مجله‌ی غدد درون‌ریز و متابولیسم ایران
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی
دوره‌ی دهم، شماره‌ی ۴، صفحه‌های ۴۰۸ ـ ۴۰۱ (آبان ۱۳۸۷)

مقاله‌ی پژوهشی

تأثیر گابا بر غلظت سیتوکین‌ها و حجم توده‌ی سلول‌های بتا و آلفا در موش‌های دیابتی نژاد CD1

دکتر نپتون سلطانی[۱]، دکتر منصور کشاورز[۲]، دکتر چینوا ونگ[۳]

۱) مرکز تحقیقات پیشگیری از عوامل خطر آفرین قلبی ـ عروقی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی هرمزگان، ۲) گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تهران، ۳) گروه غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه تورنتو، کانادا. **نشانی مکاتبه ی نویسنده مسئول:** گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تهران، دکتر منصور کشاورز؛ e-mail: nsoltani@hums.ac.ir

چکیده

مقدمه: دیابت نوع ۱ واکنش خودایمنی وابسته به تجمع سلول‌های لنفوسیت نوع T در محل سلول‌های بتا است. این امر موجب افزایش سیتوکین‌ها و به دنبال آن منجر به تورم و مرگ سلول‌های بتا از آن‌جا که کاهش غلظت گابا سبب افزایش غلظت سیتوکین‌ها می‌شود و گابا در شرایط طبیعی به عنوان یک میانجی مهاری در پانکراس موجود است، هدف از این مطالعه نشان دادن اثر مهاری گابا بر ترشح سیتوکین و کاهش تخریب سلول‌های بتا و توانایی این سلول‌ها در ترشح انسولین است. مواد و روش‌ها: در این مطالعه از ۲۰ عدد موش نر نژاد CD1 با سن ۷ هفته استفاده شد. همه‌ی حیوانات با تجویز داخل صفاقی ۴۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم وزن بدن، استرپتوزوتوسین به مدت پنج روز متوالی دیابتی شدند. دو ماه پس از القای دیابت، حیوانات به دوگروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. یک گروه از حیوانات روزانه ۲۰۰ میکرومول گابا که در PBS حل شده بود به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت نمودند و گروه دیگر به عنوان گروه شاهد، هم‌حجم گابا محلول PBS دریافت کردند و به مدت ده هفته کنترل شدند. یافته‌ها: میزان گلوکاگن، حجم توده سلول‌های آلفا و برخی سیتوکین‌ها (IL12, IL1β و TNFα) در گروه دریافت کننده گابا نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داده و غلظت انسولین پلاسما و حجم توده سلول‌های بتا افزایش معنی‌داری را پیداکرد. نتیجه‌گیری: تجویز گابا توانست باعث مهار ترشح سیتوکین‌ها شد که این امر به نوبه‌ی خود سبب افزایش حجم توده‌ی سلول‌های بتا و ترشح انسولین گردید. بنابراین به شرط آن‌که هیچ اثر سویی از این ماده مشاهده نشود شاید بتوان از آن در آینده به عنوان ترکیبی برای درمان دیابت نوع ۱ استفاده نمود.

واژگان کلیدی: انسولین، گلوکاگون، گابا، دیابت نوع ۱، حجم توده‌ی سلول‌های بتا و آلفا، سیتوکین‌ها

دریافت مقاله:۸۶/۱۰/۲۴ـ دریافت اصلاحیه: ۸۷/۲/۹ ـ پذیرش مقاله: ۸۷/۲/۱۴

مقدمه

دیابت قندی یکی از مشکلات عمده‌ی جامعه است که به دلیل کاهش ترشح انسولین یا کاهش پاسخ‌دهی به انسولین رخ می‌دهد.[۲،۱] دیابت نوع ۱ ناشی از تخریب سلول‌های بتا به وسیله واکنش‌های خودایمنی وابسته به تجمع سلول‌های لنفوسیت نوع T در محل سلول‌های بتا است[۳] که منجر به کاهش ترشح انسولین می‌شود.[۲،۱]

استرپتوزوتوسین (STZ)[i] به طور وسیعی برای القای دیابت نوع ۱ در موش نژاد CD1 استفاده می‌شود. دوز بالای STZ باعث تخریب سریع سلول‌های بتا می‌شود اما دوز چندگانه و پایین آن باعث القای دیابت در برخی از رده‌های

i- Steprozotosian

Archive of SID
www.SID.ir

حیوانی می‌گردد. تخریب سلول‌های بتا به وسیله‌ی دوزهای متوالی و پایین STZ انجام می‌شود که در این مطالعه نیز به کار رفته است. التهاب جزایر لانگرهانس به وسیله‌ی ماکروفاژهای فعال شده و برخی از لنفوسیت‌ها به وجود می‌آید.[۴،۵] این مسأله مربوط به افزایش سیتوکین‌هایی مانند اینترفرون گاما (IFNα)، فاکتور نکروزکننده‌ی بافت (TNF) و اینترلوکین بتا (ILβ) است که این مواد به نوبه‌ی خود باعث تورم و مرگ سلول‌های بتا می‌شوند[۶] که متعاقب آن کاهش توده‌ی سلول‌های بتا را به همراه دارد.[۱،۷،۸]

