

بررسی اثر مکمل جنیستئین بر حساسیت به انسولین، مقاومت به انسولین و شاخص عملکرد سلول‌های بتای پانکراس در بیماران مبتلا به کبد چرب غیرالکلی، کارآزمایی بالینی

ساسان امانت¹، محمد حسن افتخاری²، کامران باقری لنگرانی³، محمد فرارویی⁴

1- دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم تغذیه، مرکز تحقیقات تغذیه، گروه تغذیه بالینی، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

2- نویسنده مسئول: استاد گروه تغذیه بالینی، مرکز تحقیقات تغذیه، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
پست الکترونیکی: h_eftekhari@yahoo.com

3- استاد گروه گوارش و کبد، مرکز تحقیقات سیاستگذاری سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

4- دانشیار گروه اپیدمیولوژی، مرکز تحقیقات علوم بهداشتی، گروه اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

تاریخ پذیرش: 96/4/4

تاریخ دریافت: 95/12/15

چکیده

سابقه و هدف: کبد چرب غیر الکلی (NAFLD)، که با تجمع چربی در کبد همراه است ارتباط تنگاتنگی با مقاومت به انسولین و چاقی شکمی دارد. جنیستئین به عنوان یکی از مهم‌ترین ایزوفلاون‌ها می‌تواند در بهبود متابولیسم گلوکز و چربی‌ها نقش داشته باشد. این مطالعه با هدف بررسی نقش مکمل یاری جنیستئین بر حساسیت به انسولین، مقاومت به انسولین و شاخص عملکرد سلول‌های بتای پانکراس بیماران مبتلا به کبد چرب غیر الکلی انجام شد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه بالینی کنترل شده دو سو کور با 92 بیمار مبتلا به NAFLD به مدت 8 هفته انجام شد. بیماران در دو گروه جنیستئین با دریافت روزانه 250 میلی‌گرم جنیستئین یا دارو نما قرار گرفتند. متغیرهای تن‌سنجی، آنزیم‌های کبدی، قند خون ناشتا و انسولین سرمی اندازه‌گیری شد. در نهایت نسبت دور کمر به دور باسن و شاخص‌های مقاومت به انسولین، حساسیت به انسولین و عملکرد سلول‌های بتا محاسبه گردید.

یافته‌ها: جنیستئین موجب کاهش سطح انسولین ناشتا و شاخص مقاومت به انسولین در مقایسه با گروه کنترل شد. گروه دریافت کننده جنیستئین شاهد افزایش معنی‌داری در شاخص حساسیت به انسولین بود. به علاوه در مقایسه با دارو نما، جنیستئین موجب کاهش نسبت دور کمر به دور باسن در این بیماران شد. با این وجود تغییری در BMI، قند خون ناشتا، میزان عملکرد سلول‌های بتا و آنزیم‌های کبدی مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد دریافت روزانه 250 میلی‌گرم جنیستئین در بیماران NAFLD به مدت 8 هفته می‌تواند در بهبود مقاومت به انسولین، حساسیت به انسولین و نسبت دور کمر به دور باسن مؤثر باشد و به عنوان مکمل غذایی برای این بیماران مد نظر قرار گرفته شود.

واژگان کلیدی: کبد چرب غیر الکلی، جنیستئین، مقاومت به انسولین، حساسیت به انسولین

• مقدمه

حدود 30 درصد از جمعیت بزرگسالان را در کشورهای غربی تحت تأثیر قرار داده است (2). کشورهای آسیایی با شیوع پایین‌تر اما رو به افزایشی مواجه هستند. میزان شیوع این بیماری در بزرگسالان ایرانی نیز 18/9 درصد گزارش شده

کبد چرب غیر الکلی (NAFLD Non-alcoholic fatty liver disease) شایع‌ترین بیماری مزمن کبدی می‌باشد و شامل استئاتوزیس ساده و هپاتیت چرب غیر الکلی NASH (Non-alcoholic steatohepatitis) می‌باشد (1). این بیماری

به انجام کارآزمایی بالینی در مطالعات پیشین، برای اولین بار در یک کارآزمایی بالینی اثر مکمل جنیستین بر نسبت دور کمر به دور باسن، حساسیت به انسولین، مقاومت به انسولین و شاخص عملکرد سلول‌های بتای پانکراس بیماران مبتلا به کبد چرب غیر الکلی بررسی شد.

• مواد و روش‌ها

این مطالعه به مدت 8 هفته به روش کارآزمایی بالینی تصادفی دوسو کور انجام شد. بیماران توسط آگهی در مراکز درمانی و روزنامه محلی برای شرکت در مطالعه فراخوانده شدند. افراد مورد مطالعه بزرگسالان بین 18 تا 69 سال بودند که مبتلا به استئاتوزیس سطح 2 و بالاتر آنها به وسیله اولترا سونوگرافی حداکثر در 6 ماه اخیر تأیید شده بود.

معیارهای عدم ورود به مطالعه: مصرف مشروبات الکلی، ابتلا به هپاتیت ویروسی، سیروز کبدی، بارداری، شیردهی، سابقه تغذیه پرنترال در 6 ماه گذشته و همچنین ALT و AST بالای 5 برابر سطح طبیعی بود. همچنین افرادی که سابقه مصرف داروهای ایجاد کننده کبد چرب، داروهای ضد دیابت و کاهش دهنده چربی خون یا مکمل‌های غذایی داشتند، وارد مطالعه نشدند.

جمع‌آوری تمامی اطلاعات در درمانگاه شهید مطهری، دانشگاه علوم پزشکی شیراز انجام شد. اندازه گیری تمامی شاخص‌ها قبل و پس از مداخله انجام شد. 92 نفر از داوطلبان واجد شرایط که ابتلای آنها به کبد چرب توسط فوق تخصص گوارش و کبد به تأیید رسید. پس از آگاهی کامل از مزایا و نحوه اجرای این طرح و اخذ رضایت نامه کتبی، وارد مطالعه شدند. در ابتدای مطالعه پرسشنامه اطلاعات عمومی برای بیماران تکمیل شد و بر اساس اعداد تصادفی که توسط کامپیوتر تهیه شده بود در دو گروه جنیستین و دارو نما قرار گرفتند. بیماران در گروه جنیستین روزانه 250 میلی گرم جنیستین با خلوص بالای 98 درصد (BOC SCI، آمریکا) دریافت کردند. همچنین گروه دارو نما کپسول‌های حاوی نشاسته ذرت که دقیقاً از لحاظ ظاهری به مکمل‌های جنیستین شباهت داشت، دریافت کردند. مکمل‌های دارو نما و جنیستین در دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه و بسته بندی گردید و پس از اندازه گیری‌های اولیه شامل شاخص‌های تن سنجی، آنزیم‌های کبدی، قند خون ناشتا و انسولین ناشتا به بیماران داده شد. هیچ یک از داوطلب‌ها، محققین و کارشناس آزمایشگاه از نوع مداخله گروه‌ها اطلاعی نداشتند و کد گذاری بر روی مکمل‌ها توسط شخصی خارج از مطالعه به صورت A و B انجام شد.

