BIRJAND UNIVERSITY OF MEDICAL SCIENCES
Journal of Translational Medical Research
https://journal.bums.ac.ir

Original Article

Investigation of the effect of EGCG on *PDX1* gene expression in the pancreatic tissue of male Wistar rats in a D-Galactose-Induced aging model

Behnam Pedram [1], Mohammad Ali Firouzbakht [1], Seyyed Morteza Razaghi Manesh [1], Seyedeh Ommolbanin Ghasemian [2]*

[1] Department of Veterinary Medicine, Sho.C., Islamic Azad University, Shoushtar, Iran
[2] Department of Veterinary Medicine, Be.C., Islamic Azad University, Behbahan, Iran

***Corresponding author:** Seyedeh Ommolbanin Ghasemian
Tel: +98 9166711485 & +98 6152870105-9 E-mail: Ommolbanin.Ghasemian@iau.ac.ir

ABSTRACT

Background and Aims: Aging is associated with metabolic alterations and impaired pancreatic beta cell function. Pancreatic and duodenal homeobox 1(*PDX1*) plays an important role in beta cell differentiation, survival, and function, and alterations in its expression may accompany pancreatic dysfunction. This study aimed to investigate the effect of epigallocatechin-3-gallate (EGCG) on *PDX1* gene expression in the pancreatic tissue of adult male Wistar rats subjected to a D-galactose-induced aging model.

Materials and Methods: This experimental study included 40 adult male Wistar rats that were randomly allocated to four groups, namely control, EGCG, D-galactose, and D-galactose + EGCG. Aging was induced by intraperitoneal administration of D-galactose at 100 mg/kg body weight for 9 weeks. In the D-galactose + EGCG group, EGCG was administered after induction of the aging model at 25 mg/kg body weight by oral gavage for 4 weeks. Following treatment, RNA was extracted from pancreatic tissue, and cDNA was synthesized. *PDX1* expression was evaluated using real-time PCR and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method, with *GAPDH* as the reference gene. Data were analyzed using one-way analysis of variance followed by Tukey's post hoc test, with statistical significance set at $P<0.05$.

Results: Relative *PDX1* expression decreased in the D-galactose group, compared to the other groups. Moreover, EGCG administration after induction of aging increased *PDX1* expression in the D-galactose + EGCG group, compared to the D-galactose group (P=0.036). The RQ values were 1.01, 1.67, 0.35, and 0.69 in the control, EGCG, D-galactose, and D-galactose + EGCG groups, respectively.

Conclusion: Following induction of aging, EGCG administration was associated with increased *PDX1* expression in rat pancreatic tissue. Given the established role of PDX1 in maintaining β-cell identity and function, this finding may indicate that EGCG modulates molecular pathways involved in pancreatic β-cell homeostasis. Assessment of PDX1 protein levels and pancreatic functional indices may further clarify the biological significance of these molecular changes.

Keywords: Aging, D-galactose, Epigallocatechin gallate, PDX1, Pancreas, Real-time PCR

Citation: Pedram B, Firouzbakht MA, Razaghi Manesh SM, Ghasemian SO. [Investigation of the effect of EGCG on *PDX1* gene expression in the pancreatic tissue of male Wistar rats in a D-Galactose-Induced aging model]. Journal of Translational Medical Research (J Transl Med Res). 2026; 33(3): 241-252. [Persian]

DOI http://doi.org/10.66224/JBUMS.33.3.241

Received: July 14, 2026 **Revised:** September 16, 2026 **Accepted:** September 23, 2026

Copyright © 2026, Journal of Translational Medical Research. This open-access article is available under the Creative Commons Attribution-Non Commercial 4.0 (CC BY-NC 4.0) International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/), which allows for the copying and redistribution of the material only for noncommercial purposes, provided that the original work is properly cited.

[DOI: 10.66224/JBUMS.33.3.241]

مقاله اصیل پژوهشی

بررسی اثر EGCG بر بیان ژن *PDX1* در بافت پانکراس موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار در مدل پیری القاشده با دی‌گالاکتوز

بهنام پدرام [۱]، محمد علی فیروزبخت [۱]، سید مرتضی رزاقی‌منش [۱]، سیده ام‌البنین قاسمیان [۲] *

چکیده

زمینه و هدف: پیری با تغییرات متابولیک و اختلال در عملکرد سلول‌های بتای پانکراس ارتباط دارد. ژن (*PDX1*) *pancreatic and duodenal homeobox 1* نقش مهمی در تمایز، بقا و عملکرد سلول‌های بتا دارد و تغییر در بیان آن می‌تواند با اختلال عملکرد پانکراس همراه باشد. این مطالعه با هدف بررسی اثر اپی‌گالوکاتچین-۳-گالات (EGCG) بر بیان ژن *PDX1* در بافت پانکراس موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار در مدل پیری القاشده با دی گالاکتوز (D-galactose) انجام شد.

روش تحقیق: در این مطالعه تجربی، ۴۰ موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار به‌صورت تصادفی به چهار گروه کنترل، EGCG، D-galactose و D-galactose + EGCG تقسیم شدند. پیری با تزریق داخل‌صفاقی D-galactose با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۹ هفته القا شد. در گروه D-galactose + EGCG، پس از القای پیری، EGCG با دوز ۲۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به‌مدت ۴ هفته از طریق گاواژ خوراکی تجویز شد. پس از پایان تیمار، RNA بافت پانکراس استخراج و cDNA سنتز شد. بیان ژن *PDX1* با Real time PCR و روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ با استفاده از *GAPDH* به‌عنوان ژن مرجع ارزیابی شد. تحلیل آماری با ANOVA یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Tukey در سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ انجام شد.

یافته‌ها: یافته‌ها نشان داد که بیان نسبی ژن *PDX1* در گروه D-galactose در مقایسه با سایر گروه ها کاهش یافت. تجویز EGCG پس از القای پیری، بیان ژن *PDX1* را در گروه D-galactose + EGCG در مقایسه با گروه D-galactose به‌طور معنی‌داری افزایش داد (P=۰/۰۳۶). مقادیر RQ در گروه‌های کنترل، EGCG، D-galactose و D-galactose + EGCG به‌ترتیب ۱/۰۱، ۱/۶۷، ۰/۳۵ و ۰/۶۹ بود.

نتیجه‌گیری: در مجموع تجویز EGCG پس از القای پیری با افزایش بیان ژن *PDX1* در بافت پانکراس موش‌های صحرایی همراه بود. این یافته می‌تواند ارتباط میان EGCG و تنظیم مولکولی مرتبط با عملکرد سلول‌های بتا را مطرح کند. ارزیابی پروتئین PDX1 و شاخص‌های عملکردی پانکراس در مطالعات آینده می‌تواند به تبیین اهمیت زیستی این تغییرات کمک کند.

