مجله دیابت و متابولیسم ایران. مرداد- شهریور ۱۳۹۶؛ دوره ۱۶ (شماره ۶) ۳۳۸-۳۳۱

مقاله پژوهشی

بررسی اثر سیر بر ترشح سیتوکاین‌های TNF-α و IFNγ توسط سلول‌های مونونوکلئار خون محیطی بیماران مبتلابه دیابت نوع دو مراجعه‌کننده به بیمارستان گنجویان دزفول بین سال‌های ۱۳۹۰-۱۳۹۲

زهرا صادقیان فر[۱]، عبدالکریم شیخی[۲*]، سید محمد غیبی حیات[۳]

چکیده

مقدمه: به‌طور معمول مازاد تغذیه، در بدن به‌صورت چربی ذخیره و به چاقی منجر می‌شود. یکی از عوامل ابتلا به دیابت نوع دو، چاقی است. سایتوکاین‌های پیش التهابی مانند Tumor necrosis factorγ (TNF- α) و Interferon gamma (IFNγ) به پیام‌رسانی انسولین در بافت‌های حساس انسولین آسیب می‌زنند. در این مطالعه تأثیر عصاره سیر بر بیان سایتوکاین‌های IFNγ و TNF- α مترشحه از سلول‌های منونوکلئار اندازه‌گیری شد.

روش‌ها: پس از گرفتن خون محیطی بیماران مبتلابه دیابت نوع دو، سلول‌های منونوکلئار آن با روش فایکول جداسازی گردید و با دو غلظت عصاره سیر (۳۰٪ و ۱۰٪)، برای مدت ۴۸ و ۷۲ ساعت کشت داده شد. سپس برای اندازه‌گیری میزان ترشح سایتوکاین IFNγ و TNF- α از روش الایزا استفاده شد.

یافته‌ها: عصاره‌ی سیر سبب کاهش میزان ترشح TNF-α از سلول‌های منونوکلئار شد هرچند که زمان و غلظت عصاره بر نتایج بی‌تأثیر بود همچنین عصاره‌ی سیر در میزان ترشح IFNγ نقشی نداشت.

نتیجه‌گیری: با استفاده از عصاره‌ی سیر می‌توان استراتژی‌های درمانی را در پیش گرفت که هدف آن‌ها هم التهاب و هم مقاومت به انسولین بافت چربی است که برای پیشگیری و درمان دیابت نوع دو مفید است.

واژگان کلیدی: عصاره سیر، التهاب، دیابت نوع دو، TNF-α، IFNγ

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران، تهران، ایران

۲- دپارتمان ایمنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی دزفول، دزفول، ایران

۳ - گروه زیست‌فناوری پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

***نشانی:** خوزستان، دزفول، انتهای بلوار آزادگان، دانشگاه علوم پزشکی دزفول، دپارتمان ایمنولوژی، کد پستی ٦٤٦١٦-٥٣٤٧٦، تلفن: ٦١٤٢٤٢٨٧١٧، پست الکترونیک: sheikhi@queensu.ca

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۳/۲۵ تاریخ درخواست اصلاح: ۱۳۹۶/۶/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۷/۰۸

مقدمه

دیابت شیرین غیر وابسته به انسولین نوعی اختلال در سوخت‌وساز بدن است که با بالا بودن گلوکز خون در شرایط مقاومت در مقابل انسولین و کمبود نسبی انسولین شناسایی می‌شود. نشانه‌های کلاسیک این بیماری عبارت‌اند از احساس تشنگی مفرط، تکرر ادرار و احساس گرسنگی مفرط. گفته می‌شود که چاقی دلیل عمده‌ی دیابت نوع دو در افرادی است که به لحاظ ژنتیکی مستعد ابتلا به این بیماری هستند. از دیگر دلایل آن می توان به عدم تحرک، فشار خون بالا، داشتن high-density lipoprotein (HDL) خون پایین و یا تری گلیسرید بالا اشاره کرد [۳-۱].