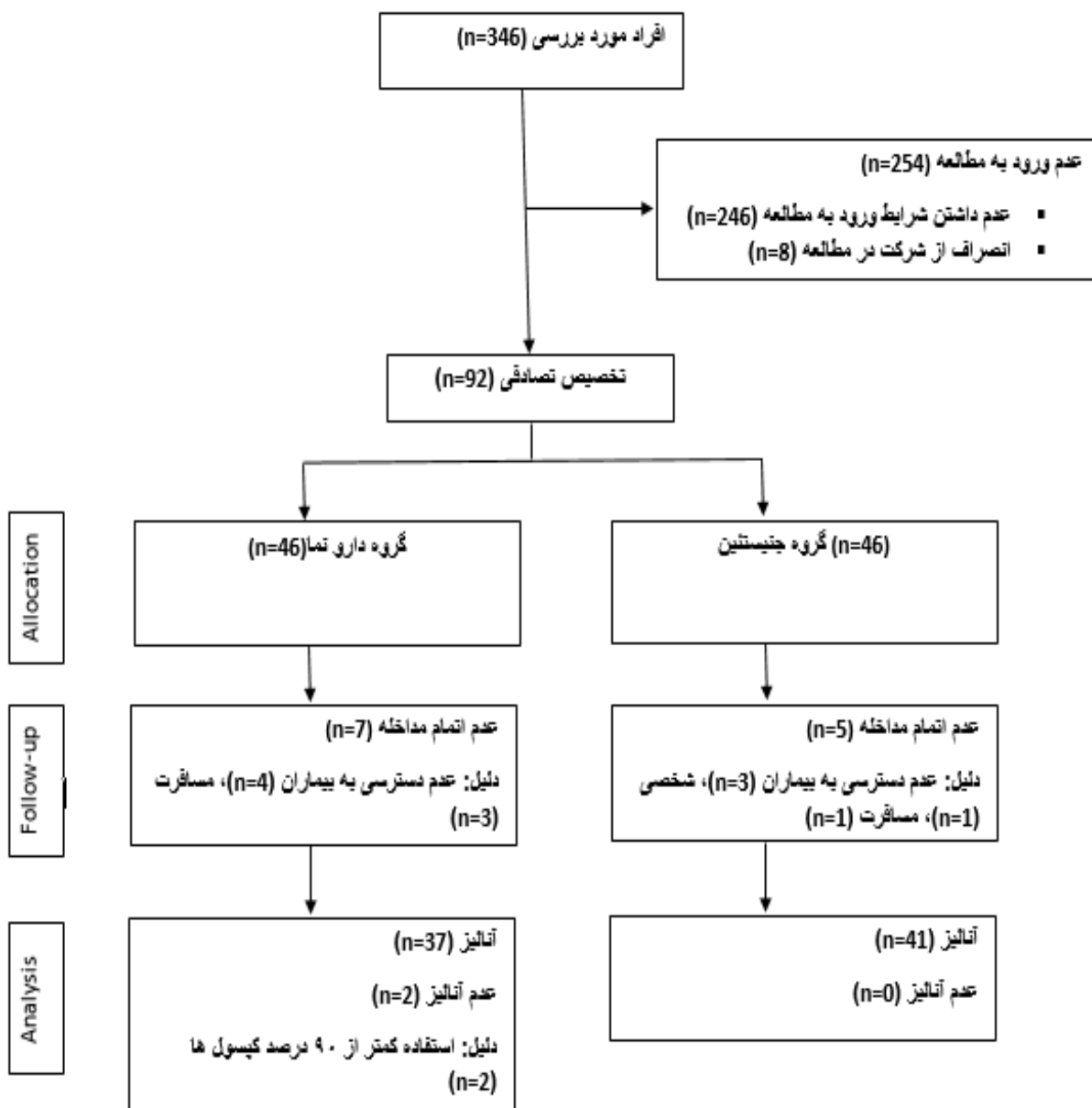
است (3). این بیماری با افزایش موارد ابتلا به بیماریهای متابولیک دیگری نظیر دیابت ملیتوس نوع 2 و سندرم متابولیک همگام است (4).

اگرچه عمدتاً بیماران، تنها تحت تأثیر استئاتوزیس ساده قرار می‌گیرند، اما بیماری در بخش قابل ملاحظه‌ای از مبتلایان به سمت سیروز، سرطان سلول‌های کبد و سطح نهایی بیماری کبدی پیش می‌رود (5، 1). تجمع کبدی لیپیدها در NAFLD قویاً با مقاومت به انسولین در ارتباط است، به گونه ای که تا 69 درصد بیماران مبتلا به دیابت نوع 2 به کبد چرب مبتلا هستند (6). همچنین مطالعات نشان داده‌اند که شدت مقاومت به انسولین با میزان پیشرفت استئاتوزیس به سمت NASH و فیبروز همبستگی دارد (7).

تاکنون تنها درمان مورد تأیید برای NAFLD کاهش وزن متعادل بوده اما کمتر از 50 درصد افراد موفق به کاهش وزن مورد نظر می‌شوند (8، 2). از این رو اجرای درمان‌های تکمیلی ضروری به نظر می‌رسد. با وجود مطالعات بسیار بر روی ترکیبات تغذیه‌ای و غیر تغذیه‌ای نظیر ویتامین E، متفورمین و پیوگلیتازون به عنوان درمان‌های مکمل، تاکنون هیچ یک از این ترکیبات مورد تأیید قرار نگرفته‌اند (9).

