

## *trans*-Chalcone protects male rats against high-fat emulsion-induced pancreatic injury by inhibiting TNF- $\alpha$ and MCP-1 expression

Elham Karimi-Sales<sup>1,2</sup>, Mohammad Reza Alipour<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Stem Cell Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

<sup>2</sup>Department of Physiology, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

<sup>3</sup>Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

### ARTICLE INFO

#### Article History:

Received: 14 Mar 2023

Accepted: 9 May 2023

ePublished: 11 Oct 2023

#### Keywords:

- Pancreas
- *Trans*-Chalcone
- High-fat diet
- TNF- $\alpha$
- MCP-1

### Abstract

**Background.** High-fat diet (HFD) intake is linked to ectopic fat deposition in the pancreas. It also causes pancreatic inflammatory lesions. *trans*-Chalcone is a simple chalcone with protective effects against HFD-induced metabolic disorders. This study, for the first time, explored the possible effects of this chalcone on high-fat emulsion-induced pancreatic abnormalities in rats.

**Methods.** Twenty-one male rats were randomly assigned into three groups: control (received 10% tween 80); HFD (received high-fat emulsion+10% tween 80); and HFD + chalcone (received high-fat emulsion+*trans*-chalcone). Real-time PCR was used to assess pancreatic mRNA expression levels of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) and tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in the pancreas of all rats.

**Results.** High-fat emulsion increased the mRNA expression levels of inflammatory biomarkers, including TNF- $\alpha$  and MCP-1 in the pancreas of rats, and treatment with *trans*-chalcone prevented these high-fat emulsion-induced changes.

**Conclusion.** *trans*-Chalcone can protect the pancreas of male rats against HFD-induced abnormalities through its anti-inflammatory effects.

**Practical Implications.** It seems that consumption of HFD up-regulates the production of inflammatory mediators in the pancreas. On the other hand, *trans*-chalcone can ameliorate HFD-related pancreatic inflammation.

**How to cite this article:** Karimi-Sales E, Alipour M R. *trans*-Chalcone protects male rats against high-fat emulsion-induced pancreatic injury by inhibiting TNF- $\alpha$  and MCP-1 expression. *Med J Tabriz Uni Med Sciences*. 2023;45(5): 402-410.doi: 10.34172/mj.2023.042 Persian.

### Extended Abstract

#### Background

The pancreas, as a vital organ, helps digest food and regulates blood glucose levels. Dysfunction of pancreatic cells leads to life-threatening diseases. It is known that obesity is linked to chronic systemic low-level inflammation. Biomarkers of inflammation, such as monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) and tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), are increased in

obesity and its associated insulin resistance. It seems that high-fat diet (HFD) intake causes pancreas lipotoxicity, oxidative stress, and inflammation. Chalcones are known as one of the main classes of the flavonoid family. These compounds act as precursors of isoflavonoids and flavonoids. It has been documented that chalcones have different

\*Corresponding author; Email: alipourmr@tbzmed.ac.ir, alipourmr52@gmail.com

© 2023 The Authors. This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution CC BY 4.0 License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

therapeutic and pharmacological activities. *trans*-Chalcone is a simple chalcone with protective effects against HFD-induced metabolic syndrome, pulmonary inflammation, liver steatosis, and non-alcoholic steatohepatitis (NASH). The present study investigated the possible effects of this chalcone on the expression levels of TNF- $\alpha$  and MCP-1 in the pancreas of high-fat emulsion-fed rats.

## Methods

### Experimental protocol

Twenty-one male Wistar rats (body weight: 210-250 g) were maintained in an environment with controlled conditions (temperature:  $22\pm 2$  °C, light-dark cycle: 12/12 hours, free access to standard food and water). The animals were randomized into three groups (7 rats per group) as follows: 1) Control group: received 10% Tween 80, 2) HFD group: received high-fat emulsion and 10% Tween 80, and 3) HFD+chalcone group: received high-fat emulsion and *trans*-chalcone. Animal treatments were started after the acclimatization period (one week). Then, oral gavages of 10% Tween 80 (2 ml), high-fat emulsion (10 ml/kg), and *trans*-Chalcone (20 mg/kg, dissolved in 10% Tween 80) were carried out for six weeks (once daily). At the end of the treatment periods, overnight fasted (fasting period: 8 h) animals were deeply anesthetized. Then, pancreas and blood samples were collected. The levels of fasting blood glucose were measured utilizing a digital glucometer (Gluko Sure, Star, Taiwan). Pancreas samples were frozen with liquid nitrogen immediately after preparation and kept in a  $-70^{\circ}\text{C}$  freezer for further assays.

### Real-time PCR

Total RNA from homogenized pancreas samples was extracted by RNX-Plus solution kit (Fermentase, Cinagen Co., Tehran, Iran). Then, the synthesis of complementary DNA (cDNA) was done using Thermo Scientific RevertAid Reverse Transcriptase (Thermo Scientific, Waltham, MA). Real-time PCR by SYBR Green PCR Master Mix was performed to detect mRNA expression levels of TNF- $\alpha$  and MCP-1. Also,  $\beta$ -actin was used as a housekeeping gene. Real-time PCR was carried out in a Rotor-Gene 6000

Real-time PCR machine. Relative mRNA expression levels of TNF- $\alpha$  and MCP-1 were analyzed using  $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$  method.