نرخ ابتلا به دیابت به طرز قابل‌توجهی در ۵۰ سال اخیر به‌موازات چاقی افزایش‌یافته است. تا سال ۲۰۱۰ تقریباً حدود ۲۸۵ میلیون نفر مبتلابه این بیماری بودند و این در حالی است که تعداد آن‌ها در سال ۱۹۸۵ حدود ۳۰ میلیون نفر بوده است. سازمان جهانی بهداشت تخمین زده است که میزان مرگ‌ومیر ناشی از دیابت از سال ۲۰۰۵ تا ۲۰۳۰ خواهد شد [۳، ٤]. عوارض ناشی از قند خون بالا می‌تواند شامل بیماری قلبی، سکته‌ها، ریتینوپاتی دیابتی که بر بینایی اثر می‌گذارد، نارسایی کلیوی که در آن فرد ممکن است نیاز به دیالیز داشته باشد و گردش ضعیف خون در دست‌وپا که ممکن است منجر به قطع عضو شود. عارضه‌ی حاد کتواسیدوزیکی از ویژگی‌های دیابت نوع یک است که شیوع چندانی ندارد. البته، ممکن است کمای غیرآستونمی هایپروسمولار نیز رخ دهد [٦، ٥].

سایتوکاین‌های پیش التهابی مانند TNF-α و Interleukin6(IL6) به پیام‌رسانی انسولین در بافت‌های حساس انسولین آسیب می‌زنند. به‌هرحال فعال‌سازی مسیرهای التهابی دریافت‌های حساس به انسولین موجب مقاومت به انسولین سیستمیک و موضعی می‌شود [۷]. میزان در گردش TNF-α و نیز میزان آن در بافت چربی افراد چاق مقاوم به انسولین و وضعیت‌های آتروژنیک افزایش می‌یابد التهاب تمایز سلول‌های چربی را تضعیف کرده و در ضمن موجب اختلال در عملکرد بافت‌های چربی نیز می‌شود، که نتیجه‌ی آن ابتلا به دیابت نوع دو است [۸].

بررسی‌ها بیانگر اثرات سودمند سیر (Allium sativum) در جلوگیری از تخریب سلول‌های اندوتلیال، جلوگیری از ترانسفورمیشن سلول‌های ماهیچه‌ای صاف و تنظیم عملکرد عروق بیماران است ولی در مورد سازوکار اثر آن اطلاعات اندک است [۹، ۱۰].

بنابراین، هدف از این مطالعه ارزیابی میزان بیان IFN-γ و TNF-α، در منوسیت‌های جداشده از بیماران مبتلابه دیابت نوع دو است که در معرض عصاره سیر قرارگرفته‌اند.

روش‌ها

مواد: در این مطالعه سرم جنین گوسفند FCS، CM10، RPMI 1640، PBS؛ FICOLL از شرکت بهارافشان ایران خریداری شد. همچنین MRS-AGAR و MRS-Brath از شرکت Merk آلمان و هپارین از شرکت B.BRUN آلمان تهیه شد.

نوع مطالعه و نمونه‌گیری

این یک مطالعه کارآزمایی بالینی دوسو بی‌خبر تصادفی شده بوده که در فاصله زمانی فروردین ۹۰ تا اسفند ۹۲ در بیمارستان گنجویان دزفول انجام شده است. تعداد ۲۰ بیمار مبتلابه دیابت نوع دو زن و مرد مراجعه‌کننده به بیمارستان گنجویان شهرستان دزفول که براساس حداقل دو نوبت قند ناشتای بالای ۱۲٦ دیابت آن‌ها به اثبات رسیده بود و حداقل یک سال از شروع بیماری آن‌ها می‌گذشت وارد مطالعه شدند. همچنین ۵ فرد سالم که ازلحاظ سنی و جنسی با بیماران مچ هستند و هیچ سابقه‌ی دیابت در خود و یا فامیل درجه‌ی یک نداشته باشند و مصرف سیگار یا سابقه‌ی آلرژی یا بیماری حاد یا مزمن التهابی ندارند و دارویی مصرف نمی‌کنند به‌عنوان شاهد دوم مورد استفاده قرار گرفتند. ورود و خروج در این مطالعه آزاد بوده و

رضایت‌نامه کتبی نیز اخذ گردید. علاوه بر این هیچ‌گونه هزینه‌ای برای انجام این کار از بیمار اخذ نشد.

