

بررسی اثر سیر بر ترشح سیتوکاین‌های $TNF-\alpha$ و $IFN\gamma$ توسط سلول‌های مونونوکلئار خون محیطی بیماران مبتلا به 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. سیتوکاین‌های پیش التهابی مانند $TNF-\alpha$ و $IFN\gamma$ به پیام‌رسانی انسولین در بافت‌های حساس انسولین آسیب می‌زنند. در این مطالعه تأثیر عصاره سیر بر بیان سیتوکاین‌های $IFN\gamma$ و $TNF-\alpha$ مترشح از سلول‌های مونونوکلئار اندازه‌گیری شد. **روش‌ها:** پس از گرفتن خون محیطی بیماران مبتلا به دیابت نوع دو، سلول‌های مونونوکلئار 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 سیتوکاین $IFN\gamma$ و $TNF-\alpha$ از روش الایزا استفاده شد. **یافته‌ها:** عصاره‌ی سیر سبب کاهش میزان ترشح $TNF-\alpha$ از سلول‌های مونونوکلئار شد هرچند که زمان و غلظت عصاره بر نتایج بی‌تأثیر بود همچنین عصاره‌ی سیر در میزان ترشح $IFN\gamma$ 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، $TNF-\alpha$ ، $IFN\gamma$

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 ۵۲۴۷۶-۶۶۶۱۶، تلفن:

۶۱۴۲۴۲۸۷۱۷، پست الکترونیک: sheikhi@queensu.ca

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۷/۰۸

تاریخ درخواست اصلاح: ۱۳۹۶/۶/۱۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۳/۲۵

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 می‌توان به عدم تحرک، فشار خون بالا، داشتن high-density lipoprotein (HDL) خون پایین و یا تری‌گلیسیرید بالا اشاره کرد [۱-۳].

نرخ ابتلا به دیابت به طرز قابل توجهی در ۵۰ سال اخیر به موازات چاقی افزایش یافته است. تا سال ۲۰۱۰ تقریباً حدود ۲۸۵ میلیون نفر مبتلا به 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 [۴، ۳]. عوارض ناشی از قند خون بالا می‌تواند شامل بیماری قلبی، سکتها، 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 غیرآستومی‌هایپروسمولار نیز رخ دهد [۵، ۶].

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 جدا شده از بیماران مبتلا به دیابت نوع دو است که در معرض عصاره سیر قرار گرفته‌اند.

روش‌ها

مواد: در این مطالعه سرم جنین گوسفند FCS، CM10، RPMI 1640، PBS، FICOLL از شرکت بهارافشان ایران خریداری شد. همچنین MRS-Brath و MRS-AGAR 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 مبتلا به دیابت نوع دو زن و مرد مراجعه‌کننده به بیمارستان گنجویان شهرستان دزفول که براساس حداقل دو نوبت قند ناشتای بالای ۱۲۶ دیابت آن‌ها به اثبات رسیده بود و حداقل یک سال از شروع بیماری آن‌ها می‌گذشت وارد مطالعه شدند. همچنین ۵ فرد سالم که از لحاظ سنی و جنسی با بیماران میچ 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 به مدت 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 به مدت ۲۰ دقیقه و ۵۰۰۰ RPM سانتریفوژ شد. سپس سوپرناتانت شفاف از فیلتر میلی پور^۱ 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 فالكول 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 لئوسیت‌ها 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 به مدت 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 ماندی است که لئوسیت 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 فالكول تمیز و استریل منتقل شد.

باقی کوت جداشده در لوله فالكول جهت شستشوی سلول‌های مونوکلنار مقدار ۵ cc محلول RPMI۱۶۴۰ ساخت شرکت بهار افشان ایران به آن اضافه شد. سپس به مدت ۵ دقیقه دور ۲۵۰۰ سانتریفوژ شد. محلول رویی دور ریخته و به رسوب حاصله که سلول‌های مونوکلنار هستند مقدار ۳ cc محلول کشت سلولی CM10 اضافه شد. CM10 محیط مناسب برای رشد و فعالیت سلول‌های مونوکلنار را فراهم می‌آورد. در واقع از مخلوط کردن ۱۰۰ cc محلول RPMI با ۱۰ cc محلول فیتال کسپید FCS به دست می‌آید. جهت شمارش گلبول‌های مونوکلنار 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 ۶ چاهک ریخته شد و به‌ترتیب زیر مقدار ۳۰ میکرو لیتر عصاره سیر اضافه گردید.

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

چاهک شماره‌ی ۲: ۳۰ میکرو لیتر عصاره ۳۰ درصد سیر

چاهک شماره‌ی ۳: ۳۰ میکرو لیتر عصاره ۱۰ درصد سیر

این ۳ چاهک برای مدت‌زمان ۴۸ ساعت انکوبه شدند و در انکوباتور CO₂ ۵٪ و ۹۵٪ اکسیژن قرار گرفت.

