Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 21:46 +0330 on Friday February 23rd 2018

مقاله پژوهشی

بررسی اثر پنتوکسی‌فیلین بر میزان قند خون، سایتوکاین‌های التهابی و بیان ژن PPARγ در موش‌های دیابتی نوع 1

فرین ملکی‌فرد[1]، نوروز دلیرژ[2]، رحیم حب‌نقی[3]، حسن ملکی‌نژاد[4]

تاریخ دریافت 1393/11/27 تاریخ پذیرش 1394/01/30

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: نشان داده شده که برخی از داروها ازجمله پنتوکسی‌فیلین دارای خواص تنیم کننده ایمنی و ضدالتهابی می‌باشد که نشان می‌دهد در درمان بیماری‌های خود ایمن ممکن است مفید باشد. هدف از این مطالعه بررسی اثرات پنتوکسی‌فیلین در درمان دیابت خودایمن در موش و تأثیر آن در بیان ژن (PPARγ) بود.

مواد و روش‌ها: دیابت به‌وسیله چندین دوز متوالی و کم استرپتوزوتوسین (STZ) در موش‌های نر C57BL/6 القا شد (روزانه ۴۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن برای ۵ روز متوالی). بعد از القای دیابت، موش‌ها تحت درمان با پنتوکسی‌فیلین به مدت ۲۱ روز (روزانه ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و به‌صورت داخل پریتوئن) قرار گرفتند. سطح قند خون در روزهای ۰، ۷، ۱۴ و ۲۱ پس از ابتلا به دیابت حاصل از القای STZ اندازه‌گیری شد. سلول‌های طحالی ازنظر میزان تولید سایتو کائن‌ها به‌وسیله آزمون الایزا مورد ارزیابی قرار گرفتند. سپس بیان ژن (PPARγ) در طحال توسط semi-quantitative RT-PCR مورد آزمایش قرار گرفت.

یافته‌ها: درمان توسط پنتوکسی‌فیلین مانع از افزایش قند خون در موش‌های دیابتی شد. درمان با پنتوکسی‌فیلین به‌طور قابل‌توجهی باعث مهار تولید سایتوکاین‌های پیش التهابی IL-17 وIFN-γ گردید درحالی‌که باعث افزایش سطح سایتوکاین ضدالتهابی IL- 10 و افزایش بیان ژن (PPARγ) در طحال در مقایسه با گروه کنترل دیابتی شد ($p< 0.05$).

نتیجه‌گیری: این یافته‌ها نشان می‌دهد که پنتوکسی‌فیلین ممکن است اثر درمانی در برابر تخریب خودایمن سلول‌های بتا پانکراس در طی دیابت نوع ۱ ناشی از القای توسط STZ در موش داشته باشد.

کلمات کلیدی: دیابت نوع ۱، پنتوکسی‌فیلین، سایتوکاین، PPAR γ

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و ششم، شماره سوم، ص 259-252، خرداد 1394

آدرس مکاتبه: ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده دامپزشکی، تلفن: ۰۹۱۴۴۴۳۲۶۵۰

Email: n.delirezh@urmia.ac.ir

مقدمه

دیابت تیپ یک یا دیابت ملیتوس وابسته به انسولین، یک بیماری خود ایمن ویژه اندام است که به‌صورت خودبه‌خودی اتفاق می‌افتد و در این بیماری تخریب سلول‌های بتای تولیدکننده‌ی انسولین در پانکراس اتفاق می‌افتد (۱). التهاب مزمن پانکراس (insulitis) و تخریب سلول‌های بتا توسط سلول‌های ایمنی به‌ویژه لنفوسیت‌های T اتوراکتیو $CD4^+$ و $CD8^+$، B سل‌ها، ماکروفاژ و دندریتیک سل‌ها به وجود می‌آید (۲). در مطالعات مختلف معلوم گردیده که در ایجاد بیماری دیابت تیپ یک رده‌های سلولی Th1 و Th17 درگیر می‌باشند. سایتوکین‌های مختلفی ازجمله IFN-γ، TNF-α، IL-1 و همچنین IL-17 در ایجاد دیابت نوع ۱ مؤثر هستند درحالی‌که تصور می‌شود که سایتوکین‌های ضدالتهابی ازجمله IL-10،IL-4 و TGF-β در جلوگیری از بیماری نقش مهمی دارند (۳). یکی از مدل‌های پری کلینیکال مختلف از بیماری برای روشن شدن مکانیسم پاتوژنیک دیابت

[1] دانشجوی دکتری ایمنی شناسی، گروه میکروب شناسی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

[2] دانشیار گروه میکروب شناسی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران (نویسنده مسئول)

[3] دانشیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

[4] استاد گروه فارماکولوژی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 21:46 +0330 on Friday February 23rd 2018