تهیه عصاره سیر

حبه‌های سیر خشک از دزفول، ایران تهیه شدند. این حبه‌ها پوست‌کنده شده و با افزودن دو حجم آب مقطر به‌وسیله مخلوط‌کن هموژنایز شدند. عمل هموژنایز کردن به‌مدت ۵ دقیقه ادامه داده شد تا تمامی سلول‌ها به‌خوبی پاره شده و عصاره آن‌ها وارد آب مقطر شد. مخلوط هموژنایز حاوی سیر و آب مقطر از کاغذ صافی واتمن عبور داده شد. این محلول به‌مدت ۲۰ دقیقه و ۵۰۰۰ RPM سانتریفوژ شد. سپس سوپرناتانت شفاف از فیلتر میلی پور[1] عبور داده شد. این کار به‌منظور استریل نمودن عصاره انجام گردید. سپس این عصاره در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد جهت استفاده بعدی نگه‌داری شد.

روش کار

برای انجام این طرح، مقدار ۵ سی‌سی خون محیطی از بیماران گرفته شد و در یک لوله فالکول استریل و عاری از آلودگی جمع‌آوری شد. به‌منظور جلوگیری از انعقاد خون ۱۰۰ واحد هپارین به ازای هر میلی‌لیتر خون به لوله‌ها اضافه گردید و سپس مخلوط شد. در ادامه‌ی ۵ سی‌سی Phosphate-buffered saline (PBS) به هرکدام از نمونه‌های خون اضافه شد.

فایکول ficoll یک ماده‌ی رنگی است که جهت جداسازی لنفوسیت‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. به همین منظور ۵ سی‌سی فایکول در یک لوله تمیز ریخته شد و درحالی‌که لوله حاوی فایکول به‌صورت مایل نگه‌داشته شده است؛ با یک پیپت پاستور که قبلاً اتوکلاو شده بود به‌آرامی خون بیمار روی آن اضافه شد و به‌نحوی وارد لوله شد که روی فایکول یک‌فاز جدا از خون تشکیل داده شد. درب لوله بسته شد و به‌مدت ۲۰ دقیقه در 2500RPM سانتریفوژ گردید. پس از سانتریفوژ سه فاز در لوله‌آزمایش مشاهده شد. فاز پائین لوله گلبول‌های قرمز، فاز میانی فایکول که حاوی قسمت ابر مانندی است که لنفوسیت هستند و فاز بالای لوله حاوی پلاسما و PBS هست. با استفاده از یک پیپت پاستور به‌آرامی قسمت ابر مانند به‌طور کامل استخراج شد و به یک لوله فالکول تمیز و استریل منتقل شد.

بافی کوت جداشده در لوله فالکول جهت شستشوی سلول‌های مونوکلئار مقدار cc ۵ محلول RPMI۱٦٤۰ ساخت شرکت بهار افشان ایران به آن اضافه شد. سپس به‌مدت ۵ دقیقه دور ۲۵۰۰ سانتریفوژ شد. محلول رویی دور ریخته و به رسوب حاصله که سلول‌های منونوکلئار هستند مقدار cc ۳ محلول کشت سلولی CM10 اضافه شد. CM10 محیط مناسب برای رشد و فعالیت سلول‌های مونونوکلئار را فراهم می‌آورد. CM10 در واقع از مخلوط کردن cc ۱۰۰ محلول RPMI با cc ۱۰ محلول فیتال کپسید FCS به‌دست می‌آید. جهت شمارش گلبول‌های مونونکلئار و تهیه‌ی رقت از لام نئوبار آینه‌ای و میکروسکوپ اینورت ساخت شرکت Axiom آلمان استفاده شد. در هر چاهک از میکروپلیت با سمپلر و نوک سمپلرهایی که قبلاً اتوکلاو شده بود زیر هود لامینار مقدار ۲۰۰ میکرو لیتر از محلول سلول‌ها و CM10 که مخلوط شده بود برداشت و در ٦ چاهک ریخته شد و به‌ترتیب زیر مقدار ۳۰ میکرولیتر عصاره سیر اضافه گردید.

چاهک شماره‌ی ۱: به‌عنوان کنترل در نظر گرفته‌شده و عصاره اضافه نگردید

چاهک شماره‌ی ۲: ۳۰ میکرولیتر عصاره ۳۰ درصد سیر

چاهک شماره‌ی ۳: ۳۰ میکرولیتر عصاره ۱۰ درصد سیر

این ۳ چاهک برای مدت‌زمان ٤۸ ساعت انکوبه شدند و در انکوباتور CO_2 ۵٪ و ۹۵٪ اکسیژن قرار گرفت.

