Archive of SID

[DOI: 10.21859/hums-24024]

Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 10:41 +0330 on Tuesday September 26th 2017

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان
مقاله پژوهشی
دوره ۲۴، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۶

بررسی اثرات عصاره آبی سیر بر میزان بیان ژن و پروتئین TGF-β2 در بافت شبکیه چشم رت های نر دیابتی نوع ۱

سمیه صادقی محب [۱]، رقیه عباسعلی پورکبیره [۲]، محمد تقی گودرزی [۳]، علیرضا نوریان [۴]، نسرین ضیا مجیدی [۵،*]

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
[۲] دانشیار، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
[۳] استاد، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
[۴] استادیار، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
[۵] استادیار، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

***نویسنده مسئول:** نسرین ضیا مجیدی، استادیار، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران. ایمیل: n.ziamajidi@umsha.ac.ir

DOI: 10.21859/hums-24024

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۶/۰۱/۲۱
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۶/۰۴/۰۷

واژگان کلیدی:
دیابت شیرین نوع ۱
سیر
شبکیه
رت

تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی همدان محفوظ است.

چکیده

مقدمه: رتینوپاتی یکی از مهم‌ترین عوارض دیابت ملیتوس می‌باشد که در نتیجه هیپرگلیسمی مزمن، استرس اکسیداتیو و التهاب ایجاد می‌شود. فاکتور رشد توموری (TGF-β2) یکی از فاکتورهای مهم دخیل در مسیر التهاب ناشی از هیپرگلیسمی می‌باشد. از طرفی سیر به عنوان یک ترکیب گیاهی پرمصرف در رژیم غذایی ایرانیان به حساب می‌آید که اثرات هیپوگلیسمیک و آنتی اکسیدانی دارد، لذا در این مطالعه اثرات عصاره آبی این گیاه در میزان بیان ژن و پروتئین TGF-β2 در رت های دیابتی نوع ۱ مورد مطالعه قرار گرفته است.

روش کار: در این مطالعه تجربی بیست و چهار رت نر نژاد ویستار به چهار گروه ۶ تایی کنترل سالم، دیابتی نوع ۱، دیابتی نوع ۱ درمان شده با عصاره سیر و کنترل سیر تقسیم شدند. برای القا دیابت از استرپتوزوتوسین (STZ) (۶۵mg/kg) استفاده شد و هفت روز بعد از تزریق، میزان قند خون در رت ها توسط گلوکومتر اندازه گیری شد. قند بالاتر از ۳۰۰ mg/dL به عنوان دیابت نوع ۱ در نظر گرفته شد. تیمار رت ها توسط عصاره آبی سیر (۱ml/۱۰۰g) به صورت گاواژ به مدت ۳۰ روز انجام شد. در پایان زمان تیمار، نمونه سرم آنها جداسازی شد و جهت سنجش میزان گلوکز در ۲۰° C- ذخیره گردید. همچنین چشم رت ها و سپس بافت شبکیه آن‌ها سریعاً خارج شد و در ۷۰° C- برای بررسی بیان ژن و میزان پروتئین، ذخیره شد. جهت بررسی بیان ژن، استخراج RNA، سنتز cDNA و Real time PCR انجام شد. جهت سنجش میزان پروتئین TGF-β2 از روش الایزا استفاده شد.

یافته‌ها: میزان بیان ژن TGF-β2 در رت های دیابتی، افزایش ۱/۳۷ برابری را نسبت به گروه کنترل نشان داد، در حالیکه در رت های دیابتی تیمار شده با عصاره سیر، کاهش ۱/۹۶ برابری نسبت به گروه دیابتی درمان نشده مشاهده گردید. میزان پروتئین TGF-β2 در رت های دیابتی، افزایش ۳/۰۸ برابری را نسبت به گروه کنترل نشان داد، در حالیکه در رت های دیابتی تیمار شده با عصاره سیر، کاهش ۲/۵۶ برابری نسبت به گروه دیابتی درمان نشده مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: عصاره سیر سبب کاهش معنی دار سطح TGF-β2 در بافت شبکیه رت های دیابتی شده است. از آنجائیکه TGF-β2 یک فاکتور اساسی در ایجاد التهاب و آسیب به شبکیه می‌باشد، لذا می‌توان انتظار داشت که مصرف سیر، با کاهش میزان این پروتئین بتواند در تقلیل عوارض دیابت مؤثر باشد.

مقدمه

دیابت ملیتوس شایع‌ترین اختلال آندوکرین است که مشخصه اصلی آن هایپر گلیسمی و عدم تحمل گلوکز می‌باشد. این بیماری در نتیجه نقایصی در ترشح انسولین، عملکرد انسولین و یا هردو به وقوع می‌پیوندد. دیابت

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.21859/hums-24024]

Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 10:41 +0330 on Tuesday September 26th 2017

ملیتوس به انواع مختلفی طبقه بندی می‌شود که دو نوع اصلی آن عبارتند از دیابت نوع ۱ و دیابت نوع ۲. دیابت نوع ۱ در نتیجه تخریب خود ایمنی سلول‌های β جزایر پانکراس با واسطه سلولهای T ایمنی ایجاد می‌شود که نتیجه آن، کمبود مطلق انسولین می‌باشد [۱]. در مدل‌های آزمایشگاهی عموماً ترکیب شیمیایی استرپتوزوتوسین (STZ) برای القا دیابت نوع ۱ استفاده می‌گردد، که دارای اثر تخریبی بر سلول‌های بتا پانکراس می‌باشد [۲]. عوارض عروقی دیابت به دو دسته ماکروواسکولار و میکروواسکولار تقسیم می‌شوند. رتینوپاتی دیابتی شایع‌ترین عارضه میکروواسکولار دیابت ملیتوس است. حداقل نیمی از افراد مبتلا به این بیماری، دچار رتینوپاتی دیابتی می‌شوند که علت اصلی نابینایی در بین افراد ۷۵-۲۰ ساله در کشورهای توسعه یافته است. از جمله فاکتورهای خطر رتینوپاتی می‌توان به هیپرگلیسمی، فشار خون بالا، دیس لیپیدمی، استرس اکسیداتیو و التهاب اشاره کرد [۳, ۴]. با افزایش قند خون، مسیر متابولیک گلوکز نیز افزایش می‌یابد، از جمله این مسیرها می‌توان به آلدوز ردوکتاز، فعالیت مسیر پلی اول، بیوسنتز هگزوزآمین، فعالیت پروتئین کیناز C و تشکیل دی آسیل گلیسرول و تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن اشاره کرد که همگی این مسیرها منجر به افزایش واسطه‌های اکسیدانی می‌شوند. افزایش تولید رادیکال‌های آزاد سبب ایجاد استرس اکسیداتیو در شبکیه می‌شوند و آن هم از طریق فعال سازی فاکتورهای رونویسی حساس به ردوکس مانند فاکتور هسته‌ای کاپا (NF-κB)، باعث افزایش بیان سیتوکین های مختلف مانند فاکتور رشد توموری بتا-۲(TGF-β2)، فاکتور رشد بافت همبند (CTGF) و فاکتور رشد اپی تلیوم رگ (VEGF) می‌شود. مطالعات مختلف افزایش میزان این فاکتورها را در زجاجیه و شبکیه بیماران دیابتی و رت های دیابتی نشان داده‌اند [۵]. اگرچه سایتوکین های مختلفی با فیبروزه شدن بافت چشم در ارتباط هستند، اما یکی از مهم‌ترین آنها TGF-β2 می‌باشد [۶]. بنابراین به نظر می‌رسد که مهار این فاکتور با داروها یا ترکیبات طبیعی می‌توانند راهکار مناسبی برای مهار رتینوپاتی باشد. امروزه استفاده ازگیاهان دارویی به دلیل ارزان بودن، در دسترس بودن و عوارض جانبی کمتر، به طور فزاینده‌ای برای درمان طیف گسترده‌ای از بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند [۷]. سیر (garlic) یکی ازگیاهانی است که استفاده زیادی در طب سنتی از جمله در درمان دیابت دارد. سیر با نام علمی *Allium sativum*، دارای خواص مختلفی ازجمله آنتی اکسیدانی، آنتی باکتریال، آنتی آترواسکلروز، کاهش دهنده چربی و قند خون است. سیر دارای ترکیبات زیادی است که عمده این ترکیبات حاوی جزء سولفوری مانند S-آلیل سیستئین هستند که قادرند رادیکالهای آزاد را نابود سازند [۸]. به دلیل افزایش روزافزون دیابت درجامعه ایرانی و توجه زیاد سازمان بهداشت جهانی برای پیشگیری، کنترل و کاهش عوارض ناشی از آن از یک طرف و با توجه به نقش عوامل اکسیدان و TGF-β2 در افزایش عوارض دیابت از طرف دیگر، هدف این مطالعه تعیین اثرات عصاره سیر به عنوان یک ترکیب طبیعی آنتی اکسیدان بر روی بیان ژن و پروتئین TGF- β2 در بافت شبکیه رت های دیابتی نوع ۱ القا شده با STZ می‌باشد.