مطالعات نشان داده‌اند مصرف غذاهای مشتمل از سویا با کاهش بروز بیماریهای متابولیک در ارتباط است و به نظر می‌رسد بخش عمده این امر ناشی از محتوای بالای ایزوفلاون‌ها در این غذاها باشد (10، 11). جنیستین عمده ترین ایزوفلاون سویا می‌باشد و فعالیت بیولوژیکی آن سال‌ها مورد ارزیابی قرار گرفته است. مطالعات انسانی و حیوانی فراوانی، نقش ایزوفلاون‌ها و یا جنیستین به تنهایی را در متابولیسم گلوکز گزارش کرده‌اند. مطالعات در مدل‌های حیوانی مبتلا به مقاومت به انسولین و دیابت نشان داده، جنیستین می‌تواند موجب بهبود قند خون و کنترل گلیسمیک در این حیوانات شود (12، 13). از طرفی شواهد حاکی از تغییرات کاهش قند خون در دیگر مدل‌ها نظیر یائسگی و کبد چرب غیر الکلی می‌باشد (14، 15). مطالعات بالینی نیز مؤید توانایی جنیستین در بهبود مقاومت به انسولین در زنان یائسه مبتلا به سندرم متابولیک است (16، 17). به نظر می‌رسد جنیستین با تغییر حساسیت محیطی به انسولین، تأثیر بر ترشح انسولین و متابولیسم کبدی گلوکز اثرات خود را اعمال می‌کند (18).

تاکنون مطالعات بالینی در زمینه اثر جنیستین بر متابولیسم گلوکز صرفاً در بیمارانی غیر از مبتلایان NAFLD انجام شده است. با توجه به نتایج مثبت گزارش شده و توصیه



تصویر 1. دیاگرام مطالعه

فراخوانده شده و توصیه‌های تغذیه‌ای و فعالیت فیزیکی به بیماران یادآوری شد. در انتهای هفته هشتم تمامی شاخص‌ها مجدداً اندازه‌گیری شد و همچنین بسته‌های حاوی کپسول، جهت ارزیابی میزان پیروی بیماران جمع‌آوری گردید. برای ارزیابی دریافت غذایی بیماران شامل میزان کالری، پروتئین، چربی، کربوهیدرات کل و فیبر، یاد آمد 24 ساعته غذایی، یک بار قبل و بعد از مداخله تکمیل گردید و اطلاعات توسط نرم افزار N4 (Nutritionist4) تجزیه و تحلیل گردید. ارزیابی فعالیت فیزیکی توسط فرم کوتاه و معتبر شده

هر دو گروه مداخله و کنترل تحت مشاوره تغذیه‌ای شامل رژیم سالم ایزوکالریک جهت جلوگیری از رفتارهای رژیمی تکرانه‌ای با هدف حفظ وزن قرار گرفتند که توسط یک متخصص تغذیه و بر مبنای راهنمای انجمن تغذیه بالینی آمریکا ارائه داده می‌شد (19). همچنین به بیماران توصیه شد میزان فعالیت فیزیکی خود را در طول مطالعه تغییر ندهند. یکی از پژوهشگران هر دو هفته یک بار با تماس تلفنی میزان پیروی مداخله و عوارض احتمالی را مورد ارزیابی قرار می‌داد. در انتهای هفته چهارم بیماران به درمانگاه شهید مطهری

گروه به دلیل نرمال بودن توزیع توسط آزمون تی مستقل انجام شد. برای اندازه‌گیری اثر مداخله توسط الگوی خطی عمومی (general linear model)، مقادیر قبل از مداخله و وزن اولیه به عنوان کوواریت و مقادیر پس از مداخله به عنوان متغیر وابسته قرار داده شد. همچنین در مقایسه میزان دریافت‌های غذایی تغییرات دریافت کالری به عنوان موواریت قرار گرفت. مقادیر p به صورت دو طرفه محاسبه و $P < 0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد. از نرم افزار SPSS ورژن 19 برای آنالیز آماری استفاده شد.

اجرای این پژوهش توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شیراز به شماره IR.SUMS.REC.1394.43 تأیید شده و در سامانه ثبت کارآزمایی بالینی ایران (www.irct.ir) با کد IRCT201506222480N6 ثبت گردیده است.

• یافته‌ها

92 داوطلب وارد مطالعه شدند و به صورت مساوی در دو گروه 46 نفری جنیستین (32 مرد و 14 زن) و دارو نما (33 مرد و 13 زن) قرار گرفتند و در نهایت 41 نفر در گروه جنیستین و 37 نفر در گروه دارو نما نفر مطالعه را با موفقیت به پایان رساندند (تصویر 1). توزیع بیماران از لحاظ شدت بیماری در دو گروه یکسان بود ($p=0/65$). در طول مداخله هیچ یک از بیماران دچار عارضه جدی نشدند و تنها یک نفر در گروه دارونما و یک نفر در گروه دریافت کننده جنیستین تحریک خفیف معده را گزارش کردند.

بررسی متغیرها نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میانگین شدت بیماری، جنس، سن، قد، شاخص توده بدنی، دور کمر و دور باسن بیماران در ابتدای مطالعه بین گروه‌ها وجود نداشت و تنها وزن در گروه جنیستین به صورت معنی‌داری بالاتر بود (جدول 1). بررسی نتایج حاصل از پرسشنامه‌های یادآمد غذایی 24 ساعته نشان داد تنها دریافت چربی در طول مداخله در هر دو گروه کاهش داشت که این تغییرات در مقایسه بین گروهی معنی‌دار نبود. میزان فعالیت فیزیکی IPAQ نیز، قبل و پس از مداخله، تفاوت معنی‌داری را بین دو گروه نشان نداد (جدول 2).

پرسشنامه (International Physical Activity Questionnaire) در ابتدا و انتهای مطالعه تکمیل گردید و بر اساس معادل متابولیکی در دقیقه در هفته (MET-min/Week) گزارش گردید (20).

پس از 12 ساعت ناشتای شبانه 5 سی سی خون از بیماران گرفته و همچنین اندازه گیری‌های تن سنجی شامل قد، وزن، دور کمر، دور باسن بر اساس راهنمای WHO انجام شد (21). شاخص توده بدنی (BMI) با تقسیم وزن به کیلوگرم بر مجذور قد به متر مربع و نسبت دور کمر به باسن (WHR) از تقسیم دور کمر به دور باسن محاسبه شد.