همین کار را در ۳ چاهک دیگر تکرار گردید و در انکوباتور CO_2 ۵٪ و ۹۵٪ اکسیژن به‌مدت ۷۲ ساعت قرار داده شد.

[1] Millipore filter

بعد از گذشت زمان ٤٨ ساعت انکوبه در انکوباتور co2:5% جهت جمع‌آوری و نگه‌داری نمونه‌ها ابتدا پلیت را از انکوباتور خارج و در فضای استریل هود نمونه‌های چاهک را به میکروتیوپ نیم سی‌سی که کدبندی شده بود به‌ترتیب زیر منتقل و در فریزر ۷۰- نگهداری گردید.

میکرو تیوپ ۱: کنترل- ٤٨ ساعت

میکرو تیوپ ۲: عصاره‌ی سیر رقت ۳۰ درصد ٤٨ ساعت

میکرو تیوپ ۳: عصاره‌ی سیر رقت ۱۰ درصد ٤٨ ساعت

میکرو تیوپ ٤: کنترل- ۷۲ ساعت

میکرو تیوپ ٥: عصاره‌ی سیر رقت ۳۰ درصد ۷۲ ساعت

میکرو تیوپ ٦: عصاره‌ی سیر رقت ۱۰ درصد ۷۲ ساعت

روش اندازه‌گیری سایتوکین‌ها

بعد از جداسازی سوپرناتانت‌های همه‌ی بیماران و فریز کردن آن‌ها در ۷۰- درجه جهت اندازه‌گیری سایتوکین‌های مورد نظر یعنی TNF-α و اینترفرون گاما به روش الایزا ابتدا کلیه‌ی نمونه‌ها از فریزر خارج شد تا به دمای محیط رسید سپس برای کلیه‌ی نمونه‌ها تست سنجش میزان TNF-α واینترفرون گاما انجام شد. مطابق دستور کیت‌های شرکت R&D ریکا برای انجام هر تست ۵۰ میکرولیتر سوپرناتانت مورد نیاز بود که طبق روش کیت طی مراحل ذیل انجام شد. در مرحله‌ی اول هر یک از حفره‌های پلیت ۹٦ خانه‌ای ابتدا با مونوکلونال آنتی‌بادی رقیق‌شده که علیه سایتوکین خاص اینترفرون گاما یا TNF-α ساخته‌شده بود با حجمی معادل ۱۰۰ لاندا پوشاندیم. مدت یک‌شب در دمای آزمایشگاه نگه‌داشته شدند. سپس بعد از سه مرتبه شستشو با بافر خاص PBS توسط محلول آلبومین سرم گاوی ۵ درصد آنتی‌بادی موجود در حفره‌ها بلوکه گردیدند. بعد از شستشوی پلیت‌ها نمونه‌ها استاندارد (رقت‌های مختلف) و سرم کنترل هر یک در حفره‌های جداگانه پلیت اضافه گردیدند. بعد از ۲ ساعت انکوباسیون پلیت‌ها در حرارت آزمایشگاه و شستشوی مجدد آنتی‌بادی مونوکلونال که علیه سایتوکین خاص انسانی (TNF-α یا IFN-γ) ساخته‌شده با حجمی به هر حفره‌ی پلیت اضافه گردید. بعد از انکوباسیون پلیت‌ها به‌مدت ۲ ساعت و شستشو محلول کونژوگه رقیق‌شده در حجمی معادل ۱۰۰ لاندا به هر یک از حفرات پلیت اضافه گردید. بعد از انکوباسیون به‌مدت ۹۰ دقیقه در حرارت آزمایشگاه و شستشو محلول سوبسترای کروموژن به هر یک از حفرات پلیت اضافه گردید. واکنش مزبور بعد از ۳۰ دقیقه انکوباسیون پلیت‌ها در تاریکی متوقف گردید و سپس میزان جذب نور و با طول موج ٤٥٠ و ٦۳۰ نانومتر توسط ELISA-reader حفرات پلیت خوانده شد. میزان سایتوکین هر نمونه از روی منحنی استاندارد محاسبه گردید. تهیه منحنی استاندارد هم مطابق دستورالعمل فوق و همراه با اندازه‌گیری نمونه‌ها انجام پذیرفت.