نوع ۱ در انسان و تست روش‌های درمانی جدید استفاده از استرپتوزوتوسین (STZ) است. استرپتوزوتوسین توکسین سلول‌های بتا پانکراس می‌باشد و زمانی که با دوز کم و متوالی (MLDS) در گونه‌های حساس ازجمله موش نژاد C57BL/6 تجویز شود، مسبب ایجاد التهاب در جزایر پانکراس می‌شود و می‌باشد (۴). پنتوکسی‌فیلین از مشتقات متیل گزانتین، مهارکننده فسفودی استراز(Phosphodiesterase (PDE است که دارای خواص تعدیل‌گر ایمنی و ضدالتهابی می‌باشد. پنتوکسی‌فیلین سال‌ها در درمان بیماری‌های عروقی استفاده می‌شد (۵). فسفو دی استرازها از خانواده‌ی آنزیم‌هایی هستند که در تنظیم سطح نوکلئوتیدهای حلقوی cAMP وcGMP داخل سلولی از طریق کاتالیز تجزیه‌ی آن‌ها به متابولیت‌های غیرفعال نقش دارد. داروهای کاهنده سطح cAMP باعث کاهش تولید مدیاتورهای پیش التهابی و افزایش تولید مدیاتورهای ضدالتهابی در سلول‌های ایمنی می‌شوند (۶). در سال‌های اخیر نقش تنظیم‌کننده سیستم ایمنی و ضدالتهابی این دارو موردتوجه قرار گرفته است به دلیل این‌که این دارو باعث سرکوب تولیدTNF-α و سایر سایتوکاین‌های پیش التهابی ازجمله IFN-γ و IL-12 به‌صورتin vitro وin vivo می‌شود (۸-۷). پنتوکسی‌فیلین در جلوگیری از پیشرفت مدل جانوری برخی از بیماری‌های خودایمن ازجمله میوکاردیت خودایمن تجربی (۹)، آنسفالومیلیت خودایمن تجربی (۱۰) و اجونت آرتریت مؤثر است (۱۱).

PPARγ[1] از خانواده بزرگ نوکلئار آستروئید رسپتورها می‌باشد که در بیان ژن‌های مختلفی که تنظیم‌کننده متابولیسم انرژی، تمایز سلولی و آپوپتوز هستند نقش دارد. مطالعات نشان از نقش PPARγ و لیگاندهایش به‌عنوان تنظیم‌کننده پاسخ‌های التهابی و ایمنی ازجمله تنظیم تمایز و گسترش سلول‌های ایمنی ازجمله مونوسیت، ماکروفاژ، سلول‌های کشنده طبیعی (NK cell) و همچنین در تنظیم شیفت پاسخ‌های Th1/Th2 مؤثر می‌باشد (۱۲). مطالعات قبل نشان می‌دهند ژن PPARγ در تمایز سلول‌های Th1/Th2 از طریق فعال‌سازی GATA-3 نقش مهمی ایفا می‌کند (۱۳). به دلیل اینکه تاکنون تأثیر پنتوکسی‌فیلین بر بیان ژن PPARγ تاکنون بررسی نشده است، هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر درمانی پنتوکسی‌فیلین بر میزان بیان ژن PPARγ در موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین و ارتباط آن با میزان بیان سایتوکاین‌های IFN-γ,IL-10وIL-17 می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه که به‌صورت تجربی انجام شد، جامعه موردمطالعه شامل موش‌های نر نژاد خالص C57BL/6 با محدوده سنی ۶ تا ۸ هفته (وزن gr20-۱۵) که از انستیتو پاستور ایران خریداری شده بودند. این موش‌ها در حیوان خانه دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه در شرایط استاندارد آب، غذا، دما و نور کافی نگهداری شدند. کلیه مراحل این تحقیق در کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه ارومیه مورد تأیید قرار گرفت. موش‌ها بعد از اطمینان از القاء دیابت در آن‌ها به‌صورت تصادفی به سه گروه ۵ تایی تقسیم شدند. گروه A شامل موش‌های سالمی بودند که تحت هیچ تیماری قرار نگرفتند و فقط بافر سیترات با pH= 4/5 به آن‌ها تجویز می‌شد. گروه B شامل موش‌های دیابتی بودند که تنها دیابت در آن‌ها القاء شده بود (گروه کنترل دیابتی). گروه C شامل موش‌هایی بودند که بعد از القاء دیابت تحت درمان با پنتوکسی‌فیلین (mg/kg/day۱۰۰) برای ۲۱ روز متوالی به‌صورت داخل صفاقی قرار گرفتند (گروه تحت درمان).

