

Effects of Hydroalcoholic Extract of *Thymus vulgaris* on Serum Levels Lipoprotein Lipase and Angiopoietin-like Protein 4 in Hyperlipidemic Rats

Samad Akbarzadeh¹,
Afshin Ostovar²,
Nooshin Angali³,
Anahita Abbasifard⁴,
Mostafa Chashmpoosh⁵

¹ Professor, Department of Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

² Associate Professor, Department of Epidemiology, Faculty of Medicine, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

³ Medical Student, Faculty of Medicine, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

⁴ MSc Student in Biochemistry, Faculty of Medicine, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

⁵ MSc in Biochemistry, Faculty of Medicine, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

(Received December 18, 2018 ; Accepted July 16, 2018)

Abstract

Background and purpose: Hyperlipidemia is known as one of the major risk factors for cardiovascular disease. Thyme is one of oldest medicinal herbs that is used mainly for medicinal aims. Lipoprotein lipase (LPL) hydrolyzes triglycerides in lipoproteins and angiopoietin-like protein (ANGPTL4) is a LPL regulator, therefore, this study aimed at examining the effect of hydroalcoholic extract of thyme on serum levels of ANGPTL4 and LPL in hyperlipidemic rats.

Materials and methods: This case-control study was performed in 48 male Wistar rats weighing 180-250g. The animals were divided into 6 groups, including Becker control, fat control group, and 1, 2, 3, and 4 test groups. After induction of hyperlipidemia, test groups (1, 2, and 3) were subjected to gavage with thyme extract at 100, 200 and 300 mg/kg, respectively and group 4 was subjected to gavage with Gemfibrozil at 10 mg/kg for 10 days. Blood samples were taken from all groups and serums were collected for measuring various parameters.

Results: Serum cholesterol concentration in treatment groups receiving thyme at 200 mg/kg ($p=0.035$) and 300 mg/kg ($p=0.003$) and Gemfibrosil ($p=0.025$) showed a significant decrease compared to fat control group but other factors such as LPL and ANGPTL4 showed no significant changes ($p<0/05$).

Conclusion: Thyme extract can be effective in lowering cholesterol levels. But further evaluations are suggested to use this extract at higher doses and longer durations to study its effect on lipid factors, LPL, and ANGPTL4.

Keywords: hyperlipidemia, thyme extract, LPL, ANGPTL4

J Mazandaran Univ Med Sci 2019; 28 (170): 22-32 (Persian).

* Corresponding Author: Mmostafa Chashmpoosh - Faculty of Medicine, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran (E-mail: mostafadarab68@gmail.com)

اثرات عصاره هیدروالکلی آویشن بر مقادیر سرمی لیپوپروتئین لیپاز (LPL) و پروتئین شبه آنژیوپیتین ۴ (ANGPTL4) در موش های هایپرلیپیدمیک

صمد اکبرزاده^۱
افشین استوار^۲
نوشین انگالی^۳
آناهیتا عباسی فرد^۴
مصطفی چشم پوش^۵

چکیده

سابقه و هدف: هیپرلیپیدمی به عنوان یکی از ریسک فاکتورهای مهم ابتلا به بیماری های قلبی شناخته می شود. آویشن از قدیمی ترین گیاهان دارویی می باشد که عمدتاً برای اهداف دارویی استفاده می شود. از آن جایی که لیپوپروتئین لیپاز (LPL) تری گلیسیریدهای موجود در لیپوپروتئین ها را هیدرولیز می کند و پروتئین شبه آنژیوپیتین ۴ (ANGPTL4) یک تنظیم کننده LPL می باشد، هدف از این پروژه بررسی تاثیر عصاره هیدروالکلی آویشن بر روی سطوح سرمی ANGPTL4 و LPL در رت های هایپرلیپیدمیک می باشد.

مواد و روش ها: این مطالعه از نوع مورد-شاهدی می باشد که بر روی ۴۸ رت نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰-۱۸۰ گرم انجام گردید. رت ها به ۶ گروه تحت عنوان گروه های کنترل بکر، کنترل چربی و تیمارهای ۱، ۲، ۳ و ۴ تقسیم شدند. پس از القای هیپرلیپیدمیا، تیمارهای ۱، ۲ و ۳ به مدت ۱۰ روز تحت گاوژ با عصاره آویشن با دوز به ترتیب ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ mg/kg قرار گرفتند و تیمار ۴ تحت گاوژ با جمفیروزیل با دوز ۱۰ mg/kg قرار گرفت. سپس از همه گروه ها خونگیری صورت گرفت و سرم ها جهت بررسی پارامترهای مختلف جمع آوری شدند.

یافته ها: بررسی غلظت سرمی کلسترول در گروه های دریافت کننده آویشن با دوزهای ۲۰۰ mg/kg ($p=0/035$) و ۳۰۰ ($p=0/003$) و گروه دریافت کننده جمفیروزیل ($p=0/025$) کاهش معنی داری را در مقایسه با گروه کنترل چربی نشان داد، اما سایر فاکتورها مانند LPL و ANGPTL4 تغییر معنی داری را نشان نداد ($p < 0/05$).

استنتاج: آویشن می تواند در کاهش کلسترول در افراد موثر باشد و جهت ارزیابی بیش تر، استفاده از عصاره آویشن در دوزهای بالاتر و هم چنین در مدت زمان بیش تری جهت بررسی تاثیر این عصاره بر روی فاکتورهای لیپیدی، LPL و ANGPTL4 پیشنهاد می شود.

واژه های کلیدی: هایپرلیپیدمی، عصاره آویشن، LPL و ANGPTL4.