آنالیز آماری: داده‌ها وارد محیط نرم‌افزار SPSS V.24 شد و با استفاده از آزمون‌های من ویتی، ویلکاکسون تحلیل لازم انجام گرفت. همچنین توزیع متغیرها با آزمون کولموگراف اسمیرونوف کنترل گردید. سطح معنی‌داری نیز $P<0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

بررسی میزان ترشح TNF-α: اطلاعات به‌دست‌آمده از آزمون t زوجی با به‌کارگیری نرم‌افزار SPSS مورد ارزیابی قرار گرفت. با توجه به اینکه مقدار سطح معناداری کمتر از ۵٪ گردیده است می‌توان گفت در سطح اطمینان ۹۵٪ میزان TNF-α ترشح‌شده در پیش و پس از تأثیر سیر تفاوت معناداری دارد. آنگاه با توجه به اینکه کران بالا و کران پایین هر دو مقداری مثبت باشند آنگاه میزان TNF-α ترشح‌شده پیش از تأثیر اثر سیر بیشتر است.

جدول ۱- نتایج توصیفی مربوط به TNF-α

متغیر	میانگین	انحراف استاندارد	خطای تخمین میانگین
سایتوکاین آلفا پیش از تأثیر	٦٩٢/٧٧٧	٣٧٩/١٧٨	٧٤/٣٦٣
سایتوکاین آلفا پس از تأثیر	٩/٠٠٦	٥/٧٨٢	١/١٣٤

جدول ۲- نتایج آزمون t زوجی TNF-α

متغیر	شاخص‌های تفاوت‌های زوجی				آماره‌ی t	سطح معناداری
	میانگین	انحراف استاندارد	فاصله اطمینان			
			کران بالا	کران پایین		
TNF-α پیش از تأثیر – TNF-α پس از تأثیر	٦٨٣/٧٧١	٣٨٠/٤٧٥	٨٣٧/٤٤٨	٥٣٠/٠٩٣	٩/١٦٤	٠/٠٠٠

برای تعیین تأثیر دوزهای مختلف سیر بر میزان ترشح TNF-α توسط سلول‌های مذکور از آزمون رسمی T مستقل استفاده شد. از آزمون من- ویتنی جهت سنجش اختلاف بین دو گروه استفاده شد و مقدار ۰/۸۱۷ به دست آمد. با توجه به اینکه سطح معناداری بیشتر از ۵٪ در نظر گرفته‌شده، در نتیجه بین میزان ترشح TNF-α در اثر تأثیر سیر با دوز ۱۰ و ۳۰ در سطح اطمینان ۹۵٪ تفاوت معناداری وجود ندارد و درنتیجه دوز سیر بر میزان ترشح TNF-α تأثیر ندارد. جهت بررسی بین میزان TNF-α ترشح‌شده در زمان ٤٨ و ٧٢ پس از تأثیر سیر توسط سلول‌های مذکور از آزمون ویلکاکسون استفاده گردید و اطلاعات به‌دست‌آمده از آزمون ویلکاکسون با به‌کارگیری نرم‌افزار SPSS مقدار ۰/۸۸۹ را نشان داد. بنابراین در سطح اطمینان ۹۵٪ میزان سایتوکاین آلفا ترشح‌شده در زمان ٤٨ و ٧٢ تفاوت معناداری ندارد.

بررسی میزان ترشح IFN-γ

اطلاعات به‌دست‌آمده از آزمون t زوجی با به‌کارگیری نرم‌افزار SPSS مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول ۵ و ٦). با توجه به اینکه مقدار سطح معناداری (Sig) بیشتر از ۵٪ گردیده است می‌توان گفت در سطح اطمینان ۹۵٪ میزان اینترفرون گاما ترشح‌شده توسط سلول‌های مذکور پیش و پس از تأثیر سیر تفاوت معناداری ندارد

جدول ۳- نتایج توصیفی مربوط به IFN-γ

متغیر	میانگین	انحراف استاندارد	خطای تخمین میانگین
اینترفرون گاما پیش از تأثیر	٠/٠٤٧	٠/٠٠٣	*٠/٠٠٠
اینترفرون گاما پس از تأثیر	٠/٠٤٨	٠/٠٠٣	*٠/٠٠٠