نمونه‌های خونی گرفته شده پس از 10 دقیقه سانتریفیوژ در 4000 rpm و سرم جدا شده تا زمان تعیین مقادیر مورد مطالعه در دمای 80- سانتی‌گراد نگهداری شدند. میزان قند، ALT، AST سرم با استفاده از کیت اندازه‌گیری (پارس آزمون، ایران) و به وسیله روش کالریمتریک توسط دستگاه اتوآنالایزر (BT1500، بیوتکنیکا، ایتالیا) اندازه‌گیری شد. غلظت انسولین سرمی با روش الایزا توسط کیت (Monobind، آمریکا) با حساسیت $0/75 \mu\text{IU/ml}$ انجام شد. شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR) با استفاده از معادله انسولین ناشتا ($\text{mU/L} \times \text{glucose (mg/dL)}$) تقسیم بر 405 درصد عملکرد سلول‌های بتا پانکراس ($\text{HOMA-}\beta$) با استفاده از فرمول $360 \times \text{fasting glucose (mg/dL)} / \text{fasting insulin (}\mu\text{U/L)}$ -63 و در نهایت شاخص حساسیت به انسولین (QUICKI) بر اساس معادله $1 / \log(\text{fasting glucose (mg/dL)}) + \log(\text{fasting insulin (}\mu\text{U/L)})$ محاسبه گردید.

حجم نمونه این مطالعه بر اساس مطالعه Jayagopal و همکاران (22) و با توان 80 درصد و با هدف کاهش 10 درصدی شاخص HOAM-IR پس از 8 هفته مداخله و احتساب 10 درصد ریزش 90 نفر تعیین شد. جهت مقایسه توزیع جنسیت و شدت بیماری در دو گروه از آزمون کای اسکور استفاده شد. توزیع داده‌ها توسط آزمون کلوموگروف - اسمیرنوف ارزیابی شد. میانگین و انحراف معیار متغیرهای کمی محاسبه گردید و با مقادیر قبل از مداخله هر گروه توسط آزمون‌های تی زوجی مقایسه گردید. مقایسه بین متغیرهای دو

جدول 1. مقایسه میانگین شاخص‌های آنترپومتری در گروه جنیستئین و دارو نما قبل از مداخله

متغیر	گروه دریافت کننده جنیستئین	گروه دریافت کننده دارو نما (n=46)	P-value
شدت استئاتوزیس (سطح)	38 نفر سطح 2	39 نفر سطح 2	*0/51
جنسیت (مرد/زن)	32 مرد 14 زن	33 مرد 13 زن	*0/43
سن (سال)	44/22 ± 11/80	42/94 ± 9/55	€0/60
قد (سانتی متر)	167/43 ± 8/85	164/36 ± 9/34	€0/14
وزن (کیلوگرم)	81/60 ± 14/73	74/92 ± 11/51	€0/03
BMI (کیلوگرم/مجدور قد به متر)	29/09 ± 4/67	27/83 ± 4/51	€0/23
دور کمر (سانتی متر)	95/62 ± 10/24	92/75 ± 11/09	€0/24
دور باسن (سانتی متر)	103/93 ± 12/10	101/92 ± 14/31	€0/34

*آزمون کای اسکور

€آزمون تی مستقل

جدول 2. میانگین و انحراف معیار دریافت‌های خوراکی و فعالیت فیزیکی در افراد مورد مطالعه

متغیر	پیش از مداخله	پس از مداخله	P-value ¹	پیش از مداخله	پس از مداخله	P-value ¹	p-value ²
انرژی دریافتی (کیلو)	1380/88 ± 559/49	1124/55 ± 535/57	0/07	1351/07 ± 757/92	1187/50 ± 559/06	0/25	0/60
کربوهیدرات (گرم)	111/02 ± 229/36	140/20 ± 202/62	0/36	168/92 ± 237/94	135/67 ± 213/23	0/44	0/97
پروتئین (گرم)	24/72 ± 48/88	23/00 ± 40/45	0/09	18/47 ± 44/11	19/43 ± 42/55	0/72	0/75
چربی کل (گرم)	19/81 ± 29/35	12/42 ± 21/45	0/02	26/05 ± 29/02	11/47 ± 22/23	0/01	0/80
چربی اشباع (گرم)	11/95 ± 5/87	5/29 ± 6/51	0/04	19/17 ± 10/16	6/16 ± 7/46	0/02	0/49
چربی چند غیر اشباع	5/31 ± 3/82	4/68 ± 2/78	0/28	3/32 ± 4/31	2/27 ± 2/33	0/17	0/31
چربی تک غیر اشباع	2/55 ± 1/97	2/45 ± 0/54	0/33	3/56 ± 5/25	3/04 ± 2/61	0/40	0/62
فیبر (گرم)	10/90 ± 14/77	11/00 ± 14/06	0/75	11/76 ± 13/72	11/18 ± 12/56	0/60	0/37
فعالیت فیزیکی	674/76 ± 790/83	671/22 ± 823/65	0/68	686/89 ± 620/57	793/08 ± 731/51	0/32	0/60

1 آزمون تی زوجی

2 آزمون الگوی خطی عمومی

طبق نتایج مطالعه که در جدول 3 مشاهده می‌گردد میزان وزن و شاخص توده بدنی در هیچ کدام از گروه‌ها نسبت به قبل از مداخله کاهش معنی‌داری نداشت و این تغییرات در مقایسه بین گروهی نیز معنی‌دار نبود. میزان دور کمر در گروه جنیستئین نسبت به ابتدای مطالعه کاهش معنی‌داری داشت ($p < 0/001$) در صورتی که چنین تغییری در گروه دارو نما مشاهده نگردید. همچنین در مقایسه بین گروهی کاهش دور کمر ($p = 0/04$) و WHR ($p = 0/02$) در گروه جنیستئین معنی‌دار بود.