مقدمه

هیپرلیپیدمی به عنوان یکی از ریسک فاکتورهای مهم در ابتلا به بیماری های قلبی - عروقی که از جمله مشکلات بهداشت عمومی و علل عمده مرگ و میر در کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه می باشد، شناخته

E-mail: mostafadarab68@gmail.com

مؤلف مسئول: مصطفی چشم پوش - فارس: داراب، خیابان پیروزی، کوچه بن بست ۲

۱. استاد، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران

۲. دانشیار، گروه اپیدمیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران

۳. دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران

۴. دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران

۵. کارشناسی ارشد بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۹/۲۷ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۶/۹/۲۸ تاریخ تصویب: ۱۳۹۷/۴/۲۵

می‌شود. افراد مبتلا به هیپرلیپیدمی دارای سطوح سرمی بالا از کلسترول تام، LDL کلسترول و تری گلیسیرید هستند (۱). با توجه به مطالعات اپیدمیولوژیک و بالینی مشخص شده است که بیماری‌های التهابی با اختلال در متابولیسم لیپیدها مرتبط هستند (۲). به عنوان مثال مطالعات نشان داده اند که افراد مبتلا به بیماری‌های پریودنتال (Periodontal) که یک گروه از بیماری‌های التهابی می باشند، نسبت به افراد سالم دارای سطح سرمی بالایی از لیپیدها هستند (۳). بنابراین برنامه‌های درمانی از جمله مصرف رژیم غذایی مناسب درمانی برای کنترل هیپرلیپیدمی ضروری می‌باشد. لیوپروتئین لیپاز (LPL) یک آنزیم محلول در آب می‌باشد که تری گلیسیریدهای موجود در لیوپروتئین‌ها مانند شیلومیکرون ها و لیوپروتئین‌های با دانسته بسیار کم (VLDL) را به اسید چرب و گلیسرول هیدرولیز می‌کند. لیوپروتئین لیپاز (LPL) هم‌چنین در جذب سلولی بقایای شیلومیکرون‌ها، لیوپروتئین‌های غنی از کلسترول و اسیدهای چرب آزاد در گیر می‌باشد (۴-۶). از آن جایی که اختلال در ساخت و تنظیم لیوپروتئین لیپاز می‌تواند نقش مهمی در متابولیسم لیپیدها ایفا کند، میزان فعالیت این آنزیم به صورت دقیق توسط چند مکانیسم حین رونویسی و بعد از ترجمه کنترل می‌شود (۷). موثرترین مکانیسم کنترل کننده فعالیت LPL در سطح بعد از ترجمه و توسط پروتئین‌های خارج سلولی صورت می‌گیرد. یکی از این پروتئین‌ها، پروتئین شبه آنژیوپوتئین ۴ (ANGPTL4) می‌باشد. این پروتئین یک تنظیم کننده LPL در بافت‌های مختلف در شرایط گوناگون می‌باشد که با تبدیل دایمرهای فعال پروتئین LPL به مونومرهای غیرفعال LPL را مهار می‌کند (۸). در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۶، مشخص شد که ANGPTL4 بر روی دمن هیدرولاز در لیوپروتئین لیپاز اثر می‌گذارد که این اثر توسط پروتئین غشایی اندوتلیال GPIHBP1 کاهش می‌یابد (۹). افزایش ANGPTL4 در خون با گرسنگی و کاهش آن با تغذیه

یک رژیم غذایی پرچرب، نقش بالقوه این پروتئین در متابولیسم لیپیدها را نشان می‌دهد (۱۰). بر اساس مطالعات قبلی مشخص شده است که با تزریق پروتئین نو ترکیب ANGPTL4 به موش‌های مورد مطالعه، غلظت پلاسمایی تری گلیسرید احتمالاً با مهار فعالیت LPL به‌طور قابل توجهی افزایش می‌یابد (۱۱). علاوه بر این مطالعات دیگری با استفاده از مدل‌های مختلف در شرایط *in vivo* اثر تحریک کننده‌ی ANGPTL4 بر روی سطح پلاسمایی تری گلیسرید از طریق مکانیسمی مستقل از ترشح VLDL-TG را اثبات کردند (۱۶-۱۲). از آنجایی که اختلال در ساخت و تنظیم دو فاکتور لیوپروتئین لیپاز (LPL) و ANGPTL4 می‌تواند نقش مهمی در متابولیسم لیپیدها و در نتیجه ایجاد هیپرلیپیدمی ایفا کند، کشف دارویی که بتواند بر روی این دو فاکتور تاثیر بگذارد، کمک مهمی در درمان هیپرلیپیدمی می‌کند. با وجود این که داروهای کاهنده چربی خون در دسترس هستند، هنوز این بیماری یکی از عوامل مهم تشدید بیماری‌های قلبی عروقی در بیماران مبتلا به دیابت و فشار خون بالا می‌باشد. عواملی مانند عدم رضایت بیماران از مصرف داروهای رایج کاهنده چربی خون، بروز عوارض جانبی ناشی از مصرف طولانی این داروها و هزینه‌های تحمیلی بر بیماران موجب شده است که تمایل به درمان‌های جایگزین و سنتی افزایش یابد و مصرف گیاهان دارویی علاوه بر کاهش هزینه‌های درمان، نتایج رضایت بخشی در عوارض افزایش چربی خون بالا در بسیاری از جوامع داشته است.

آویشن با نام علمی (*T. Vulgaris*) از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی جهان، یک گیاه آروماتیک مدیترانه‌ای می‌باشد که به‌طور عمده برای اهداف دارویی استفاده می‌شود (۱۷). این گیاه معمولاً در طب سنتی به عنوان یک عامل ضد عفونی کننده، ضد باکتریایی، ضد تشنج، ضد اسپاسم و آنتی اکسیدان شناخته می‌شود (۱۸). به عنوان مثال در مطالعه Tohidi B و همکاران در سال ۲۰۱۶، ترکیب روغنی، فلاونوئید و فنولی و فعالیت

قفس‌های مخصوص با دسترسی راحت به آب و غذا و تحت شرایط کنترل شده دما (22 ± 3) درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۶۰ تا ۶۵ درصد و نور متناوب ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. سپس موش‌ها به ۶ گروه ۸ تایی تحت عنوان گروه‌های کنترل بکر، کنترل چربی، تیمار ۱، تیمار ۲، تیمار ۳ و تیمار ۴ تقسیم شدند که گروه بندی نهایی مطابق جدول شماره ۱ می‌باشد. موش‌های گروه کنترل بکر با غذای استاندارد و آب تغذیه شدند و بقیه گروه‌ها ابتدا به مدت ۳ هفته تحت رژیم غذایی حاوی ساکاروز، چربی تری‌گلیسرید و سپس تزریق داخل صفاقی (intraperitoneal) تریتون برای ایجاد هیپرلیپیدمیا قرار گرفتند.