واژه‌های کلیدی: پیری، دی‌گالاکتوز، اپی‌گالوکاتچین-۳-گالات، *PDX1*، پانکراس، Real-time PCR

مجله "تحقیقات پزشکی ترجمانی". ۱۴۰۵؛ ۳۳ (۳): ۲۵۲-۲۴۱.

دریافت: ۱۴۰۵/۰۴/۲۳ ویرایش: ۱۴۰۵/۰۶/۲۵ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۷/۰۲

[۱] گروه دامپزشکی، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران
[۲] گروه دامپزشکی، واحد بهبهان، دانشگاه آزاد اسلامی، بهبهان، ایران

***نویسنده مسئول: سیده ام البنین قاسمیان**
آدرس: استان خوزستان- بهبهان- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بهبهان
تلفن: ۰۹۱۶۶۷۱۱۴۸۵ و ۰۶۱۵۲۸۷۰۱۰۵-۹ پست الکترونیکی: Ommolbanin.Ghasemian@iau.ac.ir

[DOI: 10.66224/JBUMS.33.3.241]

مقدمه

دیابت ملیتوس، به‌ویژه دیابت نوع ۲، یکی از مهم‌ترین و سریع‌ترین چالش‌های روبه‌رشد سلامت عمومی در جهان محسوب می‌شود و بار قابل‌توجهی بر نظام‌های درمانی، کیفیت زندگی بیماران و اقتصاد سلامت تحمیل می‌کند (۱،۲). این بیماری عمدتاً با اختلال در هموستاز گلوکز، کاهش حساسیت به انسولین و نارسایی تدریجی عملکرد سلول‌های بتای پانکراس مشخص می‌شود؛ فرآیندی که در نهایت می‌تواند به هیپرگلیسمی پایدار و بروز عوارض عروقی، کلیوی، عصبی و چشمی منجر شود (۳،۴). اگرچه مقاومت به انسولین یکی از ویژگی‌های محوری دیابت نوع ۲ است، شواهد نشان می‌دهد که افت عملکرد و بقای سلول‌های بتا نیز نقش تعیین‌کننده‌ای در پیشرفت بیماری و ناتوانی پانکراس در جبران نیاز متابولیک بدن دارد (۵،۶).

پیری یکی از عوامل مهم مستعدکننده اختلالات متابولیک و کاهش عملکرد پانکراس است. با افزایش سن، تغییرات ساختاری و عملکردی در بافت‌ها و اندام‌های مختلف رخ می‌دهد که می‌تواند با افزایش استرس اکسیداتیو، التهاب مزمن سطح پایین، اختلال در پاسخ‌های سلولی و کاهش ظرفیت ترمیمی همراه باشد (۷،۸،۹). در پانکراس، این تغییرات می‌توانند موجب کاهش کارایی سلول‌های بتا، اختلال در ترشح انسولین و افزایش احتمال ابتلا به اختلالات متابولیک شوند (۱۰). ازاین‌رو، بررسی مکانیسم‌های مولکولی مرتبط با پیری پانکراس و شناسایی ترکیباتی که بتوانند این تغییرات را تعدیل کنند، از نظر زیستی، بالینی و درمانی اهمیت ویژه‌ای دارد. یکی از مدل‌های رایج برای مطالعه تغییرات شبه‌پیری در مطالعات تجربی، مدل پیری القاشده با دی‌گالاکتوز است. تجویز مزمن دی‌گالاکتوز می‌تواند از طریق افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن، اختلال در دفاع آنتی‌اکسیدانی، آسیب ماکرومولکولی و القای تغییرات عملکردی در بافت‌های مختلف، الگوی قابل‌قبولی از پیری زودرس را ایجاد کند (۱۱،۱۲،۱۳). این مدل به‌طور گسترده برای ارزیابی مداخلات ضدپیری و بررسی اثر ترکیبات محافظتی بر اختلالات وابسته به سن استفاده شده است (۱۴،۱۵). با توجه به نقش برجسته استرس اکسیداتیو در اختلال عملکرد سلول‌های بتا، استفاده از این مدل می‌تواند بستری مناسب برای بررسی اثر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی بر مسیرهای مولکولی مرتبط با عملکرد پانکراس فراهم کند. در میان تنظیم‌کننده‌های مولکولی عملکرد سلول‌های بتا، فاکتور رونویسی (PDX1[1]) یا جایگاه محوری دارد. *PDX1* نه‌تنها در تکوین پانکراس و تمایز سلول‌های بتا نقش اساسی ایفا می‌کند، بلکه برای حفظ هویت سلول بتا، تنظیم بیان ژن انسولین و پایداری عملکرد ترشحی پانکراس نیز ضروری است (۱۶،۱۷). کاهش بیان یا اختلال در فعالیت PDX1 با نقص در ترشح انسولین، کاهش توان عملکردی سلول‌های بتا و پیشرفت اختلالات متابولیک مرتبط دانسته شده است (۱۷،۱۸). علاوه بر این، شواهد جدید نشان می‌دهد که استرس اکسیداتیو و مسیرهای دفاعی وابسته به *Nrf2* می‌توانند در تنظیم *PDX1* و عملکرد سلول‌های بتای پانکراس نقش داشته باشند (۱۹). بنابراین، *PDX1* می‌تواند به‌عنوان یک شاخص مولکولی برای ارزیابی اثر مداخلات محافظتی بر عملکرد پانکراس در شرایط پیری و استرس اکسیداتیو در نظر گرفته شود. اپی‌گالوکاتچین-۳-گالات (EGCG)، مهم‌ترین کاتچین فعال موجود در چای سبز، به‌دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، ضدآپوپتوزی و تنظیم‌کننده متابولیسم، توجه زیادی را در مطالعات زیست‌پزشکی به خود جلب کرده است (۲۰،۲۱،۲۲). اثرات زیستی EGCG عمدتاً به ساختار پلی‌فنولی آن، توانایی مهار رادیکال‌های آزاد، تعدیل مسیرهای التهابی و اثرگذاری بر مسیرهای پیام‌رسانی سلولی نسبت داده می‌شود (۲۳،۲۴). مطالعات پیشین نشان داده‌اند که EGCG می‌تواند از طریق کاهش استرس اکسیداتیو و التهاب، به بهبود عملکرد سلولی و حفاظت از بافت‌ها در برابر آسیب‌های متابولیک کمک کند (۲۲،۲۵،۲۶).