جدول ۴- نتایج آزمون t زوجی مربوط به IFN-γ

متغیرها	شاخص‌های تفاوت‌های زوجی				آماره‌ی t	سطح معناداری
	میانگین	انحراف استاندارد	فاصله اطمینان			
			کران بالا	کران پایین		
اینترفرون گاما پیش از تأثیر – اینترفرون گاما پس از تأثیر	*-٠/٠٠٠	٠/٠٠٤	٠/٠٠١	-٠/٠٠٢	-٠/٧٨١	-٠/٤٤١

برای بررسی میزان ترشح اینترفرون گاما توسط سلول‌های مذکور در اثر تأثیر سیر با دوز ۱۰ [μ_1] و ۳۰ [μ_2]، از آزمون نا پارامتری من- ویتنی استفاده می‌گردد. با توجه به اینکه سطح معناداری برای این آزمون ۰/٤۲۹ محاسبه شد پس بنابراین بین میزان ترشح اینترفرون گاما در اثر تأثیر سیر با دوز ۱۰ و ۳۰ در سطح اطمینان ۹۵٪ تفاوت معناداری وجود ندارد و در نتیجه دوز سیر بر میزان ترشح اینترفرون گاما تأثیر ندارد. همچنین از آزمون جایگزین ناپارامتری ویلکاکسون جهت تعیین معناداری تفاوت میزان اینترفرون گاما ترشح‌شده در زمان‌های ٤۸ و ۷۲ استفاده شد. در اطلاعات به‌دست‌آمده از آزمون ویلکاکسون با به‌کارگیری نرم‌افزار SPSS سطح معناداری برابر با ۱ به دست آمد. با توجه به اینکه مقدار سطح معناداری بیشتر از ۵٪ گردیده است می‌توان گفت در سطح اطمینان ۹۵٪ میزان اینترفرون گاما ترشح‌شده در زمان ٤۸ و ۷۲ تفاوت معناداری ندارد.

بحث

در این مطالعه تأثیر عصاره سیر بر بیان سایتوکاین‌های مترشحه از سلول‌های منونوکلئار اندازه‌گیری شد و نتایج حاکی از آن بود که عصاره سیر بر میزان بیان اینترفرون گاما بی‌تأثیر است اما باعث افزایش ترشح TNFα می‌شود. هرچند که دوز و زمان‌بر میزان بیان این ژن‌ها مؤثر نیست.

مطالعه‌ای در سال ۱۳۸٦ توسط Ebadi و همکاران به‌منظور بررسی قرص سیر بر قند خون ناشتا بر روی ٦۰ بیمار مبتلابه دیابت نوع دو صورت پذیرفت. در این پژوهش که به مدت سه ماه صورت گرفت گروه مداخله روزانه ۳ بار و هر بار ۳ عدد قرص سیر (٤۰۰ میلی‌گرمی) مصرف می‌کردند. گروه مداخله و کنترل ازلحاظ رژیم غذایی و فعالیت بدنی یکسان بودند و همچنین ازنظر سن و جنس تفاوت آماری بین این دو گروه وجود نداشت. در انتهای این مطالعه نشان داده شد که کاهش معناداری در هموگلوبین قندی شده A1c در گروه مداخله در مقایسه با گروه کنترل و همچنین کاهش سطح قند خون ناشتا ٤۹ میلی‌گرم در دسی لیتر در مقایسه با گروه کنترل ٤/٦ میلی‌گرم در دسی لیتر بود [۱۱].

مطالعه‌ی دیگر توسط Rahat بر روی ٦۰ بیمار دیابتی انجام شد. در این مطالعه گروه مداخله به همراه قرص متفورمین روزانه ۲ عدد قرص سیر (۲۵۰ میلی‌گرمی) به‌مدت ۳ ماه دریافت کردند. هرچند که در این مطالعه کاهش معنی‌داری در بین هموگلوبین A1c در گروه مداخله نسبت به کنترل مشاهده نشد اما میزان قند خون ناشتا کاهش معناداری رابین دو گروه نشان می‌داد [۱۲].

دیابت نوع دو به‌منزله یک گروه از اختلالات در سوخت‌وساز بدن از جمله قند خون، التهاب و مقاومت به انسولین است که خطر بیماری‌های قلبی عروقی را افزایش می‌دهد [۱۳]. التهاب، ترشح سایتوکاین‌ها و کموکاین‌ها را در پی دارد؛ و ماکروفاژهای ساکن در بافت این عوامل لنفوست‌های T (سلول‌هایی که به‌طور طبیعی در شرایط فیزیولوژیک در بافت چربی حاضر هستند) را فعال خواهد کرد. فعال‌سازی این سلول‌ها موجب ترشح سایتوکاین‌ها و کموکاین‌های پیش التهابی شده که موجب جذب سلول‌های ایمنی مانند سایر لنفوسیت‌های T، نوتروفیل‌ها و منوسیت‌ها می‌شود [۱٤]. فراخوانی و ارتشاح ماکروفاژهای بافت چرب می‌تواند منجر به التهاب بافت چربی شود [۱۵] در این شرایط انواع مختلفی از گیرنده‌های ایمنی ذاتی مثل می‌توانند. عملکرد مختل شده بافت چربی و مقاومت انسولین را حفظ کنند. بافت چربی ملتهب به‌واسطه‌ی ترشح آدیپوکین‌ها و اسید چرب آزاد که تنظیم‌کننده‌ی پیام‌رسانی انسولین در ماهیچه‌ی اسکلتی و کبد هستند، نقش مهمی را در مقاومت به انسولین سیستمیک ایفا می‌کنند [۱٦، ۱۷].

سایتوکاین‌های پیش التهابی مانند TNF-α و IL6 به پیام‌رسانی انسولین در بافت‌های حساس انسولین آسیب می‌زنند. به‌هرحال فعال‌سازی مسیرهای التهابی دریافت‌های حساس به انسولین موجب مقاومت به انسولین سیستمیک و موضعی می‌شود [۷]. میزان در گردش TNF-α و نیز

میزان آن در بافت چربی افراد چاق مقاوم به انسولین و وضعیت‌های آتروژنیک افزایش می‌یابد [۸]. التهاب تمایز سلول‌های چربی را تضعیف کرده و در ضمن موجب اختلال در عملکرد بافت‌های چربی نیز می‌شود، که نتیجه‌ی آن ابتلا به دیابت نوع دو است [۱۸]. بنابراین استفاده از راهبردهای درمانی که هدف آن‌ها هم التهاب و هم مقاومت به انسولین بافت چربی است ممکن است برای پیشگیری و درمان دیابت نوع دو مفید باشد. پیشنهاد می‌شود مطالعاتی جهت بررسی تأثیر سیر در بازه‌های زمانی طولانی‌تر و با دوزهای بیشتر بر بیان ژن‌های TLR و سایر سایتوکاین‌های التهابی انجام پذیرد.

سپاسگزاری

این مقاله بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد خانم زهرا صادقیان‌فر بوده که در دانشگاه علوم پزشکی دزفول انجام‌یافته است.

