد و بر اساس دستورالعمل کیت Easy cDNA Synthesis Kit(شرکت پارس طوس، ایران) cDNA سنتز شد. cDNA ساخته شده برای استفاده بعدی در فریزر ۲۰- درجه ذخیره شد.

انجام Real Time PCR:

جهت اندازه‌گیری بیان ژن ها به وسیله Real time PCR و با استفاده از سایبر گرین و پرایمر جدول ۱ انجام شد. توالی پرایمرهای اختصاصی مورد نیاز ابتدا با استفاده از مقالات معتبر پیدا شد(۲۷،۲۶). در ادامه برای اطمینان از پرایمرهای انتخابی و تأیید آن‌ها، توالی آن‌ها در پایگاه‌های اطلاعاتی، با برنامه بلاست بررسی شد.

به‌طور خلاصه واکنش‌های Real-Time PCR با استفاده از مستر میکس Real Q Plus Master Mix Green (امپلیکون- دانمارک) و به شکل دو بار تکرار توسط دستگاه mic magnetic induction cycler انجام گرفت.

به این منظور مقادیر ng ۱۰۰ از الگوی cDNA، µl ۰/۵ از هر یک از پرایمرها (µM۱۰) و ۸ میکرولیتر از مستر میکس سایبر گرین افزوده شد و سپس حجم نهایی در تمامی میکروتیوب‌ها با آب عاری از ریبونوکلئاز به ۲۰ میکرولیتر رسانده شد.

تعداد سیکل‌ها برای تمامی واکنش‌ها، ۴۰ سیکل بود. در پایان نمودار منحنی ذوب در فاصله دمایی ۶۵ تا ۹۵ درجه سانتی‌گراد رسم گردید. همچنین برای اطمینان از عدم آلودگی نمونه‌ها به DNA ژنومی برای تمامی نمونه‌ها یک‌مرتبه کنترل فاقد رونویسی معکوس (Non-Reverse Transcriptase Cntrol) مورد استفاده قرار گرفت. همچنین برای رد آلودگی نمونه‌ها و معرف‌ها، در هر دور واکنش PCR، یک کنترل بدون الگو (Non-Template Control) استفاده شد.

روش تجزیه و تحلیل داده ها

نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS 20 آنالیز و نتایج به‌صورت خطای استاندارد±میانگین گزارش شد. برای تعیین اختلافات بین گروه‌ها از آزمون ANOVA یک طرفه و برای تعین جهت اختلافات از آزمون تعقیبی TUKEY استفاده شد. P-value < ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

جدول ۱: پرایمرهای مورد استفاده در آزمایش Real Time PCR

ژن	توالی پرایمر		اندازه محصول (bp)
	Forward	معکوس	
PPAR-γ	5′CATGCTTGTGAAGGATGCAAG3′	5′ TTCTGAAACCGACAGTACTGACAT3′	۱۳۱
GLUT-4	5′ GATTCTGCTGCCCTTCTGTC3′	5′ ATTGGACGCTCTCTCTCCAA3′	۱۶۸
GAPDH	5′ TGGAGTCTACTGGCGTCTT3′	5′ TGTCATATTTCTCGTGGTTCA3′	۱۳۸

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-05]

[DOI: 10.61186/sjku.28.2.1]

یافته ها

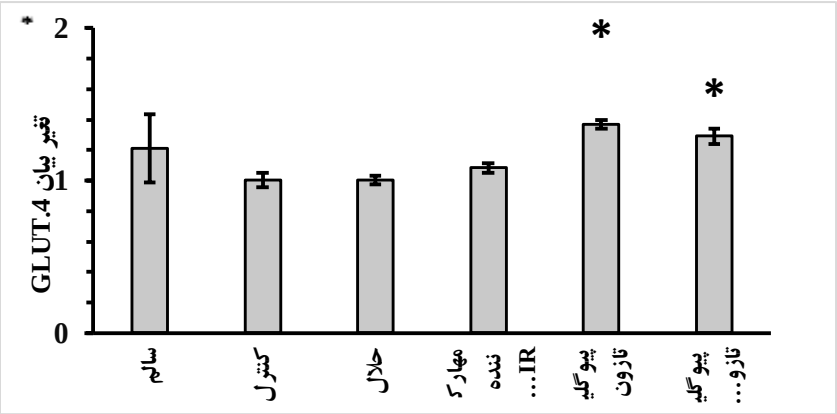
بیان GLUT4:

