Journal of
Arak University of Medical Sciences

June & July 2020. Vol 23. Issue 2

Research Paper

Effect of Bioflora and Cinnamon Extract Consumption on Dyslipidemia and Cardiovascular Disease in a Diabetic Rat Model

Fatemeh Shahrestan[1], *Parvaneh Jafari[1], Aram Gharebaghi[1], Iman Khani Farahani[2], Esmaeil Shahrestan[3]

1. Department of Microbiology, Faculty of science, Islamic Azad University, Arak branch, Arak, Iran.
2. Department of Materials Engineering, Faculty of Engineering, Shiraz University, Shiraz, Iran.
3. Department Physical Education and Sport Science, Brojerd Branch, Islamic Azad University, Brojerd, Iran.

Use your device to scan and read the article online

Citation: Shahrestan F, Jafari P, Khani I, Gharebaghi A, Shahrestan E. [Effect of Bioflora and Cinnamon Extract Consumption on Dyslipidemia and Cardiovascular Disease in a Diabetic Rat Model (Persian)]. Journal of Arak University of Medical Sciences (JAMS). 2020; 23(2):198-209. https://doi.org/10.32598/JAMS.23.2.5997.1

https://doi.org/10.32598/JAMS.23.2.5997.1

CC BY NC

Article Info:
Received: 19 Oct 2019
Accepted: 18 Nov 2019
Available Online: 01 Jun 2020

Key words:
Diabetes, Cardiovascular disease, Dyslipidemia, Lipid profile, hs-CRP, Probiotic, Cinnamon extract

ABSTRACT

Background and Aim Diabetes mellitus is one of the leading causes of death, and its prevalence is increasing annually because of the change in lifestyle. Increased blood glucose level and dyslipidemia are the major symptoms of this metabolic disease. Currently, the main and effective treatment for diabetes is the use of medication such as insulin. Its control by using herbal products has received a lot of attention in the world. The aim of this study is to evaluate the effects of bioflora (a probiotic supplement) and aqueous extract of cinnamon in improvement of blood glucose level, dyslipidemia, and reduction of cardiovascular diseases in diabetic rats.

Methods & Materials Thirty-five male Wistar rats were prepared and randomly divided into five groups of negative control, positive control, probiotic (treated with bioflora 3.2×108 CFUs/day for 30 days), cinnamon (treated with 200 mg/kg of cinnamon aqueous extract for 30 days), and probiotic + cinnamon. Diabetes was induced by intra-peritoneally injection of streptozotocin. The rats' weight, blood glucose level, lipid profile, high sensitivity C-Reactive Protein (hs-CRP) and Atherogenic Index (AI) were measured at the end of experiment to predict the risk of cardiovascular diseases.

Ethical Considerations This study ethically approved in Research Centre of Islamic Azad University of Arak (Code: IR.IAU.ARAKREC1397.005). All interventions performed in accordance with the Guide for Care and Use of Laboratory Animals prepared by the Institute of Laboratory Animal Resources.

Results Induction of diabetes caused severe weight lost in rats, but the weight loss was lower in groups treated with probiotic. The blood glucose level in probiotic + cinnamon group was significantly reduced. Bioflora reduced triglyceride, cholesterol, and Low-Density Lipoprotein Cholesterol (LDL-C) levels, while cinnamon extract significantly reduced triglyceride and LDL-C levels compared to the positive control group. AI and hs-CRP values were reduced in the probiotic group compared to control groups. There was no synergistic effect by combined use of bioflora and cinnamon extract.

Conclusion Bioflora effectively prevented dyslipidemia by improving intestinal microbiota, lowering blood glucose level, and improving lipid profile and, therefore, reduced the risk of cardiovascular diseases.

Corresponding Author:
Parvaneh Jafari, PhD.
Address: Department of Microbiology, Faculty of science, Islamic Azad University, Arak branch, Arak, Iran.
Tel: +98 (912) 2267223
E-mail: p-jafari@iau-arak.ac.ir

Extended Abstract

Introduction

Diabetes mellitus is an endocrine disease characterized by unusual lipid and sugar metabolisms. The global prevalence of diabetes has been rising rapidly. It is one of the leading causes of death in in low- and middle-income countries [2, 3]. There is an association between diabetes, metabolic syndrome and Cardiovascular Disease (CVD). Increased plasma level of Low-Density Lipoprotein (LDL) and Very-Low-Density Lipoprotein (VLDL) during metabolic syndrome, contribute to the pathogenesis of atherosclerosis [6-9]. Patients with diabetes are 2-4 times more at risk of CVD morbidity and mortality than individuals without diabetes. This study aimed to evaluate the effect of bioflora probiotic and aqueous extract of cinnamon plant on the amelioration of metabolic syndrome symptoms in rat model of diabetes. Bioflora is a commercial probiotic containing four probiotic strains include Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium longum, Bifidobacterium lactis, and Bifidobacterium bifidum.

Materials and Methods

In this study, 35 four-week-old male Wistar rats were purchased from Pasteur Institute of Iran. During the experiments, the animals were fed ad-libitum and had access to water all the times and kept under standard conditions. After 10 days of adaptation, rats were randomly divided into 5 groups of negative control (n=7, healthy rats), positive control (n=7, untreated diabetic rats), probiotic group (n=7, diabetic rats treated with bioflora probiotic 3.2×108 CFUs/day), cinnamon group (n=7, diabetic rats treated with 200 mg/kg cinnamon aqueous extract daily), and probiotic + cinnamon (n=7). A single high dose (60 mg/kg body weight) intra-peritoneal injection of Streptozotocin (STZ) was used to induce diabetes in rats. Only rats with a basal blood glucose level above 300 mg/dL were considered diabetic. After development of diabetes, rats were orally gavaged by 1 ml suspension of probiotic, cinnamon aqueous extract, or both for four weeks. At the end of experiment, the animals were anesthetized and 5 ml of blood samples were then extracted directly from their heart. The serum was separated from the clot by centrifugation and kept at -20° C. The glucose levels and lipid profile were assessed by using a specific assay kit (colorimetric). Quantitative immunoturbidimetric assay was used for identifying the high sensitivity C-Reactive Protein (hs-CRP) as a cardiovascular risk marker. Atherosclerosis Index (AI) was defined as log (Triglyceride/HDL-C).

Results

The STZ-induced diabetes caused a significant reduction in the body weight of animals where it was greater in animals treated with cinnamon aqueous extract (Table 1). The administration of bioflora probiotic increased the weight of rats in the probiotic group compared to other diabetic groups. It seems that the probiotic caused improvement in

Table 1. Mean levels of weight, blood glucose, lipid profile, AI and hs-CRP in different study groups

Variables	Mean±SD			
	Weight (g)	Glucose (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	LDL-C (mg/dl)
Negative control	21.33±3.48^{a}	168.3±00.49^{d}	69.01+8.62^{bc}	13.97±2.53^{b}
Positive control	-28.50±3.50^{c}	468.70±12.78^{a}	119.00±6.49^{a}	26.88±1.69^{a}
Probiotic	-7.75±0.75^{b}	329.05±8.19^{c}	41.25±2.95^{c}	17.00+1.02^{b}
Cinnamon	-29.01±2.00^{c}	337.01±9.29^{b}	71.33±8.51^{b}	29.05±3.21^{a}
Probiotic + Cinnamon	-11.96±2.14^{b}	323.30±8.57^{c}	41.33±4.06^{c}	14.50±0.50^{b}