گابا یک میانجی مهاری است که با غلظتی مشابه با مغز در جزایر پانکراس یافت می‌شود.[۹] مطالعه‌ها نشان داده‌اند که گابا به همراه انسولین از سلول‌های بتا ترشح و سبب مهار ترشح کلوکاگون از سلول‌های آلفا می‌شود.[۱۰] برخی از مطالعه‌ها نشان داده‌اند که کاهش ترشح گابا از طریق فعال کردن مسیر P38 MAPK سبب افزایش تولید سیتوکین‌ها می‌شود[۱۱] و سیتوکین‌ها به خصوص IL1β با اثر بر گیرنده‌های گابای نوع A سبب مرگ سلول‌های بتا می‌شوند.[۱۲-۱۴] این امر به نوبه‌ی خود سبب کاهش غلظت انسولین می‌گردد. در مورد اثر گابا بر ترشح انسولین یافته‌های ضد و نقیضی وجود دارد. برخی از پژوهشگران معتقدند که گابا باعث افزایش ترشح انسولین از سلول‌های بتا می‌شود[۱۵] و برخی بر این باور هستند که گابا ترشح انسولین را مهار می‌کند.[۱۶]

با توجه به اینکه مشکل عمده در دیابت نوع ۱، تخریب سلول‌های بتا و کاهش توده‌ی آن است و بخش اعظم این تخریب به دلیل افزایش سطح سیتوکین‌ها به وجود می‌آید، و با توجه به این مسأله که گابا یک میانجی مهاری است و به دنبال القای دیابت به وسیله‌ی استرپتوزوتوسین در بافت پانکراس کاهش می‌یابد،[۱۴] این مطالعه برای پاسخ دادن به این سؤال طراحی شد: آیا تجویز داخل صفاقی گابا می‌تواند سبب کاهش ترشح سیتوکین‌ها شود، آیا این کاهش مانع از تخریب بیشتر سلول‌های بتا می‌شود؟ و آیا این سلول‌های بتا قادر به ترشح انسولین هستند یا خیر؟

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از ۲۰ عدد موش نر نژاد CD1 با سن ۷ هفته استفاده شد. حیوانات در دمای ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد و چرخه‌ی نوری ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند و دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند.

همه‌ی حیوانات با تجویز داخل صفاقی ۴۰mg/Kg استرپتوزوتوسین به مدت پنج روز متوالی دیابتی شدند.[۱۷-۱۹] قبل از القای دیابت به کمک گلوکومتر (Ascensia ELITE XL metr Canada) قند خون غیر ناشتای حیوانات از طریق ورید دمی اندازه‌گیری شد.[۱۸] پس از القای دیابت نیز هر سه روز یک بار قند خون و وزن حیوانات کنترل گردید. حیواناتی که قند خون بالاتر از ۱۷ میلی‌مول در لیتر داشتند، دیابتی تلقی شدند.[۱۸]

دو ماه پس از القای دیابت، حیوانات به دو گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. در یک گروه از آن‌ها روزانه ۲۰۰ میکرومول گابا که در PBS حل شده بود، به صورت داخل صفاقی تزریق شد (این دوز بر اساس یک مطالعه‌ی مقدماتی به دست آمد) و گروه دیگر به صورت تزریق داخل صفاقی، هم‌حجم گابا محلول PBS دریافت کردند و به عنوان گروه شاهد در نظر گرفته و به مدت ده هفته کنترل شدند. در این مطالعه ۱۰ عدد موش نر CD1 که هم‌سن حیوانات مورد مطالعه در روز پایان آزمایش بودند نیز در نظر گرفته شدند و پس از بیهوشی تحت عمل جراحی قرار گرفتند و پانکراس آنها مطابق با روش ذکر شده در بخش ایمینو هیستوشیمی این مقاله ایزوله و بررسی شد.

دو ماه پس از القای دیابت (قبل از تجویز گابا و PBS[i]) ۲۰۰ میکرولیتر خون از طریق ورید صافن گرفته شد. دو ماه و نیم پس از درمان نیز همه‌ی حیوانات با تزریق داخل صفاقی ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، کتامین بیهوش شده، سپس از قلب آن‌ها به میزان یک میلی‌لیتر خون گرفته شد. به ازای هر ۲۰۰ میکرولیتر خون، ۲ میکرولیتر مهارکننده‌ی پروتئاز به خون اضافه و پس از سانتریفوژ، سرم آن جدا شده، در ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد.

i - Phosphate buffer solution

Archive of SID

www.SID.ir

انسولین به روش الیزا توسط کیت انسولین موش صحرایی (Crystal chem., Chicago, USA) و گلوکاگون به روش رادیوایمونواسی توسط کیت گلوکاگون موش صحرایی (Linco, St. Charles, MO, USA) اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری حجم توده‌ی سلول‌های بتا و آلفا روش ایمونوهیستوکمیکال به کار رفت. پس از کشتن حیوانات بلافاصله بافت پانکراس ایزوله و در محلول فرمالدئید و استیک اسید قرار گرفته و محلول یک شب در یخچال نگهداری شد. روز بعد ابتدا پانکراس به ۱۰ تا ۱۲ قطعه تقسیم شد. برای تصادفی کردن نمونه‌ها به کمک الکل و گزیلل بافت به ترتیب آبگیری و الکل‌گیری شد و بعد بافت‌ها در پارافین قرار داده و بلوک‌های پارافینی ساخته شد. پس از آن به کمک میکروتوم (Leica Microsystems, Nussloch, Germany) برش‌های ۵ میکرومتری تهیه گردید.