میزان بیان *GLUT4* درگروه پیوگلیتازون (۱/۳۶±۰/۰۲۸) و در گروه مهارکننده IRAK-پیوگلیتازون (۱/۲۹±۰/۰۴۸) است که نسبت به گروه کنترل با بیان نسبی (۱/۰۰۴±۰/۰۴۶) اختلاف معنی داری نشان داد؛ ولی در میزان بیان ژن در گروه مهارکننده IRAK (۱/۰±۰۸۱/۰۳۲)و گروه حلال (۰/۰۲۸ ± ۱/۰۰۶) اختلافی با گروه کنترل نشان نداد. همچنین میزان رونویسی ژن GLUT4 در گروه سالم (۰/۲۲ ±۱/۲۱) نیز با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری را نشان داد. خلاصه نتایج در نمودار ۱ نشان داده شده است.

بیان PPAR-γ:

نتایج این مطالعه نشان داد که مهارکننده IRAK (۰/۰۳۳± ۱/۴۴) و پیوگلیتازون (۱/۸۱±۰/۱۷) باعث افزایش بیان ژن PPAR. γ نسبت به گروه کنترل (۱/۰۰±۰/۰۲۳) با P<۰/۰۰۵ می‌شود. مصرف هم‌زمان IRAKi-Pio (۱/۹۶±۰/۰۵۳) نیز باعث افزایش شدید بیان این ژن با P<0.0001 نسبت به گروه کنترل می شود.

همچنین نتایج نشان می‌دهد که مصرف غذای پرچرب و افزایش وزن حیوانات باعث کاهش بیان ژن PPAR. γ نسبت به حیواناتی می‌شود که رژیم غذایی نرمال (۱/۸۵±۰/۳۴) داشتند. خلاصه نتایج در نمودار ۲ نشان داده شده است.

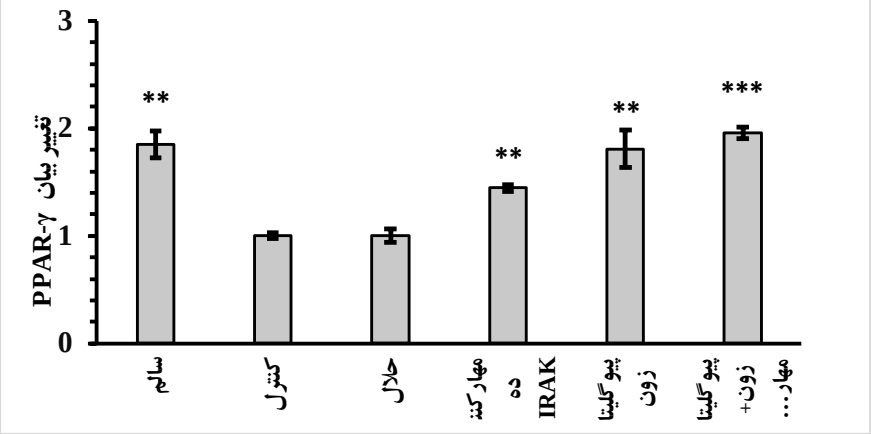


نمودار۱. مقایسه میانگین بیان GLUT4 در گروه‌های مختلف.

مقاومت انسولینی در موش‌ها با غذای پرچرب به مدت ۱۲ هفته ایجاد و سپس به مدت دو هفته با پیوگلیتازون، مهارکننده IRAK و یا ترکیب هر دو دارو تیمار شدند. پس از ۱۲ ساعت ناشتایی حیوانات بیهوش و نمونه بافت عضله جمع‌آوری شد. بررسی بیان ژن با نتایج با تکنیک Real Time PCR و با استفاده از پرایمر اختصاصی به دست آمده و به‌صورت نسبی در مقایسه با ژن GAPDH به عنوان کنترل داخلی، گزارش شده است.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-05]

[DOI: 10.61186/sjku.28.2.1]



نمودار۲. مقایسه میانگین بیان PPAR-γ در گروه های مختلف.