روش کار

در این مطالعه تجربی برای آماده سازی عصاره آبی سیر، ۵۰ گرم سیر پوست گرفته شده را در مخلوط کن ریخته تا خرد و آسیاب شوند، سپس ۲۵۰ میلی لیتر آب مقطر روی آن‌ها ریخته شد تا خوب مخلوط شوند و پس از عبور از صافی محلول یکنواختی بدست آمد. به ازای هر صد گرم وزن رت، یک میلی لیتر از این عصاره به صورت گاواژ دهانی روزانه به مدت ۳۰ روز به آن‌ها خورانده شد [۹, ۱۰]. تعداد ۲۴ رت نر سالم نژاد ویستار با میانگین وزنی ۳۰۰-۲۵۰ گرم (۸-۶ هفته‌ای) از آزمایشگاه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی همدان تهیه شد و به طور تصادفی به ۴ گروه ۶ تایی مورد آزمایش تقسیم و در قفس‌های جداگانه نگهداری شدند.

گروه ۱ (C): رت هایی کنترل سالم که تک دوز سیترات بافر (۲ml/kg) با pH = ۴/۵ را به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

گروه ۲ (D): رت های دیابی نوع ۱ که دیابت در آن‌ها با تک دوز STZ (۶۵ mg/kg) در بافر سیترات (۲ml/kg) با pH = ۴/۵ به صورت تزریق درون صفاقی القا شد.

گروه ۳ (D+G): رت هایی که دیابت نوع ۱ مانند گروه ۲ در آنها القا شده و سپس عصاره آبی (۱ml/۱۰۰g) به مدت ۳۰ روز به صورت گاواژ دهانی به آنها خورانده شد.

گروه ۴ (G): رت های سالمی که عصاره آبی سیر (۱ml/۱۰۰g) به مدت ۳۰ روز به صورت گاواژ دهانی به آنها خورانده شد.

شرایط نگهداری رت ها کاملاً یکسان و در شرایط قفس، با رژیم غذائی استاندارد و سیکل نوری ۱۲ ساعته بود. برای تأیید ایجاد دیابت ۷ روز بعد از تزریق STZ، نمونه قند خون به کمک گلوکومتر اندازه گیری شد. قند بالاتر از mg/dL ۳۰۰ در گروه ۲ و ۳ به عنوان دیابت نوع ۱ در نظر گرفته شد. یک هفته بعد از تزریق STZ، عصاره آبی سیر به مدت ۳۰ روز به صورت گاواژ دهانی به آن‌ها خورانده شد. در

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.21859/hums-24024]

Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 10:41 +0330 on Tuesday September 26th 2017

پایان زمان تیمار، رت ها با کتامین (۵۰ mg/kg) به صورت داخل صفاقی بی هوش شدند و چشم آنها خارج شد. نمونه بافت شبکیه آن‌ها سریعاً در C ۷۰° جهت بررسی بیان ژن و پروتئین TGF-β2 ذخیره شد. نمونه سرم رت ها جداسازی شد و در C ۲۰° ذخیره شد. سنجش گلوکز در نمونه‌های سرم به کمک کیت شرکت پارس آزمون انجام شد. برای بررسی میزان بیان ژن، ابتدا استخراج RNA توسط محلول RNX-Plus شرکت سینا کلون انجام شد. کیفیت و کمیت RNA استخراج شده توسط الکتروفورز و نانودراپ تعیین شد. سنتز cDNA توسط کیت Fermentas انجام شد. سپس یک میکروگرم از cDNA سنتز شده وارد واکنش Real time PCR گردید که با کمک کیت سایبر گرین شرکت Takara انجام گرفت. پرایمرهای مورد نیاز جهت انجام واکنش توسط نرم افزار Primer 3 طراحی گردید. از β-actin به عنوان ژن House keeping استفاده شد. توالی پرایمر استفاده شده برای TGF-β2 به صورت Forward: AAGCGACGAGGAGTACTACG و Reverse: ATGGCATCAAGGTACCCACA و برای β-actin به صورت Forward: ATCAGCAAGCAGGAGTACGAT و Reverse: AAAGGGTGTAAAACGCAGCTC بود. **مقدار ΔCt از تفاضل میزان Ct ژن TGF-β2 و β-actin** بدست آمد. سپس میزان ΔΔCt نسبت به گروه کنترل محاسبه شد و نهایتاً برای بدست آوردن میزان تغیرات بیان ژن (Fold Change) **از** روش $2^{-\Delta\Delta ct}$ استفاده شد. سنجش میزان پروتئین TGF-β2 با استفاده از کیت الایزا شرکت R&D انجام شد و پروتئین کل بافت به روش برادفورد تعیین گردید. نهایتاً میزان پروتئین مورد نظر به صورت pg /mg protein نشان داده شد. جهت آنالیز آماری، نتایج بدست آمده در نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ وارد شد. بررسی رابطه بین متغیرهای مورد بررسی توسط آزمون تحلیل واریانس (ANOVA) و Post Hoc توکی انجام شد و P > ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

میزان گلوکز خون در گروه‌های کنترل و دیابتی در ابتدای مطالعه تفاوت معنی داری نداشت. بعد از تزریق STZ، میزان گلوکز در رت های دیابتی افزایش معنی داری را نشان داد (P < ۰/۰۰۱). در پایان زمان تیمار، میزان گلوکز در رت های دیابتی درمان شده با عصاره سیر به طور معنی داری نسبت به گروه درمان نشده کاهش نشان داد (P < ۰/۰۵). این در حالی است که همچنان تفاوت معنی داری با گروه کنترل داشت (P < ۰/۰۰۱). در گروه کنترل سیر در هیچ زمانی تفاوت معنی داری با کنترل مشاهده نشد (P > ۰/۰۵) (جدول ۱).