میزان قند خون ناشتا در هیچ یک از گروه‌ها تغییر معنی‌داری نسبت به قبل از مداخله نداشت. اما میزان انسولین ناشتا ($p = 0/003$) و HOMA-IR ($p = 0/007$) در گروه مصرف کننده جنیستئین نسبت به مقادیر پیش از مداخله کاهش

معنی‌داری داشتند. از طرفی در گروه کنترل، تغییری در هیچ یک از این شاخص‌ها مشاهده نشد. در نهایت در مقایسه با دارو نما، جنیستئین موجب کاهش معنی‌دار انسولین ناشتا ($p = 0/04$) و HOMA-IR ($p = 0/04$) شد. جنیستئین توانست موجب افزایش شاخص حساسیت به انسولین در مقایسه با ابتدای مطالعه و گروه کنترل شود ($p = 0/008$). شاخص عملکرد سلول‌های بتا پانکراس در هیچ یک از گروه‌ها تغییر معنی‌داری نداشت. بررسی تغییرات ALT و AST در هر دو گروه حاکی از عدم تغییر معنی‌دار نسبت به مقادیر قبل از مداخله می‌باشد ($p > 0/05$).

در نهایت بر اساس تعداد مکمل‌های بازگردانده شده در گروه‌های جنیستئین ($2/00 \pm 1/53$) و دارو نما ($2/27 \pm 1/50$), میزان پیروی از مداخله تفاوت معنی‌داری نداشت ($p = 0/43$).

جدول 3. میانگین و انحراف معیار شاخص‌های تن سنجی و متابولیک در افراد مورد مطالعه پیش و پس از مداخله

متغیر	گروه دریافت کننده جنیستین			گروه دریافت کننده دارو نما			P-value	اندازه اثر
	پیش از مداخله	پس از مداخله	P-value	پیش از مداخله	پس از مداخله	P-value		
وزن (کیلوگرم)	81/60 ± 14/73	81/07 ± 15/05	0/43	74/92 ± 11/51	75/78 ± 12/04	0/41	0/25	-1/21
BMI (کیلوگرم/مجدور قد به	29/09 ± 4/67	28/89 ± 4/83	0/32	27/83 ± 4/51	28/18 ± 4/96	0/37	0/16	-0/54
دور کمر (سانتی متر)	95/62 ± 10/24	94/45 ± 10/49	0/001	92/75 ± 11/09	92/56 ± 10/69	0/58	0/04	-0/90
WHR	0/92 ± 0/06	0/91 ± 0/07	0/10	0/91 ± 0/04	0/92 ± 0/05	0/04	0/02	-0/01
FBS (mg/dL)	104/44 ± 12/05	104/02 ± 12/40	0/79	104/79 ± 28/95	111/06 ± 61/45	0/63	0/12	-6/47
انسولین ناشتا (mU/L)	112/36 ± 22/45	102/58 ± 12/36	0/003	112/19 ± 14/73	111/06 ± 12/04	0/63	0/04	-2/74
HOMA-IR	4/17 ± 1/01	3/78 ± 0/73	0/007	4/25 ± 1/74	4/27 ± 2/47	0/93	0/04	-0/39
QUICKI	0/31 ± 0/01	0/32 ± 0/01	0/01	0/31 ± 0/01	0/31 ± 0/01	0/53	0/008	0/005
HOMA-β	151/00 ± 46/15	137/92 ± 39/93	0/06	163/43 ± 55/06	156/17 ± 52/58	0/36	0/18	-11/88
ALT (U/L)	48/22 ± 37/95	41/83 ± 31/85	0/06	37/26 ± 24/85	36/51 ± 27/44	0/59	0/53	-2/46
AST (U/L)	32/95 ± 17/29	31/46 ± 16/22	0/41	28/74 ± 14/46	26/35 ± 12/35	0/10	0/26	2/43

1 آزمون تی زوجی

2 آزمون الگوی خطی عمومی

• بحث

بر اساس اطلاعات جستجو شده، پژوهش حاضر اولین مطالعه انسانی با هدف بررسی اثر مکمل جنیستین بر روی بیماران مبتلا به کبد چرب غیر الکلی می‌باشد. در این مطالعه مصرف 250 میلی‌گرم جنیستین با خلوص بالا موجب کاهش سطح انسولین ناشتا و شاخص مقاومت به انسولین بیماران مبتلا NAFLD شد. همچنین افزایش معنی‌داری در شاخص حساسیت به انسولین در بیماران دریافت کننده جنیستین مشاهده شد. به علاوه جنیستین قادر بود دور کمر و نسبت دور کمر به دور باسن را در این بیماران به صورت معنی‌داری بهبود بخشد. با این وجود تغییری در قند خون ناشتا، میزان عملکرد سلول‌های بتا و آنزیم‌های کبدی مشاهده نگردید.

افزایش نقص در متابولیسم گلوکز به عنوان یکی از اساسی‌ترین پیش زمینه‌های ایجاد کبد چرب غیر الکلی با پیشرفت بیماری و ایجاد فیروز در ارتباط است و اصلاح این شرایط بخشی اساسی در درمان NAFLD می‌باشد (23). مطالعات پیشین نتایج متناقضی را در مورد عملکرد جنیستین در بهبود متابولیسم گلوکز ارائه کرده اند. کاهش انسولین ناشتا و HOMA-IR در این مطالعه همسو با یافته‌های چند کارآزمایی بالینی می‌باشد که اثر 54 میلی‌گرم مکمل جنیستین را بر روی زنان یائسه بررسی کرده بودند (24-26). اما بر خلاف این پژوهش‌ها که کاهش گلوکز ناشتا پس از

مداخله را گزارش کرده‌اند، در این مطالعه چنین تغییری را در گروه دریافت کننده جنیستین شاهد نبودیم. بخشی از این تفاوت‌ها می‌تواند ناشی از مدت زمان مداخله باشد. بر خلاف سه مطالعه اخیر که مدت زمان مداخله حداقل 6 ماه بود، مطالعه حاضر در 8 هفته انجام شد و این تفاوت زمان مداخله می‌تواند بر میزان اثر گذاری جنیستین بر سطح گلوکز ناشتا و مقاومت به انسولین مؤثر باشد (27). مکانیسم‌های پیشنهادی که جنیستین می‌تواند اثرات مفید خود را در کنترل گلیسمیک اعمال کند شامل افزایش برداشت گلوکز از طریق جا به جایی ناقل‌های GLUT4 به سطح غشای سلول باشد. به نظر می‌رسد جنیستین از طریق فسفاتیدیل 3-کیناز و پروتئین کیناز C در مسیر انتقال پیام انسولین این تغییرات را اعمال می‌کند (28). از طرفی در شرایطی مانند NAFLD که سطوح سایتوکین‌های پیش التهابی افزایش می‌یابد، نوعی کاهش حساسیت به انسولین ناشی از اثر این سایتوکین‌ها بر روی گیرنده‌های انسولین ایجاد می‌شود. جنیستین با فعال‌سازی AMPK (adenosine-monophosphate-5'-activated protein kinase) و تقویت فسفریلاسیون تیروزین روی IRS-1 (Insulin receptor substrate-1) حساسیت به انسولین را افزایش دهد (29). اتفاقی که با نتایج مطالعه حال حاضر در بهبود شاخص حساسیت به انسولین هم خوانی دارد.