-القاء دیابت: قبل از تجویز هر دوز (streptozotocin) STZ موش‌ها به مدت چهار ساعت ناشتا می‌شدند و حتی پوشال بستر آن‌ها نیز جمع‌آوری می‌شد سپس STZ(Sigma, Germany) را به‌صورت داخل صفاقی تا پنج روز متوالی دریافت می‌کردند (۴۰mg/kg در ۲۰۰ میکرو لیتر سیترات بافر با pH= 4/5 که ۱۰ دقیقه قبل از تجویز حل می‌شد). موش‌ها زمانی دیابتی شده ارزیابی می‌شدند که میزان قند خون ناشتا آن‌ها بیشتر از ۲۵۰ mg/dl بود.

-ارزیابی قند خون ناشتا: بدین منظور توسط سرنگ‌های انسولینی بعد از مقید کردن موش‌ها از ورید دمی آن‌ها اقدام به خون‌گیری کرده و سپس توسط دستگاه خودکار گلوکومتر Accu-Chech Compact plus, Irland) میزان گلوکز خون آن‌ها در روز صفر، روز ۷، روز ۱۴ و روز ۲۱ پس از القاء دیابت و شروع درمان بررسی شد (۱۴).

-کشت سلولی طحال و سنجش سایتوکین‌های موجود در مایع رویی: ۲۱ روز پس از آغاز درمان موش‌ها نخاعی شده و سپس طحال موش‌ها تحت شرایط استریل خارج گردید و بعد از قطعه‌قطعه شدن در ۵ میلی‌لیتر محیط کشت RPMI-1640 (Sigma, USA) حاوی ۱۰ درصد FBS (Gibco, Germany) له گردید. بافت حاصل از توری سیمی به قطر ۰/۲ میلی‌متر جهت تهیه سوسپانسیون سلولی عبور داده شد. به‌منظور حذف گلبول‌های قرمز پس از سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه در دور g ۲۰۰، ۵ میلی‌لیتر بافر لیز کننده (۱۵/ ۰ مول کلرید آمونیوم، ۱۰ میلی مول بی‌کربنات پتاسیم و ۰/۱ میلی مول EDTA با pH=7/2) بر روی رسوب سلولی به‌دست‌آمده افزوده شد. پس از ۵

[1] peroxisome proliferator-activated receptor gamma

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 21:46 +0330 on Friday February 23rd 2018

دقیقه ضمن افزودن ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت بار دیگر به مدت ۱۰ دقیقه در دور g ۲۰۰ سانتریفیوژ گردید. سپس رسوب سلولی در محیط کشت RPMI حاوی FBS ۱۰ درصد به حالت سوسپانسیون درآورده شد. پس از شمارش سلول‌ها، سوسپانسیون سلولی با $۲×۱۰^{۶}$ سلول در میلی‌لیتر از آن تهیه شد. این سلول‌ها در پلیت‌های کشت ۲۴ خانه در حضور ۲ µg/ml Concanvalin A (Con A, Sigma) به مدت ۷۲ ساعت در انکوباتور CO^2 ۵ درصد کشت داده شدند. پس از طی این مدت مایع رویی آن‌ها جمع‌آوری شد.

برای سنجش سایتوکین‌های IFN-γ، IL-17 و IL-10 از کیت‌های الایزا (Bendermed Co., Germany) استفاده شد و بر طبق دستورالعمل مندرج در دفترچه‌ی راهنمای هرکدام از کیت‌ها اقدام گردید.

- بررسی میزان بیان ژن PPARγ به روش Semi-quantitative RT-PCR: Total RNA طحال موش‌ها به‌وسیله TRIZOL Reagent kit (GIBICOL) استخراج گردید. غلظت RNA با اندازه‌گیری مقدار OD به ۱µg/µl تنظیم شد و در ۸۰- °C نگهداری شد. Reverse transcriptions با ۱µ g از total RNA با استفاده از کیت BcaBEST RNA PCR Kit Ver.1.1 (Takara, Japan) انجام شد. cDNA با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (CR) آمپلی فایید شد، در حجم واکنش ۲۵µ l شامل ۵. µl ۲ بافر PCR×۱۰، ۱µl از هر dNTP mmol/l ۵ ۲، ۱ واحد از Ex Taq DNA polymerase (Takara, Japan)، ۱µ l cDNA، ۱µ l از هر ۱۰ pmol/l پرایمر:

(PPARγ, sense 5′ -GAG ATG CCA TTC TGG TAT - antisense 5′و CCC ACC AAC TTC GGA-3′ CAT AAA TAA GCA TCA ATC GGA TGG TTC-3′; TGG AAT CCT GTG GCA TCC -β-actin, sense 5′ TAAAAC GCA GCT - antisense 5′وATG AAA C-3′ CAG TAA CAG TCC G-3′)