برش‌ها به وسیله‌ی گزیلل پارافین‌زدایی و با قرار گرفتن در غلظت‌های مختلف الکل آب‌دهی شدند. سپس برش‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در محلول آب اکسیژنه و بعد از آن به مدت ۳۰ دقیقه نیز در محلول سدیم سیترات با pH ۶ و درجه‌ی حرارت ۷۰ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شدند و با استفاده از سرم بز، عمل بلوک کردن برش‌ها انجام شد. سپس به آن‌ها بر حسب این که برش برای اندازه‌گیری حجم توده‌ی سلول‌های آلفا در نظر گرفته شده بود یا برای اندازه‌گیری حجم توده‌ی سلول‌های بتا، آنتی‌بادی آنتی انسولین خوکی و یا آنتی‌بادی آنتی گلوکاگون خرگوشی (Dako; Diagnostics, Mississauga, ON, Canada) با غلظت ۱:۸۰۰ به آن‌ها افزوده شد و به مدت یک شب در دمای ۴- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس به نمونه‌ها با غلظت ۱:۵۰۰ Anti-guinea pig IgG biotinylated mouse و یا biotinylated Rat anti- Rabbit-IgG اضافه شد (Vector , CA, USA laboratories Inc- Burlingame) و به مدت ۲ ساعت در درجه‌ی حرارت محیط قرار داده شدند. سپس به مدت یک ساعت به نمونه‌ها از کیت ABC(Vector laboratories Inc Burlingame, CA USA) اضافه شد که این عمل برای نشان‌دار کردن پروتئین‌ها انجام شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه به نمونه‌ها DAB (Vector laboratories Inc Burlingame, CA, USA) اضافه شد که این عمل برای ردیابی پروتئین‌های نشان دار شده صورت گرفت. سپس برش‌ها شتشو داده و به وسیله‌ی هماتوکسیلین رنگ‌آمیزی شدند. با افزایش تدریجی غلظت الکل، برش‌ها آب‌گیری شدند و با استفاده از permount عمل ثابت کردن برش‌ها روی لام انجام شد.

به کمک نرم‌افزار کامپیوتری خاص (Aperio Technologies Inc., Vista, CA, USA Imagescope program) حجم توده‌ی سلول‌های بتا و آلفا محاسبه گردید.

دو ماه و نیم پس از درمان از همه‌ی حیوانات مطابق با روش قبلی خونگیری به عمل آمد و میزان سیتوکین‌های پلاسما (IL12, IL1β, TNFα, INFγ و IL10) به روش الیزا توسط کیت (Biosource international Camarillo USA) اندازه‌گیری شد.

تمام یافته‌های این پژوهش به صورت میانگین ± خطای معیار گزارش شدند و برای مقایسه‌ی میانگین‌ها از آزمون تی و برای مقایسه‌ی حجم توده‌ی سلول‌های آلفا و بتا در دو گروه مختلف از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تکمیلی توکی استفاده شد. $P< ۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌دار بودن تلقی گردید.

یافته‌ها

میزان قند خون غیر ناشتا، انسولین و گلوکاگون سرم در دو گروه قبل از تجویز گابا تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (یافته‌ها نشان داده نشده است).

جدول ۱ تغییرات غلظت قند خون و وزن گروهای مورد مطالعه را دو ماه پس از القای دیابت و دو هفته پس از تزریق گابا و یا PBS نشان می‌دهد.

نمودار ۱ (الف و ب) به ترتیب تغییرات انسولین و گلوکاگون سرم را ده هفته پس از تجویز گابا و PBS در دو گروه مورد مطالعه نشان می‌دهد. یافته‌ها حاکی از آن است که تجویز گابا به مدت ده هفته به طور معنی‌داری ($p< ۰/۰۰۱$) میزان گلوکاگون سرم را در مقایسه با گروه شاهد کاهش داده است.

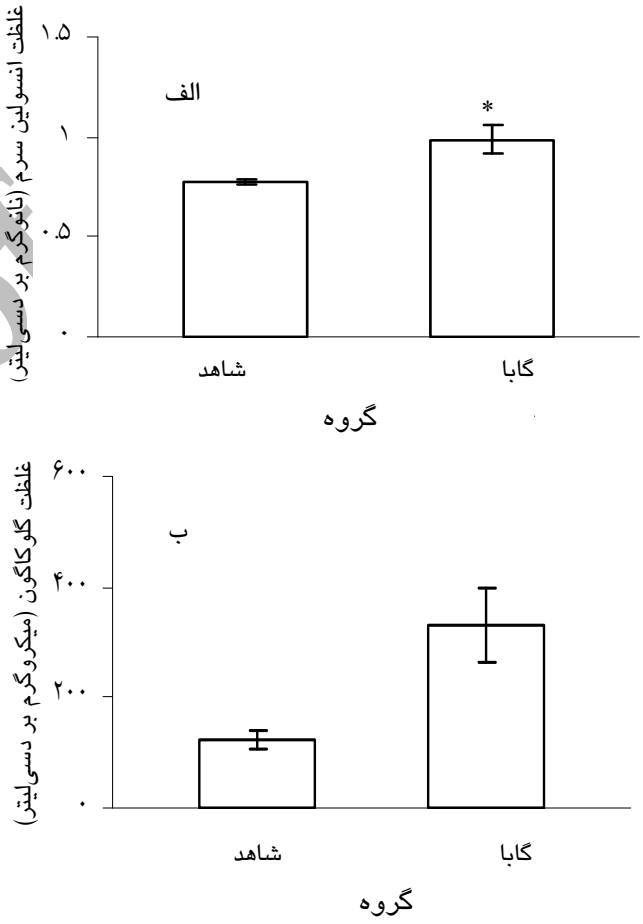
Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- تغییرات قند خون و وزن حیوانات