Variables	Mean±SD			
	HDL-C (mg/dl)	cholesterol (mg/dl)	hs-CRP (mg/lit)	AI
Negative control	23.25±1.44^{a}	56.50±4.91^{b}	2.76±0.11^{b}	0.453±0.020^{b}
Positive control	23.33±0.88^{a}	75.75±4.03^{a}	3.99±0.22^{a}	0.699±0.024^{ac}
Probiotic	19.67±2.19^{a}	44.50+4.11^{d}	2.53±0.16^{b}	0.280±0.259^{d}
Cinnamon	18.05±2.08^{a}	61.04±3.0^{ac}	4.08±0.71^{a}	0.598±0.071^{ac}
Probiotic + Cinnamon	19.75±2.32^{a}	56.25±2.25^{c}	3.04±0.27^{b}	0.278±0.011^{d}

Common letters in row shows there is no significant difference between value

feed conversion ratio and feed uptake. Treatment with both bioflora probiotic and cinnamon extract led to a reduction in blood glucose, and also in cholesterol and triglyceride levels. The induction of diabetes had no any significant effect on the HDL-cholesterol (HDL-C) concentration. The LDL-Cholesterol (LDL-C) concentration, however, increased significantly with the diabetes induction. Bioflora probiotic reduced the LDL-cholesterol level while the cinnamon extract had no significant effect on this blood factor. The AI value was increased in rats due to bioflora probiotic administration. The hs-CRP, which is one the most important indicators of the risk of developing CVD, was increased in the positive control group. This factor significantly decreased in the probiotic group but its level in the cinnamon groups was not different from that in the positive control group. There was no reliable evidence of synergy between Bioflora probiotic and aqueous extract of cinnamon in amelioration of diabetes symptoms in rats.

Discussion

Insulin is a key hormone in glucose and lipid metabolisms. Insulin can regulate the production of a number of proteins affecting the circulating levels of lipoproteins. Insulin deficiency or insulin resistance in diabetes can lead to the development of dyslipidemia. Hence, people with diabetes are at high risk of CVDs. The results of this study showed that the blood glucose level in the groups treated with bioflora probiotic and cinnamon extract decreased by 19.65% and 29.81%, respectively. The most important antidiabetic components of cinnamon are cinnamaldehyde, cinnamate, cinnamic acid, and eugenol. Procyanidin type A is an important polymer in cinnamon which increases the glucose absorption and glycogen synthesis in tissue while reduces the glucose uptake by intestinal epithelial cells [26, 27]. Some probiotic strains increase the glucagon gene expression and cause glucose hemostasis by upregulating the Peroxisome Proliferator Activated Receptor γ (PPAR-γ) transcription factor [28-30].

The cinnamon extract improves lipid profile by inhibiting the ß-hydroxy-ß-methylglutaryl-coenzyme-A (HMG Co-A) reductase and reducing the oxidative stress. It is well documented that some bioflora probiotic strains can deconjugate the bile salts and lead to cholesterol reduction. The short-chain fatty acids produced by bioflora probiotic strains also inhibit the cholesterol synthesis in liver. Our results showed that bioflora reduced the risk of atherosclerosis by improvement of lipid profile. The hs-CRP level, as an indicator of CVD, is high in diabetic patients. The concentration of this factor increases 1000 times during infectious diseases and CVDs. Some strains of bioflora especially bifidobacteria, by inhibiting oxygen free radicals and reducing IL-6 gene expression, inhibit the increase of hs-CRP and reduce inflammation. It was concluded that use of bioflora as supplement can prevent and improve metabolic syndrome in diabetic patients.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

This study ethically approved in Research Centre of Islamic Azad University of Arak (Code: IR.IAU.ARAKREC1397.005). All interventions performed in accordance with the Guide for Care and Use of Laboratory Animals prepared by the Institute of Laboratory Animal Resources.

Funding

This article is extracted from a research project approved by research committee of Islamic Azad university of arak (Code: 266). Research deputy of this University financially suppoted part of this study.

Authors' contributions

Conceptualization: Parvaneh Jafari, Fatemeh Shahrestan; Methodology: Fatemeh Shahrestan, Aram Gharebaghi, Esmaeil Shahrestan; Data analysis: Parvaneh Jafari, Aram Gharebaghi; Investigation: All authors.

Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interests.

Acknowledgements

The authors gratefully acknowledge the financial support of the Islamic Azad University of Arak and Tak Gene Company for kindy providing us with probiotic product.

بهبود دیس‌لیپیدمی و کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی با استفاده از پروبیوتیک بیوفلورا و عصاره دارچین در رت‌های دیابتی‌شده با استرپتوزوتوسین

فاطمه شهرستان[۱]، *پروانه جعفری[۱]، آرام قره‌باغی[۱]، ایمان خانی فراهانی[۲]، اسماعیل شهرستان[۳]

۱. گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اراک، اراک، ایران.
۲. گروه مهندسی مواد، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.
۳. گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بروجرد، بروجرد، ایران.

اطلاعات مقاله:
تاریخ دریافت: ۲۷ مهر ۱۳۹۸
تاریخ پذیرش: ۲۷ آبان ۱۳۹۸
تاریخ انتشار: ۱۲ خرداد ۱۳۹۹

چکیده

زمینه و هدف دیابت یکی از مهم‌ترین عوامل مرگ‌ومیر در انسان‌هاست که با تغییر شیوه زندگی، شیوع آن به سرعت رو به گسترش است. از علائم این بیماری متابولیک، افزایش قند خون و دیس‌لیپیدمی است. کنترل این بیماری با استفاده از محصولات طبیعی در دنیا بسیار مورد توجه قرار گرفته است. هدف از این تحقیق، بررسی تأثیر پروبیوتیک بیوفلورا و عصاره آبی دارچین در بهبود سطح گلوکز و دیس‌لیپیدمی حاصله از دیابت و کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی بود.

مواد و روش‌ها ۳۵ رت نر نژاد ویستار به صورت تصادفی در ۵ گروه کنترل منفی، کنترل مثبت دیابتی، پروبیوتیک، عصاره دارچین و پروبیوتیک توأم با عصاره دارچین، گروه‌بندی شدند. القای دیابت با تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین انجام شد. گروه‌های تیمار به مدت ۳۰ روز $3/2\times10^{8}$ CFUs پروبیوتیک و یا ۲۰۰ mg/kg عصاره آبی دارچین دریافت کردند. در پایان دوره آزمون، تغییرات وزنی رت‌ها، قند خون، الگوی لیپیدی، hs-CRP و شاخص آتروژنی به منظور پیش‌بینی خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی تعیین شد.

ملاحظات اخلاقی این پژوهش با کد اخلاق IR.IAU.ARAK.REC.1397.005 در مرکز پژوهش‌های زیست‌پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی اراک به تصویب رسیده است.

یافته‌ها یافته‌های پژوهش نشان داد ابتلا به دیابت سبب کاهش شدید وزن رت‌ها شد، اما در گروه‌های دریافت‌کننده پروبیوتیک کاهش وزن کمتری مشاهده شد. به کارگیری پروبیوتیک و دارچین به صورت مؤثری سبب کاهش قند خون شد. پروبیوتیک بیوفلورا سبب کاهش میزان تری‌گلیسرید، کلسترول و LDL-C سرمی خون شد. در گروه تیمارشده با دارچین، تری‌گلیسرید خون نسبت به گروه کنترل مثبت، کاهش معنی‌دار داشت. شاخص آتروژنی و مارکر التهابی hs-CRP در گروه‌های تیمار شده با پروبیوتیک، کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل منفی و مثبت نشان داد. هیچ‌گونه سینرژی در استفاده توأم پروبیوتیک و عصاره آبی دارچین دیده نشد.