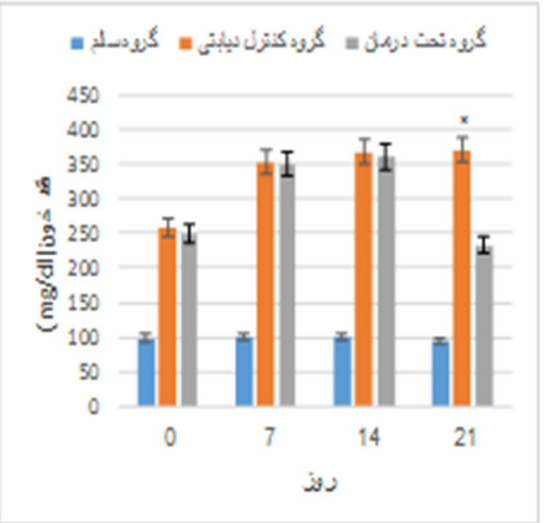
شرایط ترمال سایکلر بعد از بهینه‌سازی شامل:۱ سیکل د °C ۹۷ سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۰ سسسیکل برای ژن PPARγ (۲۶ سیکل برای β-actin control fragment) در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه ۵۵ درجه سانتی‌گراد برای ژن PPARγ (۵۰ درجه سانتی‌گراد برای β-actin control fragment) به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، سیکل نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ دقیقه.

قطعات آمپلی فایید شده PCR بر روی ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز شده و سپس ژل با اتیدیوم برنیآید رنگ‌آمیزی شده و با دستگاه electrophoresis gel imaging system (UVP) عکس‌برداری شد. برای اندازه‌گیری میزان بیان ژن موردنظر از نسبت PPARγ/β-actin absorption density باندهای روی ژل استفاده گردید.

آنالیز آماری: از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و Tukey s test برای مقایسه بین گروه‌ها استفاده گردید. در تمام بررسی‌ها P<0/05 به‌عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد. برای ترسیم نمودارها از نرم‌افزار Microsoft Excel (۲۰۰۷) استفاده شد. داده‌ها به‌صورت Means±SEM گزارش گردید.

یافته‌ها

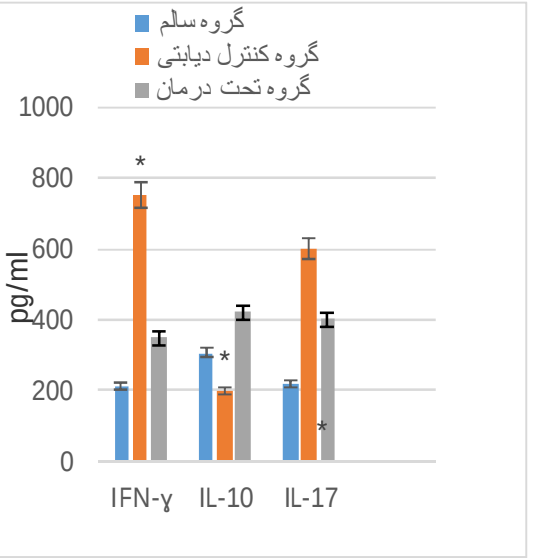
بررسی میزان قند خون ناشتای موش‌ها در تمامی گروه‌ها در طی ۲۱ روز پس از تجویز پنتوکسی‌فیلین نشان داد که در گروه موش‌های دیابتی که دارو دریافت کرده بودند (گروه تحت درمان) نسبت به گروه شاهد دیابتی که دارو دریافت نکرده بودند (گروه کنترل دیابتی) به‌صورت معنی‌داری (P<0.05) پایین‌تر بوده است (نمودار ۱).



نمودار (1): تأثیر پنتوکسی‌فیلین بر میزان قند خون ناشتا در روزهای ۰، ۷، ۱۴، ۲۱ روز پس از آغاز درمان (* نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح p< 0.05 بین گروه دریافت‌کننده دارو و گروه کنترل دیابتی)

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 21:46 +0330 on Friday February 23rd 2018

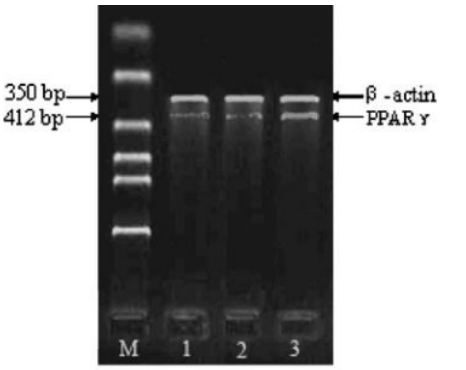
میزان سایتوکین‌های پیش التهابی IFN-γ و IL-17 تولیدشده در مایع رویی کشت سلول‌های طحالی در گروه‌درمانی کاهش و در عوض سطح سایتوکین ضدالتهابی IL-10 افزایش معنی‌داری را نشان داد (نمودار ۲).