	قند خون (میلی‌مول در لیتر)		وزن (گرم)	
	دو ماه پس از القای دیابت	ده هفته پس از تزریق گابا یا PBS	دو ماه پس از القای دیابت	ده هفته پس از تزریق گابا یا PBS
گروه دریافت‌کننده‌ی گابا	۲۹/۹ ±۲/۹۹	۱۲/۳۵ ± ۱/۱	۳۸/۱± ۰/۴	۴۳ ±۰/۴
شاهد	۳۰/۵± ۲/۸	*۳۷/۶ ± ۲/۳	۳۸/۲ ± ۰/۹	†۳۹/۸ ±۰/۵

*اختلاف معنی‌دار بین گروه دریافت کننده گابا و شاهد ($p< ۰/۰۰۱$)؛ † اختلاف معنی‌دار بین گروه دریافت کننده‌ی گابا و شاهد ($p< ۰/۰۵$). †
میانگین ± خطای معیار



نمودار ۱- مقایسه‌ی غلظت انسولین سرم (الف) و گلوکاگون سرم (ب) در دو گروه کنترل و دریافت کننده گابا. بین میزان گلوکاگون سرم در دو گروه تفاوت معنی‌داری مشاهده می‌شود ($P<۰/۰۰۱$) و بین میزان انسولین دو گروه نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده می‌شود ($P<۰/۰۵$) * اختلاف معنی‌دار بین گروه دریافت‌کننده‌ی گابا و گروه شاهد

به ترتیب میزان گلوکاگون سرم در گروه دریافت کننده‌ی گابا و گروه شاهد (۹۱/۷۱±۴/۵۲ و ۱۳۰/۰۷±۱۸/۷۸ نانوگرم در دسی‌لیتر) بود. غلظت انسولین در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی گابا و شاهد به ترتیب (۰/۹۸۹±۰/۶۷ و ۰/۰۷۷۹±/۱۱ میکروگرم در میلی‌لیتر) است، که نشان‌دهنده‌ی افزایش معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) در غلظت سرمی انسولین در مقایسه با گروه شاهد است.

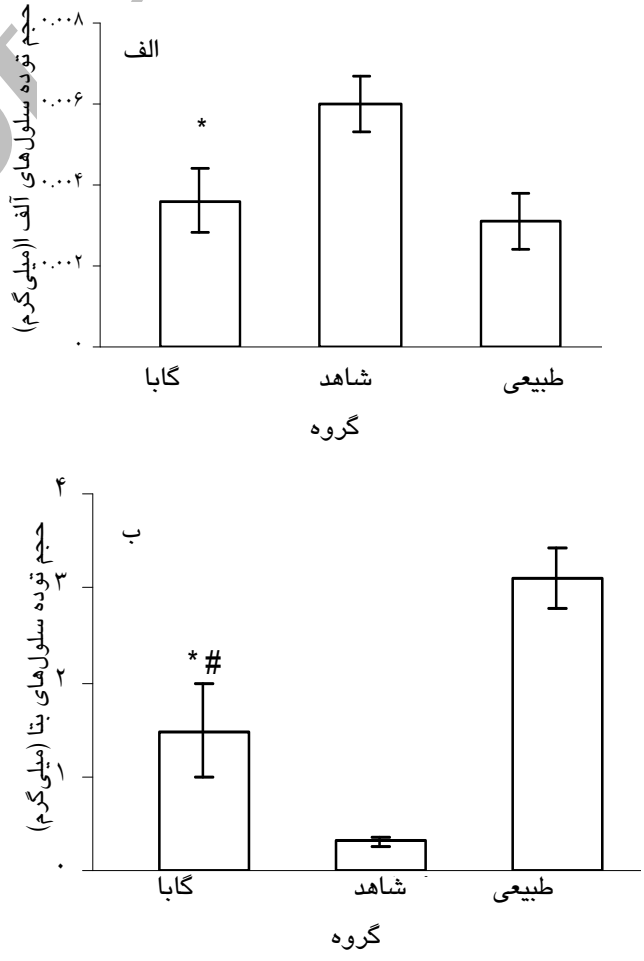
نمودار ۲ (الف) تغییرات حجم توده‌ی سلول‌های آلفا را ده هفته پس از تجویز گابا و PBS در گروه‌های مورد مطالعه نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، تجویز گابا به مدت ده هفته سبب کاهش معنی‌دار ($P<۰/۰۰۵$) حجم توده‌ی سلول‌های آلفا در مقایسه با گروه شاهد شده است، به طوری که حجم توده‌ی سلول‌های آلفا در گروه دریافت کننده‌ی گابا به مقدار طبیعی رسیده است. حجم توده‌ی سلول‌های آلفا در گروه دریافت کننده‌ی گابا، کنترل و طبیعی به ترتیب عبارتند از (۰/۰۰۰۸±۰/۰۰۳۶، ۰/۰۰۰۷± ۰/۰۰۶ و ۰/۰۰۰۷±۰/۰۰۳)

نمودار ۲ (ب) تغییرات حجم توده‌ی سلول‌های بتا را ده هفته پس از تجویز گابا و PBS در دو گروه مورد مطالعه نشان می‌دهد. یافته‌ها حاکی از آن است که تجویز گابا به صورت معنی‌داری حجم توده‌ی سلول‌های بتا را در مقایسه با گروه شاهد افزایش داده است ($P<۰/۰۰۵$). اگرچه این حجم از حد طبیعی به طور معنی‌داری کمتر است ($P<۰/۰۰۵$). حجم توده‌ی سلول‌های بتا در گروه‌های دریافت کننده‌ی گابا، شاهد و طبیعی به ترتیب عبارت است از (۱/۴۸±۰/۴۹، ۰/۳۱±۰/۰۵ و ۳/۱±۰/۳۳).