نتیجه‌گیری بیوفلورا با بهبود الگوی میکروبیوتای روده، کاهش قند خون و بهبود الگوی لیپیدی، به صورت مؤثری از دیس‌لیپیدی ناشی از دیابت ممانعت می‌کند و درنتیجه خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی را کاهش می‌دهد.

کلیدواژه‌ها:
دیابت، بیماری قلبی-عروقی، دیس‌لیپیدمی، الگوی لیپیدی، پروتئین C واکنشگر فوق حساس، پروبیوتیک، عصاره دارچین

مقدمه

دیابت ملیتوس یکی از متداول‌ترین بیماری‌های اندوکرین[۱] با متابولیسم غیرطبیعی قند و چربی است. قند خون در مبتلایان به دیابت به‌شدت افزایش می یابد و مشکلات جدی در چشم، کلیه، اعصاب و رگ‌های خونی ایجاد می‌کند [۱]. بر اساس گزارش سازمان بهداشت جهانی تعداد مبتلایان به این بیماری در دنیا از ۴۵۱ میلیون نفر در سال ۲۰۱۷ به ۶۹۳ میلیون نفر تا سال ۲۰۴۵ افزایش خواهد یافت [۲]. در سال ۲۰۱۶ این بیماری به طور مستقیم سبب مرگ ۱/۶ میلیون نفر شده و طبق تخمین سازمان بهداشت جهانی، هفتمین عامل مرگ و میر بوده است [۳، ۴]. شیوع این بیماری به واسطه رژیم غذایی نامناسب، تغییر الگوی زندگی از روستایی به شهری، چاقی، استرس‌ها و ... به خصوص در کشورهایی با درآمد متوسط و پایین، به‌شدت رو به گسترش است. رژیم غذایی غربی[۲] غنی از کربوهیدارت و چربی و فقیر به لحاظ فیبر، موجب توسعه روزافزون دیابت می‌شود [۵، ۶].

1.Endocrine

2.Western Diet

*نویسنده مسئول:
پروانه جعفری
نشانی: اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اراک، دانشکده علوم پایه، گروه میکروبیولوژی.
تلفن: ۲۲۶۷۲۲۳ (۹۱۲) ۹۸+
پست الکترونیکی: p-jafari@iau-arak.ac.ir

در مبتلایان به دیابت، خطر ابتلا و مرگ و میر به واسطه بیماری‌های قلبی-عروقی نیز به شدت افزایش می‌یابد. علت آن مقادیر غیر طبیعی چربی خون ناشی از سندرم متابولیک ناشی از تغییرات کمی، کیفی و حتی سنتزی لیپوپروتئین‌های بدن است. غلظت پلاسمایی شیلومیکرون‌ها[3]، لیپوپروتئین با دانسیته کم و (LDL) لیپوپروتئین با دانسیته بسیار کم (VLDL) در افراد مبتلا به دیابت افزایش یافته و از میزان کاتابولیسم این لیپوپروتئین‌ها کاسته می‌شود. از سوی دیگر، غلظت پلاسمایی لیپوپروتئین‌ها با دانسیته بالا (HDL) کم می‌شود و کاتابولیسم آن نیز افزایش می‌یابد. افزایش میزان LDL سبب گرفتگی عروق[4] می‌شود، به نحوی که خطر ابتلا به بیماری قلبی-عروقی تا ۱۰ برابر افراد سالم افزایش می‌یابد [۱۰-۷].

دیابت در ارتباط مستقیم با التهاب مزمن تحت بالینی[5] است؛ بدین معنی که سطوح غیرطبیعی از کموکاین‌ها[6] در بافت‌های چربی دیده می‌شود که نتیجه آن افزایش ترشح ادیپوکاین‌های پیش‌التهابی[7] است. افزایش غلظت این سایتوکاین‌ها به‌خصوص IL-1، IL-6 و TNF-α، سبب افزایش بیان پروتئین C واکنشگر[8] در سلول‌های کبدی، ماهیچه صاف و ماکروفاژها می‌شود [۱۲، ۱۱]. این پروتئین با فعال کردن مسیر کمپلمان[9] سبب تولید بیشتر سایتوکاین‌های پیش التهابی می‌شود؛ ازاین‌رو علاوه بر اینکه یک مارکر التهاب حاد به شمار می‌رود، نقش مهمی در افزایش التهاب هم بازی می‌کند. التهاب در تمامی مراحل گرفتگی عروق، از شروع، پیشرفت و درنهایت پاره شدن رگ‌ها نقش دارد. افزایش میزان CRP و خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی در افراد دیابتی به واسطه غیر طبیعی شدن الگوی لیپیدی است. در این افراد کاهش همزمان سطوح CRP و LDL، خطر گرفتگی رگ‌ها را به شدت کم می‌کند [۱۵-۱۳].

روش درمانی کاملی برای بیماری دیابت ارائه نشده، از این رو پیش‌گیری از ابتلا به این بیماری و کنترل آن حائز اهمیت فراوان است. مبتلایان به دیابت به طور معمول از مکمل‌های خاصی به صورت روزانه بهره می برند که از مهم‌ترین آن‌ها می توان به دارچین، Q10، گیاهان خانواده بامیه، منیزیم، شاه توت و سرکه اشاره کرد [۱۶].

نقش میکروبیوتای روده در ممانعت از توسعه این بیماری، توجه بسیاری را به خود معطوف داشته است [۱۸، ۱۷]. میکروبیوتای روده می‌تواند فیبرهای موجود در رژیم غذایی را تخمیر کرده و به اسیدهای چرب زنجیره کوتاه[10] تبدیل کند. این اسیدها با تحریک تولید ایمنوگلوبولین A و سایتوکاین‌های سرکوبگر ایمنی، نقش ضدالتهابی دارند. SCFAs سبب ترشح هورمون مشابه گلوکاگون[11] از سلول‌های انتروآندوکرین می‌شود [۲۰، ۱۹]. گلوکاگون سبب کاهش گلوکونئوژنز در کبد، افزایش حساسیت به انسولین در سلول‌ها و افزایش احساس سیری می‌شود. این اسیدهای چرب به طور مستقیم مانع از التهاب خفیفی می‌شوند که به واسطه ورود باکتری‌ها از روده به بافت‌های چربی احشایی و خون به وجود می‌آید [۲۲، ۲۱]. تمامی موارد فوق بیانگر اهمیت میکروبیوتا در حفظ هموستاز بدن و ممانعت از بسیاری از بیماری‌ها ازجمله دیابت است. متأسفانه زندگی شهرنشینی به واسطه تغییر الگوی تغذیه، استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها، استرس و .... آسیب‌هایی جدی به میکروبیوتا وارد کرده که در کاهش سلامت نمود پیدا می‌کند. به همین دلیل است که امروزه استفاده از غذاهای عمل‌گرا[12] به‌خصوص پروبیوتیک‌ها به همراه گیاهان دارویی به منظور پیشگیری و کنترل دیابت در دستور کار بسیاری از کشورهای توسعه یافته قرار گرفته است.