میزان Ct ژن β-actin در گروه‌های مختلف تغییر معنی داری را نشان نداد (P = ۰/۱۴) که دال بر انتخاب صحیح این ژن به عنوان کنترل داخلی است. میزان Ct ژن TGF-β2 و میزان ΔCt در گروه‌های مختلف به طور معنی داری متفاوت بود (P = ۰/۰۰۱). که نشان دهنده تغییر میزان بیان این ژن در رت های گروه‌های مختلف می‌باشد (نتایج نشان داده نشده است). در تصویر ۱ تغییرات میزان بیان ژن TGF-β2 خلاصه شده است. میزان بیان این ژن در رت های گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری را نشان داد (۱/۳۷ برابر، P < ۰/۰۵). بعد از درمان رت های دیابتی با عصاره آبی سیر، کاهش ۱/۹۶ برابری (P < ۰/۰۵) نسبت به گروه دیابتی درمان

جدول ۱: تغییرات میزان گلوکز در رت ها، در ابتدای مطالعه، بعد از القا دیابت و در پایان مطالعه بعد از درمان با عصاره سیر

	شروع مطالعه	بعد از القا دیابت	پایان مطالعه
C	۸۷ ± ۷	۸۵± ۸	۸۹± ۱۰
D	۸۶ ± ۶	۵۵۸ ± ۳۲ ***	۴۸۵ ± ۱۱۳ ***
D+G	۸۵ ± ۴	۵۴۵ ± ۵۷ ***	۳۲۱ ± ۲۷ ***, †
G	۸۶ ± ۳	۸۳ ± ۳	۹۰ ± ۱۰

C: کنترل سالم

D: دیابتی نوع ۱

D+G: دیابتی نوع ۱ درمان شده با عصاره آبی سیر

G: کنترل سالم دریافت کننده عصاره آبی سیر

*** P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه کنترل سالم

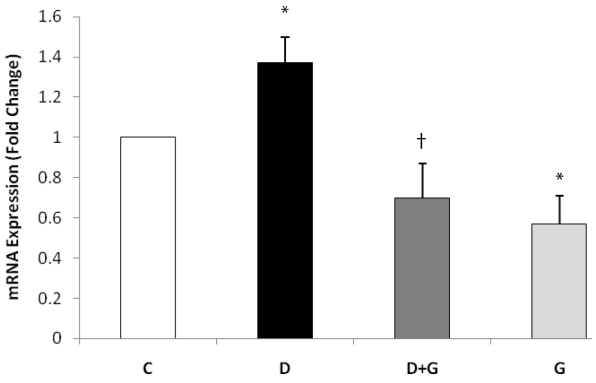
† P<۰/۰۵ در مقایسه با گروه دیابتی درمان نشده

www.SID.ir

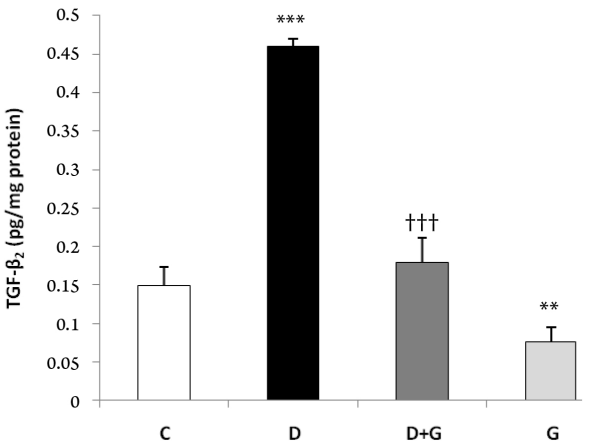
Archive of SID

[DOI: 10.21859/hums-24024]
Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 10:41 +0330 on Tuesday September 26th 2017