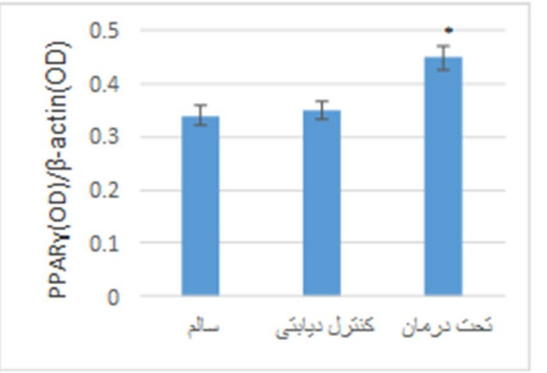
نمودار (2): مقایسه میانگین غلظت سایتوکین‌های IFN-γ،IL-10 وIL-17 در سوپ رویی کشت سلول‌های طحالی تحریک‌شده به‌وسیله Con A پس از ۷۲ ساعت کشت. (* نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $p< 0.05$ بین گروه دریافت‌کننده دارو و گروه کنترل دیابتی)

برای بررسی میزان بیان ژن PPARγ در طحال موش‌های دیابتی شده پس از طی ۲۱ روز از آغاز درمان از Semi-quantitative RT-PCR استفاده شد. نتایج ما نشان می‌دهد که بعد از ۲۱ روز از آغاز درمان میزان بیان mRNA ژن PPARγ به‌طور معنی‌داری در طحال موش‌های تحت درمان افزایش یافته است و هیچ تفاوت معنی‌داری بین گروه کنترل دیابتی و سالم وجود نداشت (نمودار ۳).

الف)



ب)



نمودار (3): بیان ژن PPARγ در طحال موش‌های دیابتی شده تحت درمان با پنتوکسی‌فیلین. آنالیز RT-PCR mRNA ژن PPARγ (الف)، بیان mRNA ژن PPARγ با استفاده از نسبت absorption density PPARγ/β-actin باندهای روی ژل (ب) ($p< 0.05$×) ستون M (DL 2000 مارکر)، ستون ۱ (گروه موش‌های سالم)، ستون ۲ (گروه موش‌های کنترل دیابتی)، ستون ۳ (گروه موش‌های تحت درمان)

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 21:46 +0330 on Friday February 23rd 2018

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج مطالعات گذشته نشان از نقش پنتوکسی‌فیلین در کاهش قند خون حیوانات مبتلا به دیابت می‌دهد (۱۵). در این مطالعه اقدام به درمان با پنتوکسی‌فیلین پس از اطمینان از افزایش قند خون و القاء بیماری در تمامی موش‌های گروه‌درمانی شده است. نتایج به‌دست‌آمده نشان می‌دهد پنتوکسی‌فیلین موجب کاهش قند خون در گروه‌درمانی نسبت به گروه کنترل دیابتی می‌گردد؛ که نشان از نقش مهم پنتوکسی‌فیلین در کنترل پیشرفت بیماری و درمان آن دارد.

تحقیقات گذشته نشان می‌دهد عامل مهاری در جلوگیری از تخریب سلول‌های β سلول‌های Th2 می‌باشند که تولید سایتوکاین‌های IL-4 و IL-10 می‌کند. درحالی‌که سلول‌های Th1 با تولید سایتوکین‌های پیش التهابی ازجمله IFN-γ، TNF-α و IL-12 باعث فعال‌سازی ماکروفاژ و T سل‌های سایتو توکسیک شده که مسبب تخریب سلول‌های β پانکراس می‌باشند و از این طریق نقش مهمی در تخریب سلول‌های بتا پانکراس ایفا می‌کنند (۱۶). پنتوکسی‌فیلین مشابه سایر داروهای افزاینده سطح cAMP باعث مهار سلول‌های Th1 و ممانعت از تولید سایتوکاین‌های پیش التهابی IL-2 و IFN-γ می‌شود ولی بر Th2 اثر مهاری ندارد (۱۷). IL-10 ازجمله سایتوکاین‌های ضدالتهابی مهمی است که نقش اصلی را در محدود کردن پاسخ‌های التهابی و ممانعت از ایجاد آسیب‌های بافتی را ایفا می‌کند (۱۸). این سایتو کائن به‌عنوان فاکتور مهارکننده‌ی ساخت سایتوکاین[1] شناخته شده است (۱۹). مطالعات نشان داده‌اند که IL-10 به‌صورت اگزوژنوس یا با استفاده از القاء آن توسط پروبیوتیک‌های خوراکی در موش باعث جلوگیری از دیابت نوع ۱ در موش‌ها می‌شود (۲۰).