هدف این تحقیق، تولید نسل بعدی پروبیوتیک[13] غنی‌شده[14] با عصاره گیاهی دارچین است. NGPs محصولات پروبیوتیک مؤثر روی بیماری‌های خاص است که اخیراً محققان به آن توجه کرده‌اند. عصاره دارچین به عنوان غنی‌کننده انتخاب شد، زیرا طبق گزارش‌های سازمان بهداشت جهانی، این گیاه متداول‌ترین مکمل مورد استفاده در افراد دیابتی است. این گیاه دارای مواد مؤثر متفاوتی است که عوامل تقویت‌کننده انسولین[15] نام دارند [۲۴، ۲۳]؛ از این رو در این تحقیق، تأثیر پروبیوتیک تجاری بیوفلورا[16] (شرکت تک‌ژن) و عصاره آبی گیاه دارچین و اثر هم‌افزایی[17] ممکن آن‌ها در کاهش قند خون، التهاب و درنتیجه کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی در مبتلایان به دیابت بررسی شد. بیوفلورا حاوی ۴ سویه بیفیدوباکتریوم بیفیدوم[18]، بیفیدوباکتریوم لانگوم[19]، بیفیدوباکتریوم لاکتیس[20] و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس[21] است.

مواد و روش‌ها

نگهداری و گروه‌بندی حیوانات

3.Chylomicrons
4.Atherosclerosis
5.Subclinical chronic inflammation
6.Chemokines
7.Pro inflammatory Adipokines
8.C Reactive Protein
9.Complement pathway
10.SCFA

11.Glucagon like peptide-1
12.Functional Foods
13.Next Generation of Probiotic or NGP
14.Fortified
15.Insulin potentiating Factor
16.BioFlora
17.Synergism
18.*B. bifidum*
19.*B. longum*
20.*B. lactis*
21.*L. acidophilus*

۳۵ رت نر نژاد ویستار با وزن g ۲۰±۲۰۰ و سن ۸ هفته از انیستیتو پاستور تهران خریداری و در حیوان‌خانه دانشگاه آزاد اسلامی اراک نگهداری شدند. حیوانات در دوره‌های روشنایی/ تاریکی ۱۲ ساعته، دمای C ° ۲±۲۳ و رطوبت ۵۰٪ نگهداری شدند و دسترسی آزاد به آب و غذای استاندارد (شرکت به‌پرور) داشتند. تمامی مداخلات و آزمون‌های انجام‌شده طبق قوانین اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام شد. پس از سازش ۱۰ روزه، حیوانات به صورت تصادفی به ۵ گروه تقسیم شدند:

کنترل منفی: رت‌های سالم

کنترل مثبت: رت‌های دیابتی بدون تیمار

گروه تجربی پروبیوتیک: رت دیابتی تیمار با بیوفلورا

گروه تجربی دارچین: رت دیابتی تیمار با عصاره دارچین

گروه تجربی پروبیوتیک/دارچین: رت دیابتی تیمار توأم با بیوفلورا و دارچین

القای دیابت در رت‌ها

برای القای دیابت، دسترسی رت‌ها به آب و غذا به مدت h ۱۵-۱۲ قطع شد. داروی استرپتوزوتوسین (سیگما -آلمان) به میزان mg ۶۰ به ازای هر کیلو وزن رت، در بافر سیترات (pH=۴/۵) محلول و به صورت درون صفاقی تزریق شد [۲۵، ۲۶]. حیوانات به مدت ۱ هفته به لحاظ تغییرات رفتاری ازجمله پرنوشی و پر ادراری و کاهش وزن بررسی شدند. به منظور اطمینان از توسعه دیابت، خون‌گیری مستقیم از دم انجام و قند خون با استفاده از دستگاه گلوکومتر Major II Biosystem crop (ساخت تایوان) تعیین شد. رت‌هایی با قند بالاتر از mg/dl ۳۰۰ به عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند.

تیمار با پروبیوتیک و عصاره آبی دارچین

محتویات هر کپسول بیوفلورا شرکت تک‌ژن (۱/۸ میلیارد باکتری زنده) به آب مقطر استریل افزوده و سوسپانسیون شد. روزانه ml ۱ از سوسپانسیون به رت‌های دریافت‌کننده پروبیوتیک، گاواژ درون معدی شد، به نحوی که هر رت $۳/۲\times۱۰^{۸}$ باکتری دریافت کرد. لازم به ذکر است که دوز مؤثر پروبیوتیک بر اساس تحقیقات صورت گرفته روی این محصول به هنگام انتخاب سویه‌ها تعیین شد. گاواژ رت‌ها به مدت ۳۰ روز ادامه یافت.

برای تهیه عصاره آبی، نمونه دارچین (Cinnamomum Zeyl-anicum) از مرکز ملی ذخایر ایران تهیه و از سوی هرباریوم دانشگاه آزاد اسلامی اراک تأیید شد. دارچین با آسیاب مکانیکی پودر و ml ۳۰۰ آب به هر g ۱۰۰ از پودر افزوده شد. سوسپانسیون حاصل به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق هم زده و با قیف بوخنر عصاره‌گیری شد. محلول حاصله با استفاده از دستگاه روتاری (آلمان - IKA) تا رسیدن به حجم ml ۷ تغلیظ و در دمای C ° ۴ نگهداری شد [۲۲]. به هنگام استفاده، عصاره در آب مقطر رقیق شد، به نحوی که هر رت روزانه ml ۱ از عصاره با غلظت mg/kg ۲۰۰ را دریافت کرد [۲۷]. به منظور بررسی هم‌افزایی، پروبیوتیک و عصاره به غلظت‌های مشابه به طور همزمان به ml ۱ آب افزوده و به رت‌ها گاواژ شد. لازم به ذکر است که به منظور یکسان سازی شرایط، رت‌های گروه کنترل منفی و مثبت نیز روزانه با ml ۱ آب گاواژ شدند.

آزمون‌های بیوشیمیایی

در پایان دوره آزمون، دسترسی حیوانات به غذا به مدت ۱۵ ساعت قطع شد و پس از وزن‌کشی با استفاده از اورتان (سیگما -آلدریچ) بیهوش و ml ۵ خون به صورت مستقیم از قلب آن‌ها گرفته شد. نمونه خون با دور rpm ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و سرم جدا شده تا در دمای ℃ ۲۰- نگهداری شد. پروفایل لیپیدی شامل HDL، LDL، کلسترول و تری‌گلیسرید و قند خون با استفاده از روش رنگ‌سنجی آنزیمی و با کیت شرکت Bionic (ایران) با استفاده از دستگاه اتوانالایزر Selectra pro XL (محصول مشترک آلمان و هلند) سنجیده شد. میزان hs-CRP سرمی با روش ایمونوتوربیدیمتریک با کیت پارس آزمون (ایران) و دستگاه Chemistry Analyzer BT 4500 (ساخت ایتالیا) اندازه گرفته شد. شاخص آتروژنی (Atherogenic Index or AI) با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد [۲۸]:

$$Atherogenic\ Index = \log\left(\frac{Triglyceride}{HDL\text{-}C}\right)$$

آنالیز آماری داده‌ها

داده‌ها با استفاده از نرم افزار Graph pad prism6 و آزمون‌های T-test و واریانس یک‌طرفه و آزمونهای تعقیبی Tukey ارزیابی شد. نتایج حاصل به صورت میانگین و انحراف معیار گزارش و سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

القای دیابت در رت‌ها

القای دیابت تیپ ۱ در رت‌ها با تزریق ۱ دوز از استرپتوزوتوسین انجام شد. پس از گذشت ۷ تا ۱۰ روز، علائم دیابت به صورت پرنوشی، پر ادراری و کاهش وزن در رت‌ها بارز شد.