همین کار را در ۳ چاهک دیگر تکرار گردید و در انکوباتور CO₂ ۵٪ و ۹۵٪ اکسیژن به مدت ۷۲ ساعت قرار داده شد.

¹ Millipore filter

گردید. بعد از انکوباسیون پلیت‌ها به مدت ۲ ساعت و شستشو محلول کونژوگه رقیق‌شده در حجمی معادل ۱۰۰ لاندبا به هر یک از حفرات پلیت اضافه گردید. بعد از انکوباسیون به مدت 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 ۴۵۰ و ۶۳۰ 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 ویتنی، 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 ۰.۰۵ 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.

بعد از گذشت زمان ۴۸ ساعت انکوبه در انکوباتور ۵٪ CO₂ 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- ۴۸ ساعت

میکرو تیوپ ۲: عصاره‌ی سیر رقت ۳۰ درصد ۴۸ ساعت

میکرو تیوپ ۳: عصاره‌ی سیر رقت ۱۰ درصد ۴۸ ساعت

میکرو تیوپ ۴: کنترل- ۷۲ ساعت

میکرو تیوپ ۵: عصاره‌ی سیر رقت ۳۰ درصد ۷۲ ساعت

میکرو تیوپ ۶: عصاره‌ی سیر رقت ۱۰ درصد ۷۲ ساعت

روش اندازه‌گیری سایتوکین‌ها

بعد از جداسازی سوپرناتانت‌های همه‌ی بیمارارن و فریز کردن آن‌ها در ۷۰- درجه جهت اندازه‌گیری سایتوکین‌های مورد نظر یعنی TNF- α و ایتترفرون گاما به روش الیزا ابتدا کلیه‌ی نمونه‌ها از فریزر خارج شد تا به دمای محیط رسید سپس برای کلیه‌ی نمونه‌ها تست سنجش میزان TNF- α و ایتترفرون 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 ۹۶ خانه‌ای ابتدا با مونوکلونال آنتی‌بادی رقیق‌شده که علیه سایتوکین خاص ایتترفرون گاما یا TNF- α ساخته‌شده بود با حجمی معادل ۱۰۰ لاندبا پوشانیدیم. 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

جدول ۱- نتایج توصیفی مربوط به TNF- α

متغیر	میانگین	انحراف استاندارد	خطای تخمین میانگین
سایتوکاین آلفا پیش از تأثیر	۶۹۲/۷۷۷	۳۷۹/۱۷۸	۷۴/۳۶۳
سایتوکاین آلفا پس از تأثیر	۹/۰۰۶	۵/۷۸۲	۱/۱۳۴

جدول ۲- نتایج آزمون t زوجی TNF- α

متغیر	میانگین	انحراف استاندارد	فاصله اطمینان		آماره t	سطح معناداری
			کران بالا	کران پایین		
TNF- α پیش از تأثیر - TNF- α پس از تأثیر	۶۸۳/۷۷۱	۳۸۰/۴۷۵	۸۳۷/۴۴۸	۵۳۰/۰۹۳	۹/۱۶۴	۰/۰۰۰

۹۵٪ میزان سایتوکاین آلفا ترشح شده در زمان ۴۸ و ۷۲ تفاوت معناداری ندارد.

بررسی میزان ترشح IFN- γ

اطلاعات به دست آمده از آزمون t زوجی با به کارگیری نرم افزار SPSS مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول ۵ و ۶). با توجه به اینکه مقدار سطح معناداری (Sig) بیشتر از ۰/۰۵ گردیده است می توان گفت در سطح اطمینان ۹۵٪ میزان اینترفرون گاما ترشح شده توسط سلول های مذکور پیش و پس از تأثیر سیر تفاوت معناداری ندارد

برای تعیین تأثیر دوزهای مختلف سیر بر میزان ترشح TNF- α توسط سلول های 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 ۰/۰۵ در نظر گرفته شده، 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 در نتیجه دوز سیر بر میزان ترشح TNF- α تأثیر ندارد. جهت بررسی بین میزان TNF- α ترشح شده در زمان ۴۸ و ۷۲ پس از تأثیر سیر توسط سلول های مذکور از آزمون ویلکاکسون استفاده گردید و اطلاعات به دست آمده از آزمون ویلکاکسون با به کارگیری نرم افزار SPSS مقدار ۰/۸۸۹ را نشان داد. بنابراین در سطح اطمینان