جدول شماره ۱: گروه بندی موش‌های مورد مطالعه

گروه‌ها	مداخله	عصاره هیدروالکلی	داروی
کنترل بکر	—	آمایش	جمنفیروزیل
کنترل چربی	القاء هیپرلیپیدمیا توسط تریتون X-100 و غذای پر چرب و ساکاروز	—	—
تیمار ۱	القاء هیپرلیپیدمیا توسط تریتون X-100 و غذای پر چرب و ساکاروز	۱۰۰ mg/kg وزن بدن	—
تیمار ۲	القاء هیپرلیپیدمیا توسط تریتون X-100 و غذای پر چرب و ساکاروز	۲۰۰ mg/kg وزن بدن	—
تیمار ۳	القاء هیپرلیپیدمیا توسط تریتون X-100 و غذای پر چرب و ساکاروز	۳۰۰ mg/kg وزن بدن	—
تیمار ۴	القاء هیپرلیپیدمیا توسط تریتون X-100 و غذای پر چرب و ساکاروز	—	۱۰ mg/kg وزن بدن

نحوه القای هیپرلیپیدمیا در حیوانات

در ابتدا پروفایل لیپیدی موش‌ها بعد از ۱۲ الی ۱۴ ساعت ناشتایی اندازه‌گیری شد. سپس برای ایجاد هیپرلیپیدمیا، موش‌های مورد نظر تحت رژیم غذایی حاوی ساکاروز، چربی تری‌گلیسرید و سپس تزریق داخل صفاقی تریتون X-100 قرار داده شدند. به این صورت که تریتون X-100 را با استفاده از نرمال سالین در یک دوز ۱۵۰ mg/kg تهیه کرده و به صورت داخل صفاقی (intraperitoneal) و در یک نوبت به ۵ گروه از موش‌ها تزریق گردید. بعد از ۷۲ ساعت از تزریق تریتون X-100، پروفایل لیپیدی رت‌ها مورد بررسی قرار گرفت و بعد از تایید ایجاد هایپرترگلیسریدمی، عصاره آمایش و داروی جمنفیروزیل به مدت ۱۰ روز به ۴ گروه از این ۵ گروه موش‌ها به صورت روزانه‌ها گاوآژ گردید.

آنتی‌اکسیدانی گونه‌های تیموس را مورد ارزیابی قرار دادند و مشخص شد که گونه *T. Vulgaris* فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی بالاتر نسبت به دیگر گونه‌ها دارد (۱۹). علاوه بر این، آمایش در درمان اختلالات دستگاه تنفسی فوقانی و اختلالات پوستی استفاده می‌شود (۲۰). هم‌چنین گزارش شده است که آمایش برای درمان مشکلات معده-روده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۱). کارواکرول (۵-ایزوپروپیل-۲-متیل فنول) و تیمول (۲-ایزوپروپیل-۵-متیل فنول) از اجزای اصلی آمایش می‌باشند. اگرچه این ترکیبات به عنوان یک مکانیسم دفاعی شیمیایی در برابر میکروارگانیسم‌های فیتوپاتوژنیک تولید می‌شوند، اما به دلیل ساختار فنولی، دارای برخی از فعالیت‌های بیوشیمیایی‌های مهم از جمله فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، کاهش دهنده قند خون و کاهش دهنده چربی خون می‌باشند (۱۸). به عنوان مثال در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۵ نشان داده شد که تیمول با داشتن فعالیت ضد هیپرگلیسمی و ضد هیپرلیپیدمی، موش‌های مورد آزمایش را در برابر دیابت نوع ۲ القا شده توسط رژیم پرچرب محافظت می‌کند (۲۲). از آنجایی که تمایل به مصرف گیاهان دارویی در اکثر جوامع به طور گسترده افزایش یافته است و با توجه به این که اختلال در ساخت و تنظیم دو فاکتور لیپوپروتئین لیپاز (LPL) و ANGPTL4 می‌تواند نقش مهمی در متابولیسم لیپیدها و در نتیجه ایجاد هیپرلیپیدمی ایفا کند، هدف از انجام این پروژه بررسی تاثیر عصاره هیدروالکلی گیاه آمایش بر روی سطوح سرمی ANGPTL4 و LPL در موش‌های صحرایی هایپرلیپیدمیک می‌باشد.

مواد و روش‌ها

نگهداری و گروه بندی

این مطالعه از نوع مورد-شاهدی می‌باشد که بر روی ۴۸ سر موش نر از نژاد ویستار (Wistar) در محدوده وزنی ۲۵۰-۱۸۰ گرم انجام گردید. حیوانات در

نحوه آماده سازی عصاره آویشن

بعد از خرید گیاه آویشن از عطاری، بخش های هوایی گیاه در محلول آبی-الکلی ۸۰ درصد حل گردید و سپس به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق نگهداری شده و سپس از صافی گذرانده شده تا ذرات درشت جدا شوند و در نهایت محلول حاصل در فور با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد به مدت ۷ روز قرار داده شد.

تجویز عصاره و داروی جمفیروزیل و نمونه گیری

عصاره هیدروالکلی آویشن به صورت خوراکی با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ mg/kg وزن بدن و داروی جمفیروزیل نیز به صورت خوراکی با دوز ۱۰ mg/kg وزن بدن و با استفاده از سرنگ گاواژ با حجم ۰/۸ میلی لیتر روزانه یک بار در ساعت ۹ صبح و به مدت ۱۰ روز به حیوانات گروه های مربوطه گاواژ گردید. بعد از گذشت ۱۰ روز، موش ها پس از ۱۲ ساعت ناشتایی شبانه به وسیله ماده بیهوشی ایزوفلوران بیهوش شدند. بعد از بیهوش کردن از هر موش حدود ۵ میلی لیتر خون گرفته شد. نمونه های خونی به آرامی در لوله های آزمایش جمع آوری و سپس با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سرم حاصل با استفاده از سمپلر در میکروتیوب های ۱/۵ میلی لیتری جهت اندازه گیری پروفایل لیپیدی و فاکتورهای مورد نظر جمع آوری گردید و در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

تست های بیوشیمیایی

اندازه گیری غلظت پارامترهای لیپیدی (تری گلیسرید، کلسترول تام، HDL، VLDL)، آنزیم های کبدی (AST، ALT، ALP) و CPK با استفاده از کیت های معتبر آنزیمی پارس آزمون و توسط دستگاه اتوآنالیزر selectra 2 (vital the Netherlands spankeren science) صورت گرفت و غلظت فاکتورهای ANGPTL4 (Shanghai Crystal day Biotech Co, China) و LPL (Shanghai Crystal day Biotech Co, China)

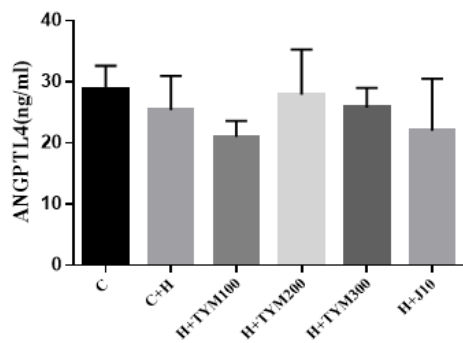
با استفاده از کیت و بر اساس دستورالعمل مربوطه توسط دستگاه الایزا (Dynex, USA) اندازه گیری شد. مقدار کلسترول LDL-C نیز توسط فرمول فریدوالد تعیین گردید.

آنالیز آماری

در این مطالعه داده های مورد نظر توسط نرم افزار آماری SPSS, version 18 با استفاده از روش های مقایسه داده ها توسط آنالیز واریانس یکطرفه و تست دانکن مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. آمارهای توصیفی برای متغیرهای کمی مورد مطالعه به صورت میانگین و انحراف معیار ارائه شد. توزیع نرمال داده ها توسط آزمون Kolmogrov Smirnov تأیید شد. برای مقایسه میانگین متغیرهای کمی در هر یک از گروه های مورد مطالعه با گروه های شاهد از آزمون Independent sample t-test و برای مقایسه میانگین متغیرها بین گروه ها از آزمون آماری ANOVA- One way استفاده گردید. در کلیه آزمون های آماری، $p < 0/05$ معنی دار تلقی شد.

یافته ها

جهت تایید هیپرلیپیدمیا، پس از تجویز تریتون X-100 و غذای پر چرب و ساکاروز، تری گلیسرید و کلسترول تام در گروه های مورد نظر ارزیابی شد و مشخص شد که میانگین غلظت سرمی تری گلیسرید و کلسترول تام در گروه های مصرف کننده ساکاروز، غذای چرب و تریتون افزایش معناداری در مقایسه با گروه کنترل بکر دارند ($p < 0/05$). نتایج حاصل نشان داد که متعاقب مصرف دوزهای مختلف عصاره هیدروالکلی آویشن و داروی جمفیروزیل، تغییر معنی داری در غلظت سرمی تری گلیسرید گروه های دریافت کننده دوزهای مختلف عصاره هیدروالکلی آویشن و گروه دریافت کننده داروی جمفیروزیل نسبت به کنترل چربی مشاهده نشد (جدول شماره ۲). غلظت سرمی کلسترول در گروه های دریافت کننده دوزهای ۲۰۰ mg/kg ($p = 0/035$) و ۳۰۰ mg/kg ($p = 0/003$) عصاره



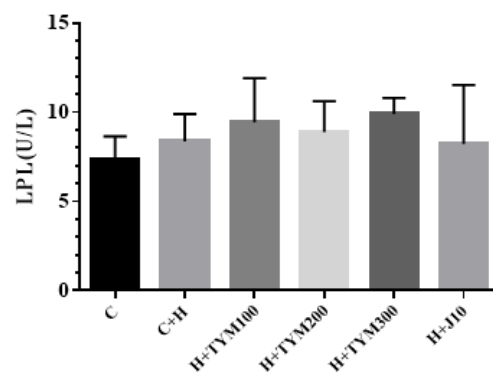
نمودار شماره ۲: مقایسه ANGPTL4 در گروه های درمانی با گروه بدون درمان در رت های مورد مطالعه داده ها به صورت $\text{mean} \pm \text{SD}$ نشان داده شده اند. C: گروه کنترل سالم، H: گروه کنترل چربی، H+TYM: گروه چرب درمان شده با آویشن، H+J: گروه چرب درمان شده با جمفیروزیل

بحث

استفاده از گیاهان دارویی و یا عصاره های آن ها در پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری های مزمن مانند بیماری های قلبی عروقی، هایپرلیپیدمی، آلرژی، بیماری های التهابی روده، آرتریت، پارکینسون، آلزایمر دیابت، مولتیپل اسکلروز و دیگر بیماری ها به صورت سنتی در سراسر جهان رایج شده است (۲۳). در این میان آویشن به عنوان یک گیاه آروماتیک مدیترانه ای به طور عمده برای اهداف دارویی مورد استفاده قرار می گیرد. عصاره آویشن در طب سنتی برای درمان بیماری های تنفسی نظیر

هیدروالکلی آویشن و گروه دریافت کننده داروی جمفیروزیل ($p = 0.025$) کاهش معنی داری در مقایسه با گروه کنترل چربی نشان داد (جدول شماره ۲).

با این وجود تغییرات معنی داری در غلظت HDL و ALP، ALT، AST، آنزیم های کبدی VLDL، LDL و CPK و فاکتورهای LPL و ANGPTL4 مربوط به گروه های دریافت کننده دوزهای مختلف عصاره هیدروالکلی آویشن و گروه دریافت کننده داروی جمفیروزیل در مقایسه با گروه کنترل چربی وجود نداشت ($p > 0.05$). (جدول شماره ۲ و نمودارهای ۱ و ۲).



نمودار شماره ۱: مقایسه LPL در گروه های درمانی با گروه بدون درمان در رت های مورد مطالعه داده ها به صورت $\text{mean} \pm \text{SD}$ نشان داده شده اند. C: گروه کنترل سالم، H: گروه کنترل چربی، H+TYM: گروه چرب درمان شده با آویشن، H+J: گروه چرب درمان شده با جمفیروزیل

جدول شماره ۲: مقایسه میانگین غلظت سرمی فاکتورهای لیپیدی، آنزیم ها و فاکتورهای LPL و ANGPTL4 در گروه های مختلف

فاکتورها	گروه ها	کنترل بکر	کنترل چربی	عصاره با دوز ۱۰۰ mg/kg	عصاره با دوز ۲۰۰ mg/kg	عصاره با دوز ۳۰۰ mg/kg	جمفیروزیل با دوز ۱۰۰ mg/kg
تری گلیسرید (mg/dl)	۸/۶۷ ± ۴۵/۵۷	۸/۶۷ ± ۴۵/۵۷	۱۱/۵۸ ± ۶۶/۲۸	۱۳/۵ ± ۶۲/۸۵	۱۱/۹۱ ± ۵۷/۶۶	۱۰/۶۷ ± ۵۲/۵۷	۱۳/۰۳ ± ۵۱/۰۰
کلسترول تام (mg/dl)	۹/۸۹ ± ۶۰/۵۷	۹/۸۹ ± ۶۰/۵۷	۱۵/۹۲ ± ۸۶/۸۵	۱۳/۱۵ ± ۷۲/۴۲	۱۱/۳۹ ± ۸۳/۶۵	۱۱/۱۸ ± ۵۷/۶۸	۱۳/۸۳ ± ۷۸/۰۰
(mg/dl)HDL	۵/۶۷ ± ۳۷/۷۴	۵/۶۷ ± ۳۷/۷۴	۹/۲۴ ± ۳۳/۹۵	۳/۲۰ ± ۳۹/۴۴	۳/۴۸ ± ۳۸/۹۸	۴/۴۷ ± ۳۵/۲۸	۱۰/۳۰ ± ۴۴/۴۸
(mg/dl)LDL	۴/۹۹ ± ۲۴/۴۲	۴/۹۹ ± ۲۴/۴۲	۱۲/۳۳ ± ۲۸/۸۵	۵/۴۰ ± ۲۴/۷۱	۶/۱۸ ± ۱۹/۵۰	۵/۹۵ ± ۲۲/۸۵	۳/۵۶ ± ۲۳/۵۰
(mg/dl)VLDL	۴/۰۲ ± ۲/۷۱	۴/۰۲ ± ۲/۷۱	۲/۸۱ ± ۱/۱۸	۳/۶۳ ± ۱/۴/۲۸	۳/۵۰ ± ۱/۰/۵۰	۲/۰۷ ± ۱/۰/۴۲	۲/۵۰ ± ۱/۰/۳۳
(U/L)SGOT	۷۷/۴۲ ± ۱۵۴/۰۰	۷۷/۴۲ ± ۱۵۴/۰۰	۲۵/۸۲ ± ۱۹۰/۵۷	۱۶/۳۸ ± ۱۷۰/۸۵	۲۸/۵۹ ± ۱۷۴/۳۳	۳۷/۵۷ ± ۱۸۱/۷۱	۵۶/۸۲ ± ۱۹۷/۶۶
(U/L)SGPT	۷۲/۵۷ ± ۱۵۷/۱۵	۷۲/۵۷ ± ۱۵۷/۱۵	۱۷/۰۴ ± ۷۸/۴۲	۱۳/۸۳ ± ۷۰/۵۷	۱۲/۰۷ ± ۷۱/۶۶	۱۰/۰۹ ± ۶۹/۳۸	۱۶/۱۱ ± ۶۵/۸۳
(U/L)ALP	۳۵۹/۸۵ ± ۸۲/۵۸	۳۵۹/۸۵ ± ۸۲/۵۸	۵۰۳/۱۴ ± ۱۸۹/۶۵	۳۴۷/۱۴ ± ۱۱۲/۵۱	۳۹۴/۰۰ ± ۱۲۹/۶۲	۴۲۵/۰۰ ± ۱۸۶/۰۶	۴۱۱/۵۰ ± ۱۸۸/۱۵
(U/L)CPK	۳/۸۶ ± ۰/۹۲	۳/۸۶ ± ۰/۹۲	۳/۸۶ ± ۰/۹۲	۴/۰۵ ± ۰/۹۱	۴/۲۳ ± ۰/۶۲	۳/۹۳ ± ۰/۶۴	۳/۴۶ ± ۱/۱۹
(U/L)LPL	۷/۳۷ ± ۱/۲۸	۷/۳۷ ± ۱/۲۸	۸/۳۷ ± ۱/۵۳	۹/۴۳ ± ۲/۴۷	۸/۹۰ ± ۱/۷۵	۹/۹۱ ± ۰/۸۸	۸/۲۲ ± ۳/۳۰
(ng/ml)ANGPTL4	۲۸/۷۸ ± ۳/۹۷	۲۸/۷۸ ± ۳/۹۷	۲۵/۳۵ ± ۵/۶۰	۲۱/۰۲ ± ۲/۶۱	۲۷/۹۲ ± ۷/۴۶	۲۵/۸۴ ± ۳/۲۴	۲۲/۰۸ ± ۵/۵۱

* نشان دهنده وجود تفاوت معنادار بین گروه کنترل چربی با کنترل بکر ($p < 0.05$)

** نشان دهنده وجود تفاوت معنادار بین گروه های تیمار با کنترل چربی [۲۰۰ mg/kg ($p = 0.035$), ۳۰۰ mg/kg ($p = 0.003$) و داروی جمفیروزیل ($p = 0.025$)]

آسم و برونشیت (۲۴) و بیماری‌های دیگر به دلیل خواص منحصر به فردش مانند آنتی‌سپتیک، آنتی‌اکسیدان، ضداسپاسم، ضد میکروبی، ضد قارچی و ضد ویروسی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۵، ۲۶).

حسین آبادی و همکاران در مطالعه‌ای تأثیر عصاره *T. vulgaris* به تنهایی یا به همراه آتورواستاتین بر روی ویژگی‌های هیستوپاتولوژیک کبد، کلیه، قلب و مغز در موش‌های صحرایی دیابتی و هیپرلیپیدمیک را مورد بررسی قرار دادند و متوجه شدند که آتورواستاتین به تنهایی یا در ترکیب با *T. vulgaris* می‌تواند ضایعات هیستوپاتولوژیک به ویژه در کبد را کاهش دهد (۱۸). در مطالعه دیگری M Ramchoun اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد هیپرلیپیدمی عصاره‌های غنی از پلی‌فنل *T. vulgaris* و *Lavendula multifida* را مطالعه کردند و بعد از ۲۴ ساعت استفاده از عصاره‌ها هیچ تأثیر معناداری بر روی تری‌گلیسرید مشاهده نکردند، آن‌ها هم چنین بعد از گاوآژ عصاره هیچ تأثیر معناداری بر روی کلسترول تام مشاهده نکردند (۲۰).

نتایج حاصل از آنالیز داده‌های گروه‌های مختلف در مطالعه ما نشان داد که میانگین غلظت سرمی تری‌گلیسرید و کلسترول در گروه دریافت‌کننده ساکاروز، غذای چرب و تربتون افزایش معناداری را در مقایسه با گروه کنترل بکر نشان می‌دهد که بیانگر هیپرلیپیدمیک شدن گروه‌های دریافت‌کننده غذای چرب و تربتون نسبت به گروه کنترل می‌باشد. غلظت سرمی کلسترول در گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای ۲۰۰ mg/kg و ۳۰۰ mg/kg عصاره آویشن و گروه دریافت‌کننده داروی جمفیروزیل کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه کنترل چربی نشان داد. اما بررسی میانگین سایر فاکتورهای لیپیدی، آنزیم‌های کبدی، CPK، LPL و ANGPTL4 در گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای مختلف عصاره هیدروالکلی آویشن و گروه دریافت‌کننده داروی جمفیروزیل فاقد اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل چربی بود.

در مطالعه انجام شده توسط یغمایی و همکارانش در سال ۲۰۱۲، در حیوانات دیابتی تحت تیمار با عصاره آویشن، میزان گلوکز، کلسترول تام، LDL، VLDL و تری‌گلیسرید کاهش و میزان HDL افزایش معنی‌داری نشان داده بود که از نظر تأثیر بر کلسترول با مطالعه ما مشابهت و در سایر فاکتورهای لیپیدی مغایرت دارد (۲۷). در مطالعه دیگری که توسط Hanna و همکاران در سال ۲۰۱۴ در رت‌های دیابتی انجام شد، مصرف ۶ هفته عصاره آویشن تأثیرات مشابهی با مطالعه یغمایی نشان داد که این امر می‌تواند ناشی از این باشد که در مطالعه آن‌ها عصاره برای مدت زمان بیش‌تری در مقایسه با مطالعه ما استفاده شده که این بحث را مطرح می‌کند که شاید مصرف عصاره در مدت زمان طولانی‌تر بتواند تأثیر کاهنده بیش‌تری بر فاکتورهای لیپیدی بگذارد (۲۸). در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۴، Ekoh SN و همکاران گزارش دادند که عصاره آویشن می‌تواند جهت کنترل دیابت و کاهش عوارض قلبی عروقی ناشی از بیماری متابولیک استفاده شود (۲۹). در مطالعه دیگری در سال ۲۰۱۴ مشخص گردید که عصاره هیدروالکلی آویشن می‌تواند در برابر بیماری‌های ویروسی پرندگان موثر باشد (۱۷).

در مطالعه‌ای، Ramchoun و همکاران در سال ۲۰۰۹ تأثیر عصاره‌های *T. vulgaris* و *Lavendula muttifida* بر روی فاکتورهای لیپیدی در رت‌های هیپرلیپیدمی مورد بررسی قرار دادند که همان‌طور که ذکر شد، بعد از ۲۴ ساعت استفاده از عصاره‌ها مطابق با نتایج ما هیچ تأثیر معنی‌داری بر روی تری‌گلیسرید مشاهده نکردند، آن‌ها هم چنین بعد از گاوآژ عصاره بر خلاف نتایج ما هیچ تأثیر معناداری بر روی کلسترول تام مشاهده نکردند (۲۰). نقش تنظیمی لیپوپروتئین لیپاز (LPL) به عنوان یک فاکتور در گیر در متابولیسم لیپیدها در مطالعات قلبی مورد بررسی قرار گرفته است. برای مثال در مطالعه Iwata و همکاران، اثرات گیاه *Spirulina platensis* بر روی فعالیت لیپوپروتئین لیپاز (LPL) و لیپاز کبدی در موش‌های هیپرلیپیدمی ناشی از فروکتوز را مورد بررسی

قرار دادند و متوجه شدند که بعد از مصرف این گیاه به مدت ۴ هفته، فعالیت LPL افزایش می یابد ولی بر روی لیپاز کبدی تاثیر ندارد (۳۰). در پروژه ما برخلاف مطالعه مذکور تغییری در فعالیت لیپوپروتئین لیپاز (LPL) مشاهده نشد که می تواند به علت تفاوت در عصاره و طول مدت مصرف باشد. هم چنین در مطالعه دیگری، Huang و همکاران اثرات *Laminaria japonica* بر روی فعالیت لیپوپروتئین لیپاز (LPL) و لیپاز کبدی در موش های هیپرلیپیدمی را مورد آنالیز قرار دادند و افزایش در فعالیت LPL و لیپاز کبدی و هم چنین LCAT را مشاهده کردند، که این نیز می تواند به خاطر نوع عصاره باشد (۳۱).

Megalli و همکاران نیز مانند دو مطالعه قبلی تاثیر مستقیم *Pentaphyllum Gynostemma* بر روی فعالیت LPL را به مدت ۴ روز (حاد) و ۱۲ روز (مزمن) گزارش کرده اند (۳۲)، که نتایج مطالعه ما برخلاف این سه مطالعه ارتباطی بین عصاره هیدروالکلی آویشن و فعالیت لیپوپروتئین لیپاز (LPL) را نشان نداد که همان طور که ذکر شد می تواند به دلیل نوع عصاره مورد مطالعه و طول مدت مصرف باشد. با وجود این که مطالعات مختلفی در زمینه ارتباط بین عصاره های گیاهی و LPL انجام شده است، ولی ارتباط بین عصاره های گیاهی و ANGPTL4 به میزان کم تری مورد بررسی قرار گرفته است. نقش تنظیمی ANGPTL4 در متابولیسم لیپیدها، حساسیت به انسولین و هوموستاز گلوکز به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است (۳۳-۳۵). در همین راستا ANGPTL4 به عنوان یک هدف بالقوه درمانی برای بیماری های متابولیکی و بیماری های قلبی عروقی پیشنهاد شده است. به عنوان مثال در مطالعه ای در سال ۲۰۱۸ مشخص شد که عدم وجود ANGPTL4 در بافت چربی باعث بهبود تحمل گلوکز و هم چنین کاهش آتروژنز می شود (۳۶). در مطالعه دیگری در سال ۲۰۱۶ مشخص شد که جهش های غیر فعال در ANGPTL4 با پروفیل های لیپید مطلوب همراه بوده و خطر بیماری

