

## Boldine Ameliorated High-Fat Diet-Induced Insulin Resistance in C57BL/6 Mice: A Putative Role of NF- $\kappa$ B/I $\kappa$ B $\alpha$ and GRP78/AFT-4 Pathways

Kunxia SHAO<sup>1</sup>, & Haihua YU<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Nutritional, The Third Hospital of Jinan, Jinan, Shandong Province, 250132, China

<sup>2</sup> Department of Surgery, Shandong University of Science and Technology Hospital, Qingdao, Shandong Province, 266590, China

**SUMMARY.** Insulin resistance (IR) is an important pathogenetic mechanism responsible for type 2 diabetes mellitus (T2DM). Boldine, a plant alkaloid, possesses various pharmacological properties. The objective was to evaluate the efficacy and putative mechanism of action of boldine against IR in high-fat diet (HFD)-fed experimental mice. The effects of 12 weeks of concomitant administration of boldine (25, 50, and 100 mg/kg) were evaluated on HFD (60 Kcal % Fat) fed C57BL/6 male for anthropomorphic, glycemic, inflammatory, and insulin-related parameters to IR as well as histopathological parameters. Administration of boldine (50 and 100 mg/kg) showed a significant ( $p < 0.05$ ) amelioration in HFD induced IR reflected by decreased body weight, glycated hemoglobin levels, plasma leptin, insulin, HOMA-IR, free fatty acid levels, and blood sugar levels during oral glucose tolerance and intraperitoneal insulin tolerance. Furthermore, HFD-induced elevated protein levels of TNF- $\alpha$  (Tumour necrosis factor- $\alpha$ ), IL (Interleukins)-1 $\beta$ , GRP78 (Glucose regulatory protein 78), and AFT (activating transcription factor)-4 in skeletal muscle was strikingly reduced ( $p < 0.05$ ) by boldine. HFD-induced down-regulated mRNA expressions of IGF (insulin-like growth factor)-1 and IRS (insulin receptor substrate)-2 as well as up-regulated NF- $\kappa$ B (nuclear factor kappa B) and I $\kappa$ B $\alpha$  (nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor alpha) mRNA expressions in skeletal muscle were effectively inhibited ( $p < 0.05$ ) by boldine. It also ameliorated HFD-induced histological aberrations in pancreatic tissue. In conclusion, boldine treatment inhibited NF- $\kappa$ B/I $\kappa$ B $\alpha$  pathway to decrease the release of inflammatory cytokines (TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$ ) and activation of GRP78/AFT-4 pathway to improve insulin sensitivity (IGF-1 and IRS-2) in HFD-fed mice.

**RESUMEN.** La resistencia a la insulina (RI) es un importante mecanismo patogénico responsable de la diabetes mellitus tipo 2 (DM2). La boldina, un alcaloide vegetal, posee varias propiedades farmacológicas. El objetivo fue evaluar la eficacia y el supuesto mecanismo de acción de la boldina contra la RI en ratones experimentales alimentados con una dieta rica en grasas (HFD). Se evaluaron los efectos de 12 semanas de administración concomitante de boldina (25, 50 y 100 mg/kg) en HFD (60 Kcal % Grasa) alimentados con machos C57BL/6 para parámetros antropomórficos, glucémicos, inflamatorios y relacionados con la insulina para IR así como parámetros histopatológicos. La administración de boldina (50 y 100 mg/kg) mostró una mejora significativa ( $p < 0,05$ ) en la IR inducida por HFD reflejada por una disminución del peso corporal, niveles de hemoglobina glucosilada, leptina plasmática, insulina, HOMA-IR, niveles de ácidos grasos libres y sangre. niveles de azúcar durante la tolerancia a la glucosa oral y la tolerancia a la insulina intraperitoneal. Además, los niveles elevados de proteína inducidos por HFD de TNF- $\alpha$  (factor de necrosis tumoral- $\alpha$ ), IL (interleucinas)-1 $\beta$ , GRP78 (proteína reguladora de glucosa 78) y AFT (factor de transcripción activador)-4 en el músculo esquelético se redujeron notablemente ( $p < 0,05$ ) por boldina. Expresiones de ARNm reguladas a la baja inducidas por HFD de IGF (factor de crecimiento similar a la insulina)-1 e IRS (sustrato del receptor de insulina)-2, así como NF- $\kappa$ B (factor nuclear kappa B) y I $\kappa$ B $\alpha$  (factor nuclear de kappa) regulados al alza, potenciador del gen del polipéptido ligero en el inhibidor alfa de las células B. Las expresiones de ARNm en el músculo esquelético fueron inhibidas de manera efectiva ( $p < 0,05$ ) por la boldina. También mejoró las aberraciones histológicas inducidas por HFD en el tejido pancreático. En conclusión, el tratamiento con boldina inhibió la vía NF- $\kappa$ B/I $\kappa$ B $\alpha$  para disminuir la liberación de citocinas inflamatorias (TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ ) y la activación de la vía GRP78/AFT-4 para mejorar la sensibilidad a la insulina (IGF-1 e IRS-2) en ratones alimentados con HFD.

**KEY WORDS:** AFT-4, boldine, GRP78, high-fat diet, insulin resistance, I $\kappa$ B $\alpha$ , NF- $\kappa$ B.

\* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: yhh13963976127@outlook.com