سلول‌های Th-17 با تولید سایتوکاین IL-17 نقش مهمی در بسیاری از بیماری‌های خود ایمن ازجمله مولتیپل اسکلروز، روماتوئید آرتریت و دیابت نوع ۱ را دارا می‌باشد. IL-17 سایتو کین پیش التهابی است که نقش آن در بیماری دیابت، تحریک تولید نیتریک اکساید که از طریق سلول‌های β در پاسخ به تحریک سایتو کاینی و توسط ماکروفاژهای فعال‌شده توسط سایتوکاین تولید می‌شود که باعث تخریب سلول‌های β می‌شود (۲۲-۲۱) و همچنین IL-17 باعث افزایش انفلتراسیون نوتروفیل و ماکروفاژ و درنهایت با القاء تولید سایتوکاین‌های پیش التهابی توسط ماکروفاژهای فعال‌شده و القاء کموکین‌ها سبب بسیج سلول‌های Th1به بافت پانکراس را سبب می‌شود (۲۳). نتایج این تحقیق نشان از افزایش معنی‌دار سطح سایتوکاین IL-10 به همراه کاهش سطح سایتوکاین‌های پیش التهابی IL-17 و IFN-γمی‌دهد که ازجمله عوامل مهم در کنترل و درمان موش‌های دیابتی موردمطالعه می‌باشد.

برای بررسی چگونگی روند مولکولی این اثر مهاری در کنترل بیماری دیابت خود ایمن، میزان بیان mRNA ژن PPARγ در طحال موش‌های دیابتی شده با STZ از طریق Semi-quantitative RT-PCR موردتحقیق قرار گرفت.

PPARγ در تنظیم بیان ژن‌های مختلفی نقش دارد ازجمله: متابولیسم انرژی، تمایز سلولی و آپوپتوز. امروزه نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که PPARγ و لیگاندهایش در واکنش‌های ایمنی و التهابی مؤثر هستند (۱۲). مطالعات گذشته نشان داده که PPARγ در تنظیم بیان سایتوکاین‌های التهابی نقش دارد. PPARγ به‌طور منفی تنظیم‌کننده بیان ژن سایتوکاین IFN-γ در ماکروفاژ می‌باشد (۲۴).PPARγ و لیگاندهایش در درمان آنسفالومیلیت باعث کاهش تولید سایتوکاین‌های Th1 شده است (۲۶-۲۵). PPARγ در بلوغ دندریتیک سل‌ها و شیفت پاسخ‌های ایمنی به سمت Th2 مؤثر است (۲۷) و در بافت کلون (۲۸) و بافت قلبی و سلول‌های طحالی (۲۹) باعث افزایش سطح IL-4 شده است.

در مطالعه حاضر بیان ژن PPARγدر سطح mRNA در طحال موش‌های دیابتی شده افزایش داشته که این هم‌زمان با افزایش سطح سایتوکاین ضدالتهابی IL-10 و کاهش سطح سایتوکاین‌های پیش التهابی IL-17 و IFN-γ بوده است.

در تمایز سلول‌های Th1/Th2 دو فاکتور نسخه‌برداری T-bet و GATA-3 نقش مهم دارند (۱۳). تمایز T سل‌های نابالغ به Th1 به عهده T-bet می‌باشد و GATA-3 باعث تمایز آن‌ها به Th2 می‌شود. گزارش شده که PPARγ باعث فعال‌سازی GATA-3 شده و از این طریق در درمان کولیت مؤثر بوده است (۲۸). ولی تأثیر PPARγ بر پاسخ‌های Th17 موردبررسی قرار نگرفته است.

به‌طور خلاصه پنتوکسی‌فیلین دارای اثر درمانی بر دیابت خود ایمن القاء شده با STZ در موش می‌باشد. نتایج مطالعه حاضر و بر اساس مطالعات مشابه قبل تصور می‌شود که مکانیسم مشابهی باعث شیفت پاسخ‌های Th1 به سمت Th2 و تضعیف پاسخ‌های Th17 از طریق افزایش بیان ژن PPARγ می‌شود. با انجام تحقیقات بیشتر احتمالاً افزودن این دارو به رژیم‌درمانی افراد مبتلا به دیابت خود ایمن اثرات سودمندی می‌تواند داشته باشد.

تشکر و قدردانی

نگارندگان از زحمات کارکنان دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه کمال تشکر و تقدیر را دارند.