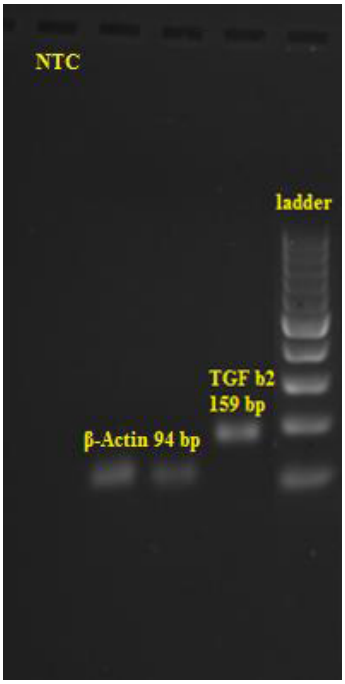
نشده مشاهده گردید. در گروه کنترل سیر نیز کاهش معنی داری (۱/۷۳ برابر، P < ۰/۰۵) نسبت به گروه کنترل سالم وجود داشت. میزان پروتئین TGF-β2 در رت های دیابتی، افزایش معنی داری را نسبت به گروه کنترل نشان داد (۳/۰۸ برابر، P < ۰/۰۰۱)، در حالیکه در رت های دیابتی تیمار شده با عصاره سیر، کاهش معنی داری نسبت به گروه دیابتی درمان نشده مشاهده گردید (۲/۵۶ برابر، P < ۰/۰۰۱) و به سطح نرمال نزدیک شده است به طوریکه تفاوت معنی داری با گروه کنترل نداشت (P > ۰/۰۵). در گروه کنترل سیر هم کاهشی در میزان پروتئین TGF-β2 نسبت به گروه کنترل سالم مشاهده گردید (P < ۰/۰۱) (تصویر ۲). محصولات PCR درتصویر ۳ نشان داده شده است.



تصویر ۱: میزان بیان ژن در بافت شبکیه رت های کنترل، دیابتی، دیابتی درمان شده با عصاره سیر و کنترل سیر
* P<۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل سالم
† P<۰/۰۵ در مقایسه با گروه دیابتی درمان نشده



تصویر ۲: میزان پروتئین TGF-β2 در بافت شبکیه رت های کنترل، دیابتی، دیابتی درمان شده با عصاره سیر و کنترل سیر
** P<۰/۰۱ در مقایسه با گروه کنترل سالم
*** P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه کنترل سالم
††† P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه دیابتی درمان نشده



تصویر ۳: محصولات PCR بر روی ژل آگاروز ۲%
NTC (no template control)
Ladder (50 bp)
TGF-β2 (159 bp)
β-actin (94 bp)

بحث

مهم‌ترین مشخصه بیماری دیابت، هیپرگلیسمی می‌باشد. امروزه جهت کاهش گلوکز خون از داروهای مختلف شیمیایی و گیاهی استفاده می‌شود [۱۰]. در این مطالعه از عصاره سیر به دلیل خاصیت هیپوگلیسمیک آن جهت کاهش گلوکز خون استفاده شده است. همان طور که نتایج مطالعه حاضر نشان داد، در رت های دیابتی افزایش معنی داری در میزان گلوکز خون مشاهده شد در حالیکه درمان با عصاره سیر کاهش معنی داری را در میزان گلوکز سبب شد، اگرچه همچنان میزان آن نسبت به گروه کنترل بالا بود. این نتایج موید هیپرگلیسمی ناشی از دیابت و خاصیت هیپوگلیسمیک سیر می‌باشد. همچنین در گروه کنترل سیر، تغییری در میزان گلوکز مشاهده نشد که دال بر بی ضرر بودن این گیاه در نمونه‌های سالم و غیر دیابتی دارد. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که در افراد دیابتی، هیپرگلیسمی از طریق ایجاد استرس اکسیداتیو و با افزایش سایتوکین های التهابی، سبب ایجاد عوارض دیابت مانند رتینوپاتی، نفروپاتی، نوروپاتی و مشکلات قلبی عروقی می‌شود. رتینوپاتی دیابتی یک علت اصلی نابینایی می‌باشد که در نهایت منجر به مرحله

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.21859/hums-24024]

Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 10:41 +0330 on Tuesday September 26th 2017

پیشرفته ایی از اختلالات همراه با رگ زایی، فیبروزه شدن و جدا شدن شبکیه می‌شود [۱۱]. وانگ و همکارانش نشان دادند که در رت های دیابتی القاشده با STZ، بیان ژن‌های TGF-β2، CTGF و VEGF در بافت شبکیه چشم افزایش می‌یابد [۱۲]. نتایج مطالعه حاضر نیز نشان داد که سطح پروتئین و mRNA فاکتور TGF-β2 در بافت شبکیه چشم گروه رت های دیابتی نسبت به گروه کنترل به صورت معنی داری بالاتر بود که دال بر وجود التهاب و آسیب در شبکیه رت های دیابتی می‌باشد. همان طور که فون گست و همکارانش نشان داده‌اند، به نظر می‌رسد که سیتوکین هایی مانند TGF-β می‌توانند با تغییراتی که در غشای پایه سلول ایجاد می‌کنند، در وخامت رتینوپاتی دیابتی نقش داشته باشند [۱۳].