عدم تغییر در عملکرد سلول‌های بتا به این معناست که جنیستین با افزایش حساسیت به انسولین قند خون را با ترشح مقادیر کمتر انسولین در سطح قبل از مداخله نگه داشته است. اگرچه Fu و همکاران بیان داشته اند که جنیستین می‌تواند حفظ بقای سلول‌های بتای پانکراس شود اما پژوهش حاضر به چنین نتیجه‌ای دست نیافت. یکی از دلایل ایجاد این تفاوت می‌تواند ناشی از طراحی پژوهش Fu باشد، چون این مطالعه صرفاً به صورت *in vitro* بر روی سلول‌های بتای پانکراس انسانی انجام شده و هموستاز کامل گلوکز در آن شبیه سازی نشده بود.

در مطالعه حاضر، تغییر معنی‌داری در شاخص عملکرد سلول‌های بتا مشاهده نشد و این امر را می‌توان در کنار تثبیت غلظت گلوکز ناشتا و کاهش سطح انسولین سرمی منطقی دانست. به بیان دیگر، جنیستین با افزایش حساسیت به انسولین، سطح قند خون را با صرف انسولین کمتری تثبیت کرده است. پژوهش‌های علمی در زمینه تأثیر جنیستین بر روی تکثیر و عملکرد سلول‌های بتا به مطالعات *in vitro* محدود می‌شود. Liu و همکاران (30) در بررسی‌های خود اثرات مثبتی را در تکثیر این سلول‌ها و تحریک ترشح انسولین گزارش کرده اند. اما مطالعاتی نظیر مطالعه Persaud و همکاران (31) نیز وجود دارند که بر اثر جنیستین در مهار ترشح انسولین تأکید دارند و این اثر را ناشی از مهار پروتئین کیناز توسط جنیستین می‌داند. با وجود عدم تغییر HOMA- β در مطالعه حاضر، کاهش نزدیک به معنی‌داری در گروه دریافت کننده جنیستین نسبت به پیش از مداخله مشاهده شد که تا حدودی با نتایج پژوهش Persaud همسو می‌باشد.

کاهش معنی‌دار دور کمر و WHR که در گروه دریافت کننده جنیستین نسبت به دارو نما مشاهده شد می‌تواند حاکی از تغییرات در متابولیسم چربی ناشی از مصرف جنیستین باشد. این نتایج هم سو با نتایج مطالعه Squadrito و همکاران (16) می‌باشد که بر روی زنان یائسه مبتلا به سندرم متابولیک انجام شد و تجویز روزانه 54 میلی گرم جنیستین به مدت یک سال موجب کاهش دور کمر شد. مطالعات بر روی مدل‌های حیوانی مبتلا به اضافه وزن نشان داده، جنیستین با افزایش بیان ژن‌های مرتبط با کاتابولیسم اسیدهای چرب شامل proliferator-activated receptor

AMPK (PPAR α)، و آسیل کوآ دهیدروژناز بلند زنجیر و همچنین کاهش بیان ژن‌های دخیل در لیپوژنز نظیر sterol-regulatory element-binding protein-1c (SREBP1-c)، PPAR γ و آسیل کوآ کربوکسیلاز 2 در کاهش توده چربی نقش ایفا می‌کند (32-34). با وجودی که هیچ یک از گروه‌ها تغییر معنی‌داری را در آنزیم‌های کبدی شاهد نبودند، اما کاهش نزدیک به معنی‌دار ALT در گروه جنیستین نسبت به مقادیر پیش از مداخله قابل توجه است. این نتایج اگرچه با بسیاری از مطالعات مربوط به مدل‌های حیوانی مبتلا به NAFLD که کاهش آنزیم‌های کبدی پس از تجویز جنیستین را گزارش کرده بودند همسو نیست، اما شاید این تفاوت با توجه به سطوح نزدیک به نرمال آنزیم‌های کبدی در گروه جنیستین قابل توضیح باشد. همان گونه که Mohamed Salih و همکاران (15) گزارش کرده‌اند، جنیستین تنها زمانی مؤثر است که سطوح آنزیم‌های کبدی افزایش داشته باشد.

نقاط قوت این طرح شامل عدم استفاده بیماران از داروهای پایین آورنده چربی خون و قند خون و کنترل دریافت غذایی و فعالیت بدنی داوطلبان جهت جلوگیری از تداخل این شاخص‌ها با نتایج مطالعه بود. از محدودیت‌های این طرح می‌توان به عدم استفاده از روش‌های تصویر برداری دقیق از کبد اشاره کرد.

با استناد به یافته‌های این مطالعه، می‌توان این گونه نتیجه‌گیری کرد که مکمل جنیستین با بهبود مقاومت به انسولین و ارتقا حساسیت به انسولین در کنار کاهش توده چربی در بیماران مبتلا به کبد چرب غیر الکلی، ممکن است بتواند به عنوان درمان تکمیلی در کنار سایر روش‌های تأیید شده درمانی در این بیماران مد نظر قرار گرفته شود. طبعاً با توجه به تازگی این مطالعه پیشنهاد می‌گردد برای شناخت مکانیسم‌های میانجی بین مصرف جنیستین و بهبود مقاومت به انسولین مطالعات بیشتری انجام شود.

سپاسگزاری: طرح پژوهشی حاضر با شماره 8653 به تصویب دانشگاه علوم پزشکی شیراز رسیده و تأمین اعتبار شده است. از آقای مهدی بنیانی، مسئول محترم آزمایشگاه دانشکده تغذیه و علوم غذایی شیراز جهت همکاری در اجرای بخش‌های آزمایشگاهی این مطالعه قدردانی می‌شود.

در مطالعه حاضر، تغییر معنی‌داری در شاخص عملکرد سلول‌های بتا مشاهده نشد و این امر را می‌توان در کنار تثبیت غلظت گلوکز ناشتا و کاهش سطح انسولین سرمی منطقی دانست. به بیان دیگر، جنیستین با افزایش حساسیت به انسولین، سطح قند خون را با صرف انسولین کمتری تثبیت کرده است. پژوهش‌های علمی در زمینه تأثیر جنیستین بر روی تکثیر و عملکرد سلول‌های بتا به مطالعات *in vitro* محدود می‌شود. Liu و همکاران (30) در بررسی‌های خود اثرات مثبتی را در تکثیر این سلول‌ها و تحریک ترشح انسولین گزارش کرده اند. اما مطالعاتی نظیر مطالعه Persaud و همکاران (31) نیز وجود دارند که بر اثر جنیستین در مهار ترشح انسولین تأکید دارند و این اثر را ناشی از مهار پروتئین کیناز توسط جنیستین می‌داند. با وجود عدم تغییر HOMA- β در مطالعه حاضر، کاهش نزدیک به معنی‌داری در گروه دریافت کننده جنیستین نسبت به پیش از مداخله مشاهده شد که تا حدودی با نتایج پژوهش Persaud همسو می‌باشد.

کاهش معنی‌دار دور کمر و WHR که در گروه دریافت کننده جنیستین نسبت به دارو نما مشاهده شد می‌تواند حاکی از تغییرات در متابولیسم چربی ناشی از مصرف جنیستین باشد. این نتایج هم سو با نتایج مطالعه Squadrito و همکاران (16) می‌باشد که بر روی زنان یائسه مبتلا به سندرم متابولیک انجام شد و تجویز روزانه 54 میلی گرم جنیستین به مدت یک سال موجب کاهش دور کمر شد. مطالعات بر روی مدل‌های حیوانی مبتلا به اضافه وزن نشان داده، جنیستین با افزایش بیان ژن‌های مرتبط با کاتابولیسم اسیدهای چرب شامل proliferator-activated receptor

کاهش معنی‌دار دور کمر و WHR که در گروه دریافت کننده جنیستین نسبت به دارو نما مشاهده شد می‌تواند حاکی از تغییرات در متابولیسم چربی ناشی از مصرف جنیستین باشد. این نتایج هم سو با نتایج مطالعه Squadrito و همکاران (16) می‌باشد که بر روی زنان یائسه مبتلا به سندرم متابولیک انجام شد و تجویز روزانه 54 میلی گرم جنیستین به مدت یک سال موجب کاهش دور کمر شد. مطالعات بر روی مدل‌های حیوانی مبتلا به اضافه وزن نشان داده، جنیستین با افزایش بیان ژن‌های مرتبط با کاتابولیسم اسیدهای چرب شامل proliferator-activated receptor

• References

- Adams LA, Sanderson S, Lindor KD, Angulo P. The histological course of nonalcoholic fatty liver disease: a longitudinal study of 103 patients with sequential liver biopsies. *J Hepatol*. 2005;42(1):132-8.
- Musso G, Gambino R, Cassader M, Pagano G. A meta-analysis of randomized trials for the treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2010;52(1):79-104.
- Amarapurkar D, Kamani P, Patel N, Gupte P, Kumar P, Agal S, et al. Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease: population based study. *Ann Hepatol*. 2007;6(3):161-3.
- Eshraghian A, Dabbaghmanesh MH, Eshraghian H, Fattahi MR, Omrani GR. Nonalcoholic fatty liver disease in a cluster of Iranian population: thyroid status and metabolic risk factors. *Arch Iran Med*. 2013;16(10):584-9.
- Ong JP, Pitts A, Younossi ZM. Increased overall mortality and liver-related mortality in non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2008;49(4):608-12.
- Leite NC, Salles GF, Araujo AL, Villela-Nogueira CA, Cardoso CR. Prevalence and associated factors of non-alcoholic fatty liver disease in patients with type-2 diabetes mellitus. *Liver International*. 2009;29(1):113-9.
- Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011;34(3):274-85.
- Nascimbeni F, Pais R, Bellentani S, Day CP, Ratzliff V, Loria P, et al. From NAFLD in clinical practice to answers from guidelines. *J Hepatol*. 2013;59(4):859-71.
- Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice guideline by the American Gastroenterological Association, American Association for the Study of Liver Diseases, and American College of Gastroenterology. *Gastroenterology*. 2012;142(7):1592-609.
- Adlercreutz H, Markkanen H, Watanabe S. Plasma concentrations of phyto-oestrogens in Japanese men. *The Lancet*. 1993;342(8881):1209-10.
- Crouse JR, Morgan T, Terry JG, Ellis J, Vitols M, Burke GL. A randomized trial comparing the effect of casein with that of soy protein containing varying amounts of isoflavones on plasma concentrations of lipids and lipoproteins. *Arch Intern Med*. 1999;159(17):2070-6.
- Park SA, Choi M-S, Cho S-Y, Seo J-S, Jung UJ, Kim M-J, et al. Genistein and daidzein modulate hepatic glucose and lipid regulating enzyme activities in C57BL/KsJ-db/db mice. *Life Sci*. 2006;79(12):1207-13.
- Incir S, Bolayirli IM, Inan O, Aydın MS, Bilgin IA, Sayan I, et al. The effects of genistein supplementation on fructose induced insulin resistance, oxidative stress and inflammation. *Life Sci*. 2016;158:57-62.
- Choi JS, Song J. Effect of genistein on insulin resistance, renal lipid metabolism, and antioxidative activities in ovariectomized rats. *Nutrition*. 2009;25(6):676-85.
- Mohamed Salih S, Nallasamy P, Muniyandi P, Periyasami V, Carani Venkatraman A. Genistein improves liver function and attenuates non-alcoholic fatty liver disease in a rat model of insulin resistance. *J Diabetes*. 2009;1(4):278-87.
- Squadrito F, Marini H, Bitto A, Altavilla D, Polito F, Adamo EB, et al. Genistein in the metabolic syndrome: results of a randomized clinical trial. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98(8):3366-74.
- Irace C, Marini H, Bitto A, Altavilla D, Polito F, Adamo EB, et al. Genistein and endothelial function in postmenopausal women with metabolic syndrome. *Eur J Clin Invest*. 2013;43(10):1025-31.
- Behloul N, Wu G. Genistein: a promising therapeutic agent for obesity and diabetes treatment. *Eur J Pharmacol*. 2013;698(1):31-8.
- Klein S, Sheard NF, Pi-Sunyer X, Daly A, Wylie-Rosett J, Kulkarni K, et al. Weight Management Through Lifestyle Modification for the Prevention and Management of Type 2 Diabetes: Rationale and Strategies A statement of the American Diabetes Association, the North American Association for the Study of Obesity, and the American Society for Clinical Nutrition. *Diabetes Care*. 2004;27(8):2067-73.
- Moghaddam MHB, Aghdam FB, Jafarabadi MA, Allahverdi-pour H, Nikookheslat SD, Safarpour S. The Iranian version of international physical activity questionnaire (IPAQ) in Iran: content and construct validity, factor structure, internal consistency and stability. *World Appl Sci*. 2012;1073-80.
- Organization WH. Physical status: The use of and interpretation of anthropometry, Report of a WHO Expert Committee. 1995.
- Jayagopal V, Albertazzi P, Kilpatrick ES, Howarth EM, Jennings PE, Hepburn DA, et al. Beneficial effects of soy phytoestrogen intake in postmenopausal women with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2002;25(10):1709-14.
- Vernon G, Baranova A, Younossi Z. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011;34(3):274-85.
- Crisafulli A, Altavilla D, Marini H, Bitto A, Cucinotta D, Frisina N, et al. Effects of the phytoestrogen genistein on cardiovascular risk factors in postmenopausal women. *Menopause*. 2005;12(2):186-92.
- Atteritano M, Marini H, Minutoli L, Polito F, Bitto A, Altavilla D, et al. Effects of the phytoestrogen genistein on some predictors of cardiovascular risk in osteopenic, postmenopausal women: a two-year randomized, double-blind, placebo-controlled study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2007;92(8):3068-75.
- Villa P, Costantini B, Suriano R, Perri C, Macrì F, Ricciardi L, et al. The differential effect of the phytoestrogen genistein on cardiovascular risk factors in postmenopausal women: relationship with the metabolic