در زمینه اختلالات متابولیک و عملکرد پانکراس، شواهد روبه‌رشدی نشان می‌دهد که EGCG می‌تواند بر حساسیت به انسولین، بقای سلول‌های بتا، عملکرد میتوکندری و تنظیم مسیرهای مرتبط با آپوپتوز اثرگذار باشد. برای مثال، EGCG در مدل‌های مرتبط با اختلال عملکرد سلول‌های بتا، اثرات محافظتی خود را از طریق تعدیل مسیرهای میتوکندریایی و کاهش آسیب ناشی از گلوکز بالا نشان داده است(۲۷). همچنین، مطالعات تجربی نشان داده‌اند که

[1] Pancreatic and duodenal homeobox 1

[DOI: 10.66224/JBUMS.33.3.241]

EGCG می‌تواند توزیع و عملکرد سلول‌های آلفا و بتای جزایر پانکراس را تحت تأثیر قرار دهد و در بهبود عملکرد ترشحی پانکراس نقش داشته باشد (۲۸). علاوه بر این، گزارش شده است که عصاره چای سبز و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌توانند عملکرد ترشح انسولین را در مدل‌های تجربی اختلال پانکراس بهبود دهند (۲۹). شواهد جدیدتر نیز نشان داده‌اند که EGCG می‌تواند با افزایش بیان *PDX1*، حساسیت به انسولین را در برخی مدل‌های حیوانی بهبود بخشد (۳۰).

با وجود یافته‌های موجود درباره آثار EGCG بر استرس اکسیداتیو، التهاب، حساسیت به انسولین و بقای سلولی، بررسی اثر مستقیم این ترکیب بر بیان ژن *PDX1* در بافت پانکراس تحت شرایط پیری القاشده با D-galactose همچنان به شواهد تجربی بیشتری نیاز دارد. *PDX1* از تنظیم‌کننده‌های مهم عملکرد سلول‌های بتا و ترشح انسولین به شمار می‌رود و بررسی ارتباط میان مداخله آنتی‌اکسیدانی با EGCG، تغییرات مولکولی وابسته به پیری و بیان این فاکتور رونویسی می‌تواند در شناخت سازوکارهای مؤثر بر عملکرد پانکراس اهمیت داشته باشد (۱۶،۱۷،۱۹). بر این اساس، هدف مطالعه حاضر بررسی تأثیر EGCG بر بیان ژن فاکتور رونویسی *PDX1* مرتبط با ترشح انسولین در بافت پانکراس موش‌های صحرایی بالغ مبتلا به پیری القاشده با D-galactose بود؛ یافته‌های این پژوهش می‌تواند شواهد بیشتری درباره نقش احتمالی EGCG در تعدیل تغییرات مولکولی وابسته به پیری در پانکراس فراهم سازد و زمینه پژوهش‌های آینده درباره مداخلات تغذیه‌ای و ترکیبات زیست‌فعال مرتبط با اختلالات متابولیک و دیابت وابسته به افزایش سن را گسترش دهد.

روش تحقیق

تمامی مراحل آزمایش در چارچوب دستورالعمل‌های مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام شد.

تهیه مواد و داروها

EGCG از شرکت شیمی اندیشان آریا (تهران، ایران) تهیه شد. این ترکیب برای تجویز خوراکی، هر روز پیش از مصرف به‌صورت تازه در نرمال سالین استریل ۰/۹ درصد حل گردید. همچنین دی‌گالاکتوز از شرکت (سنت لوئیس، میزوری، آمریکا Sigma-Aldrich) تهیه شد و برای تزریق درون‌صفاقی (IP) در نرمال سالین حل شد تا غلظت مورد نظر فراهم گردد.

حیوانات و شرایط محیطی نگهداری

در این مطالعه از ۴۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با میانگین وزن ۲۰ ± ۲۵۰ گرم استفاده شد. حیوانات از انستیتو پاستور ایران (تهران، ایران) تهیه شدند. سپس در اتاق حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران نگهداری شدند. پیش از آغاز آزمایش، حیوانات به مدت یک هفته برای سازگاری با محیط آزمایشگاه نگهداری شدند. شرایط نگهداری شامل دمای کنترل‌شده ۲ ± ۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵ ± ۵۵ درصد و چرخه نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی بود. تمامی حیوانات به آب تصفیه‌شده و غذای استاندارد مخصوص جوندگان دسترسی آزاد داشتند. انتخاب حیوانات نر بالغ از یک نژاد و با محدوده وزنی مشابه، همراه با یکسان‌سازی شرایط نگهداری و تغذیه، به کاهش تغییرات ناشی از عوامل فردی و محیطی در گروه‌های مطالعه کمک کرد.

القای مدل سالمندی

برای ایجاد مدل سالمندی القاشده با D-galactose از یک پروتکل تجربی پیش‌تر گزارش‌شده استفاده شد. بر این اساس، رت‌های گروه‌های مربوطه D-galactose را با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، یک‌بار در روز و به‌صورت تزریق داخل‌صفاقی به مدت ۹ هفته متوالی دریافت کردند. این رژیم دوز، مسیر تجویز و دوره زمانی در مطالعات پیشین برای ایجاد تغییرات مرتبط با سالمندی در رت‌ها به کار گرفته شده است (۳۱). در مطالعه حاضر، تشکیل گروه مدل بر اساس اجرای کامل پروتکل القای سالمندی با D-galactose تعریف شد. ارزیابی حاضر بر بررسی تغییرات بیان ژن *PDX1* در بافت پانکراس پس از اجرای این پروتکل متمرکز بود.

[DOI: 10.66224/JBUMS.33.3.241]

طراحی آزمایش و گروه‌بندی

حیوانات در ابتدای مطالعه به‌طور تصادفی به چهار گروه آزمایشی، شامل گروه کنترل، گروه EGCG، گروه D-galactose و گروه ترکیبیEGCG + D-galactose، تقسیم شدند (هر گروه ۱۰ سر). پس از گروه‌بندی، القای سالمندی در دو گروه شامل D-galactose و EGCG + D-galactose انجام شد.