رادیکال‌های آزاد اکسیژن، علاوه بر آسیب مستقیم به ماکرومولکول‌ها، می‌توانند به عنوان مولکول‌های پیامبر عمل کرده و باعث فعال سازی تعدادی از مسیرهای سیگنالینگ حساس به استرس شوند که خود باعث آسیب سلولی جبران ناپذیری خواهد شد. یکی از این مسیرهای تحریک شده توسط استرس اکسیداتیو، فعالسازی مسیر TGF-βدر سلول می‌باشد [۱۴]. از طرف دیگر افزایش TGF-β خود سبب افزایش تولید رادیکال‌های مخرب شده و با کاهش فعالیت سیستم آنتی اکسیدانی یک سیکل معیوب ایجاد می‌کند [۱۵]. از آنجائیکه علت اصلی آسیب بافتی در دیابت، هیپرگلیسمی و استرس اکسیداتیو ناشی از آن می‌باشد، به نظر می‌رسد، ترکیبی که خاصیت هیپوگلیسمیک و آنتی اکسیدانی داشته باشد، می‌تواند در تعدیل عوارض ناشی از دیابت مؤثر باشد. یکی از بهترین ترکیبات مورد استفاده برای این امر، ترکیبات گیاهی و طبیعی می‌باشند که به دلیل در دسترس بودن، هزینه پائین و عوارض جانبی کمتر در مقایسه با داروهای سنتتیک و شیمیایی، استفاده از آنها روز به روز رو به افزایش است. سیر یک گیاه پرمصرف در رژیم غذایی ایرانیان محسوب می‌شود که خاصیت کاهش دهندگی گلوکز و آنتی اکسیدانی آن در مطالعات مختلف به اثبات رسیده است. پادیا و همکارانش نشان دادند که سیر سبب کاهش معنی دار گلوکز خون در رت های دیابتی می‌شود [۱۶]. همچنین عبادی و همکارانش در مطالعه‌ای که بر روی افراد دیابتی انجام دادند، کاهش معنی دار قند خون و هموگلوبین گلیکوزیله در گروه دیابتی در مقایسه با گروه کنترل مشاهده کردند [۱۷]. در مطالعه‌ای که بر روی رت های دیابتی انجام شد، نصیری و همکارانشان نشان دادند که عصاره سیر سبب کاهش پراکسیدان لیپیدی (LPO) و وضعیت اکسیداتیو تام (TOS) و افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی تام (TAC) می‌شود [۱۸]؛ همچنین سایر پژوهشگران که بر روی ترکیبات ارگانوسولفوره سیر مانند S-آلیل سیستئین و S- متیل سیستئین کار کردند، نشان دادند که این ترکیبات، به طور چشم گیری سطح اوره، کراتینین و گلوکز سرم را در رتهای دیابتی کاهش دادند. همچنین باعث افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی سلول (گلوتاتیون، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز) و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی شده بود. این ترکیبات قادرند به طور چشم گیری بیان ژن‌های TGF-β و IL-6 را در کلیه رت ها سرکوب کنند [۱۹, ۲۰]. در مطالعه حاضر نیز کاهش میزان بیان ژن و پروتئین TGF-β2 در بافت شبکیه چشم رت های دیابتی درمان شده با عصاره سیر مشاهده شد که دال بر خاصیت ضد التهابی این گیاه دارد. همچنین در رت های گروه کنترل سیر نیز کاهشی در میزان TGF-β2 نسبت به گروه کنترل مشاهده شد که مشخص کننده اثرات ضد التهابی این گیاه حتی در نمونه‌های غیر دیابتی دارد. به نظر می‌رسد که عصاره سیر با داشتن خاصیت هیپوگلیسمیک و آنتی اکسیدانی می‌تواند مسیرهای منتهی به التهاب و آسیب بافتی را مهار کند.

نتیجه گیری

مطالعه حاضر، که اثرات عصاره آبی سیر بر بیان TGF-β2 را در بافت شبکیه چشم مورد بررسی قرار داده است، نشان داد که عصاره این گیاه سبب کاهش معنی دار سطح TGF-β2 در بافت مذکور درت های دیابتی درمان شده نسبت به گروه دیابتی درمان نشده شده است. از آنجائیکه TGF-β2 یک فاکتور اساسی در ایجاد التهاب و آسیب به شبکیه می‌باشد، لذا با کاهش این فاکتور می‌توان انتظار داشت که آسیب ایجاد شده توسط دیابت بر روی این بافت تقلیل یابد، اگرچه مطالعات بیشتری جهت تائید و تعیین مسیرهای مرتبط مورد نیاز می‌باشد.