تغییرات وزنی رت‌ها

القای دیابت سبب کاهش وزن معنی‌دار رت‌ها شد (جدول شماره ۱). کاهش وزن رت‌ها در گروه‌های کنترل مثبت و عصاره دارچین همسان بود (P>۰/۹۱۲۶). در گروه‌های دریافت‌کننده پروبیوتیک، کاهش وزن به شدت گروه‌های دیگر نبود و در حدود ۷۳ درصد افزایش وزن رت‌ها را نسبت به گروه‌های کنترل مثبت

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار میزان وزن گیری، گلوکز سرمی، پروتئین C واکنشگر فوق‌حساس در گروه‌های مختلف آزمون

گروه ها	وزن‌گیری (g)	گلوکز (mg/dl)	Hs-CRP (mg/lit)	AI
کنترل منفی	۲۱/۳۳±۳/۴۸^{a}	۱۶۸/۳±۰۰/۴۹^{d}	۲/۷۶±۰/۱۱^{b}	۰/۴۵۳±۰/۰۱۹۹^{b}
کنترل مثبت	-۲۸/۵۰±۳/۵۰^{c}	۴۶۸/۷۰±۱۲/۷۸^{a}	۰/۲۲±۳/۹۹^{a}	۰/۶۹۹±۰/۰۲۴۳^{ac}
پروبیوتیک	-۷/۷۵±۰/۷۵^{b}	۳۲۹/۰۵±۸/۱۹^{c}	۲/۵۳±۰/۱۶^{b}	۰/۲۸۰±۰/۲۵۹^{b}
دارچین	-۲۹/۰۱±۲/۰۰^{c}	۳۷۷/۰۱±۹/۲۹^{b}	۴/۰۸±۰/۷۱^{a}	۰/۵۹۸±۰/۰۷۱۲^{ac}
پرو+دارچین	-۱۱/۹۶±۲/۱۴^{b}	۳۲۳/۳۰±۸/۵۷^{c}	۳/۰۴±۰/۲۷^{b}	۰/۲۷۸±۰/۰۱۱۳^{d}

حروف مشترک در هر ستون نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار است.

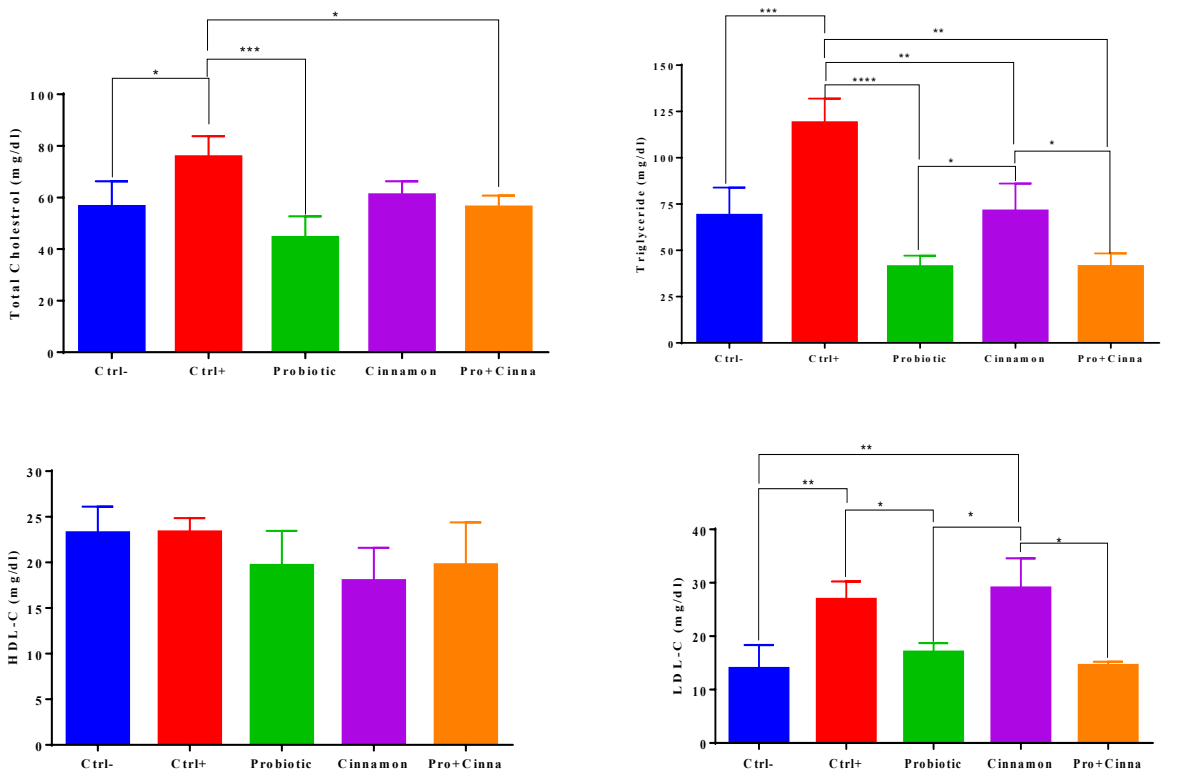
و دارچین در پی داشت (به‌ترتیب P=۰/۰۰۱۳ و P=۰/۰۰۱۱).

کاهش قند خون سرمی با پروبیوتیک و عصاره دارچین

قند سرمی رت‌ها در تمامی گروه‌ها به صورت معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل منفی بود (P<۰/۰۰۰۱) (جدول شماره ۱). تیمار با پروبیوتیک و عصاره دارچین به تنهایی و به صورت توأم سبب شد که قند خون، کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل مثبت نشان دهد (به‌ترتیب P<۰/۰۰۰۱ و P=۰/۰۰۰۲). در گروه‌های دریافت‌کننده پروبیوتیک، کاهش قند خون به صورت مؤثرتری نسبت به گروه دریافت‌کننده عصاره دارچین دیده شد (P<۰/۰۱۷۹)، اما سینرژی بین مصرف همزمان عصاره دارچین و پروبیوتیک در کاهش قند ملاحظه نشد.

ارزیابی الگوی لیپیدی سرم خون

القای دیابت در رت‌ها سبب افزایش معنی‌دار کلسترول و تری‌گلیسرید سرمی شد (تصویر شماره ۱). عصاره دارچین



تصویر ۱. میزان تری‌گلیسرید، کلسترول تام، C-LDH و C-LDL در گروه‌های مختلف رت، پس از یک ماه تیمار. نمودارهای نمایشگر میانگین و خطای استاندارد میانگین (Mean±SEM) هر گروه است.

**** P<۰,۰۰۰۱؛ *** P<۰,۰۰۱؛ ** P<۰,۰۱؛ * P<۰,۰۵

به صورت معنی‌داری سبب کاهش تری‌گلیسرید در رت‌های دیابتی شد، درحالی‌که بر سطح کلسترول تام سرمی فاقد اثر بود (به‌ترتیب P=۰/۰۰۱۲ و P=۰/۱۳۴۸). مصرف پروبیوتیک به تنهایی یا همراه با عصاره آبی دارچین سبب شد که میزان تری‌گلیسرید و کلسترول تام در رت‌ها نسبت به گروه کنترل مثبت کاهش معنی‌دار داشته باشد و اثر هم‌افزایی بین پروبیوتیک و عصاره دارچین مشاهده نشد.

بررسی سطوح HDL-C نشان داد که اختلالات متابولیسمی ناشی از القای دیابت، تأثیری در سطح سرمی این فاکتور لیپیدی نداشته است (P=۰/۹۴۱۷). تیمار پروبیوتیکی و عصاره گیاهی نیز تغییری در غلظت سرمی این فاکتور خونی ایجاد نکرد، در صورتی که میزان LDL-C به واسطه القای دیابت به صورت معنی‌داری در گروه کنترل مثبت افزایش یافت (P=۰/۰۰۹۷). عصاره دارچین تأثیری در کاهش این فاکتور خونی نداشت، اما در گروه‌های دریافت‌کننده پروبیوتیک، کاهش LDL-C نسبت به گروه کنترل مثبت معنی‌دار بود (به‌ترتیب P=۰/۰۳۹۳ و P=۰/۰۲۹۶). اثر هم‌افزایی نیز در به کارگیری همزمان این دو مشاهده نشد.

در این تحقیق، شاخص آتروژنی در گروه کنترل مثبت به واسطه دیس لیپیدمی حاصله از دیابت به صورت معنی‌داری افزایش یافت (P=۰/۰۰۰۸) (جدول شماره ۱). تیمار با بیوفلورا به واسطه بهبود الگوی لیپیدی به صورت معنی‌داری، شاخص آتروژنی را بهبود بخشید، به نحوی که این شاخص حتی از گروه کنترل منفی نیز کمتر بود (P=۰/۰۱۳۱). استفاده از دارچین تأثیری در تغییر شاخص آتروژنیک نسبت به گروه کنترل مثبت نداشت (P=۰/۲۷۹۸).

بررسی سطوح hs-CRP

hs-CRP یکی از مهم‌ترین شاخص‌های نشان‌دهنده خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی و عروقی است. در این تحقیق، میزان hs-CRP سرمی به واسطه دیابت در رت‌های گروه کنترل مثبت به صورت معنی‌داری افزایش یافت (P=۰/۰۰۳۷) (جدول شماره ۱). مصرف عصاره دارچین تأثیری در کاهش میزان این فاکتور سرمی نداشت (P=۰/۹۹۷۳). نکته قابل توجه، تأثیر پروبیوتیک به تنهایی و به همراه دارچین در کاهش میزان این پروتئین بود، به نحوی که غلظت آن اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل منفی نداشت (به‌ترتیب P=۰/۹۱۳۷ و P=۰/۸۶۱۸).

نتیجه‌گیری

در این تحقیق، تأثیر پروبیوتیک BioFlora و عصاره آبی دارچین در کاهش قند خون و بهبود الگوی لیپیدی در رت‌های دیابتی و درنتیجه کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی بررسی شد. نتایج حاصله از این تحقیق نشان داد که عصاره آبی دارچین سبب ۱۹/۶۵ درصد کاهش در میزان قند رت‌های دیابتی می‌شود، در حالی‌که در گروه پروبیوتیک این مقدار معادل ۲۹/۸۱ درصد است. از مهم‌ترین ترکیبات مؤثر دارچین می‌توان به سینامالدهید[22]، سینامات[23]، سینامیک اسید[24] و بسیاری از روغن‌های ضروری مثل اوژنول[25] اشاره کرد. از سایر عوامل مؤثر موجود در عصاره آبی دارچین با اثر ضددیابتی می‌توان پلیمرهای Procyanidin تیپ A را نام برد. این پلیمرها جذب گلوکز و سنتز گلیکوژن در کبد را افزایش و جذب گلوکز در روده کوچک را کاهش می‌دهند [۲۹، ۳۰]. سینامتانین از دیگر ترکیبات مؤثر دارچین است که با فسفریله کردن زیرواحد از گیرنده انسولین در سلول‌های ادیپوسیت سبب افزایش این گیرنده‌ها و درنتیجه کاهش قند خون می‌شوند. سینامالدهید موجود در عصاره دارچین سبب می‌شود که بیان گیرنده‌های GLUT1 و GLUT4 در سلول‌های ماهیچه‌ای و ادیپوسیت افزایش یابد که سبب افزایش انتقال گلوکز به درون این سلول‌ها می‌شود. به اثبات رسیده است که دارچین بیان PPAR-γ (Peroxisome prolif-erator-activated receptor gamma) و PPAR-α را افزایش می‌دهد. بیان این پروتئین‌ها سبب افزایش حساسیت سلول‌ها به انسولین و درنتیجه کاهش قند خون می‌شود. همچنین ثابت شده است که عصاره این گیاه می‌تواند گلوکونئوژنز را در کبد کاهش دهد و سبب تحریک فرایند سنتز گلیکوژن شود [۳۱].

میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک نیز با مکانیسم‌های چندی در کاهش قند خون مؤثر هستند که ازجمله مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به افزایش بیان پپتید مشابه گلوکاگون ۱ (Glucagon-like peptide-1 or GLP-1)، افزایش بیان ناقل‌های گلوکز در غشای سلولی و افزایش بیان PPAR-γ اشاره کرد که فاکتور رونویسی هسته‌ای دخیل در هموستاز گلوکز است [۳۲-۳۴]. پروبیوتیک ها با تخمیر فیبرهای غذایی، اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه تولید می کنند. این اسیدهای چرب منبع انرژی سلول‌های روده هستند و تولید هورمون‌ها مؤثر بر جذب و مصرف انرژی همانند لپتین و گرلین را تنظیم می کنند. اتصال اسیدهای چرب زنجیره کوتاه به گیرنده‌های مرتبط با پروتئین G همانند GPR41 و GPR43، بیان پپتید YY و GLP-1 را افزایش می‌دهد و نتیجه آن کاهش اشتها و افزایش حساسیت سلول‌ها به انسولین است [۳۵].

نتایج نشان داد که در شرایط به کار گرفته در این تحقیق، عصاره دارچین تأثیری بر میزان LDL-C و کلسترول تام ندارد، اما سبب کاهش میزان تری‌گلیسرید نسبت به گروه کنترل مثبت می‌شود. این عصاره با ممانعت از آنزیم HMG Co-A reduc-tase و کاهش استرس اکسیداتیو به بهبود الگوی لیپیدی کمک می‌کند. همانطور که گفته شد عصاره دارچین می‌تواند سبب افزایش بیان PPAR-γ شود که تنظیم‌کننده تمایز سلول‌های

22.Cinnamaldehyde
23.Cinnamate
24.Cinnamic acid
25.Eugenol

ادیپوسیت محسوب می‌شود. ثابت شده است که فعال شدن این پروتئین سبب کاهش تری‌گلیسرید پلاسمایی می‌شود و سطح HDL را نیز کاهش می‌دهد که این امر در نتایج حاصل از این تحقیق نیز مشاهده شد [۳۱].