عروق کرونر پایین تر می باشد (۳۷). علاوه بر این، آنتی بادی های ضد ANGPTL4 می تواند سطح تری گلیسرید و کلسترول را در بیماران مبتلا به بیماری قلبی کاهش دهد (۳۸). مطالعات متنوعی در زمینه اثر فاکتور ANGPTL4 بر روی پروفایل لیپیدی انجام شده است. به عنوان مثال، Adachi و همکاران نشان دادند که کمبود ANGPTL4 باعث افزایش متابولیسم لیپیدها و سرکوب هایپرتری گلیسریدمی در موش های $ANGPTL4^{-/-}$ و $LDLR^{-/-}$ می شود (۳۹). در مطالعه دیگری، Desai و همکاران مشخص کردند که با استفاده از آنتی بادی منوکلونال علیه ANGPTL4، می توان سطح تری گلیسرید ناشتا را در موش کاهش داد (۴۰). علاوه بر این، Xu و همکاران نشان دادند که ANGPTL4 اثرات واضح و مشخصی بر روی متابولیسم گلوکز و چربی دارد و تاثیر آن بر روی هوموستاز گلوکز می تواند برای درمان دیابت مفید باشد (۱۵). در این پروژه نیز تاثیر عصاره هیدروالکلی گیاه آویشن بر روی سطوح سرمی ANGPTL4 و LPL در موش های صحرایی هایپرلیپیدمیک می باشد. هم چنین در مطالعه ای در سال ۲۰۱۶ ارتباط جهش در ژن های ANGPTL4 با بیماری های قلبی عروقی مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که افرادی که جهش های کم تری در ژن ANGPTL4 داشتند، دارای سطح تری گلیسرید پایین تری بودند و به علاوه ابتلا به بیماری های قلبی عروقی در این افراد کم تر مشاهده شد (۴۱). محققان در برخی از پژوهش ها نیز اثر آویشن بر روی فاکتورهای التهابی و سیتوکاین ها و پاسخ ایمنی را نیز مورد آنالیز قرار داده اند. برای مثال گزارش شده است که عصاره آویشن تولید NO در ماکروفاژهای موش را کاهش می دهد (۴۲). به علاوه مشخص شده است که عصاره های آویشن و پونه کوهی، سطح سیتوکین های پیش التهابی نظیر $IL-1\beta$ ، $IL-6$ و $TNF-\alpha$ را کاهش می دهند (۲۶).

در پایان با توجه به یافته های این مطالعه می توان نتیجه گرفت که استفاده از عصاره آویشن می تواند در

سپاسگزاری

این مقاله به عنوان پایان نامه دوره دکترای حرفه‌ای پزشکی خانم نوشین انگالی استخراج گردید که با مجوز و حمایت مالی معاونت توسعه پژوهش و فناوری تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی بوشهر در گروه بیوشیمی بالینی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بوشهر انجام گردید.

کاهش سطح کلسترول در افراد موثر باشد و استفاده از عصاره آویشن در دوزهای بالاتر و هم چنین برای مدت زمان طولانی تر جهت بررسی تاثیر این عصاره بر روی فاکتورهای لیپیدی، لیوپروتئین لیپاز (LPL) و ANGPTL4 پیشنهاد می‌شود.

References

1. Chen S, Lin G, You X, Lei L, Li Y, Lin M, et al. Hyperlipidemia causes changes in inflammatory responses to periodontal pathogen challenge: implications in acute and chronic infections. *Arch Oral Biol* 2014; 59(10): 1075-1084.
2. Griffiths R, Barbour S. Lipoproteins and lipoprotein metabolism in periodontal disease. *Clin Lipidol* 2010; 5(3): 397-411.
3. Kallio E, Buhlin K, Gustafsson A, Tuomainen A, Jauhiainen M, Klinge B, et al. Plasma lipopolysaccharide associates with proatherogenic lipoproteins in periodontitis patients. *Atherosclerosis Supplements* 2008; 9(1): 165-165.
4. Mead JR, Irvine SA, Ramji DP. Lipoprotein lipase: structure, function, regulation, and role in disease. *J Mol Med (Berl)* 2002; 80(12): 753-769.
5. Rinninger F, Kaiser T, Mann WA, Meyer N, Greten H, Beisiegel U. Lipoprotein lipase mediates an increase in the selective uptake of high density lipoprotein-associated cholesteryl esters by hepatic cells in culture. *J Lipid Res* 1998; 39(7): 1335-1348.
6. Ma Y, Henderson HE, Liu MS, Zhang H, Forsythe IJ, Clarke-Lewis I, et al. Mutagenesis in four candidate heparin binding regions (residues 279-282, 291-304, 390-393, and 439-448) and identification of residues affecting heparin binding of human lipoprotein lipase. *J lipid Res* 1994; 35(11): 2049-2059.
7. Wang H, Eckel RH. Lipoprotein lipase: from gene to obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009; 297(2): E271-E288.
8. Mandard S, Zandbergen F, van Straten E, Wahli W, Kuipers F, Müller M, et al. The fasting-induced adipose factor/angiopoietin-like protein 4 is physically associated with lipoproteins and governs plasma lipid levels and adiposity. *J Biol Chem*. 2006; 281(2): 934-944.
9. Mysling S, Kristensen KK, Larsson M, Kovrov O, Bensadoun A, Jørgensen TJ, et al. The angiopoietin-like protein ANGPTL4 catalyzes unfolding of the hydrolase domain in lipoprotein lipase and the endothelial membrane protein GPIHBP1 counteracts this unfolding. *ELIFE* 2016; 5: e20958.
10. Kersten S, Mandard S, Tan NS, Escher P, Metzger D, Chambon P, et al. Characterization of the fasting-induced adipose factor FIAF, a novel peroxisome proliferator-activated receptor target gene. *J Biol Chem* 2000; 275(37): 28488-28493.
11. Zandbergen F, van Dijk S, Müller M, Kersten S. Fasting-induced adipose factor/angiopoietin-like protein 4: a potential target for dyslipidemia? *Future Lipidol* 2006; 1(2):