### Statistical analysis

All data were analyzed through GraphPad Prism 7 software (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA). Values were shown as mean  $\pm$  standard deviation (SD). One-way analysis of variance (ANOVA) followed by Turkey's post hoc test were used. A P-value less than 0.05 was considered significant.

## Results

In the present study, treatment with the high-fat emulsion for six weeks significantly ( $P<0.001$ ) increased fasting blood glucose levels in the HFD group compared with the control group. On the contrary, treatment with *trans*-chalcone for six weeks significantly ( $P<0.001$ ) decreased blood glucose levels in the HFD+chalcone group compared with the HFD group. To elucidate whether high-fat emulsion and *trans*-Chalcone modify the mRNA expression levels of inflammatory mediators, including TNF- $\alpha$  and MCP-1, Real-time PCR assay was performed. The results indicated that mRNA expression levels of TNF- $\alpha$  significantly ( $P<0.001$ ) increased in the pancreas of animals in the HFD group compared with the control group. On the contrary, treatment with *trans*-Chalcone significantly inhibited these high-fat emulsion-induced changes in TNF- $\alpha$  mRNA levels. In this case, *trans*-Chalcone significantly ( $P<0.05$ ) decreased the expression levels of this pro-inflammatory cytokine in the HFD+chalcone compared with the HFD group. Similarly, high-fat emulsion significantly ( $P<0.001$ ) increased expression levels of MCP-1 in the pancreas of rats in the HFD group compared with the control group. In contrast, treatment with *trans*-Chalcone significantly ( $P<0.001$ ) reduced MCP-1 mRNA levels in the HFD+chalcone group compared with the HFD group.

## Conclusion

In the present study, consumption of high-fat emulsion caused pancreas inflammation in male rats,

which was reflected by up-regulation of MCP-1 and TNF- $\alpha$  mRNA expression levels. On the other hand, *trans*-chalcone effectively inhibited these high-fat emulsion-induced pancreatic changes. Rebours et al. proposed that chronic HFD led to pancreatic inflammation and pancreatopathy in rats. It seems that MCP-1 is involved in the inflammation and fibrosis in the pancreas. Up-regulation of this chemokine has been observed during acute and chronic pancreatitis both in animal and human

studies. In the pancreas, MCP-1 is secreted in response to pro-inflammatory stimuli such as TNF- $\alpha$ . Besides, it has been suggested that MCP-1 increases adipogenic genes expression and reduces insulin-stimulated uptake of glucose. Therefore, the down-regulation of MCP-1 could be a key mechanism for the protective role of *trans*-chalcone against chronic pancreatopathy. Overall, we witnessed the protective effects of *trans*-chalcone on pancreatic abnormalities in high-fat emulsion-fed animals.

## محافظت ترانس-چالکون از موش‌های صحرایی نر در برابر آسیب پانکراس ناشی از امولسیون پرچرب از طریق مهار بیان TNF- $\alpha$ و MCP-1

الهام کریمی ثالث<sup>۱</sup>، محمد رضا علیپور<sup>۲\*</sup>

<sup>۱</sup>مرکز تحقیقات سلولهای بنیادی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران  
<sup>۲</sup>گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران  
<sup>۳</sup>مرکز تحقیقات کاربردی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

### اطلاعات مقاله

#### سابقه مقاله:

دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۲۳

پذیرش: ۱۴۰۲/۲/۱۹

انتشار برخط: ۱۴۰۲/۷/۱۹

#### کلیدواژه ها:

- پانکراس
- ترانس چالکون
- رژیم غذایی پرچرب
- TNF- $\alpha$
- MCP-1

### چکیده

**زمینه.** مصرف رژیم غذایی پرچرب با رسوب چربی نابجا و بروز التهاب در پانکراس مرتبط است. ترانس چالکون یک چالکون ساده با اثرات محافظتی در برابر اختلالات متابولیکی ناشی از مصرف رژیم غذایی پرچرب است. بنابراین مطالعه برای اولین بار اثرات احتمالی این چالکون بر بیان واسطه‌های التهابی در پانکراس حیوانات تغذیه شده با امولسیون پرچرب را بررسی کرد.

**روش کار.** بیست و یک موش صحرایی نر به طور تصادفی به سه گروه کنترل: دریافت کننده توئین ۸۰ (۱۰٪)، گروه HFD: دریافت کننده امولسیون پرچرب و توئین ۸۰ (۱۰٪) و گروه HFD + Chalcone: دریافت کننده امولسیون پرچرب و ترانس چالکون تقسیم شدند. تیمارها به مدت ۶ هفته انجام شد. سپس میزان بیان ژن‌های MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1) و TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ ) در پانکراس حیوانات تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب به روش Real-time PCR سنجش شد.

**یافته‌ها.** مصرف امولسیون پرچرب باعث افزایش بیان mRNA بیومارکرهای التهابی شامل TNF- $\alpha$  و MCP-1 در پانکراس موش‌های صحرایی شد و تیمار خوراکی با ترانس چالکون از بروز این تغییرات القا شده توسط امولسیون پرچرب جلوگیری کرد.

**نتیجه‌گیری.** ترانس چالکون از طریق اثرات ضد التهابی آن باعث حفاظت پانکراس موش‌های صحرایی نر در مقابل اختلالات ناشی از مصرف رژیم غذایی پرچرب می‌شود.

**پیامدهای عملی.** به نظر می‌رسد که مصرف رژیم غذایی پرچرب، تولید واسطه‌های التهابی در پانکراس را افزایش می‌دهد. از طرفی، ترانس چالکون توانایی محافظت از پانکراس در برابر التهاب ناشی از مصرف رژیم غذایی پرچرب دارد.

### مقدمه

مرتبط با آن افزایش می‌یابند.<sup>۱،۲</sup> پانکراس یک ارگان حیاتی بدن است که سلول‌های آگزوکراین و اندوکراین دارد. این ارگان در کمک به هضم غذا و تنظیم سطح گلوکز خون نقش دارد. اختلال در عملکرد سلول‌های پانکراس منجر به ایجاد بیماری‌های جدی و تهدید کننده حیات فرد مانند دیابت و سرطان پانکراس می‌شود.<sup>۳</sup> به نظر می‌رسد که مصرف رژیم غذایی پرچرب با لیپوتوکسیسیته، استرس اکسیداتیو و بروز التهاب در پانکراس مرتبط است.<sup>۴،۵</sup> چالکون‌ها یک گروه اصلی از خانواده فلاونوئید هستند که به صورت پیش‌سازهای زیستی برای سنتز فلاونوئیدها و ایزوفلاونوئیدها در گیاهان عمل می‌کنند. مقادیر زیادی از چالکون‌ها در سبزیجات، میوه‌ها و گیاهان خوراکی وجود دارد.

سندرم متابولیک به یکی از جدی‌ترین تهدیدها برای سلامت بشر تبدیل شده است. یکی از ویژگی‌های بارز سندرم متابولیک، التهاب سیستمیک مزمن ناشی از اختلال عملکرد بافتی یا عدم تعادل در هومئوستاز است.<sup>۱</sup> چاقی به عنوان یک عامل مستقل، با التهاب مزمن مرتبط است. این وضعیت التهابی از طریق تولید غیرطبیعی سایتوکاین‌ها و سایر واسطه‌های التهابی و همچنین فعال شدن شبکه‌ای از مسیرهای سیگنالینگ التهابی مشخص می‌گردد.<sup>۳،۴</sup> در این راستا مشخص شده است که بیومارکرهای التهاب مانند MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1) و TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ ) در چاقی و مقاومت به انسولین

\* نویسنده مسؤل: ایمیل: alipourmr@tbzmed.ac.ir, alipourmr52@gmail.com

حق تالیف برای مولفان محفوظ است. این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی تبریز تحت مجوز کپی‌رایت کامنز 4.0 (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

دیجیتال (گلوکو شور، استار، تایوان) اندازه‌گیری شد. نمونه‌های پانکراس بلافاصله بعد از تهیه، با ازت مایع منجمد شده و تا زمان سنجش میزان بیان ژن‌های مورد نظر، در فریزر منفی ۷۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

### سنجش بیان ژن به روش ریل-تایم پی‌سی‌آر (Real-time PCR)

برای تشخیص اثر تغذیه با امولسیون پرچرب و ترانس چالکون بر میزان بیان ژن‌های  $TNF-\alpha$  و MCP-1، ریبونوکلیک اسید (RNA) کل از نمونه‌های هموژن شده پانکراس با استفاده از کیت آر ان ایکس-پلاس (فرمنتاس، شرکت سینازن، تهران، ایران) و بر اساس دستورالعمل کیت مربوطه استخراج شد. دی‌ان‌ای مکمل (cDNA) با استفاده از ترمو ساینترفیک رپورت‌آید ریورس ترنس کریپتاز (ترموساینترفیک، والتام، مریلند) سنتز شد. فرآیند Real-time PCR با استفاده از سایبر گرین پی‌سی‌آر مستر میکس (SYBR Green PCR Master Mix) و در دستگاه روتور-ژن ۶۰۰۰ ریل-تایم پی‌سی‌آر (Rotor-Gene 6000 Real-time PCR) انجام شد.<sup>۱۸</sup> میزان محصولات PCR در مقایسه با ژن رفرنس بتا اکتین نرمالیزه شدند و کمی‌سازی نسبی بر اساس متد  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  صورت گرفت.<sup>۱۹</sup> توالی پرایمرهای مورد استفاده در Real-time PCR در جدول ۱ فهرست شده است.

### آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها و رسم نمودارها توسط نرم‌افزار گراف پد پریسم نسخه ۷ (شرکت نرم‌افزاری گراف‌پد، لا یولا، کالیفرنیا، آمریکا) انجام شد. داده‌های آماری به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار (Mean  $\pm$  SD) ارائه شدند. جهت مقایسه هر یک از متغیرها در چند گروه از تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. مقادیر  $P$  کمتر از ۰/۰۵ از لحاظ آماری معنادار در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

مقادیر گلوکز خون ناشتا در حیوانات گروه‌های مورد بررسی در شکل ۱ نشان داده شده است. گلوکز خون ناشتا در گروه تغذیه شده با امولسیون پرچرب (HFD) به طور معناداری ( $P < 0/001$ ) بالاتر از گروه کنترل بود و تجویز خوراکی ترانس چالکون باعث کاهش معنادار ( $P < 0/001$ ) گلوکز خون در گروه HFD + Chalcone نسبت به گروه HFD شد. نتایج حاصل از آنالیز داده‌های مربوط به میزان بیان mRNA واسطه‌های التهابی شامل  $TNF-\alpha$  و MCP-1 در شکل ۲ نشان داده شده است. بر این اساس، میزان بیان  $TNF-\alpha$  و MCP-1 در پانکراس حیوانات تغذیه شده با امولسیون پرچرب

چالکون‌ها در آزمایشگاه نیز سنتز می‌شوند.<sup>۹،۸</sup> ترانس چالکون (benzylideneacetophenone)، یک چالکون نیمه‌صناعی با ساختار شیمیایی ساده است که اثرات مفیدی مانند محافظت کبدی، ضد چاقی، ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدان و ضددیابتی دارد.<sup>۱۰-۱۶</sup> با این وجود، تاکنون اثرات احتمالی این چالکون بر پانکراس در شرایط تغذیه با رژیم غذایی پرچرب بررسی نشده است.

بنابراین، با توجه به اثرات مفید ترانس چالکون و با توجه به افزایش سطوح MCP-1 و  $TNF-\alpha$  در جریان التهاب و عوارض ناشی از مصرف رژیم پرچرب، در این مطالعه اثرات ترانس چالکون بر بیان MCP-1 و  $TNF-\alpha$  در پانکراس موش‌های صحرایی نر تغذیه شده با امولسیون پرچرب بررسی شد.

### روش کار

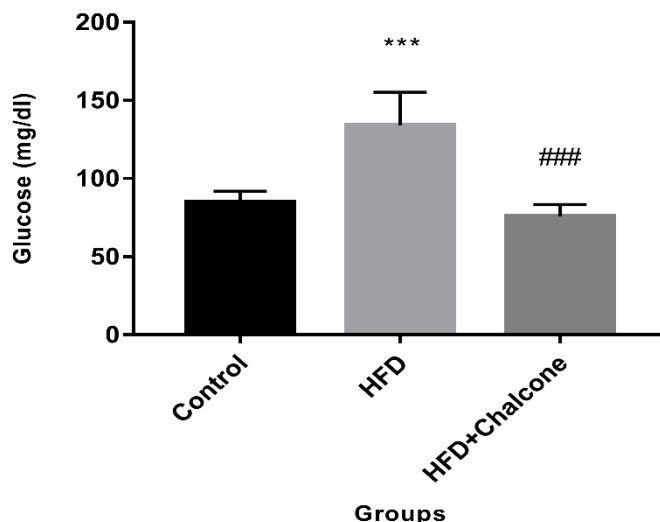
#### حیوانات و گروه‌بندی

بیست و یک موش صحرایی نر وبستار (با وزن ۲۵۰-۲۱۰ گرم) در محیطی با شرایط کنترل شده (دما  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد، چرخه نور و تاریکی ۱۲/۱۲ ساعت) و با دسترسی آزاد به آب و غذای استاندارد نگهداری شدند. حیوانات به طور تصادفی به ۳ گروه (۷ موش در هر گروه) تقسیم شدند: ۱. گروه کنترل: دریافت کننده توئین ۸۰ (۱۰٪)، ۲. گروه HFD: دریافت کننده امولسیون پرچرب و توئین ۸۰ (۱۰٪) و ۳. گروه HFD + Chalcone: دریافت کننده امولسیون پرچرب و ترانس چالکون.<sup>۱۳</sup> حیوانات جهت سازگاری با محیط به مدت ۱ هفته در آزمایشگاه بدون تیمار نگهداری شدند.

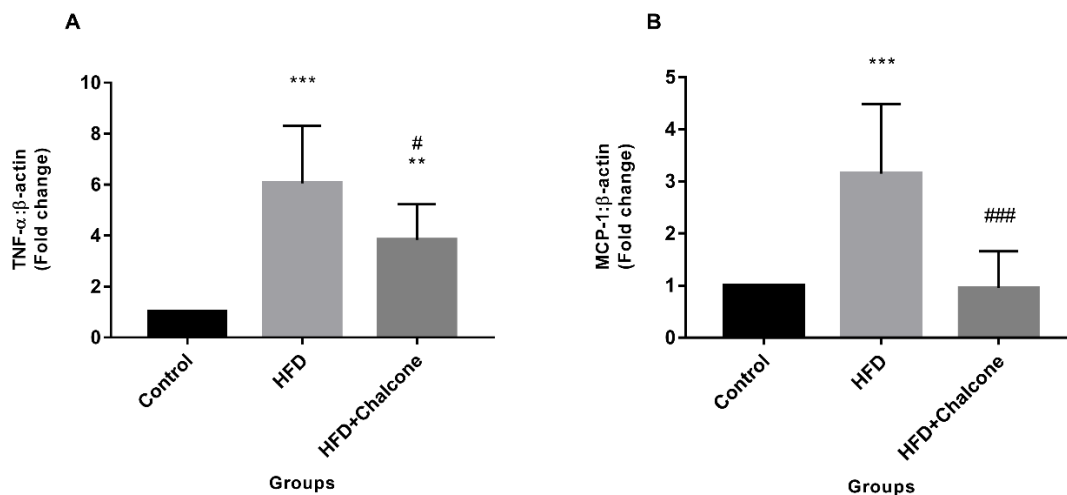
بعد از گذشت مدت سازگاری، گاوآذهای خوراکی توئین ۸۰ (۱۰٪) به حجم ۲ میلی‌لیتر، امولسیون پرچرب (۱۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم) و ترانس چالکون (۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به مدت ۶ هفته (یک بار در روز) در گروه‌های مربوطه انجام شد. علاوه بر این، از توئین ۸۰ (۱۰٪) به عنوان حلال ترانس چالکون استفاده گردید.<sup>۱۳</sup> ترکیبات امولسیون پرچرب شامل روغن ذرت (۴۰۰ گرم)، آب مقطر (۳۰۰ میلی‌لیتر)، پودر کامل شیر (۸۰ گرم)، ساکاروز (۱۵۰ گرم)، کلسترول (۱۰۰ گرم)، سدیم دی‌اکسی‌کولات (۱۰ گرم)، پروپیلن گلیکول (۳۱/۱ گرم)، مخلوط مواد معدنی (۱/۵ گرم)، توئین ۸۰ (۳۶/۴ گرم)، نمک (۱۰ گرم) و مولتی‌ویتامین (۲/۵ گرم) بود.<sup>۱۷</sup> در پایان تیمارها، حیوانات یک شب (به مدت ۸ ساعت) ناشتا نگه داشته شده و صبح روز بعد توسط تزریق داخل صفاقی کتامین و زایلازین به صورت عمیق بیهوش شدند.<sup>۱۳</sup> سپس نمونه‌های خون و پانکراس از تمام حیوانات گروه‌های مورد مطالعه تهیه شد. میزان گلوکز خون ناشتا توسط گلوکومتر

گروه HFD + Chalcone نسبت به گروه HFD شد (شکل ۲-A). به صورت مشابه، گاوژ ترانس چالکون باعث کاهش معنادار MCP-1 بیان در پانکراس حیوانات گروه HFD + Chalcone نسبت به گروه HFD شد (شکل ۲-B).

(گروه HFD) نسبت به حیوانات تغذیه شده با رژیم غذایی استاندارد (گروه کنترل) به صورت معنادار ( $P < 0.001$ ) بیشتر بود (شکل B و ۲-A). از طرف دیگر، تیمار با ترانس چالکون منجر به کاهش معنادار ( $P < 0.05$ ) میزان بیان TNF- $\alpha$  در پانکراس حیوانات



شکل ۱. تأثیر تغذیه با امولسیون پرچرب و تجویز خوراکی ترانس چالکون بر میزان گلوکز خون ناشتا در حیوانات گروه‌های آزمایشی (control: دریافت کننده رژیم غذایی استاندارد و توئین ۸۰، HFD: دریافت کننده امولسیون پرچرب و توئین ۸۰، HFD + Chalcone: دریافت کننده امولسیون پرچرب و ترانس چالکون به مدت ۶ هفته). دادها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار نشان داده شده‌اند. \*\*\*:  $P < 0.001$  در مقایسه با گروه کنترل، ###:  $P < 0.001$  در مقایسه با گروه HFD.



شکل ۲. تأثیر تغذیه با امولسیون پرچرب و تجویز خوراکی ترانس چالکون بر میزان بیان واسطه‌های التهابی شامل TNF- $\alpha$  و MCP-1 در پانکراس حیوانات گروه‌های آزمایشی (control: دریافت کننده رژیم غذایی استاندارد و گاوژ توئین ۸۰، HFD: دریافت کننده امولسیون پرچرب و گاوژ توئین ۸۰، HFD + Chalcone: دریافت کننده امولسیون پرچرب و گاوژ ترانس چالکون به مدت ۶ هفته). داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار نشان داده شده‌اند. MCP-1 (monocyte chemoattractant) و TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ ). \*\*\*:  $P < 0.001$  در مقایسه با گروه کنترل، \*\*:  $P < 0.01$  در مقایسه با گروه کنترل، #:  $P < 0.05$  در مقایسه با گروه HFD، ###:  $P < 0.001$  در مقایسه با گروه HFD.