- status. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2009;94(2):552-8.
27. Liu Y, Li J, Wang T, Wang Y, Zhao L, Fang Y. The effect of genistein on glucose control and insulin sensitivity in postmenopausal women: A meta-analysis. *Maturitas*. 2016.
28. Ha BG, Nagaoka M, Yonezawa T, Tanabe R, Woo JT, Kato H, et al. Regulatory mechanism for the stimulatory action of genistein on glucose uptake in vitro and in vivo. *J Nutr Biochem*. 2012;23(5):501-9.
29. Arunkumar E, Anuradha CV. Genistein promotes insulin action through adenosine monophosphate-activated protein kinase activation and p70 ribosomal protein S6 kinase 1 inhibition in the skeletal muscle of mice fed a high energy diet. *Nutr Res*. 2012;32(8):617-25.
30. Liu D, Zhen W, Yang Z, Carter JD, Si H, Reynolds KA. Genistein acutely stimulates insulin secretion in pancreatic β -cells through a cAMP-dependent protein kinase pathway. *Diabetes*. 2006;55(4):1043-50.
31. Persaud S, Harris T, Burns C, Jones P. Tyrosine kinases play a permissive role in glucose-induced insulin secretion from adult rat islets. *J Mol Endocrinol*. 1999;22(1):19-28.
32. Kim M-H, Kang K-S, Lee Y-S. The inhibitory effect of genistein on hepatic steatosis is linked to visceral adipocyte metabolism in mice with diet-induced non-alcoholic fatty liver disease. *Br J Nutr*. 2010;104(09):1333-42.
33. Lee YM, Choi JS, Kim MH, Jung MH, Lee YS, Song J. Effects of dietary genistein on hepatic lipid metabolism and mitochondrial function in mice fed high-fat diets. *Nutrition*. 2006;22(9):956-64.
34. Huang C, Qiao X, Dong B. Neonatal exposure to genistein ameliorates high-fat diet-induced non-alcoholic steatohepatitis in rats. *Br J Nutr*. 2011;106(1):105-13.

Effect of Genistein Supplementation on Insulin Sensitivity, Insulin Resistance, and Beta Cells function Index in Patients with Non-alcoholic Fatty Liver Disease: A Randomized, Controlled Trial

Amanat S¹, Eftekhari M.H^{*2}, Bagheri Lankarani K³, Fararouei M⁴

1- Graduated Msc Student, Nutrition Research Center, Dept. of Clinical Nutrition, School of Nutrition and Food Sciences, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

2 -*Corresponding author: Professor, Dept. of Clinical Nutrition, Nutrition Research Center, School of Nutrition and Food Sciences, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran. Email: h_eftekhari@yahoo.com

3- Professor, Health Policy Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

4- Associate Professor, Shiraz HIV/AIDS Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

Received 5 Mar, 2017

Accepted 25 Jun, 2017

Background and Objective: Excess fat accumulation in the liver can be seen in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). This condition is closely associated with insulin resistance and abdominal obesity. Genistein, one of the major isoflavones, can improve glucose and fat metabolism. The aim of this study was to assess the effect of genistein supplementation on insulin sensitivity, insulin resistance and beta cell function index in NAFLD patients.

Materials and methods: a randomized double-blind clinical trial was done by recruiting ninety-two NAFLD patients for 8 weeks. Participants were assigned to either genistein group, which received daily 250 mg of genistein, or placebo group. All participants received nutritional and physical activity consultation. Anthropometric factors, liver enzymes, fasting blood sugar and insulin were measured. Finally, insulin resistance, insulin sensitivity, and beta cell function were calculated.

Results: Genistein reduced fasting insulin, insulin resistance and insulin sensitivity in comparison with the placebo group. In addition, waist-hip ratio was reduced in the genistein group while no significant changes were observed in BMI, fasting glucose, beta cell function and liver enzymes in genistein groups.

Discussion: this study showed that 8 weeks supplementation with daily 250 mg of Genistein in NAFLD patients, improved insulin resistance, insulin sensitivity, and waist-hip ratio and it can be considered as an effective supplement for these patients in terms of weight management.

Keywords: Non-alcoholic fatty liver, Genistein, Insulin resistance, Insulin sensitivity