مآخذ

1. Shah M, Vella A. Understanding Diabetes Mellitus: Pathophysiology. *Metabolic Syndrome and Diabetes: Springer*; 2016; p. 33-45.
2. Triplitt C, Solis-Herrera C, Reasner C, DeFronzo RA, Cersosimo E. *Classification of diabetes mellitus* 2015.
3. Yau JW, Rogers SL, Kawasaki R, Lamoureux EL, Kowalski JW, Bek T, et al. Global prevalence and major risk factors of diabetic retinopathy. *Diabetes care* 2012; 35(3):556-64.
4. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes care* 2004; 27(5):1047-53.
5. Schlienger J. T*ype 2 diabetes complications*. Presse médicale (Paris, France: 1983). 2013; 42(5):839.
6. Schwartz MW. Diabetes complications: why is glucose potentially toxic? *Science* 1996; 272(5262):699.
7. Cai D, Yuan M, Frantz DF, Melendez PA, Hansen L, Lee J, et al. Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK-β and NF-κB. *Nature medicine* 2005; 11(2):183-90.
8. Winkler G, Salamon F, Harmos G, Salamon D, Speer G, Szekeres O, et al. Elevated serum tumor necrosis factor-alpha concentrations and bioactivity in Type 2 diabetics and patients with android type obesity. *Diabetes research and clinical practice* 1998; 42(3):169-74.
9. Amirghofran Z, Sheikhi A. Monoclonal antibodies to human alpha-fetoprotein. Medical *Journal of The Islamic Republic of Iran (MJIRI).* 2002;15(4):237-42.
10. Amirghofran Z, Sheikhi A, Kumar P, Firouzi MS. Soluble HLA class I molecules in malignant pleural and peritoneal effusions and its possible role on NK and LAK cytotoxicity. *Journal of cancer research and clinical oncology* 2002;128(8):443-8.
11. Ebadi A, RahimiLanji E, Taghdosi M, Khorshidi A, Akbari H. Effect of garlic tablet on blood glucose in type 2 diabetic patients. *Sci J Faize* 2007; 11:20-5.
12. Kumar R, Chhatwal S, Arora S, Sharma S, Singh J, Singh N, et al. Antihyperglycemic, antihyperlipidemic, anti-inflammatory and adenosine deaminase–lowering effects of garlic in patients with type 2 diabetes mellitus with obesity. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy* 2013; 6:49.
13. Haffner SM, Lehto S, Rönnemaa T, Pyörälä K, Laakso M. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *New England journal of medicine* 1998; 339(4):229-34.
14. Elgazar-Carmon V, Rudich A, Hadad N, Levy R. Neutrophils transiently infiltrate intra-abdominal fat early in the course of high-fat feeding. *Journal of lipid research* 2008;49(9):1894-903.
15. Ehses JA, Perren A, Eppler E, Ribaux P, Pospisilik JA, Maor-Cahn R, et al. Increased number of islet-associated macrophages in type 2 diabetes. *Diabetes* 2007; 56(9):2356-70.
16. Larsen CM, Faulenbach M, Vaag A, Vølund A, Ehses JA, Seifert B, et al. Interleukin-1–receptor antagonist in type 2 diabetes mellitus. *New*

England Journal of Medicine 2007; 356(15):1517-26.
17. Donath MY, Shoelson SE. Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nature Reviews Immunology* 2011; 11(2):98-107.
18. Donath MY. Targeting inflammation in the treatment of type 2 diabetes: time to start. *Nature reviews Drug discovery* 2014; 13(6):465-76

THE EFFECT OF GARLIC EXTRACT'S ON EXPRESSION OF TNF- A AND IFNΓ BY PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEAR CELLS OF PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS TYPE II ADMITTED TO GANJAVIAN DEZFUL HOSPITAL IN 2011-2013

Zahra Sadeghian[1], Abdolkarim Sheikhi[*2], Seyed Mohammad Gheibi hayat[3]

1. *Department of Biology, Tehran Azad University, Tehran, Iran*
2. *Cellular and Molecular Immunology Research Laboratory and Department of Immunology, Dezful University of Medical Sciences, Dezful, Iran*
3. *Department of Medical Biotechnology, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran*

ABSTRACTS

Background: Usually excess feeding in stored in the body as fat and leads to overweight. One of the causes of catching type 2 diabetes is obesity. Proinflammatory cytokines such as TNF- α and IFNγ can damage insulin signaling in insulin-sensitive tissues. In this study, the effect of garlic extract on the expression of TNF-α and IFNγ secreted by the mononuclear cells was measured.
Methods: After taking peripheral blood from patient with type 2 diabetes, mononuclear cells were extracted by Ficoll Method. Cells were a culture with two different concentration of garlic extract (10% and 30%) for 48 and 24 hours. Then for measuring TNF-α and IFNγ release level, ELISA method was used.
Results: Garlic extract can reduce the amount of TNF-α secretion from cells mononuclear, although the timing and concentration of the extract had no effect on the results. Moreover, garlic extract had no effect on the secretion of IFNγ.
Conclusion: Using garlic extract can be adopted therapeutic strategies aimed at adipose tissue inflammation and insulin resistance that is useful for the prevention and treatment of type 2 diabetes.

Keywords: Garlic extract's, Diabetes mellitus type II, Inflammation, TNF-α, IFNγ

[*] khozestan, dezfol, Azadegan Blvd., Dezfoul University of Medical Sciences, Department of Immunology, Postal Code: 53476-64616, Tel: +986142428717, E-mail: sheikhi@queensu.ca