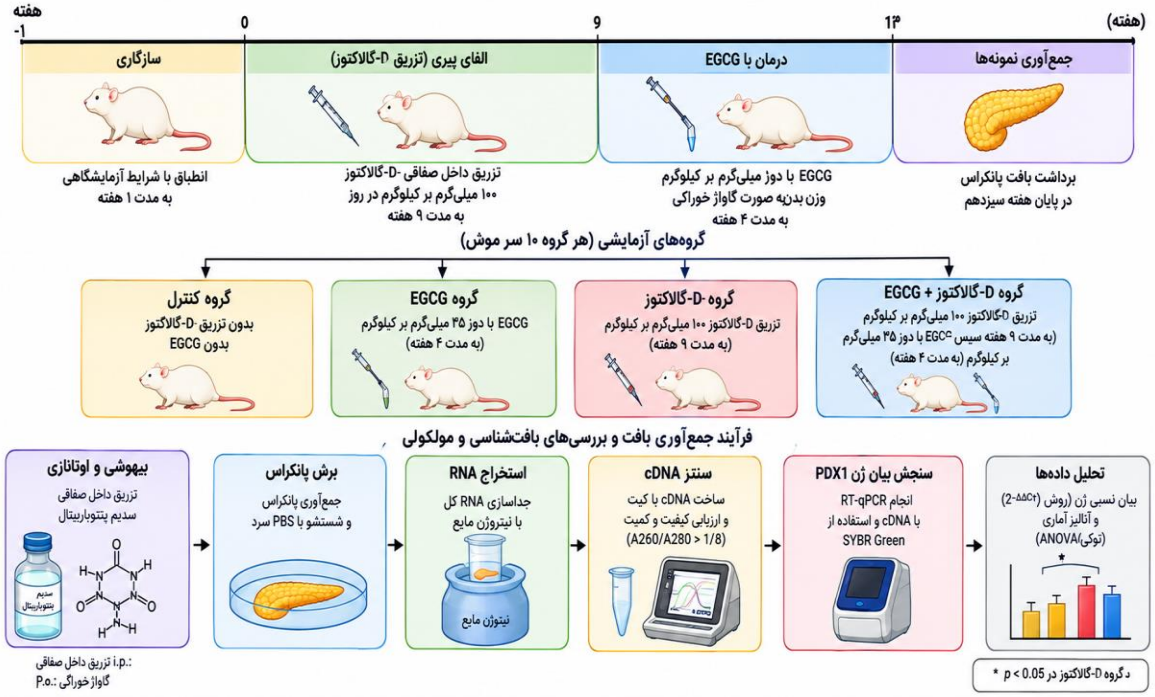
گروه کنترل: حیوانات این گروه مداخله آزمایشی با D-galactoseیا EGCG دریافت نکردند.

گروه EGCG: حیوانات این گروه EGCG را با دوز ۲۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، یک‌بار در روز و از طریق گاواژ خوراکی به مدت ۴ هفته دریافت کردند.

گروه :D-galactose حیوانات این گروه D-galactose را با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، روزانه و از طریق تزریق داخل‌صفاقی به مدت ۹ هفته دریافت کردند.

گروه D-galactose + EGCG: حیوانات این گروه ابتدا D-galactose را با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، روزانه و از طریق تزریق داخل‌صفاقی به مدت ۹ هفته دریافت کردند. پس از پایان دوره دریافت D-galactose، EGCG با دوز ۲۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، یک‌بار در روز و از طریق گاواژ خوراکی به مدت ۴ هفته تجویز شد.گروه‌های آزمایشی تحت شرایط نگهداری یکسان از نظر محیط حیوان‌خانه، دسترسی به آب و غذا و چرخه روشنایی–تاریکی قرار داشتند. ویژگی‌های پایه حیوانات پیش از آغاز مداخله، از جمله نژاد، جنس، مرحله بلوغ و محدوده وزنی، تا حد امکان مشابه در نظر گرفته شد تا تغییرپذیری ناشی از این عوامل بین گروه‌ها کاهش یابد. زمان‌بندی مداخلات و نمونه‌گیری نیز برای گروه‌های مطالعه بر اساس برنامه آزمایشی یکسان انجام شد.

مراحل اصلی طراحی آزمایش، شامل دوره سازگاری حیوانات، القای مدل سالمندی با D-galactose، تخصیص حیوانات به گروه‌های آزمایشی، تجویز EGCG، نمونه‌برداری از بافت پانکراس و ارزیابی بیان ژن *PDX1*، به‌صورت شماتیک در شکل ۱ ارائه شده است.



شکل ۱- نمودار جریان طراحی آزمایش و مراحل اجرای مطالعه. پس از دوره سازگاری، مدل سالمندی با تجویز داخل‌صفاقی D-galactose به مدت ۹ هفته ایجاد شد. حیوانات در گروه‌های کنترل، EGCG، D-galactose و D-galactose + EGCG مورد بررسی قرار گرفتند. EGCG با دوز ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از طریق گاواژ خوراکی به مدت ۴ هفته تجویز شد. در پایان هفته سیزدهم، بافت پانکراس برداشت شد و مراحل استخراجRNA، سنتز cDNA و سنجش بیان ژن *PDX1* با RT-qPCR انجام گرفت.

[DOI: 10.66224/JBUMS.33.3.241]

نمونه‌برداری و آماده‌سازی بافت

در پایان دوره آزمایشی، در هفته سیزدهم، حیوانات تحت بیهوشی عمیق با پنتوباربیتال سدیم، مطابق با دوز و مسیر تجویز مصوب کمیته اخلاق پژوهش‌های حیوانی، قرار گرفتند. پس از تأیید عمق مناسب بیهوشی، فرایند خاتمه انسانی زندگی حیوانات بر اساس روش مصوب انجام شد و مرگ حیوانات پیش از برداشت بافت تأیید گردید. بلافاصله پس از آن، حفره شکمی باز و بافت پانکراس با دقت برداشت شد. با محلول بافر فسفات سرد (PBS) شست‌وشو داده شد و سریعاً در نیتروژن مایع منجمد گردید. نمونه‌ها تا زمان انجام بررسی‌های مولکولی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

استخراج RNA و کنترل کیفیت

RNA تام از ۵۰ میلی‌گرم بافت پودر شده پانکراس با استفاده از کیت استخراج (شرکت پارس طوس، مشهد، ایران Total RNA) و طبق دستورالعمل شرکت سازنده استخراج شد. همگن‌سازی بافت در بافر RL انجام شد و پس از آن جداسازی فازی با استفاده از کلروفرم صورت گرفت. RNA با اتانول سرد ۷۵ درصد رسوب داده شد و سپس با استفاده از ستون‌های سیلیکایی خالص‌سازی گردید.

غلظت و خلوص RNA استخراج‌شده با استفاده از دستگاه نانودراپ (Pishro Pajouhesh، تهران، ایران) اندازه‌گیری شد. نمونه‌هایی که نسبت جذب نوری A260/A280 و A260/A230 آن‌ها بیشتر از ۸/۱ بود، دارای کیفیت مناسب در نظر گرفته شدند و برای مراحل بعدی مورد استفاده قرار گرفتند.

سنتز cDNA و واکنش RT-qPCR

مقدار ۱ میکروگرم از RNA تام با استفاده از کیت (Easy™ cDNA Synthesis پارس طوس، ایران) طبق دستورالعمل شرکت سازنده به cDNA تبدیل شد. واکنش RT-qPCR با استفاده از ۲ X SYBR Green Real-Time(پارس طوس، ایران PCR Master Mix) و توسط دستگاه Lava96 (DaAnGene Co., Ltd., China) انجام گرفت. برنامه حرارتی شامل واسرشت سازی اولیه (Initial denaturation) در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه، سپس ۴۰ چرخه شامل واسرشت سازی (Denaturation) در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ ثانیه و اتصال پرایمر (Annealing) در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۶۰ ثانیه بود. توالی پرایمرهای مورد استفاده با استفاده از نرم‌افزار Primer3 طراحی شد و ویژگی‌های آن‌ها در جدول ۱ ارائه شده است. ژن *GAPDH* به‌عنوان ژن مرجع داخلی برای نرمال‌سازی داده‌های بیان ژن مورد استفاده قرار گرفت.

ارزیابی کارایی تکثیر و تحلیل داده‌ها

به‌منظور اعتبارسنجی روش مقایسه‌ای Ct، منحنی استاندارد با استفاده از رقت‌های سریالی cDNA از ۱۰۰ تا ۰/۰۱ تهیه شد. کارایی تکثیر (E) با استفاده از فرمول $E = 10^{-1/slope} - 1$ محاسبه شد. از آنجا که کارایی تکثیر ژن هدف و ژن مرجع تقریباً مشابه بود، میزان بیان نسبی ژن‌ها با استفاده از روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ محاسبه شد.

تحلیل آماری

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۴ (IBM Corp., USA) تحلیل شدند و به‌صورت میانگین ± انحراف معیار (Mean ± SD) گزارش شدند. ابتدا نرمال بودن توزیع داده‌ها بررسی شد. برای تعیین تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و سپس از آزمون تعقیبی Tukey برای مقایسه‌های چندگانه استفاده شد. مقدار P<۰/۰۵ به‌عنوان سطح معنی‌داری آماری در نظر گرفته شد.

[DOI: 10.66224/JBUMS.33.3.241]

جدول ۱- ویژگی‌ها و توالی نوکلئوتیدی پرایمرهای اختصاصی مورد استفاده برای سنجش بیان ژن‌های *PDX1* و *GAPDH* در بافت پانکراس موش صحرایی با روش RT-qPCR.

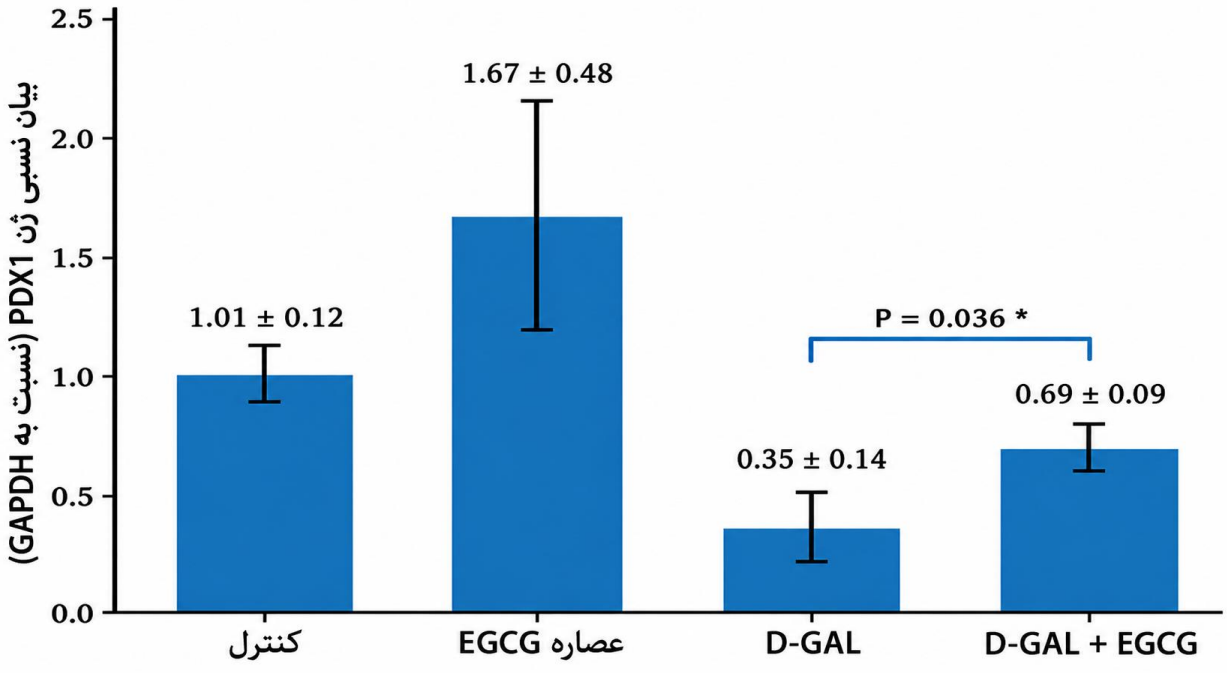
ژن	شماره دسترسی	پرایمر رفت (5’ → 3’)	پرایمر برگشت (5’ → 3’)	اندازه محصول (bp)
PDX1	NM_022852.3	AAACGCCACACACCAAGGAGAA	AGACCTGGCGGTTCACATG	150
GAPDH	NM_017008.4	AGTGCCAGCCTCGTCTCATA	GATGGTGATGGGTTTCCCGT	248

یافته‌ها

بیان ژن *PDX1* در بافت پانکراس

بررسی بیان نسبی ژن *PDX1* نشان داد که القای پیری با D-galactose موجب کاهش معنادار سطح بیان این ژن در بافت پانکراس موش‌های گروه D-GAL نسبت به گروه کنترل شد. در مقابل، تجویز EGCG در موش‌های پیر القا شده (گروه D-GAL + EGCG) با افزایش معنادار بیان نسبی *PDX1* نسبت به گروه D-GAL همراه بود (P=۰/۰۳۶).

تحلیل بیان نسبی ژن (RQ) نشان داد که گروه D-GAL کمترین سطح بیان *PDX1* را داشت، در حالی‌که تیمار با EGCG در گروه D-GAL + EGCG سطح بیان این ژن را نسبت به گروه D-GAL به‌طور معناداری افزایش داد (P=۰/۰۳۶) (شکل ۲).



شکل ۲- تأثیر تجویز EGCG بر بیان نسبی ژن *PDX1* در بافت پانکراس موش‌های صحرایی مدل پیری القاشده با D-galactose. بیان نسبی ژن *PDX1* به‌صورت RQ و با استفاده از ژن *GAPDH* به‌عنوان ژن مرجع داخلی محاسبه شد. ستون‌ها میانگین و میله‌های خطا، خطای استاندارد میانگین (SEM) را نشان می‌دهند. مقایسه آماری بین گروه D-GAL و D-GAL + EGCG بر اساس آزمون تعقیبی Tukey معنادار بود (P =۰/۰۳۶).

EGCG: epigallocatechin-3-gallate, D-GAL: D-galactose, RQ: relative quantification, SEM: standard error of the mean.

[DOI: 10.66224/JBUMS.33.3.241]

بحث

پیری با دگرگونی‌های پیشرونده در فرایندهای سلولی و مولکولی همراه است و این تغییرات می‌توانند عملکرد بافت‌های درگیر در تنظیم متابولیسم را تحت تاثیر قرار دهند. پانکراس از بافت‌هایی است که در جریان سالمندی با تغییرات عملکردی مواجه می‌شود و کاهش ظرفیت سلول‌های بتا و تغییر در تنظیم ترشح انسولین با اختلال تحمل گلوکز و دیابت نوع ۲ مرتبط با افزایش سن ارتباط دارند (۵،۷،۱۰). افزایش استرس اکسیداتیو، التهاب مزمن و اختلال در عملکرد میتوکندری از فرایندهایی هستند که در این تغییرات نقش دارند و می‌توانند فعالیت عوامل رونویسی تنظیم‌کننده عملکرد سلول‌های بتا را تحت تاثیر قرار دهند (۹،۱۹).

PDX1 یکی از عوامل رونویسی مهم در شکل‌گیری پانکراس و حفظ ویژگی‌های مولکولی سلول‌های بتا است و سطح بیان آن با وضعیت عملکردی این سلول‌ها ارتباط دارد (۱۶–۱۸). تغییر در بیان *PDX1* می‌تواند بازتابی از دگرگونی‌های مولکولی بافت پانکراس در شرایط مختلف متابولیک باشد. از این منظر، بررسی تغییرات بیان این ژن در مدل پیری القاشده با D-galactose می‌تواند اطلاعاتی درباره پاسخ مولکولی پانکراس به فرایند سالمندی فراهم کند.

در مطالعه حاضر، گروه D-galactose پایین‌ترین مقدار بیان نسبی *PDX1* را نشان داد و مقدار RQ در این گروه برابر با ۰/۳۵ ± ۰/۱۴ بود. در گروهD-GAL + EGCG ، مقدار بیان *PDX1* به ۰/۶۹ ± ۰/۰۹ رسید و این افزایش در مقایسه با گروه D-galactose از نظر آماری معنادار بود (P=۰/۰۳۶). این الگو نشان می‌دهد که تجویز EGCG پس از القای پیری با تعدیل کاهش بیان *PDX1* همراه بوده است. در عین حال، مقدار بیان *PDX1* در گروه درمان‌شده به سطح مشاهده‌شده در گروه کنترل نرسید و از این رو، الگوی مشاهده‌شده را می‌توان به‌صورت بازگشت نسبی بیان این ژن در نظر گرفت.

در گروه دریافت‌کننده EGCG بدون D-galactose نیز مقدار بیان نسبی *PDX1* برابر با ۱/۶۷ ± ۰/۴۸ بود که از مقدار مشاهده‌شده در گروه کنترل با RQ برابر با ۱/۰۱ ± ۰/۱۱ بیشتر بود. این یافته اهمیت مستقلی دارد و نشان می‌دهد که EGCG در شرایط بدون القای پیری نیز با افزایش بیان *PDX1* همراه بوده است. تفاوت مشاهده‌شده میان گروه EGCG و گروه کنترل می‌تواند نشان‌دهنده ظرفیت EGCG برای تعدیل بیان عوامل مرتبط با عملکرد سلول‌های بتا باشد. با توجه به اینکه *PDX1* در تنظیم برنامه مولکولی سلول‌های بتا نقش دارد، افزایش بیان آن در گروه EGCG می‌تواند با اثرات تنظیمی این ترکیب بر وضعیت سلولی پانکراس ارتباط داشته باشد (۱۶–۱۸). با این حال، تفسیر عملکردی این افزایش بر اساس داده‌های حاضر به اندازه‌گیری بیان ژن محدود است.

مطالعات پیشین نیز ارتباط میان EGCG و تغییرات مولکولی مرتبط با عملکرد سلول‌های پانکراس را مطرح کرده‌اند. Wang و همکاران افزایش بیان *PDX1* پس از تجویز EGCG را در یک مدل حیوانی گزارش کردند (۳۰). هم‌خوانی این یافته با نتایج مطالعه حاضر، احتمال وجود ارتباط میان EGCG و تنظیم بیان *PDX1* را تقویت می‌کند. تفاوت در مدل حیوانی، شرایط القای بیماری یا سالمندی، مقدار و مدت دریافت EGCG و شاخص‌های مورد بررسی می‌تواند در تفاوت شدت پاسخ میان مطالعات نقش داشته باشد.

یکی از سازوکارهای احتمالی مرتبط با اثر EGCG بر بیان *PDX1*، تنظیم سامانه دفاع آنتی‌اکسیدانی از طریق مسیر Nrf2 است. *Nrf2* به‌عنوان تنظیم‌کننده پاسخ سلولی به استرس اکسیداتیو، بیان مجموعه‌ای از ژن‌های مرتبط با دفاع آنتی‌اکسیدانی و حفظ تعادل اکسیداسیون و احیا را تنظیم می‌کند. EGCG می‌تواند فعالیت مسیر *Nrf2* را تحت تاثیر قرار دهد و از طریق تقویت ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی، شرایط سلولی مناسب‌تری برای حفظ عملکرد عوامل رونویسی مرتبط با سلول‌های بتا ایجاد کند (۲۱،۲۲،۲۷،۳۰). از این منظر، کاهش بیان *PDX1* در گروه D-GAL می‌تواند با تغییرات ناشی از استرس اکسیداتیو در مدل پیری ارتباط داشته باشد و افزایش بیان این ژن پس از دریافت EGCG ممکن است بخشی از پاسخ سلولی مرتبط با تعدیل این وضعیت باشد. این تفسیر در سطح یک سازوکار احتمالی باقی می‌ماند، زیرا شاخص‌های اختصاصی مسیر *Nrf2* در مطالعه حاضر اندازه‌گیری نشده‌اند.

[DOI: 10.66224/JBUMS.33.3.241]

الگوی تغییرات چهار گروه نیز از اهمیت قابل توجهی برخوردار است. گروه کنترل مقدار بیان *PDX1* را در سطح ۱/۰۱ نشان داد، در حالی که این مقدار در گروه EGCG به ۱/۶۷ افزایش یافت. القای پیری با D-galactose مقدار بیان را به ۰/۳۵ کاهش داد و دریافت EGCG در حیوانات پیر این مقدار را به ۰/۶۹رساند. بنابراین، پاسخ گروه D-GAL + EGCG در مقایسه با گروه D-GAL بیانگر افزایش نسبی بیان *PDX1* و بازگشت بخشی از کاهش ایجادشده در مدل پیری است. باقی‌ماندن مقدار RQ در گروه درمان‌شده در سطحی پایین‌تر از کنترل نیز نشان می‌دهد که پاسخ به EGCG در شرایط این مطالعه به سطح پایه کنترل نرسیده است. این الگوی کمی، در کنار معناداری آماری مقایسه گروه D-GAL و D-GAL + EGCG، می‌تواند مبنایی برای بررسی بیشتر اثرات EGCG بر تنظیم مولکولی بافت پانکراس باشد.