**بحث**

در مطالعه حاضر، تغذیه اجباری حیوانات با امولسیون پرچرب به مدت ۶ هفته باعث بروز التهاب پانکراس در موش‌های صحرایی نر شد. این التهاب با افزایش میزان بیان mRNA واسطه‌های التهابی شامل MCP-1 و TNF- $\alpha$  در پانکراس مشخص شد.

در مقابل، تجویز خوراکی ترانس چالکون همزمان با امولسیون پرچرب توانست به‌طور مؤثری از افزایش بیان سایتوکاین‌های پیش‌التهابی در پانکراس موش‌های صحرایی جلوگیری کند. این مورد، توانایی این چالکون در جلوگیری از فعال شدن مسیرهای التهابی و آسیب ناشی از مصرف بیش از حد رژیم غذایی پرچرب را نشان می‌دهد.

**نتیجه‌گیری**

در این مطالعه برای اولین بار، اثرات محافظتی ترانس چالکون در برابر تغییرات التهابی پانکراس در موش‌های صحرایی تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب نشان داده شد. در این مورد، ترانس چالکون توانست از افزایش بیان بیومارکرهای التهابی شامل TNF- $\alpha$  و MCP-1 در اثر تغذیه با رژیم غذایی پرچرب جلوگیری کند.

**قدردانی**

این پژوهش با حمایت معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی تبریز و مرکز تحقیقات کاربردی دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز انجام شده است.

**مشارکت پدیدآوران**

محمدرضا علیپور تحلیل و تفسیر داده‌ها، الهام کریمی ثالث انجام پژوهش، جمع‌آوری داده‌ها و تهیه پیش‌نویس مقاله، محمدرضا علیپور و الهام کریمی ثالث ایده‌پردازی، طراحی اثر، نقد و بررسی و تأیید نسخه نهایی مقاله را عهده داشتند.

**منابع مالی**

این مطالعه توسط معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی تبریز تأمین مالی شده است (شماره گرنت: ۶۴۷۶۶).

**دسترس‌پذیری داده‌ها**

مجموعه داده‌ها در صورت درخواست معقول از نویسنده مسؤل در دسترس است.

یافته‌های اصلی این مطالعه به این شرح است: (۱) تغذیه اجباری با امولسیون پرچرب باعث افزایش گلوکز خون ناشتا و تولید واسطه‌های التهابی مانند TNF- $\alpha$  و MCP-1 در پانکراس موش‌های صحرایی نر شد. (۲) تیمار همزمان با ترانس چالکون و امولسیون پرچرب حاکی از توانایی ترانس چالکون در جلوگیری از بروز تغییرات ناشی از امولسیون پرچرب در میزان بیان پانکراسی TNF- $\alpha$  و MCP-1 بود.

براساس یافته‌های مطالعات قبلی، چالکون‌ها اثرات ضدیبابتی و کاهنده قندخون دارند.<sup>۲۰</sup> در تحقیق حاضر نیز اثر محافظت‌کننده ترانس چالکون در برابر افزایش قند خون ناشی از مصرف امولسیون پرچرب مشاهده شد. در مطالعات اخیر، کاهش گلوکز سرم ناشتا توسط ترانس چالکون در حیوانات تغذیه شده با رژیم‌های غذایی استاندارد و پرچرب نشان داده شده است.<sup>۲۱، ۲۲</sup> به نظر می‌رسد که ترانس چالکون باعث محافظت موش‌های صحرایی نر در برابر مقاومت به انسولین ناشی از مصرف امولسیون پرچرب می‌شود.<sup>۲۱</sup> همچنین، این چالکون باعث بهبود متابولیسم لیپیدی در کبد حیوانات مدل کبد چرب غیر الکلی می‌شود.<sup>۲۲</sup> ترانس چالکون، حیوانات تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب را در برابر بروز استئاتوهپاتیت غیرالکلی و همچنین التهاب ریه محافظت می‌کند.<sup>۲۱، ۲۲</sup>

ریپورس و همکاران در یک مطالعه گزارش کرده‌اند که مصرف امولسیون پرچرب منجر به بروز التهاب و آسیب در پانکراس موش‌ها می‌شود.<sup>۲۳</sup> پروتئین MCP-1 یکی از اعضای خانواده کموکاین‌های C-C است که در پاسخ به فاکتورهای پیش‌التهابی مانند اینترفرون- $\gamma$  و TNF- $\alpha$  توسط انواع مختلف سلول‌ها مانند سلول‌های اندوتلیال، فیبروبلاست‌ها، سلول‌های عضله صاف، کراتینوسیت‌ها، سلول‌های کبدی، مونوسیت‌ها/ماکروفاژها و لنفوسیت‌ها تولید می‌شود.<sup>۲۴</sup> مسیر MCP-1 و گیرنده آن در ایجاد التهاب و فیروز در بسیاری از اندام‌ها مانند پانکراس، کبد، پوست، قلب و کلیه نقش دارد.<sup>۲۴-۲۸</sup>

در مطالعات انسانی و حیوانی، افزایش تولید این کموکاین طی پانکراتیت حاد و مزمن مشاهده شده است.<sup>۲۹</sup> MCP-1 در پاسخ به محرک‌های التهابی مانند TNF- $\alpha$  در پانکراس تولید می‌شود.<sup>۳</sup> همچنین MCP-1 به عنوان یک ژن پاسخگو به انسولین عمل کرده و برداشت گلوکز وابسته به انسولین را کاهش و بیان ژن‌های آدیپوژنیک را افزایش می‌دهد. بنابراین کاهش MCP-1 می‌تواند به عنوان یک استراتژی درمانی برای بیماری‌های التهابی و متابولیک محسوب شود.<sup>۱</sup>

## تعارض منافع

مؤلفان اظهار می‌کنند که منافع متقابلی از تألیف و انتشار این مقاله وجود ندارند.

## ملاحظات اخلاقی

تمام مطالعات انجام شده روی حیوانات، توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تبریز (کد: IR.TBZMED.VCR.REC.1398.420) تأیید شده است.

## References

- Rull A, Camps J, Alonso-Villaverde C, Joven J. Insulin resistance, inflammation, and obesity: role of monocyte chemoattractant protein-1 (orCCL2) in the regulation of metabolism. *Mediators of inflammation*. 2010;2010:11. doi: 10.1155/2010/326580
- Zhao L, Zhong S, Qu H, Xie Y, Cao Z, Li Q, et al. Chronic inflammation aggravates metabolic disorders of hepatic fatty acids in high-fat diet-induced obese mice. *Scientific reports*. 2015;5(1):1-2. doi: 10.1038/srep10222
- Navab M, Gharavi N, Watson AD. Inflammation and metabolic disorders. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*. 2008;11(4):459-64. doi: 10.1097/mco.0b013e32830460c2
- Cai K, Qi D, Hou X, Wang O, Chen J, Deng B, et al. MCP-1 upregulates amylin expression in murine pancreatic  $\beta$  cells through ERK/JNK-AP1 and NF- $\kappa$ B related signaling pathways independent of CCR2. *PLoS one*. 2011;6(5):e19559. doi: 10.1371/journal.pone.0019559
- Erener S, Ellis CE, Ramzy A, Glavas MM, O'Dwyer S, Pereira S, et al. Pancreas-specific miR-216a regulates proliferation and endocrine and exocrine cell function in vivo. *bioRxiv*. 2019;7:792655. doi: 10.1101/792655
- Mathur A, Marine M, Lu D, Swartz-Basile DA, Saxena R, Zyromski NJ, et al. Nonalcoholic fatty pancreas disease. *Hpb*. 2007;9(4):312-8. doi: 10.1080/13651820701504157
- Aloui F, Charradi K, Hichami A, Subramaniam S, Khan NA, Limam F, et al. Grape seed and skin extract reduces pancreas lipotoxicity, oxidative stress and inflammation in high fat diet fed rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2016;84:2020-8. doi: 10.1016/j.biopha.2016.11.017
- Patil CB, Mahajan SK, Katti SA. Chalcone: A versatile molecule. *Journal of Pharmaceutical sciences and research*. 2009;1(3):11.
- Karimi-Sales E, Mohaddes G, Alipour MR. Chalcones as putative hepatoprotective agents: Preclinical evidence and molecular mechanisms. *Pharmacological research*. 2018;129:177-87. doi: 10.1016/j.phrs.2017.11.022
- Piñero J, Temporal RM, Silva-Gonçalves AJ, Jiménez IA, Bazzocchi IL, Oliva A, et al. New administration model of trans-chalcone biodegradable polymers for the treatment of experimental leishmaniasis. *Acta tropica*. 2006;98(1):59-65. doi: 10.1016/j.actatropica.2006.02.001
- Ale-Ebrahim M, Rahmani R, Faryabi K, Mohammadifar N, Mortazavi P, Karkhaneh L. Atheroprotective and hepatoprotective effects of trans-chalcone through modification of eNOS/AMPK/KLF-2 pathway and regulation of COX-2, Ang-II, and PDGF mRNA expression in NMRI mice fed HCD. *Molecular Biology Reports*. 2022;49(5):3433-43. doi: 10.1007/s11033-022-07174-x
- Karimi-Sales E, Alipour MR, Naderi R, Hosseinzadeh E, Ghiasi R. Protective effect of trans-chalcone against high-fat diet-induced pulmonary inflammation is associated with changes in miR-146a and pro-inflammatory cytokines expression in male rats. *Inflammation*. 2019;42:2048-55. doi: 10.1007/s10753-019-01067-1
- Alipour MR, Jeddi S, Karimi-Sales E. trans-Chalcone inhibits high-fat diet-induced disturbances in FXR/SREBP-1c/FAS and FXR/Smad-3 pathways in the kidney of rats. *Journal of food biochemistry*. 2020;44(11):e13476. doi: 10.1111/jfbc.13476
- Karimi-Sales E, Jeddi S, Ebrahimi-Kalan A, Alipour MR. Trans-chalcone enhances insulin sensitivity through the miR-34a/SIRT1 pathway. *Iranian journal of basic medical sciences*. 2018;21(4):359. doi: 10.1039/c8fo00923f
- Staurengo-Ferrari L, Ruiz-Miyazawa KW, Pinho-Ribeiro FA, Fattori V, Zaninelli TH, Badaro-Garcia S, et al. Trans-chalcone attenuates pain and inflammation in experimental acute gout arthritis in mice. *Frontiers in Pharmacology*. 2018;9:1123. doi: 10.3389/fphar.2018.01123
- Jalalvand F, Amoli MM, Yaghmaei P, Kimiagar M, Ebrahim-Habibi A. Acarbose versus trans-chalcone: comparing the effect of two glycosidase inhibitors on obese mice. *Archives of endocrinology and metabolism*. 2015;59:202-9. doi: 10.1590/2359-3997000000038
- Zou Y, Li J, Lu C, Wang J, Ge J, Huang Y, et al. High-fat emulsion-induced rat model of nonalcoholic steatohepatitis. *Life sciences*. 2006;79(11):1100-7. doi: 10.1016/j.lfs.2006.03.021
- Gholami H, Jeddi S, Zadeh-Vakili A, Farrokhfall K, Rouhollah F, Zarkesh M, et al. Transient congenital hypothyroidism alters gene expression of glucose transporters and impairs glucose sensing apparatus in