[1] Cytokine synthesis inhibitory factor(CSIF)

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 21:46 +0330 on Friday February 23rd 2018

References:

1. Atkinson MA, McLaren NK. The pathogenesis of insulin-dependent diabetes mellitus. NEngl J Med 1994; 31: 1428–36.
2. Roep BO, Peakman M. Diabetogenic T lymphocytes in human type 1 diabetes. Curr Opin Immunol 2011; 23: 746–53.
3. Rabinovitch A, Suarez-Pinzon WL. Roles of cytokines in the pathogenesis and therapy of type 1 diabetes. Cell Biochem Biophys 2007; 48: 159–63.
4. Kolb H. Mouse models of insulin dependent diabetes: low-dose streptozotocin induced diabetes and non-obese diabetic (NOD) mice. Diabetes Metab 1987; 3: 751–78.
5. Bacher A, Eggensperger E, Koppensteiner R, Mayer N, Klimscha W. Pentoxifylline attenuates the increase in whole blood viscosity after transfusion. Acta Anaesthesiol Scand 2005;49(1):41–6.
6. Banner KH, Trevethick MA. PDE4 inhibition: a novel approach for the treatment of inflammatory bowel disease. Trends Pharmacol Sci 2004; 25: 430–6.
7. Haddad JJ, Land SC, Tarnow-Mordi WO. Immunopharmacological potential of selective phosphodiesterase inhibition. I. Differential regulation of lipopolysaccharide mediated proinflammatory cytokine (interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha) biosynthesis in alveolar epithelial cells. J Pharmacol Exp Ther 2002; 300: 559–66.
8. Marcinkiewicz J, Grabowska A, Lauterbach R, Bobek M. Differential effects of pentoxifylline, a non-specific phosphodiesterase inhibitor, on the production of IL-10, IL-12 p40 and p35 subunits by murine peritoneal macrophages. Immunopharmacology 2000;49(3):335–43.
9. Takehana H, Inomata T, Niwano H. Immunomodulatory effect of pentoxifylline in suppressing experimental autoimmune myocarditis. Circ J 2002; 66: 499–504.
10. Rott O, Cash E, Fleischer B. Phosphodiesterase inhibitor pentoxifylline, a selective suppressor of T helper type 1- but not type 2-associated lymphokine production, prevents induction of experimental autoimmune encephalomyelitis in Lewis rats. Eur. J Immunol 1993; 23: 1745–51.
11. Silva JC, Rocha MF, Lima AA, Brito GA, de Menezes DB, Rao VS. Effects of pentoxifylline and nabumetone on the serum levels of IL-1beta and TNFalpha in rats with adjuvant arthritis. Inflamm Res 2000;49(1):14–9.
12. Zhang X, Young HA. PPAR and immune system--what do we know? Int Immunopharmacol 2002;2(8):1029–44.
13. Gor DO, Rose NR, Greenspan NS. TH1-TH2: a procrustean paradigm. Nat Immunol 2003;4(6):503–5.
14. Amirshahrokhi K, Ghazi-Khansari M. Thalidomide attenuates multiple low-dose streptozotocin-induced diabetes in mice by inhibition of proinflammatory cytokines. Cytokine 2012;60(2):522–7.
15. Stanislava DS, Danijela DM, Marija BM. Pentoxifylline Prevents Autoimmune Mediated Inflammation in Low Dose Streptozotocin Induced Diabetes. Dev Immunol 2001; 8(3-4): 213-21.
16. Rabinovitch A, Suarez-Pinzon WL. Cytokines and their roles in pancreatic islet beta-cell destruction and insulin-dependent diabetes mellitus. Biochem Pharmacol 1998; 55: 1139–49.
17. Eigler A, Siegmund B, Emmerich U. Anti-inflammatory activities of cAMP-elevating agents: enhancement of IL-10 synthesis and concurrent suppression of TNF production. J Leukocyte Biol 1998; 63: 101–7.

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 21:46 +0330 on Friday February 23rd 2018