Archive of SID

www.SID.ir

نمودار ۳ (الف‌تاخ) به ترتیب میزان تغییرات L12، IL1β، TNFα، INFγ، IL10 سرم را ده هفته پس از تجویز گابا و PBS در دو گروه مورد مطالعه نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، تجویز گابا به مدت ده هفته سبب کاهش معنی‌داری در غلظت سرمی IL1β, IL12 وTNFα در مقایسه با گروه شاهد شده (P<۰/۰۰۵) در حالی‌که بر غلظت سرمیIL10 و INFγ در مقایسه با گروه شاهد تأثیری نداشته است. غلظت سرمی IL1β در گروه‌های دریافت کننده‌ی گابا و شاهد به ترتیب عبارتند از (۱۲/۶±۷۲/۱۱ و ۱۸/۴۱±۱۲۲/۵۴). غلظت سرمی L12 در گروه دریافت‌کننده‌ی گابا و شاهد به ترتیب عبارت است از (۲۲/۸±۷۸/۶ و۲۲/۴±۱۴۸/۸۲) و غلظت سرمی TNFα در دو گروه دریافت‌کننده‌ی گابا و شاهد به ترتیب عبارت است از (۲۶/۴±۱۶۲/۹۷ و ۶۷/۷±۳۰۶/۴۷).



نمودار ۲- مقایسه‌ی حجم توده‌ی سلول‌های آلفا (الف) و سلول‌های بتا (ب) در دو گروه شاهد و دریافت‌کننده‌ی گابا * اختلاف معنی‌دار بین گروه دریافت کننده‌ی گابا و گروه شاهد (P<۰/۰۵) † اختلاف معنی‌دار بین گروه دریافت‌کننده‌ی گابا و گروه طبیعی(P<۰/۰۵)

بحث

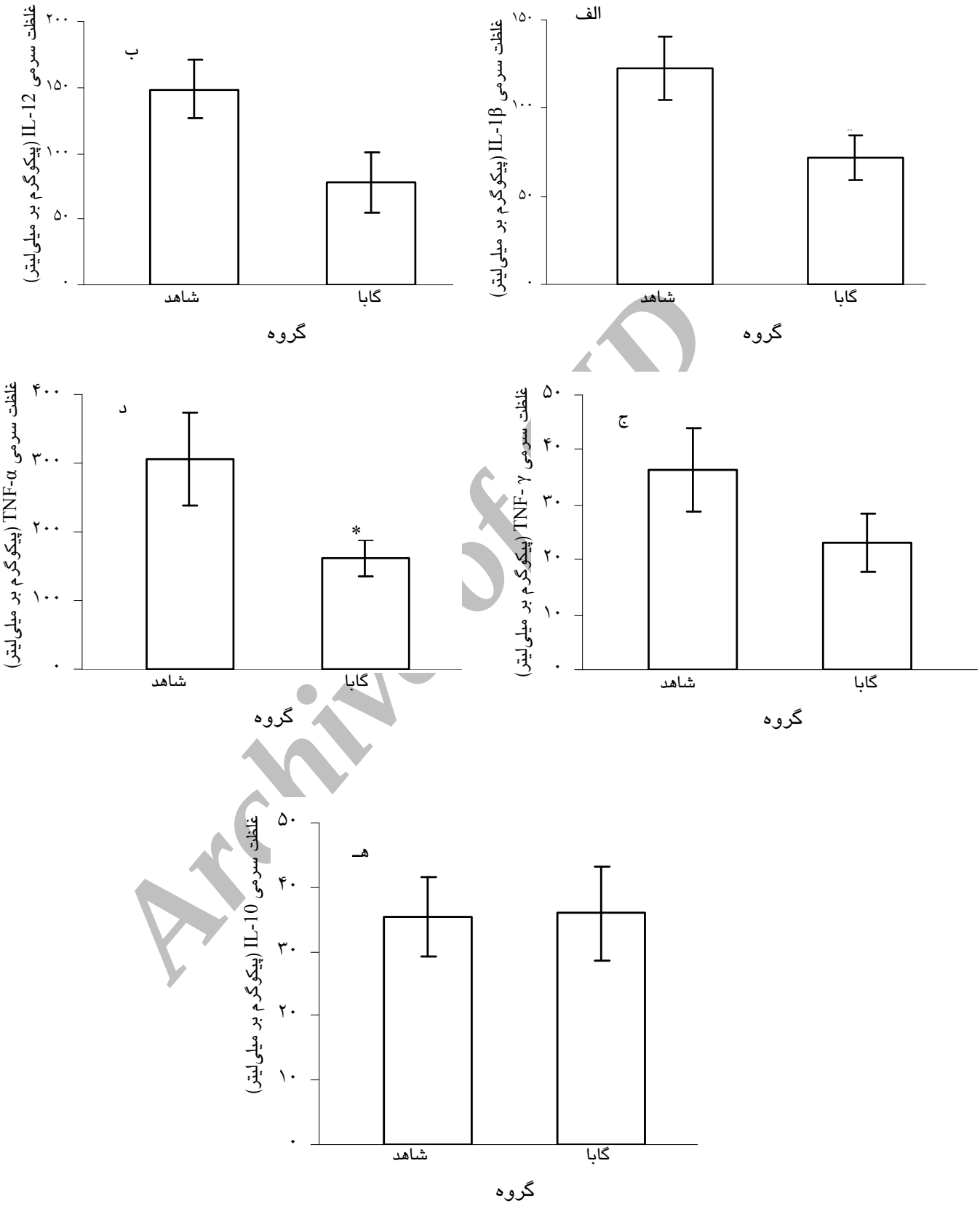
تجویز داخل صفاقی گابا توانست از تخریب بیش از حد سلول‌های بتا جلوگیری کند و حجم توده‌ی سلول‌های بتا را در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی‌داری افزایش دهد، اگرچه این افزایش به دلیل دریافت استرپتوزوتوسین کمتر از حد طبیعی بود. علاوه بر این یافته‌های ما حاکی از آن است که گروه دریافت‌کننده‌ی گابا در مقایسه با گروه شاهد از انسولین سرم بالاتری برخوردار هستند.