با وجود این، تغییر بیان *PDX1* به‌تنهایی برای تعیین وضعیت عملکردی سلول‌های بتا کفایت نمی‌کند. *PDX1* در سطح رونویسی با عملکرد سلول‌های بتا ارتباط دارد، اما ارتباط میان تغییرات بیان ژن و پیامدهای عملکردی به بررسی شاخص‌های پروتئینی و متابولیک نیاز دارد. اندازه‌گیری پروتئین *PDX1*، غلظت انسولین، شاخص‌های کنترل گلوکز و ارزیابی عملکرد سلول‌های بتا در مطالعات بعدی می‌تواند ارتباط میان تغییر بیان *PDX1* و عملکرد پانکراس را دقیق‌تر مشخص کند.

EGCG در مطالعات مختلف با تغییرات سلولی و مولکولی مرتبط با استرس اکسیداتیو و تنظیم پاسخ‌های سلولی همراه بوده است (۲۱،۲۲،۲۷،۳۰). در مطالعه حاضر، تمرکز بر بیان *PDX1* امکان بررسی مستقیم ارتباط میان EGCG و این عامل رونویسی را فراهم کرد. بررسی همزمان نشانگرهای مرتبط با *Nrf2*، وضعیت اکسیداتیو، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و سایر تنظیم‌کننده‌های مولکولی در مطالعات آینده می‌تواند در تعیین سازوکارهای احتمالی دخیل در افزایش بیان *PDX1* پس از دریافت EGCG کمک‌کننده باشد.

محدودیت‌های مطالعه

مدل پیری القاشده با D-galactose امکان مطالعه برخی تغییرات مولکولی و متابولیکی مرتبط با سالمندی را فراهم می‌کند، در حالی که فرایند پیری طبیعی تحت تأثیر مجموعه گسترده‌ای از تغییرات سلولی، بافتی و سیستمیک قرار دارد. بنابراین، تعمیم یافته‌های این مدل به سالمندی طبیعی نیازمند بررسی در مدل‌های تکمیلی است. مطالعه حاضر بر بیان ژن *PDX1* در بافت پانکراس متمرکز بود و ارزیابی پروتئین*PDX1*، ترشح انسولین، عملکرد سلول‌های بتا و شاخص‌های متابولیک مرتبط در این طرح انجام نشد. از این رو، تفسیر عملکردی یافته‌ها با توجه به سطح بیان ژن صورت می‌گیرد. در این مطالعه در دو گروه کنترل و EGCG مدل پیری و درمان القا نشده است و فقط در دو گروه galactose و D-galactose + EGCG مدل پیری القا شده و درمان انجام شده است.

استفاده از یک دوز EGCG، بررسی حیوانات نر و دوره مداخله مشخص‌شده در این مطالعه، دامنه بررسی پاسخ‌های وابسته به دوز، تفاوت‌های جنسی و پیامدهای طولانی‌مدت را محدود می‌کند. همچنین، شدت پیری القاشده با D-galactose با مجموعه‌ای از نشانگرهای مستقل سالمندی، شاخص‌های عملکردی یا ارزیابی بافت‌شناختی به‌طور هم‌زمان سنجیده نشد. مطالعات آینده با طراحی چنددوزی EGCG، بررسی هر دو جنس، دوره‌های مداخله متفاوت و ارزیابی هم‌زمان نشانگرهای سالمندی، *PDX1*، پروتئین *PDX1*، عملکرد سلول‌های بتا و مسیر *Nrf2* می‌توانند ارتباط میان پیری، EGCG و تغییرات مولکولی پانکراس را با دقت بیشتری مشخص کنند. همچنین، ماهیت حیوانی مطالعه، تعمیم مستقیم یافته‌ها به شرایط انسانی را محدود می‌کند و بررسی‌های تجربی و بالینی تکمیلی برای ارزیابی قابلیت انتقال این یافته‌ها به انسان مورد نیاز است.

نتیجه‌گیری

یافته‌های این پژوهش نشان داد که پیری القاشده با D-galactose با تغییر بیان ژن *PDX1* در بافت پانکراس همراه بود و تجویز EGCG این تغییر را تعدیل کرد. بر اساس داده‌های حاصل از این مطالعه، اثر EGCG بر بیان *PDX1* در مدل مورد بررسی

[DOI: 10.66224/JBUMS.33.3.241]

قابل مشاهده بود. بررسی هم‌زمان شاخص‌های پروتئینی، عملکردی و متابولیکی می‌تواند در پژوهش‌های آینده به شناخت بیشتر پیامدهای زیستی این تغییر کمک کند.

تقدیر و تشکّر

نویسندگان بر خود لازم می دانند از زحمات آزمایشگاه تحقیقاتی و حیوان خانه دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران تشکر و قدردانی نمایند.

ملاحظات اخلاقی

تمامی مراحل آزمایش در چارچوب دستورالعمل‌های مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام شد. پروتکل این مطالعه به تأیید کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اهواز رسید (کد اخلاق: IR.IAU.AHVAZ.REC.1404.398). در تمامی مراحل، تلاش شد تا رنج حیوانات به حداقل برسد و تعداد حیوانات مورد استفاده نیز کاهش یابد.

حمایت مالی

این پژوهش با حمایت مالی محققین انجام شد.

مشارکت نویسندگان

بهنام پدرام و محمدعلی فیروزبخت: انجام مطالعه

سیده ام‌البنین قاسمیان و محمدعلی فیروزبخت: آنالیز داده‌ها و نگارش

سید مرتضی رزاقی‌منش: نظارت بر حسن اجرای مطالعه

سیده ام‌البنین قاسمیان: ایده، طراحی و نگارش مقاله.

تضاد منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

منابع

1. Hossain MJ, Al-Mamun M, Islam MR. Diabetes mellitus, the fastest growing global public health concern: Early detection should be focused. Health Sci Rep. 2024;7(3):e2004. DOI: 10.1002/hsr2.2004
2. Lovic D, Piperidou A, Zografou I, Grassos H, Pittaras A, Manolis A. The growing epidemic of diabetes mellitus. Curr Vasc Pharmacol. 2020;18(2):104-9. DOI: 10.2174/1570161117666190405165911
3. Sapra A, Bhandari P. Diabetes. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023. Sapra A, Bhandari P. Diabetes. [Updated 2023 Jun 21]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551501/
4. Wolosowicz M, Prokopiuk S, Kaminski TW. Recent advances in the treatment of insulin resistance targeting molecular and metabolic pathways: Fighting a losing battle? Medicina. 2022;58(4):472. DOI: 10.3390/medicina58040472
5. De Tata V. Age-related impairment of pancreatic beta-cell function: Pathophysiological and cellular mechanisms. Front Endocrinol. 2014;5:138. DOI: 10.3389/fendo.2014.00138
6. Matschinsky FM, Wilson DF. The central role of glucokinase in glucose homeostasis: A perspective 50 years after demonstrating the presence of the enzyme in islets of Langerhans. Front Physiol. 2019;10:148. DOI: 10.3389/fphys.2019.00148
7. de Magalhães JP, Passos JF. Stress, cell senescence and organismal ageing. Mech Ageing Dev. 2018;170:2-9. DOI: 10.1016/j.mad.2017.07.001
8. Flint B, Tadi P. Physiology, aging. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023. Flint B, Tadi P. Physiology, Aging. [Updated 2023 Jan 4]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556106/

