



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی رفسنجان

دانشکده پزشکی

گروه بیوشیمی بالینی

اثر سیلینین و کوئرستین بر آپوپتوز، ترشح انسولین و بیان ژن های مرتبط در رده سلولی بتا پانکراس (یک مطالعه برون تنی)

اساتید راهنما:

دکتر مهدی محمودی

دکتر محمدرضا حاجی زاده

اساتید مشاور:

دکتر علیرضا خوشدل

نگارش:

مریم مزرعه سفیدی

تابستان ۱۳۹۷

## چکیده

مقدمه: فلاونوئیدها به فراوانی در اکثر میوه ها و سبزیجات مصرفی وجود دارند و به نظر می رسد رژیم غذایی سرشار از فلاونوئید در پیشگیری و درمان بیماریهایی مانند دیابت مفید باشد از مهمترین فلاونوئیدهایی که بیان شده است در درمان دیابت می توانند نقش مهمی داشته باشند کوئرستین و سیلیبینین هستند. هدف از این مطالعه بررسی اثر این فلاونوئیدها بر روی بهبود زنده ماندن سلول های بتا انسولینما RINm5F، اثر تحریکی گلوکز در ترشح انسولین (GSIS) و محتویات یا ذخایر سلولی انسولین و همچنین بیان ژن های  $glut2$ ،  $neurod1$ ،  $mafa$ ،  $pdx1$  در حضور و عدم حضور STZ می باشد.

مواد و روش ها: مطالعات بر روی رده سلولی بتا انسولینما RINm5F انجام گرفت. زنده ماندن سلول ها توسط روش MTT بررسی گردید، نتایج MTT بوسیله روش فلوسایتومتری تایید شد و به منظور بررسی میزان GSIS و ذخایر سلولی انسولین کیت الایزا انسولین استفاده شد و در انتها از روش Realtime PCR برای بیان ژن های  $glut2$ ،  $neurod1$ ،  $mafa$ ،  $pdx1$  استفاده گردید. لازم به ذکر است برای انجام آزمایشات سلول ها بوسیله کوئرستین و یا سیلیبینین با غلظت  $50 \mu M$ ، تیمار همزمان و پیش تیمار کوئرستین و یا سیلیبینین در حضور و عدم حضور  $20 \text{ mM}$  STZ تیمار شدند.

نتایج: این مطالعه نشان داد کوئرستین و سیلیبینین زنده ماندن سلول های RINm5F را در حضور STZ بهبود بخشیدند و GSIS و ذخایر سلولی انسولین را در شرایط STZ و گلوکوتوکسیک افزایش می-دهند، همچنین این دو فلاونوئید بیان ژن های  $glut2$ ،  $neurod1$ ،  $mafa$  را افزایش دادند اما منجر به کاهش بیان ژن  $pdx1$  شدند. نتیجه گیری: به نظر می رسد کوئرستین و سیلیبینین اثرات مفیدی بر روی سلول های بتا دیابتی بخصوص سنتز و ترشح انسولین دارند. علاوه بر اثر درمانی با توجه به سمیت کم این فلاونوئیدها و نتایج حاصل از این مطالعه، کوئرستین و سیلیبینین احتمالاً می توانند در افراد در معرض دیابت به عنوان عامل پیشگیری در حفظ سلامت سلول های بتا نقش مهمی ایفا کنند.

واژگان کلیدی: کوئرستین، سیلیبینین، انسولین، RINm5F، STZ

**The effect of silylin and quercetin on apoptosis, insulin secretion and expression of related genes in the pancreatic beta cell line (an in vitro study).**

**Abstract**

**Introduction:** The effect of silibinin and quercetin on apoptosis, secretion and cellular insulin content and expression of relevant genes in the beta-pancreatic cell line (RINm5F) (an external study) Introduction: Flavonoids are abundant in most fruits and vegetables, and a flavonoid-rich diet seems to be useful in preventing and treating diseases like diabetes. Quercetin and silybinin are one of the most important flavonoids that have been shown to play an important role in the treatment of diabetes. The aim of this study was to evaluate the effect of these flavonoids on the improvement of the survival of beta-insulin RINm5F cells, glucose stimulating effect on insulin secretion (GSIS) and insulin cell contents or stores, as well as the expression of pdx1, mafa, neurod1 and glut2 genes in Presence and absence of STZ.

**Methods:** Studies were performed on the RINm5F beta-insulin cell line. Cell survival was investigated by MTT method. Results from MTT was confirmed by flow cytometry and insulin ELISA insulin kit was used to determine the GSIS and insulin cell contents. Finally, the Realtime PCR method was used to express the pdx1, mafa, neurod1 and glut2 genes. It should be noted that for testing of cells, quercetin or silibinin at a concentration of 50µg, simultaneous treatment and pre-treatment of quercetin or silibinin in the presence and absence of mM 20 STZ were treated.

**Results:** The results of this study showed that Quercetin and Silibinin improved the survival of RINm5F cells in the presence of STZ And GSIS and insulin cellular content increasde in STZ and high glucose status. Also, these two flavonoids increased the expression of the mafa, neurod1 and glut2 genes, but reduced the expression of the pdx1 gene.

**Conclusions:** Quercetin and silibinin seem to have beneficial effects on diabetic beta cells, especially the synthesis and secretion of insulin. In addition to the therapeutic effect of the low toxicity of these flavonoids and the results of this study, quercetin and silibinin may play an important role in diabetes as a preventative factor in maintaining the health of beta cells.

**Keywords:** Quercetin, Silibinin, Insulin, RINm5F, STZ



**Rafsanjan University of Medical Sciences**  
**Medical School**  
**Clinical Biochemistry Department**

The effect of silylin and quercetin on apoptosis, insulin secretion and expression of related genes in the pancreatic beta cell line (an in vitro study).

**Supervisors:**

Dr. Mahdi Mahmoodi  
Dr. Mohammad Reza Hajizadeh

**Advisors:**

Dr. Alireza Khoshdel

**By:**

Maryam Mazraei Sefidi

Autumn 2018