سپاسگزاری

نویسندگان از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی همدان به خاطر حمایت مالی این مطالعه در قالب طرح شماره ۹۵۰۶۰۲۳۲۵۱ تشکر و قدردانی می‌نمایند. این مقاله برگرفته از پایان نامه دوره کارشناسی ارشد دانشگاه علوم پزشکی همدان در رشته بیوشیمی بالینی است و نتایج حاصل از آن با منافع نویسندگان تعارضی ندارد.

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.21859/hums-24024]

Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 10:41 +0330 on Tuesday September 26th 2017

REFERENCES

1. Blair M. Diabetes Mellitus Review. Urol Nurs. 2016;36(1):27-36. PMID: 27093761
2. Ganda OP, Rossini AA, Like AA. Studies on streptozotocin diabetes. Diabetes. 1976;25(7):595-603. PMID: 132382
3. Tang J, Kern TS. Inflammation in diabetic retinopathy. Prog Retin Eye Res. 2011;30(5):343-58. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2011.05.002 PMID: 21635964
4. Yadav H, Devalaraja S, Chung ST, Rane SG. TGF-beta1/Smad3 Pathway Targets PP2A-AMPK-FoxO1 Signaling to Regulate Hepatic Gluconeogenesis. J Biol Chem. 2017;292(8):3420-32. DOI: 10.1074/jbc.M116.764910 PMID: 28069811
5. Wan TT, Li XF, Sun YM, Li YB, Su Y. Recent advances in understanding the biochemical and molecular mechanism of diabetic retinopathy. Biomed Pharmacother. 2015;74:145-7. DOI: 10.1016/j.biopha.2015.08.002 PMID: 26349976
6. Saika S, Yamanaka O, Okada Y, Tanaka S, Miyamoto T, Sumioka T, et al. TGF beta in fibroproliferative diseases in the eye. Front Biosci (Schol Ed). 2009;1:376-90. PMID: 19482708
7. Gilani AH, Rahman AU. Trends in ethnopharmocology. J Ethnopharmacol. 2005;100(1-2):43-9. PMID: 16127805
8. Saravanan G, Ponmurugan P. Beneficial effect of S-allylcysteine (SAC) on blood glucose and pancreatic antioxidant system in streptozotocin diabetic rats. Plant Foods Hum Nutr. 2010;65(4):374-8. DOI: 10.1007/s11130-010-0192-2 PMID: 20839055
9. Masjedi F, Gol A, Dabiri S. Preventive Effect of Garlic (Allium sativum L.) on Serum Biochemical Factors and Histopathology of Pancreas and Liver in Streptozotocin- Induced Diabetic Rats. Iran J Pharm Res. 2013;12(3):325-38. PMID: 24250639
10. El-Demerdash FM, Yousef MI, El-Naga NI. Biochemical study on the hypoglycemic effects of onion and garlic in alloxan-induced diabetic rats. Food Chem Toxicol. 2005;43(1):57-63. DOI: 10.1016/j.fct.2004.08.012 PMID: 15582196
11. Semeraro F, Cancarini A, dell'Omo R, Rezzola S, Romano MR, Costagliola C. Diabetic Retinopathy: Vascular and Inflammatory Disease. J Diabetes Res. 2015;2015:582060. DOI: 10.1155/2015/582060 PMID: 26137497
12. Yang J, Kalhan SC, Hanson RW. What is the metabolic role of phosphoenolpyruvate carboxykinase? J Biol Chem. 2009;284(40):27025-9. DOI: 10.1074/jbc.R109.040543 PMID: 19636077
13. Van Geest RJ, Klaassen I, Vogels IM, Van Noorden CJ, Schlingemann RO. Differential TGF-{beta} signaling in retinal vascular cells: a role in diabetic retinopathy? Invest Ophthalmol Vis Sci. 2010;51(4):1857-65. DOI: 10.1167/iovs.09-4181 PMID: 19959647
14. Krstic J, Trivanovic D, Mojsilovic S, Santibanez JF. Transforming Growth Factor-Beta and Oxidative Stress Interplay: Implications in Tumorigenesis and Cancer Progression. Oxid Med Cell Longev. 2015;2015:654594. DOI: 10.1155/2015/654594 PMID26078812 :
15. Liu RM, Gaston Pravia KA. Oxidative stress and glutathione in TGF-beta-mediated fibrogenesis. Free Radic Biol Med. 2010;48(1):1-15. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.09.026 PMID: 19800967
16. Padiya R, Khatua TN, Bagul PK, Kuncha M, Banerjee SK. Garlic improves insulin sensitivity and associated metabolic syndromes in fructose fed rats. Nutr Metab (Lond). 2011;8:53. DOI: 10.1186/1743-7075-8-53 PMID: 21794123
17. Ebadi S, Rahimi Lenji E, Taghadosi M, Khorshidi A, Akbari H. [Effect of garlic on blood sugar in patients with type 2 diabetes mellitus]. Feyz J Kashan Univ Med Sci. 2007;11(1):20-5.
18. Nasiri A, Ziamajidi N, Abbasalipourkabir R, Goodarzi MT, Saidijam M, Behrouj H, et al. Beneficial Effect of Aqueous Garlic Extract on Inflammation and Oxidative Stress Status in the Kidneys of Type 1 Diabetic Rats. Indian J Clin Biochem. 2016. DOI: 10.1007/s12291-016-0621-6
19. Yin MC, Hsu CC, Chiang PF, Wu WJ. Antiinflammatory and antifibrogenic effects of s-ethyl cysteine and s-methyl cysteine in the kidney of diabetic mice. Mol Nutr Food Res. 2007;51(5):572-9. DOI: 10.1002/mnfr.200600213 PMID: 17440992
20. Koseoglu M, Isleten F, Atay A, Kaplan YC. Effects of acute and subacute garlic supplement administration on serum total antioxidant capacity and lipid parameters in healthy volunteers. Phytother Res. 2010;24(3):374-8. DOI: 10.1002/ptr.2953 PMID: 19653315