دیابت نوع ۱ به سبب کاهش ترشح انسولین و حجم توده‌ی سلول‌های بتا ایجاد می‌شود[۳-۱] و التهاب و تخریب جزایر به وسیله‌ی فعال شدن ماکروفاژها و برخی از لنفوسیت‌ها انجام می‌شود[۵،۴] که این مسأله خود مربوط به افزایش سطح سیتوکین‌ها است.[۶] عریبی و همکاران نشان دادند که سیتوکین‌ها در پیشرفت عوارض وابسته به انسولین دیابت نقش دارند. هم‌چنین نشان دادند که IL1β تولید انسولین توسط سلول‌های بتا را تحت تأثیر قرار می‌دهد.[۲۰] علاوه بر این، ایشیزوکا و همکاران نشان دادند که اینترفرون گاما سبب افزایش مقاومت به انسولین می‌شود.[۲۱] گابا یک میانجی مهاری است که با غلظتی مشابه با مغز در جزایر پانکراس نیز یافت می‌شود[۹] مطالعه‌ها نشان داده‌اند که گابا می‌تواند سبب مهار ترشح گلوکاگون از سلول‌های آلفا شود[۱۰] و به دنبال کاهش غلظت گابا غلظت سیتوکین‌ها در بافت پانکراس افزایش می‌یابد.[۱۱] با توجه به نقش گابا در پانکراس به عنوان یک میانجی مهاری این مطالعه این هدف را دنبال کرد که نشان دهد آیا گابا قادر است ترشح سیتوکین‌ها را نیز مهار کند و به این ترتیب از تخریب بیشتر سلول‌های بتا جلوگیری نماید و آیا این سلول‌های بتا فعال هستند و قادر به ترشح انسولین می‌باشند یا خیر؟

بر طبق یافته‌های این مطالعه، تجویز گابا نه تنها سبب افزایش حجم توده‌ی سلول‌های بتا شده بلکه میزان ترشح انسولین را نیز از سلول‌های بتا افزایش داده است که این نتیجه با مطالعه‌های قبلی که نشان دادند گابا سبب کاهش ترشح انسولین از جزایر لانگرهانس جدا شده می‌شود[۱۶]

Archive of SID

www.SID.ir



نمودار ۳- مقایسه‌ی غلظت IL1β سرم (الف) IL12سرم (ب) INFγ سرم (چ) TNFα سرم (د) IL10 سرم (هـ) در دو گروه مورد مطالعه * اختلاف معنی‌دار بین گروه دریافت‌کننده‌ی گابا و گروه شاهد (P<۰/۰۵)

Archive of SID

www.SID.ir

مغایرت دارد ولی با یافته‌های وانگ و همکاران که نشان دادند گابا سبب افزایش ترشح انسولین از سلول‌های بتای پانکرانس در محیط کشت می‌شود[۱۰،۲۲] موافق است. علت افزایش غلظت انسولین سرم شاید به دلیل افزایش حجم توده‌ی سلول‌های بتا باشد که متعاقب تجویز گابا ایجاد می‌شود و یا شاید به دلیل کاهش سطح سرمی برخی از سیتوکین‌ها باشد.

علت افزایش حجم توده‌ی سلول‌های بتا احتمالاً به این دلیل است که گابا سبب می‌شود تا سلول‌های تمایز نیافته در پانکراس بیشتر به سلول‌های بتا تبدیل شوند و علاوه بر این، سبب محافظت از سلول‌های متورم می‌شود و از تخریب آنها جلوگیری می‌نماید. چرا که وانگ و همکاران نشان دادند که کاهش گابا در بافت پانکراس مجزا شده، مارکر قوی‌تری برای مرگ سلول‌های بتا نسبت به کاهش انسولین است.[۱۴]

دلیل دیگر برای افزایش حجم توده سلول‌های بتا شاید اثر مهاری گابا بر مرگ پیش‌بینی شده‌ی سلولی باشد. علت اصلی مرگ پیش‌بینی شده‌ی سلولی شناخته شده نیست اما لی در سال ۲۰۰۲ نشان داد که سیتوکین‌ها در این رابطه نقش دارند.[۲۳] یافته‌های مطالعه‌ی ما نشان داد که تجویز گابا سبب مهار ترشح سیتوکین‌هایی مانند اینترلوکین دوازده، اینترلوکین یک بتا و تومور نکروز کننده آلفا می‌شود. کاهش این مواد به نوبه‌ی خود سبب مهار مرگ پیش‌بینی شده‌ی سلول‌های بتا شده، به این ترتیب از تخریب بیشتر سلول‌های بتا جلوگیری به عمل می‌آورد. علاوه بر این مطالعه‌ها نشان داده‌اند که تزریق مداوم گلوکز سبب افزایش تعداد سلول‌های بتا می‌شود که این مسأله به دلیل افزایش نئوژنز است تا پرولیفراسیون سلول‌های بتا اما این اثر در نمونه‌های دیابتی مشاهده نشده است و در این نمونه‌ها مرگ پیش‌بینی شده‌ی سلول‌ها بیشتر از نئوژنز و پرولیفراسیون است.[۲۴] علت کاهش ترشح سیتوکین‌ها شاید کاهش غلظت قند خون توسط گابا باشد زیرا آلبالوریرو و همکاران در سال ۲۰۰۷ نشان دادند که کاهش قند خون به وسیله‌ی تجویز انسولین در افراد دیابتی و مدل‌های حیوانی دیابت سبب بهبود عملکرد سلول‌های ترشح کننده سیتوکین‌ها می‌شود.[۲۵]

مطالعه‌ها نشان داده‌اند که در دیابت نوع ۱ و دیابت تجربی که توسط استرپتوزوسین ایجاد می‌شود افزایش حجم توده‌ی سلول‌های آلفا به دلیل افزایش نئوژنز دیده می‌شود.[۲۶،۲۷] یافته‌های مطالعه‌ی حاضر حاکی از این است که به دنبال دیابت تجربی حجم توده سلول‌های آلفا افزایش می‌یابد و به دنبال تجویز گابا احتمالاً به دلیل اینکه گابا سبب می‌شود سلول‌های تمایز نیافته بیشتر به سلول‌های بتا تبدیل شوند تا سلول‌های آلفا، حجم توده‌ی سلول‌های آلفا کاهش می‌یابد. به دنبال این مسأله، ترشح گلوکاگون نیز کاهش می‌یابد. علاوه بر این، همان‌طور که مطالعه‌ی وانگ و همکاران نشان داد[۱۰] انسولین سبب ترانس‌لوکیشن رسپتور گابا روی سلول‌های آلفا شده گابا با اثر بر این سلول‌ها سبب مهار ترشح گلوکاگون می‌شود. این مسأله در مطالعه‌ی حاضر نیز مشاهده شد.

به طور خلاصه یافته‌های این مطالعه نشان داد که تجویز گابا سبب کاهش ترشح سیتوکین‌ها شده، هم‌چنین سبب افزایش ترشح انسولین و کاهش ترشح گلوکاگون می‌شود که این امر خود ناشی از افزایش توده‌ی سلول‌های بتا و کاهش توده سلول‌های آلفا به واسطه‌ی تجویز گابا است. به نظر می‌رسد در صورتی که مطالعه‌های بعدی تکمیل‌کننده‌ی یافته‌های فعلی باشد و همه‌ی اثرهای گابا بررسی شود و هیچ‌گونه عوارضی از گابا مشاهده نشود، شاید بتوان از گابا به عنوان دارو برای درمان دیابت نوع ۱ استفاده نمود.

References

1. Bonner-Weir S. Life and death of the pancreatic beta cells. Trends Endocrinol Metab 2000; 11: 375-8
2. Juneja R, Palmer JP. Type 1 1/2 diabetes: myth or reality? Autoimmunity 1999; 29: 65-83.
3. Goudy KS, Tisch R. Immunotherapy for the prevention and treatment of type 1 diabetes. Int Rev Immunol 2005; 24: 307-26