مقاومت انسولینی در موش‌ها با غذای پرچرب به مدت ۱۲ هفته ایجاد و سپس به مدت دو هفته با پیوگلیتازون، مهارکننده IRAK و یا ترکیب هر دو دارو تیمار شدند. پس از ۱۲ ساعت ناشتایی حیوانات بیهوش و نمونه بافت عضله جمع‌آوری شد. بررسی بیان ژن با نتایج با تکنیک Real Time PCR و با استفاده از پرایمر اختصاصی به دست آمده و به‌صورت نسبی در مقایسه با ژن GAPDH به عنوان کنترل داخلی، گزارش شده است.

* P<۰/۰۵ ،** P<۰/۰۱ ،*** P<۰/۰۰۰۱

بحث

دیابت یک بیماری مزمن ناسی از اختلالات هورمونی، اکسیداتیو و اپی‌ژنتیک است که با هیپرگلیسمیای پاتولوژیک مشخص می‌شود. التهاب مزمن و خفیف ناشی از چاقی، مهم‌ترین دلیل مقاومت انسولینی منجر به دیابت، به‌ویژه در سنین بالاتر است(۲۸). با توجه به اینکه IRAK نقش اساسی در سیگنالینگ التهاب در چاقی و ایجاد مقاومت انسولینی ایفا می‌کند (۲۹) و ما در مطالعات قبلی اثرات مفیدی از مهارکننده‌های IRAK در رابطه با افزایش اثربخشی پیوگلیتازون مشاهده نمودیم، در این مطالعه تصمیم گرفتیم اثر مصرف این مهارکننده را بر بیان PPAR-γ، مولکول هدف پیوگلیتازون و GLUT.4، مولکول پایین دست مسیر سیگنالینگ انسولین، بررسی نماییم.

نتایج مطالعه ما نشان داد که پیوگلیتازون و ترکیب پیوگلیتازون-مهارکننده IRAK، باعث افزایش بیان GLUT.4 در موش ها مقاوم می‌شود؛ ولی هیچ اثر هم‌افزایی در مصرف هم‌زمان آن‌ها دیده نمی‌شود. همچنین مهارکننده IRAK اثری بر بیان GLUT.4 در بافت عضله ندارد.

در مطالعه قبلی ما در بافت چربی موش‌های مقاوم به انسولین نژاد C57، اختلافی در بیان ژن GLUT.4 در هیچ‌یک از گروه‌های مورد مطالعه مشاهده نشد که با نتایج حاصل از این مطالعه در بافت چربی اختلاف دارد (۲۱).

GLUT.4 یک انتقال دهنده گلوکز حساس به انسولین است که امکان برداشت گلوکز به‌وسیله بافت چربی، عضله مخاط و قلب را در اثر فعالیت انسولین فراهم می‌کند (۳۰). هر چند در برخی مطالعات مانند مطالعه Kumar و همکارانش مشخص گردید که کاهش گلوکز را در حیوانات دیابتی شده با آلوکسان با افزایش بیان GLUT.4 را در سطح mRNA و پروتئین همراه است (۳۱) ؛ ولی مشخص شده است که در محیط کشت فاقد گلوکز، انسولین، mRNA مربوط به GLUT.4 را تا ۱۰ برابر کاهش می‌دهد؛ ولی با افزودن گلوکز، مقدار mRNA دوباره تا سطح اولیه افزایش می‌یابد. این یافته ها نشان

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-05]

[DOI: 10.61186/sjku.28.2.1]

می‌دهند که بیان GLUT.4 بیش از تنظیم به‌وسیله هورمون‌ها، به‌وسیله نیاز متابولیک تنظیم می‌شود (۳۲) و اختلاف در نتایج دو بافت عضلانی و چربی می‌تواند مربوط به همین مورد باشد.

هر چند در پروموتر ژن GLUT.4 توالی PPRE و C/EBP وجود ندارد؛ اما مشاهدات نشان می‌دهند که PPAR.γو C/EBPα۱ در آدیپوسیتها بیان GLUT.4 را افزایش می‌دهد. فعال شدن گیرنده انسولین باعث تحریک شدید اگزوسیتوز وزیکولهای GLUT.4 در مقابل مقدار کم اندوسیتوز آن‌ها می‌شود و این اثرات را از طریق PI3K اعمال می‌کند (۳۳). آگونیست های PPAR.γ، میزان بیان GLUT.4 و همچنین انتقال آن به غشای پلاسمایی را در آدیپوسیت ها افزایش می‌دهند(۳۳). در عضلات نیز تیازولیدین دیون‌ها از طریق افزایش فعالیت PI3K باعث انتقال GLUT.4 به غشای پلاسمایی می‌شود (۳۴).

مهارکننده IRAK باعث افزایش بیان PPAR-γ می‌شود و همچنین مهارکننده IRAK باعث افزایش اثربخشی پیوگلیتازون بر بیان PPAR-γ می‌شود؛ ولی این افزایش نسبت به مصرف به تنهایی پیوگلیتازون اختلاف معنی‌داری را نشان نمی‌دهد.

PPAR.γدارای ایزو فرم‌های PPAR.γ1 و PPAR.γ2است که ایزوفرم نوع ۲ آن دارای ۲۸ اسید آمینه اضافی در انتهای آمینی خود نسبت PPAR.γ1 است که این قطعه فعالیت غیر وابسته به لیگاند این ایزوفرم را افزایش می‌دهد PPAR.γ2 .تقریباً تنها در آدیپوسیتها یافت می‌شود؛ ولی PPAR.γ1 در بیشتر بافت‌ها یافت می‌شود (۳۵). در مطالعه قبلی ما مشخص گردید که بیان PPAR-γدر بافت چربی موش‌های مقاوم به انسولین و درنتیجه تیمار با مهارکنندهIRAK ، افزایش می‌یابد که با نتایج حاصله در بافت عضلانی همخوانی دارد TLR4 .که از مسیرهای کلیدی التهاب در چاقی محسوب می‌شود، از طریق IRAK وساطت می‌شود و همچنین ارتباط مسیرهای التهابی با PPAR-γ مشخص شده است؛ بنابراین دور از انتظار نیست که مهار این مسیرهای التهابی، میزان بیان PPAR-γرا تحت تأثر قرار دهد.

تیازولیدین دیون‌ها (مانند روزیگلیتازون، پیوگلیتازون و تروگلیتازون) به‌عنوان آگونیست های PPAR.γ باعث القای فعالیت این رسپتورها می‌شوند؛ ولی در مطالعات متعدد مشخص شده است که این داروها، بیان PPAR.γ را نیز افزایش می‌دهند(۲۵)؛ مثلاً در مطالعه Yadav و همکارانش مشخص شد که روزیگلیتازون بیان PPAR.γ را در کبد رتهای مقاوم به انسولین افزایش می‌دهد. این دارو بیان PPAR.γ را در سلول‌های عضلانی رده C2C12 (۳۶)و L6 نیز افزایش می‌دهد (۳۷). پیوگلیتازون نیز بیان PPAR.γ را در کبد رت های تغذیه شده با غذای پرفروکتوز افزایش می‌دهد (۳۸) که این نتایج با نتایج مطالعه ما مطابقت دارد.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که مهارکننده IRAK باعث افزایش بیان ژن PPAR-γ می‌شود که احتمالاً از این طریق باعث افزایش بیان و ترشح آدیپونکتین می‌گردد که نتیجه آن در مطالعه قبلی حاصل شده بود. همچنین این مهارکننده باعث کاهش بیان TNF-α می‌شود که می‌تواند به‌عنوان یکی دیگر از مکانیسم‌های احتمالی اثر این ترکیب در افزایش حساسیت انسولینی مطرح شود. از طرف دیگر این ترکیب باعث افزایش ترشح لپتین می‌شود که لپتین نیز دارای اثرات ضد التهابی است.

اثر این مهارکننده در افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی که با کاهش تولید مالون دی

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-05]

[DOI: 10.61186/sjku.28.2.1]

آلدئید همراه است نیز به‌عنوان دیگر اثر مفید این مهارکننده نشان داده شده است که در مجموع آن را به عنوان یک داروی ضدالتهابی مؤثر و مفید در افزایش اثربخشی پیوگلیتازون، در صورت انجام مطالعات تکمیلی، مطرح می‌کند.

تشکر و قدردانی

این طرح با کد اخلاق IR.KMU.REC.1398.554 در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کرمان به تصویب رسیده و هزینه انجام آن طبق قرارداد ۹۸۰۰۰۳۴۳ پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمان تأمین و تمامی مراحل مطالعه در گروه بیوشیمی دانشکده پزشکی افضلی پور و مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی کرمان انجام شده است. نویسندگان از تمامی یاری دهندگان انجام این مطالعه کمال قدردانی و تشکر را اعلام می‌دارند. نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تعارض منافعی در انتشار این مقاله وجود ندارد.

منابع

1. Hou C-W, Chou S-W, Ho H-Y, Lee W-C, Lin C-H, Kuo C-H. Interactive effect of exercise training and growth hormone administration on glucose tolerance and muscle GLUT4 protein expression in rats. J Biomed Sci. 2003;2003(10):689–96. Available from: https://doi.org/10.1007/BF02256320

2. Guariguata L, Whiting DR, Hambleton I, Beagley J, Linnenkamp U, Shaw JE. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. Diabetes Res Clin Pract. 2014;103(2):137–49. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.diabres.2013.11.002

3. Zhao X, He Q, Zeng Y, Cheng L. Effectiveness of combined exercise in people with type 2 diabetes and concurrent overweight / obesity : a systematic review and meta-analysis. Br Med J . 2021;2021(1):1–12. Available from: http://dx.doi.org/10.1136/bmjopen-2020-046252

4. Esteves JV, Enguita FJ, Machado UF. MicroRNAs-Mediated Regulation of Skeletal Muscle GLUT4 Expression and Translocation in Insulin Resistance. J Diabetes Res. 2017;2017(1):1–11. Available from: http://dx.doi.org/10.1155/2017/7267910

5. Ou YL, Lee MY, Lin IT, Wen WL, Hsu WH, Chen SC. Obesity-related indices are associated with albuminuria and advanced kidney disease in type 2 diabetes mellitus. Ren Fail. 2021;43(1):1250–8. Available from: https://doi.org/10.1080/0886022X.2021.1969247

6. Hubert HB, Feinleib M, McNamara PM, Castelli WP. Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: A 26-year follow-up of participants in the Framingham Heart Study. Circulation. 1983;67(5):968–77. Available from: http://dx.doi.org/10.1161/01.CIR.67.5.968

7. Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. Nature. 2001;13(414):799–806. Available from: http://dx.doi.org/10.1038/414799a.

8. Hirabara SM, Gorjão R, Vinolo MA, Rodrigues AC, Nachbar RT, Curi R. Molecular targets related to inflammation and insulin resistance and potential interventions. Vol. 2012, Journal of Biomedicine and Biotechnology. 2012. p. 1–16. Available from: http://dx.doi.org/10.1155/2012/379024

9. Han SH, Sakuma I, Shin EK, Koh KK. Antiatherosclerotic and Anti-Insulin Resistance Effects of Adiponectin: Basic and Clinical Studies. Prog Cardiovasc Dis. 2009;52(2):126–40. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.pcad.2009.06.004.

10. Boden G. Obesity, insulin resistance and free fatty acids. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes . 2011 Apr;18(2):139–43. Available from: http://dx.doi.org/10.1097/MED.0b013e3283444b09

11. Kawai T, Akira S. TLR signaling. Cell Death Differ. 2006;13(5):816–25. Available from:

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-05]

[DOI: 10.61186/sjku.28.2.1]

http://dx.doi.org/10.1186/1475-2891-13-17
12. Wang Z, Wesche H, Stevens T, Walker N, Yeh W-C. IRAK-4 Inhibitors for Inflammation. Curr Top Med Chem . 2009;9(8):724–37. Available from: http://dx.doi.org/10.2174/156802609789044407
13. Chiu L-L, Chou S-W, Cho Y-M, Ho H-Y, Ivy JL, Hunt D, et al. Effect of prolonged intermittent hypoxia and exercise training on glucose tolerance and muscle GLUT4 protein expression in rats. J Biomed Sci [Internet]. 2004;11(6):838–46. Available from: 10.1007/BF02254369
14. Huang S, Czech MP. The GLUT4 Glucose Transporter. Cell Metab. 2007;5(4):237–52. Available from: https://doi.org/10.1016/j.cmet.2007.03.006
15. Li W, Dai R-J, Yu Y-H, Li L, Wu C-M, Luan W-W, et al. Antihyperglycemic effect of Cephalotaxus sinensis leaves and GLUT-4 translocation facilitating activity of its Flavonoid constituents. Biol Pharm Bull. 2007;30(6):1123–9. Available from: http://dx.doi.org/10.1248/bpb.30.1123.
16. Yan Liang 1, Shudong Sheng, Penghua Fang, Yinping Ma, Jian Li, Qiaojia Shi, Yumei Sui MS. Exercise-induced galanin release facilitated GLUT4 translocation in adipocytes of type 2 diabetic rats. Pharmacol Biochem Behav. 2012;100(3):554–9. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.pbb.2011.10.026.
17.Daugaard JR, Richter EA. Muscle- and fibre type-specific expression of glucose transporter 4, glycogen synthase and glycogen phosphorylase proteins in human skeletal muscle. Eur J Physiol. 2004;447(4):452–6. Available from: https://doi.org/10.1007/s00424-003-1195-8
18.Grygiel-Górniak B. Peroxisome proliferator-activated receptors and their ligands: Nutritional and clinical implications - A review. Nutr J . 2014;13(1):1–10. Available from: http://dx.doi.org/10.1186/1475-2891-13-17
19. Feige JN, Gelman L, Michalik L, Desvergne B, Wahli W. From molecular action to physiological outputs: peroxisome proliferator-activated receptors are nuclear receptors at the crossroads of key cellular functions. Prog Lipid Res. 2006;65(2):120–59. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.plipres.2005.12.002
20. Elstner E, Müller C, Koshizuka K, Williamson EA, Park D, Asou H, et al. Ligands for peroxisome proliferator-activated receptory and retinoic acid receptor inhibit growth and induce apoptosis of human breast cancer cells in vitro and in BNX mice. Proc Natl Acad Sci U S A. 1998;95(15):8806–11. Available from: http://dx.doi.org/10.1073/pnas.95.15.8806
21. Moinaldini S, Allahyari M, Shahouzehi B, Fallah H. Evaluation of the Effect of Co-administration of IRAK Inhibitor and Pioglitazone on PPAR-γ, GLUT-4, TNF-α, and Leptin Genes Expression in Adipose Tissue of Insulin-resistant Mice. J Kerman Univ Med Sci. 2021;28(2):127–38.
22. Rajaie A, Allahyari M, Nazari-Robati M, Fallah H. Inhibition of interleukin-1 receptor-associated kinases 1/4, increases gene expression and serum level of adiponectin in mouse model of insulin resistance. Int J Mol Cell Med . 2018;7(3):185–92. Available from: http://dx.doi.org/10.22088/IJMCM.BUMS.7.3.185
23. Allahyari M, Rajaie A, Fallah H. IRAK inhibitor can improve insulin sensitivity in insulin-resistant mice fed with a high-fat diet. Asian Biomed. 2020;14(6):253–60. Available from: http://dx.doi.org/10.1515/abm-2020-0034
24. Li Z, Younger K, Gartenhaus R, Joseph AM, Hu F, Baer MR, et al. Inhibition of IRAK1 / 4 sensitizes T cell acute lymphoblastic leukemia to chemotherapies. J Clin Invest. 2015;125(3):1081–97. Available from: http://dx.doi.org/10.1172/JCI75821DS1
25.Yadav H, Jain S, Yadav M, Sinha PR, Prasad GBKS, Marotta F. Epigenomic derangement of hepatic glucose metabolism by feeding of high fructose diet and its prevention by

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-05]

[DOI: 10.61186/sjku.28.2.1]

Rosiglitazone in rats. Dig Liver Dis . 2009;41(7):500–8. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.dld.2008.11.012
26.Fu Y, Luo N, Klein RL, Timothy Garvey W. Adiponectin promotes adipocyte differentiation, insulin sensitivity, and lipid accumulation. J Lipid Res. 2005;46(7):1369–79. Available from: http://dx.doi.org/10.1194/jlr.M400373-JLR200
27.Mohammadi A, Fallah H, Gholamhosseinian A. Antihyperglycemic Effect of Rosa Damascena is Mediated by PPAR.γGene Expression in Animal Model of Insulin Resistance. Iran J Pharm Res. 2017;16(3):1080–8.
28. Dabravolski SA, Orekhova VA, Baig MS, Bezsonov EE, Starodubova A V., Popkova T V., et al. The role of mitochondrial mutations and chronic inflammation in diabetes. Int J Mol Sci . 2021;22(13). Available from: http://dx.doi.org/10.3390/ijms22136733
29. Ahmed I, Furlong K, Flood J, Treat VP, Goldstein BJ. Dual PPAR α/γ agonists: Promises and pitfalls in type 2 diabetes. Am J Ther. 2007;14(1):49–62. Available from: http://dx.doi.org/10.2174/138955706776876140
30. Leguisamo NM, Lehnen AM, Machado UF, Okamoto MM, Markoski MM, Pinto GH, et al. GLUT4 content decreases along with insulin resistance and high levels of inflammatory markers in rats with metabolic syndrome. Cardiovasc Diabetol. 2012;11(1):1. Available from: http://dx.doi.org/10.1186/1475-2840-11-100
31. Kumar P, Kale RK, Baquer NZ. Antihyperglycemic and protective effects of Trigonella foenum graecum seed powder on biochemical alterations in alloxan diabetic rats. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2012;16(3):18–27.
32. Fernyhough ME, Okine E, Hausman G, Vierck JL, Dodson M V. PPARγ and GLUT-4 expression as developmental regulators/markers for preadipocyte differentiation into an adipocyte. Domest Anim Endocrinol. 2007;33(4):367–78. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.domaniend.2007.05.001
33. Elmazar MM, El-Abhar HS, Schaalan MF, Farag NA. Phytol/Phytanic Acid and Insulin Resistance: Potential Role of Phytanic Acid Proven by Docking Simulation and Modulation of Biochemical Alterations. PLoS One . 2013;8(1):1–10. Available from: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045638%0A
34. Semple RK, Chatterjee VKK, O'Rahilly S. PPARγ and human metabolic disease. J Clin Invest . 2006;116(3):581–9. Available from: http://dx.doi.org/10.1172/JCI28003
35. Robbins GT, Nie D. PPARgamma, Bioactive Lipids, and Cancer Progression Gregory. Bone. 2014;23(1):1–7. Available from: http://dx.doi.org/10.2741/4021.
36. Kumar R, Balaji S, Uma TS, Sehgal PK. Fruit extracts of Momordica charantia potentiate glucose uptake and up-regulate Glut-4, PPARγ and PI3K. J Ethnopharmacol. 2009;126(3):533–7. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2009.08.048.
37. Kim HS, Hwang YC, Koo SH, Park KS, Lee MS, Kim KW, et al. PPAR-γ Activation Increases Insulin Secretion through the Up-regulation of the Free Fatty Acid Receptor GPR40 in Pancreatic β-Cells. PLoS One. 2013;8(1):23–9. Available from: http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0050128
38.Collino M, Aragno M, Castiglia S, Miglio G, Tomasinelli C, Boccuzzi G, et al. Pioglitazone improves lipid and insulin levels in overweight rats on a high cholesterol and fructose diet by decreasing hepatic inflammation. Br J Pharmacol. 2010;160(8):1892–902. Available from: http://dx.doi.org/10.1111/j.1476-5381.2010.00671.x

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-05]

[DOI: 10.61186/sjku.28.2.1]