- young and aged offspring rats. Cellular physiology and biochemistry. 2017;43(6):2338-52. doi.org/10.1159/000484386
19. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method. *Methods*. 2001;25(4):402-8. doi: 10.1006/meth.2001.1262
  20. Rocha S, Ribeiro D, Fernandes E, Freitas M. A systematic review on anti-diabetic properties of chalcones. *Current medicinal chemistry*. 2020;27(14):2257-321. doi: 10.2174/0929867325666181001112226
  21. Karimi-Sales E, Jeddi S, Ebrahimi-Kalan A, Alipour MR. Trans-Chalcone prevents insulin resistance and hepatic inflammation and also promotes hepatic cholesterol efflux in high-fat diet-fed rats: modulation of miR-34a-, miR-451-, and miR-33a-related pathways. *Food & function*. 2018;9(8):4292-8. doi: 10.1039/c8fo00923f
  22. Karimi-Sales E, Ebrahimi-Kalan A, Alipour MR. Preventive effect of trans-chalcone on non-alcoholic steatohepatitis: Improvement of hepatic lipid metabolism. *Biomedicine & pharmacotherapy*. 2019;109:1306-12. doi: 10.1016/j.biopha.2018.10.196
  23. Rebours V, Garteiser P, Ribeiro-Parenti L, Cavin JB, Doblas S, Pagé G, et al. Obesity-induced pancreatopathy in rats is reversible after bariatric surgery. *Scientific reports*. 2018;8(1):16295. doi.org/10.1038/s41598-018-34515-3
  24. Ino K, Masuya M, Tawara I, Miyata E, Oda K, Nakamori Y, et al. Monocytes infiltrate the pancreas via the MCP-1/CCR2 pathway and differentiate into stellate cells. *PloS one*. 2014;9(1):e84889. doi: 10.1371/journal.pone.0084889
  25. Ishibashi T, Zhao H, Kawabe K, Oono T, Egashira K, Suzuki K, et al. Blocking of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) activity attenuates the severity of acute pancreatitis in rats. *Journal of gastroenterology*. 2008;43:79-85. doi: 10.1007/s00535-007-2126-9
  26. Tsou CL, Peters W, Si Y, Slaymaker S, Aslanian AM, Weisberg SP, et al. Critical roles for CCR2 and MCP-3 in monocyte mobilization from bone marrow and recruitment to inflammatory sites. *The Journal of clinical investigation*. 2007;117(4):902-9. doi: 10.1172/jci29919
  27. Si Y, Tsou CL, Croft K, Charo IF. CCR2 mediates hematopoietic stem and progenitor cell trafficking to sites of inflammation in mice. *The Journal of clinical investigation*. 2010;120(4):1192-203. doi: 10.1172/jci40310
  28. Charo IF, Ransohoff RM. The many roles of chemokines and chemokine receptors in inflammation. *New England Journal of Medicine*. 2006;354(6):610-21. doi: 10.1056/nejmra052723
  29. Marra F. Renaming cytokines: MCP-1, major chemokine in pancreatitis. *Gut*. 2005;54(12):1679-81. doi: 10.1136/gut.2005.068593
  30. Piemonti L, Leone BE, Nano R, Saccani A, Monti P, Maffi P, et al. Human pancreatic islets produce and secrete MCP-1/CCL2: relevance in human islet transplantation. *Diabetes*. 2002;51(1):55-65. doi: 10.2337/diabetes.51.1.55