جدول ۳- نتایج توصیفی مربوط به IFN- γ

متغیر	میانگین	انحراف استاندارد	خطای تخمین میانگین
اینترفرون گاما پیش از تأثیر	۰/۰۴۷	۰/۰۰۳	*۰/۰۰۰
اینترفرون گاما پس از تأثیر	۰/۰۴۸	۰/۰۰۳	*۰/۰۰۰

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

متغیرها	میانگین	انحراف استاندارد	فاصله اطمینان		آماره t	سطح معناداری
			کران بالا	کران پایین		
اینترفرون گاما پیش از تأثیر - اینترفرون گاما پس از تأثیر	*-۰/۰۰۰	۰/۰۰۴	۰/۰۰۱	-۰/۰۰۲	-۰/۷۸۱	-۰/۴۴۱

گروه کنترل و همچنین کاهش سطح قند خون ناشتا ۴۹ میلی‌گرم در دسی لیتر در مقایسه با گروه کنترل ۴/۶ میلی‌گرم در دسی لیتر بود [۱۱].

مطالعه‌ی دیگر توسط Rahat بر روی ۶۰ بیمار دیابتی انجام شد. در این مطالعه گروه مداخله به همراه قرص متفورمین روزانه ۲ عدد قرص سیر (۲۵۰ میلی‌گرمی) به مدت 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 را بین 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 لنفوسیت‌های 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 [۱۴]. 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 [۱۶، 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

برای بررسی میزان ترشح اینترفرون گاما توسط سلول‌های مذکور در اثر تأثیر سیر با دوز ۱۰ [μ₁] و ۳۰ [μ₂]، از آزمون نا پارامتری من- ویتنی استفاده می‌گردد. با توجه به اینکه سطح معناداری برای این آزمون ۰/۴۲۹ 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 نا پارامتری ویلکاکسون جهت تعیین معناداری تفاوت میزان اینترفرون گاما ترشح‌شده در زمان‌های ۴۸ 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 ۰/۵ گردیده است می‌توان گفت در سطح اطمینان ۹۵٪ میزان اینترفرون گاما ترشح‌شده در زمان ۴۸ و ۷۲ تفاوت معناداری ندارد.

بحث

در این مطالعه تأثیر عصاره سیر بر بیان سایتوکاین‌های مترشح 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 TNF α می‌شود. هرچند که دوز و زمان‌بر میزان بیان این ژن‌ها مؤثر نیست. مطالعه‌ای در سال ۱۳۸۶ توسط Ebadi و همکاران به‌منظور بررسی قرص سیر بر قند خون ناشتا بر روی ۶۰ بیمار مبتلا به 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 (۴۰۰ میلی‌گرمی) مصرف می‌کردند. گروه مداخله و کنترل از لحاظ رژیم غذایی و فعالیت بدنی یکسان بودند و همچنین از نظر 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

سیاسگزاری

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

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.

مآخذ

- Shah M, Vella A. Understanding Diabetes Mellitus: Pathophysiology. *Metabolic Syndrome and Diabetes: Springer*; 2016; p. 33-45.
- Triplitt C, Solis-Herrera C, Reasner C, DeFronzo RA, Cersosimo E. *Classification of diabetes mellitus* 2015.
- 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.
- 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.
- Schlienger J. *Type 2 diabetes complications*. Presse médicale (Paris, France: 1983). 2013; 42(5):839.
- Schwartz MW. Diabetes complications: why is glucose potentially toxic? *Science* 1996; 272(5262):699.
- 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- κ B. *Nature medicine* 2005; 11(2):183-90.
- Winkler G, Salamon F, Harnos G, Salamon D, Speer G, Szekeres O, et al. Elevated serum tumor necrosis factor- α concentrations and bioactivity in Type 2 diabetics and patients with android type obesity. *Diabetes research and clinical practice* 1998; 42(3):169-74.
- Amirghofran Z, Sheikhi A. Monoclonal antibodies to human alpha-fetoprotein. *Medical Journal of The Islamic Republic of Iran (MJIRI)*. 2002;15(4):237-42.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Ehse 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.
- Larsen CM, Faulenbach M, Vaag A, Vølund A, Ehse 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

Archive of SID

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

Zahra Sadeghian¹, Abdolkarim Sheikhi^{*2}, Seyed Mohammad Gheibi hayat³

1. Department of Biology, Tehran Azad University, Tehran, Iran

2. Cellular and Molecular Immunology Research Laboratory and Department of Immunology, Dezfoul University of Medical Sciences, Dezfoul, Iran

3. Department of Medical Biotechnology, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

ABSTRACTS

Background: Usually excess feeding is 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 IFN γ can damage insulin signaling in insulin-sensitive tissues. In this study, the effect of garlic extract on the expression of TNF- α and IFN γ 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 IFN γ 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 IFN γ .

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 , IFN γ

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