در رت‌های گروه پروبیوتیک، میزان کلسترول تام، LDL-C و تری‌گلیسرید به صورت معنی‌داری کاهش یافت. آزمون‌های صورت‌گرفته روی میکروارگانیسم‌های موجود در بیوفلورا ثابت کرده است که این باکتریهای‌ها توانایی دکونژوگه کردن نمک‌های صفراوی را دارند. این امر سبب کاهش میزان لیپیدهای موجود در خون به منظور ساخت مجدد صفرا می‌شود. همچنین باکتری‌های مذکور، توانایی تولید دامنه وسیعی از SCFAs را دارند که مانع از سنتز کلسترول در سلول‌های کبدی می‌شود. مکانیسم‌های دیگر نیز در ارتباط با توانایی کاهش سطوح لیپیدی به وسیله پروبیوتیک پیشنهاد شده است؛ ازجمله جذب کلسترول و اسمیله کردن آن در ساختار باکتریایی، اتصال لیپیدهای موجود در روده به غشای باکتری و تبدیل کلسترول به کوپروستانول[۲۶]. بهبود الگوی لیپیدی در نتیجه مصرف این مکمل غذایی، خطر ابتلا به گرفتگی رگ را به شدت کاهش می‌دهد [۳۶]. این امر به خوبی در شاخص آتروژنیک مشاهده می‌شود که در گروه‌های دریافت‌کننده پروبیوتیک به وضوح کمتر از سایر گروه‌ها حتی گروه کنترل منفی است. لازم به ذکر است که فرایند گاواژ می‌تواند سبب افزایش استرس در رت‌ها شود [۳۷]. استرس از عواملی است که سبب بالا رفتن AI شده و زمینه ساز ابتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی می‌شود [۳۸].

در این تحقیق، کاهش خطر ابتلا به بیماری قلبی-عروقی با شاخص hs-CRP نیز به اثبات رسید. نتایج نشان داد که بیوفلورا، سطح hs-CRP را به صورت معنی‌داری کاهش می دهد، در حالی که در گروه عصاره دارچین این امر دیده نشد. hs-CRP یک متغیر غیروابسته بسیار مهم در مبتلایان به دیابت و بیماری‌های قلبی و عروقی است. میزان این پروتئین هنگام ابتلا به عفونت‌ها و بیماری‌های قلبی و عروقی می‌تواند تا ۱۰۰۰ برابر افزایش یابد. این افزایش می‌تواند به نوبه خود به التهاب شدیدتر منجر شود. پروبیوتیک‌ها با مهار رادیکال‌های هیدروکسیل و سوپر اکسید و کاهش بیان IL-6 در ادیبوسیت ها می توانند از افزایش hs-CRP جلوگیری کنند و التهاب را کاهش دهند.

بحث

عصاره دارچین و بیوفلورا هر دو خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی در رت‌های دیابتی را کاهش می‌دهند که این امر با کاهش میزان قند خون، بهبود الگوی لیپیدی و کاهش hs-CRP صورت می‌گیرد. نتایج حاصله نشان داد که بیوفلورا کارایی بالاتری در بهبود سندرم متابولیک حاصل از این بیماری دارد و می‌تواند دیس‌لیپیدمی حاصل از دیابت را بهبود بخشد. لازم به ذکر است که هیچ گونه هم‌افزایی بین بیوفلورا و عصاره آبی دارچین در غلظت‌ها و مدت زمان به کار گرفته شده در این تحقیق وجود ندارد.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این پژوهش با کد اخلاق به شماره IR.IAU.ARAK.REC/۱۳۹۷/۰۰۵ در مرکز پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی اراک به ثبت رسیده و تمامی تداخلات صورت گرفته بر روی حیوانات مطابق دستورالعمل کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی بوده است.

حامی مالی

این مقاله برگرفته از طرح علمی مصوب شورای پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک با مجوز ۲۶۶ بوده است. بخشی از هزینه پژوهش توسط معاونت پژوهش دانشگاه مذکور تامین گردیده است.

مشارکت نویسندگان

تعریف موضوع و بیان مسئله :دکتر پروانه جعفری، فاطمه شهرستان؛ روش پژوهش: فاطمه شهرستان، آرام قره باغی، اسماعیل شهرستان آنالیز داده ها: دکتر پروانه جعفری، آرام قره باغی؛ نگارش و بازبینی: دکتر پروانه جعفری؛ اجرا: تمامی نویسندگان.

تعارض منافع

نویسندگان تصریح می‌کنند که هیچ‌گونه تضاد منافعی در خصوص پژوهش حاضر وجود ندارد.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اراک برای حمایت مالی این طرح و همچنین از شرکت تک‌ژن برای تأمین پروبیوتیک بیوفلورا قدردانی می‌شود.

26.Coprostanol

References

[1] Lavin N. Manual of endocrinology and metabolism. Philadelphia, Pennsylvania, United States: Lippincott Williams & Wilkins; 2012.

[2] Cho N, Shaw J, Karuranga S, Huang Y, Da Rocha Fernandes J, Ohlrogge A, et al. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. Diabetes Research and Clinical Practice. 2018; 138:271-81. [DOI:10.1016/j.diabres.2018.02.023] [PMID]

[3] Whiting DR, Guariguata L, Weil C, Shaw JJDr, practice c. IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. Diabetes Research and Clinical Practice. 2011; 94(3):311-21. [DOI:10.1016/j.diabres.2011.10.029] [PMID]

[4] Balakumar P, Maung UK, Jagadeesh G J P R. Prevalence and prevention of cardiovascular disease and diabetes mellitus. Pharmacological Research. 2016; 113 (Part A):600-9. [DOI:10.1016/j.phrs.2016.09.040] [PMID]

[5] Pérez-Martínez P, García-Ríos A, Delgado-Lista J, Pérez-Jiménez F, López-Miranda JJ. Mediterranean diet rich in olive oil and obesity, metabolic syndrome and diabetes mellitus. Current Pharmaceutical Design. 2011; 17(8):769-77. [DOI:10.2174/138161211795428948] [PMID]

[6] Guariguata L, Whiting DR, Hambleton I, Beagley J, Linnenkamp U, Shaw JEJDR, et al. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. Diabetes Research and Clinical Practice. 2014; 103(2):137-49. [DOI:10.1016/j.diabres.2013.11.002] [PMID]

[7] Klop B, Elte J, Cabezas MJN. Dyslipidemia in obesity: Mechanisms and potential targets. Nutrients. 2013; 5(4):1218-40. [DOI:10.3390/nu5041218] [PMID] [PMCID]

[8] Wu L, Parhofer KGJM. Diabetic dyslipidemia. Diabetes Therapy. 2014; 63(12):1469-79. [DOI:10.1016/j.metabol.2014.08.010] [PMID]

[9] Vergès BJD. Pathophysiology of diabetic dyslipidemia: Where are we? Diabetologia. 2015; 58(5):886-99. [DOI:10.1007/s00125-015-3525-8] [PMID] [PMCID]

[10] Jaiswal M, Schinske A, Pop-Busui RJBP, Endocrinology RC, Metabolism. Lipids and lipid management in diabetes. Best Practice & Research: Clinical Endocrinology. 2014; 28(3):325-38. [DOI:10.1016/j.beem.2013.12.001] [PMID]

[11] Esser N, Legrand-Poels S, Piette J, Scheen AJ, Paquot NJDR. Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes. Diabetes Research and Clinical Practice. 2014; 105(2):141-50. [DOI:10.1016/j.diabres.2014.04.006] [PMID]

[12] Mahluji S, Ostadrahimi A, Mobasseri M, Attari VE, Payahoo LJA. Anti-inflammatory effects of Zingiber officinale in type 2 diabetic patients. Advanced Pharmaceutical Bulletin. 2013; 3(2):273.

[13] Laakso MJDc. Cardiovascular disease in type 2 diabetes from population to man to mechanisms: The Kelly West Award Lecture 2008. Diabetes Care. 2010; 33(2):442-9. [DOI:10.2337/dc09-0749] [PMID] [PMCID]

[14] Lee SH, Park SA, Ko SH, Yim HW, Ahn YB, Yoon KH, et al. Insulin resistance and inflammation may have an additional role in the link between cystatin C and cardiovascular disease in type 2 diabetes mellitus patients. Metabolism. 2010; 59(2):241-6. [DOI:10.1016/j.metabol.2009.07.019] [PMID]

[15] Parrinello CM, Lutsey PL, Ballantyne CM, Folsom AR, Pankow JS, Selvin EJAhJ. Six-year change in high-sensitivity C-reactive protein and risk of diabetes, cardiovascular disease, and mortality. American Heart Journal. 2015; 170(2):380-9. [DOI:10.1016/j.ahj.2015.04.017] [PMID] [PMCID]

[16] Ahmadi E, Alizadeh-Navaei R, Rezai MS. Efficacy of probiotic use in acute rotavirus diarrhea in children: A systematic review and meta-analysis. Caspian Journal of Internal Medicine. 2015; 6(4):187-95.

[17] Parekh PJ, Nayi VR, Johnson DA, Vinik AIJFie. The role of gut microflora and the cholinergic anti-inflammatory neuroendocrine system in diabetes mellitus. Frontiers in Endocrinology. 2016; 7:55. [DOI:10.3389/fendo.2016.00055] [PMID] [PMCID]

[18] Hartstra AV, Bouter KE, Bäckhed F, Nieuwdorp M. Insights into the role of the microbiome in obesity and type 2 diabetes. Diabetes Care. 2015; 38(1):159-65. [DOI:10.2337/dc14-0769] [PMID]

[19] Tolhurst G, Heffron H, Lam YS, Parker HE, Habib AM, Diakogiannaki E, et al. Short-chain fatty acids stimulate glucagon-like peptide-1 secretion via the G-protein-coupled receptor FFAR2. Diabetes. 2012; 61(2):364-71. [DOI:10.2337/db11-1019] [PMID] [PMCID]

[20] Kim CH, Park J, Kim MJIn. Gut microbiota-derived short-chain fatty acids, T cells, and inflammation. Immune Network. 2014; 14(6):277-88. [DOI:10.4110/in.2014.14.6.277] [PMID] [PMCID]

[21] Koh A, De Vadder F, Kovatcheva-Datchary P, Bäckhed F. From dietary fiber to host physiology: short-chain fatty acids as key bacterial metabolites. Cell. 2016; 165(6):1332-45. [DOI:10.1016/j.cell.2016.05.041] [PMID]

[22] Blaut MJPotNS. Gut microbiota and energy balance: role in obesity. Proceedings of the Nutrition Society. 2015; 74(3):227-34. [DOI:10.1017/S0029665114001700] [PMID]

[23] Qin B, Panickar KS, Anderson RA. Cinnamon: Potential role in the prevention of insulin resistance, metabolic syndrome, and type 2 diabetes. Journal of Diabetes Science and Technology. 2010; 4(3):685-93. [DOI:10.1177/193229681000400324] [PMID] [PMCID]

[24] Gruenwald J, Freder J, Armbruester N. Cinnamon and health. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2010; 50(9):822-34. [DOI:10.1080/10408390902773052] [PMID]

[25] Babujanarthanam R, Kavitha P, Rao UM, Pandian MR. Quercitrin a bioflavonoid improves the antioxidant status in streptozotocin: Induced diabetic rat tissues. Fundamental & Clinical Pharmacology. 2011; 358(1-2):121. [DOI:10.1007/s11010-011-0927-x] [PMID]

[26] Etuk EJABJA. Animals models for studying diabetes mellitus. Agriculture and Biology Journal of North America. 2010; 1(2):130-4.

[27] Shokri G, Fathi H, Jafari Sabet M, Nasri Nasrabadi N, Ataee R. Evaluation of anti-diabetic effects of hydroalcoholic extract of green tea and cinnamon on streptozotocin-induced diabetic rats. 2015, 1(2):20-9. [DOI:10.18869/acadpub.pbr.1.2.20]

[28] Dobiášová M, Frohlich J, Šedová M, Cheung MC, Brown BG. Cholesterol esterification and atherogenic index of plasma correlate with lipoprotein size and findings on coronary angiography. Journal of Lipid Research. 2011; 52(3):566-71. [DOI:10.1194/jlr.P011668] [PMID] [PMCID]

[29] Mollazadeh H, Hosseinzadeh HJIjobms. Cinnamon effects on metabolic syndrome: a review based on its mechanisms. 2016;19(12):1258.

[30] Lu Z, Jia Q, Wang R, Wu X, Wu Y, Huang C, Li Y. Hypoglycemic activities of A-and B-type procyanidin oligomer-rich extracts from different Cinnamon barks. Phytomedicine. 2011; 18(4):298-302. [DOI:10.1016/j.phymed.2010.08.008] [PMID]

[31] Medagama ABJ. The glycaemic outcomes of Cinnamon, a review of the experimental evidence and clinical trials. Nutrition Journal. 2015; 14(1):108. [DOI:10.1186/s12937-015-0098-9] [PMID] [PMCID]

[32] Shah NJ, Swami OC. Role of probiotics in diabetes: A review of their rationale and efficacy. 2017.

[33] Aw W, Fukuda Sh. Understanding the role of the gut ecosystem in diabetes mellitus. Journal of Diabetes Investigation. 2018; 9(1):5-12. [DOI:10.1111/jdi.12673] [PMID] [PMCID]

[34] Mishra AK, Dubey V, Ghosh AR. Obesity: An overview of possible role (s) of gut hormones, lipid sensing and gut microbiota. Metabolism. 2016; 65(1):48-65. [DOI:10.1016/j.metabol.2015.10.008] [PMID]

[35] Ebrahimi FS, Rad AH, Mosen M, Abbasalizadeh F, Tabrizi A, Khalili L Effect of L. acidophilus and B. lactis on blood glucose in women with gestational diabetes mellitus: A randomized placebo-controlled trial. Diabetology & Metabolic Syndrome. 2019; 11(1):75. [DOI:10.1186/s13098-019-0471-5] [PMID] [PMCID]

[36] Gadelha CJMU, Bezerra ANJJvb. Effects of probiotics on the lipid profile: Systematic review. Jornal Vascular Brasileiro. 2019; 18:e20180124.

[37] Brown AP, Dinger N, Levine BS. Stress produced by gavage administration in the rat. Contemporary topics in laboratory animal science/ American Association for Laboratory Animal Science. 2000; 39(1):17-21.

[38] Yao BC, Meng LB, Hao ML, Zhang YM, Gong T, Guo Z-gJJoIMR. Chronic stress: a critical risk factor for atherosclerosis. Journal of International Medical Research. 2019; 47(4):1429-40. [DOI:10.1177/0300060519826820] [PMID] [PMCID]

This Page Intentionally Left Blank