[DOI: 10.66224/JBUMS.33.3.241]

9. Tchkonia T, Kirkland JL. Aging, cell senescence, and chronic disease: Emerging therapeutic strategies. JAMA. 2018;320(13):1319-20. DOI: 10.1001/jama.2018.12440

10. Huang LY, Liu CH, Chen FY, Kuo CH, Pitrone P, Liu JS. Aging affects insulin resistance, insulin secretion, and glucose effectiveness in subjects with normal blood glucose and body weight. Diagnostics. 2023;13(13):2158. DOI: 10.3390/diagnostics13132158

11. de Almeida Rezende MS, Oliveira de Almeida AJP, Gonçalves TAF, de Azevedo FLAA, Dantas SH, Silva SL, et al. D-(+)-galactose-induced aging: A novel experimental model of erectile dysfunction. PLoS One. 2021;16(4):e0249487. DOI: 10.1371/journal.pone.0249487

12. Ho SC, Liu JH, Wu RY. Establishment of the mimetic aging effect in mice caused by D-galactose. Biogerontology. 2003;4(1):15-18. DOI: 10.1023/a:1022417102206

13. Wei H, Li L, Song Q, Ai H, Chu J, Li W. Behavioural study of the D-galactose-induced aging model in C57BL/6J mice. Behav Brain Res. 2005;157(2):245-251. DOI: 10.1016/j.bbr.2004.07.003

14. Bayraktaroğlu SB, Turan RD, Taşlı NP, Şahin F. Evaluation of anti-aging agents using the D-galactose-induced accelerated aging model. In: Turksen K, editor. Stem cells and aging. Methods Mol Biol. Vol 2960. Humana Press; 2025. DOI: 10.1007/7651_2025_609

15. Bjørklund G, Shanaida M, Lysiuk R, Butnariu M, Peana M, Sarac I, et al. Natural compounds and products from an anti-aging perspective. Molecules. 2022;27(20):7084. DOI: 10.3390/molecules27207084

16. Ebrahim N, Shakirova K, Dashinimaev E. PDX1 is the cornerstone of pancreatic β-cell functions and identity. Front Mol Biosci. 2022;9:1091757. DOI: 10.3389/fmolb.2022.1091757

17. Zhang Y, Fang X, Wei J, Miao R, Wu H, Ma K, et al. PDX-1: A promising therapeutic target to reverse diabetes. Biomolecules. 2022;12(12):1785. DOI: 10.3390/biom12121785

18. Liu J, Lang G, Shi J. Epigenetic regulation of PDX-1 in type 2 diabetes mellitus. Diabetes Metab Syndr Obes. 2021; 14: 431-442. DOI: 10.2147/DMSO.S291932

19. Baumel-Alterzon S, Scott DK. Regulation of Pdx1 by oxidative stress and Nrf2 in pancreatic beta-cells. Front Endocrinol. 2022;13:1011187. DOI: 10.3389/fendo.2022.1011187

20. Chen ZM, Lin Z. Tea and human health: Biomedical functions of tea active components and current issues. J Zhejiang Univ Sci B. 2015;16(2):87-102. DOI: 10.1631/jzus.B1500001

21. Kim HS, Quon MJ, Kim JA. New insights into the mechanisms of polyphenols beyond antioxidant properties: Lessons from the green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate. Redox Biol. 2014;2:187-195. DOI: 10.1016/j.redox.2013.12.022

22. Mokra D, Joskova M, Mokry J. Therapeutic effects of green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate (EGCG) in relation to molecular pathways controlling inflammation, oxidative stress, and apoptosis. Int J Mol Sci. 2022;24(1):340. DOI: 10.3390/ijms24010340

23. Truong VL, Jeong WS. Cellular defensive mechanisms of tea polyphenols: Structure-activity relationship. Int J Mol Sci. 2021;22(17):9109. DOI: 10.3390/ijms22179109

24. Yahfoufi N, Alsadi N, Jambi M, Matar C. The immunomodulatory and anti-inflammatory role of polyphenols. Nutrients. 2018;10(11):1618. DOI: 10.3390/nu10111618

25. Gao Z, Han Y, Hu Y, Wu X, Wang Y, Zhang X, et al. Targeting HO-1 by epigallocatechin-3-gallate reduces contrast-induced renal injury via anti-oxidative stress and anti-inflammation pathways. PLoS One. 2016;11(2):e0149032. DOI: 10.1371/journal.pone.0149032

26. Zwolak I. Epigallocatechin gallate for management of heavy metal-induced oxidative stress: Mechanisms of action, efficacy, and concerns. Int J Mol Sci. 2021;22(8):4027. DOI: 10.3390/ijms22084027

27. Jia X, Mao D, Guo J, Ke J, Zhu Y, Zhao X, et al. Epigallocatechin gallate attenuated high glucose-induced pancreatic beta cell dysfunction by modulating DRP1-mediated mitochondrial apoptosis pathways. Sci Rep. 2024;14(1):16809. DOI: 10.1038/s41598-024-67867-0

[DOI: 10.66224/JBUMS.33.3.241]

28. Xia S, Xi F, Ou K, Zhang Y, Ni H, Wang C, et al. The effects of EGCG supplementation on pancreatic islet α and β cells distribution in adult male mice. J Nutr Biochem. 2024;124:109529. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2023.109529

29. SheethalG, Tokala RK, Pondugala P, Vemula K, Venkatesan V, Suresh P, Singh SS, et al. Dietary green tea extract and antioxidants improve insulin secretory functions of pancreatic β-cells in mild and severe experimental rodent model of chronic pancreatitis. Open J Endocr Metab Dis. 2024;14(2):53-72. DOI: 10.4236/ojemd.2024.142007

30. Wang Y, Wu X, Chen L, Mao S. Epigallocatechin gallate improves insulin sensitivity in rats experiencing catch-up growth after being small for gestational age by upregulating PDX1 expression. Transl Pediatr. 2025;14(10):2437-47. DOI: 10.21037/tp-2025-357

31. Park S, Kim CS, Lee J, Kim JS, Kim J. Effect of regular exercise on the histochemical changes of D-galactose-induced oxidative renal injury in high-fat diet-fed rats. Acta Histochem Cytochem. 2013;46(4):111-9. DOI: 10.1267/ahc.13012.

[DOI: 10.66224/JBUMS.33.3.241]