Archive of SID

www.SID.ir

4. Sun N, Yang G, Zhao H, Savelkoul HF, An L. Multidose streptozotocin induction of diabetes in BALB/c mice induces a dominant oxidative macrophage and a conversion of TH1 to TH2 phenotypes during disease progression. Mediators Inflamm 2005; 31: 202-9.
5. Müller A, Schott-Ohly P, Dohle C, Gleichmann H. Differential regulation of Th1-type and Th2-type cytokine profiles in pancreatic islets of C57BL/6 and BALB/c mice by multiple low doses of streptozotocin. Immunobiology 2002; 205:35-50.
6. Prud'homme GJ, Chang Y. Prevention of autoimmune diabetes by intramuscular gene therapy with a nonviral vector encoding an interferon-gamma receptor/ IgG1 fusion protein. Gene Ther 1999; 6: 771-7.
7. Mathis D, Vence L, Benoist C. Beta-Cell death during progression to diabetes. Nature 2001; 414: 792-8.
8. Kahn SE. The importance of the beta-cell in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. Am J Med 2000; 17 Suppl 6a: 2S-8S
9. Taniguchi H, Okada Y, Seguchi H, Shimada C, Seki M, Tsutou A, et al. High concentration of gamma-aminobutyric acid in pancreatic beta cells. Diabetes 1979; 28: 629-33
10. Dong H, Kumar M, Zhang Y, Gyulkhandanyan A, Xiang YY, Ye B, et al. Gamma-aminobutyric acid up- and downregulates insulin secretion from beta cells in concert with changes in glucose concentration. Diabetologia 2006; 49: 697-705
11. Kelley JM, Hughes LB, Bridges SL Jr. Does gamma-aminobutyric acid (GABA) influence the development of chronic inflammation in rheumatoid arthritis? J Neuroinflammation 2008; 5: 1.
12. Bhatt S, Zalcman S, Hassanain M, Siegel A. Cytokine modulation of defensive rage behavior in the cat: role of GABAA and interleukin-2 receptors in the medial hypothalamus. Neuroscience 2005; 133: 17-28.
13. Wang S, Cheng Q, Malik S, Yang J. Interleukin-1beta inhibits gamma-aminobutyric acid type A (GABA(A)) receptor current in cultured hippocampal neurons. J Pharmacol Exp Ther 2000; 292: 497-504.
14. Wang C, Ling Z, Pipeleers D. Comparison of cellular and medium insulin and GABA content as markers for living beta-cells. Am J Physiol Endocrinol Metab 2005; 288: E307-13.
15. Franklin IK, Wollheim CB. GABA in the endocrine pancreas: its putative role as an islet cell paracrine-signalling molecule. J Gen Physiol 2004; 123: 185-90.
16. Braun M, Wendt A, Buschard K, Salehi A, Sewing S, Gromada J, et al. GABAB receptor activation inhibits exocytosis in rat pancreatic beta-cells by G-protein-dependent activation of calcineurin. J Physiol 2004; 559: 397-409.
17. Lukić ML, Stosić-Grujicić S, Shahin A. Effector mechanisms in low-dose streptozotocin-induced diabetes. Dev Immunol 1998; 6: 119-28.
18. Kumar M, Hunag Y, Glinka Y, Prud'homme GJ, Wang Q. Gene therapy of diabetes using a novel GLP-1/IgG1-Fc fusion construct normalizes glucose levels in db/db mice. Gene Ther 2007; 14: 162-72.
19. Herold KC, Vezys V, Sun Q, Viktora D, Seung E, Reiner S, et al. Regulation of cytokine production during development of autoimmune diabetes induced with multiple low doses of streptozotocin. J Immunol 1996; 156: 3521-7.
20. Aribi M, Moulessehoul S, Kendouci-Tani M, Benabadji AB, Hichami A, Khan NA. Relationship between interleukin-1beta and lipids in type 1 diabetic patients. Med Sci Monit 2007; 13: CR372-8.
21. Ishizuka K, Usui I, Kanatani Y, Bukhari A, Fujisaka S, et al. Chronic tumor necrosis factor-α treatment causes insulin resistance via insulin receptor substrate-1 serine phosphorylation and suppressor of cytokine signaling-3 induction in 3T3-L1 adipocytes. Endocrinology 2006; 148: 2994-3003.
22. Xu E, Kumar M, Zhang Y, Ju W, Obata T, Zhang N, et al. Intra-islet insulin suppresses glucagon release via GABA-GABAA receptor system. Cell Metab 2006; 3: 47-58.
23. Lee MS. Cytokine synergism in apoptosis: its role in diabetes and cancer. J Biochem Mol Biol. 2002; 31; 35(1):54-60
24. Bernard C, Berthault MF, Saulnier C, Ktorza A Neogenesis vs. Apoptosis as main components of pancreatic beta cell mass changes in glucose-infused normal and mildly diabetic adult rats. The FASEB Journal 1999; 13: 1195-1205
25. Alba-Loureiro TC, Munhoz CD, Martins JO, Cerchiaro GA, Scavone C. Neutrophil function and metabolism in individuals with diabetes mellitus. Braz J Med Biol Res. 2007; 40(8): 1037- 44
26. Cho JH, Lee IK, Yoon KH, Ko SH, Suh SH, Lee JM, et al. Selective beta-Cell Loss and alpha-Cell Expansion in Islets of Type 2 Diabetic Patients. J Korean Diabetes Assoc. 2001; 25(2):164-177
27. Li Z, Karlsson A, Sandler S. Islet loss and alpha cell expansion in type 1 diabetes induced by multiple low-dose streptozotocin administration in mice. Journal of endocrinology. 2000; 165: 93-99

Archive of SID

www.SID.ir

Original Article

Effect of GABA on Plasma Cytokine Concentration and Beta and Alpha Cell Mass in CD1 Diabetic Mice

Soltani N[1], Keshavarz M[2], Wang Q[3]

[1]Hormozgan Research Center for Prevention of Cardiovascular Risk Factors, Hormozgan University of Medical Science, Hormozgan; [2]Physiology Department, Medical School, Tehran University of Medical Sciencel Tehran, I.R.Iran; [3]Endocrine and Metabolism Department, Toronto University, Torento, Canada
e-mail: nsoltani@hums.ac.ir

Abstract

Introduction: Type I diabetes is an autoimmune disease associated with T lymphocytes function in beta cells. This process can increase cytokine secretion, which can cause beta cell inflammation and death. Since GABA, (γ-aminobutyric acid) is a major inhibitory neurotransmitter, and low concentration of GABA can increase cytokine secretion, the aim of this study was demonstrate to the inhibitory effect of GABA administration on cytokine secretion and decrease in beta cell death and also to show the ability of beta cells in insulin secretion. Material and Methods: Seven week old CD1 mice were used. To induce diabetes, animals received 40 mg/kg of STZ five days continuously. Two months later, animals were divided into two groups, one receiving 200 micromole of GABA and the other (controls) the same volume of PBS for 10 weeks. Results: Serum glucagon levels, and alpha cells significantly decreased in the (IL12 IL1β, TNFα) mass and some cytokine levels in the GABA group. Plasma insulin level and beta cell mass significantly increased in comparison to the control group. Conclusion: From the results of this study we conclude that GABA administration causes inhibition in cytokine secretion, improves beta cell mass and increases insulin secretion. May be, in the future, if GABA shows no side effects we can use GABA for type one diabetes.

Key Words: Insulin, Glucagon, GABA, Type I diabetes, Beta cell and Alpha cell mass, Cytokines

Archive of SID

www.SID.ir