- 227-236.
12. Yoshida K, Shimizugawa T, Ono M, Furukawa H. Angiopoietin-like protein 4 is a potent hyperlipidemia-inducing factor in mice and inhibitor of lipoprotein lipase. *J Lipid Res* 2002; 43(11): 1770-1772.
 13. Yu X, Burgess SC, Ge H, Wong KK, Nassem RH, Garry DJ, et al. Inhibition of cardiac lipoprotein utilization by transgenic overexpression of Angptl4 in the heart. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102(5): 1767-1772.
 14. Ge H, Yang G, Yu X, Pourbahrami T, Li C. Oligomerization state-dependent hyperlipidemic effect of angiopoietin-like protein 4. *J lipid Res* 2004; 45(11): 2071-2079.
 15. Xu A, Lam MC, Chan KW, Wang Y, Zhang J, Hoo RL, et al. Angiopoietin-like protein 4 decreases blood glucose and improves glucose tolerance but induces hyperlipidemia and hepatic steatosis in mice. *Proc Natl Acad Sci* 2005; 102(17): 6086-6091.
 16. Köster A, Chao YB, Mosior M, Ford A, Gonzalez-DeWhitt PA, Hale JE, et al. Transgenic angiopoietin-like (angptl) 4 overexpression and targeted disruption of angptl4 and angptl3: regulation of triglyceride metabolism. *Endocrinology* 2005; 146(11): 4943-4950.
 17. Rezaatofghi SE, Seydabadi A, Seyyed Nejad SM. Evaluating the efficacy of *Achillea millefolium* and *Thymus vulgaris* extracts against Newcastle disease virus in Ovo. *Jundishapur J Microbiol* 2014; 7(2): e9016. (Persian).
 18. Koohi-Hosseiniabadi O, Moini M, Safarpour A, Derakhshanfar A, Sepehrimanesh M. Effects of dietary *Thymus vulgaris* extract alone or with atorvastatin on the liver, kidney, heart, and brain histopathological features in diabetic and hyperlipidemic male rats. *Compare Clin Pathol* 2015; 24(6): 1311-1315.
 19. Tohidi B, Rahimmalek M, Arzani A. Essential oil composition, total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of *Thymus* species collected from different regions of Iran. *Food Chem* 2017; 220: 153-161.
 20. Ramchoun M, Harnafi H, Alem C, Benlyas M, Elrhaffari L, Amrani S. Study on antioxidant and hypolipidemic effects of polyphenol-rich extracts from *Thymus vulgaris* and *Lavandula multifida*. *Pharmacogn Res* 2009; 1(3): 106.
 21. Roby MHH, Sarhan MA, Selim KA-H, Khalel KI. Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. *Industrial Crops and Products* 2013; 43: 827-831.
 22. Saravanan S, Pari L. Role of thymol on hyperglycemia and hyperlipidemia in high fat diet-induced type 2 diabetic C57BL/6J mice. *Eur J Pharmacol* 2015; 761: 279-287.
 23. Juhás S, Cikós S, Czikková S, Veselá J, Il'ková G, Hájek T, et al. Effects of borneol and thymoquinone on TNBS-induced colitis in mice. *Folia Biol (Praha)* 2008; 54(1): 1-7.
 24. Alonso JR. *Tratado de fitomedicina: bases clínicas y farmacológicas*. Buenos Aires: Isis Ediciones S.R.L., 1998.
 25. Soliman K, Badeaa R. Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. *Food Chem Toxicol* 2002; 40(11): 1669-1675.
 26. Bukovská A, Cíkoš Š, Juhás Š, Il'ková G, Rehák P, Koppel J. Effects of a combination of thyme and oregano essential oils on TNBS-induced colitis in mice. *Mediators Inflamm* 2007; 23296.

27. Yaghmaei P, Heydarian E, Poorbahman N. The effect of *Thymus vulgaris* aqueous extract on hyperlipidemia in streptozotocin induced diabetic wistar rats. *J Food Technol Nutr*. 2012; 9(35): 15-20. (Persian)
28. Hanna ET, Aniess W, Khalil AF, Abdalla ES, Hassanin EA, Nagib EW. The effect of ginger and thyme on some biochemical parameters in diabetic rats. *IOSR J Pharm Biol Sci*. 2014; 9(3): 54-61.
29. Ekoh SN, Akubugwo EI, Ude VC, Edwin N. Anti-hyperglycemic and anti-hyperlipidemic effect of spices (*Thymus vulgaris*, *Murraya koenigii*, *Ocimum gratissimum* and *Piper guineense*) in alloxan-induced diabetic rats. *Int J Biosci*. 2014; 4(2): 179-187.
30. Iwata K, Inayama T, Kato T. Effects of *Spirulina platensis* on plasma lipoprotein lipase activity in fructose-induced hyperlipidemic rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 1990; 36(2): 165-171.
31. Huang L, Wen K, Gao X, Liu Y. Hypolipidemic effect of fucoidan from *Laminaria japonica* in hyperlipidemic rats. *Pharm Biol*. 2010; 48(4): 422-426.
32. Megalli S, Aktan F, Davies NM, Roufogalis BD. Phytopreventative anti-hyperlipidemic effects of *Gynostemma pentaphyllum* in rats. *J Pharm Pharm Sci* 2005; 8(3): 507-515.
33. Oike Y, Akao M, Kubota Y, Suda T. Angiopoietin-like proteins: potential new targets for metabolic syndrome therapy. *Trends Mol Med* 2005; 11(10): 473-479.
34. Kersten S. Regulation of lipid metabolism via angiopoietin-like proteins. Portland Press Limited; 2005.
35. Yoon JC, Chickering TW, Rosen ED, Dussault B, Qin Y, Soukas A, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor γ target gene encoding a novel angiopoietin-related protein associated with adipose differentiation. *Mol Cell Biol* 2000; 20(14): 5343-5349.
36. Aryal B, Singh AK, Zhang X, Varela L, Rotllan N, Goedeke L, et al. Absence of ANGPTL4 in adipose tissue improves glucose tolerance and attenuates atherogenesis. *JCI Insight* 2018; 3(6).
37. Dewey FE, Gusarova V, O'Dushlaine C, Gottesman O, Trejos J, Hunt C, et al. Inactivating variants in ANGPTL4 and risk of coronary artery disease. *N Engl J Med* 2016; 374(12): 1123-1133.
38. Tan MJ, Teo Z, Sng MK, Zhu P, Tan NS. Emerging roles of angiopoietin-like 4 in human cancer. *Mol Cancer Res* 2012; 10(6): 677-688.
39. Adachi H, Kondo T, Koh GY, Nagy A, Oike Y, Araki E. Angptl4 deficiency decreases serum triglyceride levels in low-density lipoprotein receptor knockout mice and streptozotocin-induced diabetic mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 409(2): 177-180.
40. Desai U, Lee EC, Chung K, Gao C, Gay J, Key B, et al. Lipid-lowering effects of anti-angiopoietin-like 4 antibody recapitulate the lipid phenotype found in angiopoietin-like 4 knockout mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(28): 11766-11771.
41. Stitzel NO, Stirrups KE, Masca N, Erdmann J, Ferrario PG, König IR, et al. Coding variation in ANGPTL4, LPL, and SVEP1 and the risk of coronary disease. *N Engl J Med* 2016; 374(12): 1134-1144.
42. Vigo E, Cepeda A, Perez Fernandez R, Gualillo O. In vitro anti inflammatory effect of *Eucalyptus globulus* and *Thymus vulgaris*: nitric oxide inhibition in J774A. 1 murine macrophages. *J Pharm Pharmacol* 2004; 56(2): 257-263.