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.21859/hums-24024]

Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 10:41 +0330 on Tuesday September 26th 2017

Scientific Journal of Hamadan University of Medical Sciences Original Article

No 84, Volume 24, Issue 2

The Effects of Aqueous Garlic Extract on TGF-β2 Gene and Protein Expression in Retinal Tissues of Male Diabetic Rats

Somayeh Sadeghi Moheb [1], Roghayeh Abbasalipourkabir [2], Mohammad Taghi Goodarzi [3], Alireza Nourian [4], Nasrin Ziamajidi [5,*]

[1] *MSc Student, Department of Clinical Biochemistry, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran*
[2] *Associate Professor, Department of Clinical Biochemistry, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran*
[3] *Professor, Department of Clinical Biochemistry, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran*
[4] *Assistant Professor, Department of Pathobilogy, Faculty of Veterinary Science, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran*
[5] *Assistant Professor, Department of Clinical Biochemistry, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran*

** Corresponding author: Nasrin Ziamajidi, Assistant Professor, Department of Clinical Biochemistry, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran. E-mail: n.ziamajidi@umsha.ac.ir*

DOI: 10.21859/hums-24024

Received: 10.04.2017
Accepted: 28.06.2017

Keywords:
Diabetes Mellitus Type 1
Garlic
Retina
Rats

How to Cite this Article:
Sadeghi Moheb S, Abbasalipourkabir R, Goodarzi MT, Nourian A, Ziamajidi N. The Effects of Aqueous Garlic Extract on TGF-β2 Gene and Protein Expression in Retinal Tissues of Male Diabetic Rats. *Sci J Hamadan Univ Med Sci.* 2017;**24**(2):112-118. DOI: 10.21859/hums-24024

© 2017 Hamadan University of Medical Sciences.

Abstract

Introduction: Retinopathy is one of the most important complications of diabetes mellitus that results from chronic hypeglycemia, oxidative stress and inflammation. Tumor necrosis factor-beta2 (TGF-β2) is an important factor in the inflammation pathway due to hyperglycemia. Garlic is one of the most frequently used plants in Iranian diets that has hypoglycemic and antioxidant propertis. So, this study aimed to examine the effects of aqueous garlic extract on TGF-β2 gene and protein expression in retinal tissues of type 1 diabetic rats.

Methods: In this experimental study, 24 male Wistar rats were divided into four groups (n = 6) including control rats, type 1 diabetic rats, type 1 diabetic rats treated with the garlic extract and garlic control. To induce diabets type 1, streptozotocin (STZ, 65 mg/kg) was used. Seven days after the STZ injection, the glucose level was measured by a glucometer. at the end of the treatment period(30 days, gavage of the garlic extract (1mL/100g)), the serum sample was isolated and stored in -20°C for determination of the glucose level. Also, the rats' eyes were removed and their retial tissues separated quickly and stored in -70°C for gene expression evaluation and protein assay. To determine the gene expression level, RNA extraction, cDNA synthesis and real-time polymerase chain reaction were performed. The TGF-β2 protein level was also measured by the ELISA kit.

Results: The TGF-β2 mRNA expression was increased 1.37 fold in diabetic rats compared to control rats and decreased 1.96 fold in garlic-treated diabetic rats compared to untreated diabetic rats. The TGF-β2 protein level was increased 3.08 fold in diabetic rats compared to control rats and decreased 2.56 fold in garlic-treated diabetic rats compared to untreated diabetic rats.

Conclusion: Garlic extract significantly decreased the TGF-β2 level in retinal tissues of diabetic rats. The TGF-β2 is an important factor in inflammation and damage to retinal; so, it is logical that garlic consumption can reduce diabetes complications by decreasing this factor.

www.SID.ir