18. Saraiva M, O'Garra A. The regulation of IL-10 production by immune cells. Nat Rev Immunol 2010; 10(3): 170-81.
19. Asadullah K, Sterry W, Volk HD. Interleukin-10 therapy-review of a new approach. Pharmacol Rev 2003; 55(2): 241-69.
20. Calcinaro F, Dionisi S, Marinaro M, Candeloro P, Bonato V, Marzotti S, et al. Oral probiotic administration induces interleukin-10 production and prevents spontaneous autoimmune diabetes in the non-obese diabetic mouse. Diabetologia 2005;48(8):1565–75.
21. Miljkovic D, Cvetkovic I, Momcilovic M, Maksimovic-Ivanic D, Stosic-Grujicic S, Trajkovic V. Interleukin-17 stimulates inducible nitric oxide synthasedependent toxicity in mouse beta cells. Cell Mol Life Sci 2005; 62: 2658–68.
22. Honkanen J, Nieminen JK, Gao R, Luopajarvi K, Salo HM, Ilonen J, et al. IL-17 immunity in human type 1 diabetes. J Immunol 2010; 185: 1959–67.
23. Jovanovic DV, Di Battista JA, Martel-Pelletier J, Jolicoeur FC, He Y, Zhang M, et al. IL-17 stimulates the production and expression of proinflammatory cytokines, IL-1beta and TNF-alpha, by human macrophages. J Immunol 1998.; 160: 3513–21.
24. Welch JS, Ricote M, Akiyama TE, Gonzalez FJ, Glass CK. PPARγ and PPARδ negatively regulate specific subsets of lipopolysaccharide and IFNγ target genes in macrophages. Proc Natl Acad Sci USA 2003; 100: 6712–7.
25. Natarajan C, Bright JJ. Curcumin inhibits experimental allergic encephalomyelitis by blocking IL-12 signaling through Janus kinase-STAT pathway in T lymphocytes. J Immunol 2002; 168: 6506–13.
26. Natarajan C, Muthian G, Barak Y, Evans RM, Bright JJ. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma-deficient heterozygous mice develop an exacerbated neural antigen-induced Th1 response and experimental allergic encephalomyelitis. J Immunol 2003; 171: 5743–50.
27. Gosset P, Charbonnier AS, Delerive P, Fontaine J, Staels B, Pestel J, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma activators affect the maturation of human monocyte-derived dendritic cells. Eur J Immunol 2001;31(10):2857–65.
28. Saubermann LJ, Nakajima A, Wada K, Zhao S, Terauchi Y, Kadowaki T, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonist ligands stimulate a Th2 cytokine response and prevent acute colitis. Inflamm Bowel Dis 2002; 8: 330-9.
29. Cunard R, Ricote M, DiCampli D, Archer DC, Kahn DA, Glass CK, et al. Regulation of cytokine expression by ligands of peroxisome proliferator activated receptors. J Immunol 2002;168(6):2795–802.

Original Article

THE EFFECTS OF PENTOXIFYLLINE ON GLUCOSE CONCENTRATION, PROINFLAMMATORY CYTOKINES AND EXPRESSIONS OF PEROXISOME PROLIFERATOR-ACTIVATED RECEPTOR GAMMA GENE IN TYPE 1 DIABETIC MICE

Farrin Maleki fard[1], Norooz Delirezh[2], Rahim Hobenaghi[3], Hassan Malekinezhad[4]*

Received: 16 Feb, 2015; Accepted: 20 Mar, 2015

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 21:46 +0330 on Friday February 23rd 2018

Abstract

Background & Aims: It has been shown that some drugs such as Pentoxifylline (PTX) have immunomodulatory and anti-inflammatory activity that might represent a potential preventive therapy for autoimmune diseases. The purpose of this study was to investigate the therapeutic effects of pentoxifylline on the treatment of autoimmune diabetes in mice and its effects on expressions of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARγ) gene.

Materials & Methods: Diabetes was induced by multiple low-dose of streptozotocin (MLDS) injection (40 mg/kg/day for 5 consecutive days) in male C57BL/6 mice. After induction of diabetes, mice were treated with Pentoxifylline (100 mg/kg/day i.p.) for 21 days. Blood glucose levels was measured in 0, 7, 14 and 21 days after Streptozotocin induction induced diabetes. Splenocytes were tested for cytokines production by ELISA. Subsequently expressions of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARγ) gene in spleens were tested by semi-quantitative RT-PC.

Results: Pentoxifylline treatment prevented hyperglycemia in the diabetic mice. Pentoxifylline treatment also significantly inhibited the production of proinflammatory cytokines interleukin 17 (IL-17) as well as interferon gamma (IFN-γ) while increased the level of anti-inflammatory cytokine IL-10 and upregulation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARγ) gene expression in spleens as compared with those in diabetic control group ($p< 0.05$).

Conclusion: Finally, these findings indicate that Pentoxifylline may have a therapeutic effect against the autoimmune destruction of the pancreatic beta-cells during the development of MLDS-induced type 1 diabetes in mice.

Keywords: Type 1 diabetes, Pentoxifylline, Cytokine, Proliferator-activated receptor gamma

Address: Microbiology Department, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran
Tel: +989144432650
Email: n.delirezh@urmia.ac.ir

SOURCE: URMIA MED J 2015: 26(3): 259 ISSN: 1027-3727

[1] *Student of Veterinary Medicine, Microbiology Department, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran*
[2] *Associate Professor, Microbiology Department, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran (Corresponding Author)*
[3] *Associate Professor, Pathology Department, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran*
[4] *Professor, Pharmacology Department, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran*