درمان موش‌های دیابتیک نوع ۱ با آل- ترانس رتینوئیک اسید از طریق مهار سایتوکاین‌های پیش التهابی

فرین ملکی‌فرد[۱]، نوروز دلیرژ*[۲]، رحیم حب‌نقی[۳]، حسن ملکی‌نژاد[٤]

تاریخ دریافت ۱۳۹۳/۰٤/۱۵ تاریخ پذیرش ۱۳۹۳/۰٦/۲۱

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: دیابت نوع ۱ یک بیماری خودایمن ناشی از تخریب سلول‌های بتا پانکراس به‌وسیله سلول‌های T هست. ویتامین آ (رتینول) و متابولیت‌های آن ازجمله آل‌ترانس رتینوئیک اسید (ATRA) دارای انواع فعالیت‌های بیولوژیکی ازجمله تعدیل گر ایمنی در بیماری‌های التهابی و خودایمنی می‌باشند. هدف از این مطالعه بررسی اثرات آل ترانس رتینوئیک اسید در درمان موش‌های دیابتیک نوع ۱ بود.

مواد و روش‌ها: دیابت به‌وسیله چندین دوز متوالی و کم استرپتوزوتوسین در موش‌های نر C57BL/6 القا شد. بعد از القای دیابت، موش‌ها تحت درمان با ATRAبه مدت ۲۱ روز (روزانه ۲۰ 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. سپس سلول‌های طحالی ازنظر میزان تکثیر به‌وسیله آزمون MTT و میزان تولید سایتوکائن‌ها به‌وسیله آزمون الایزا مورد ارزیابی قرار گرفتند

یافته‌ها: درمان توسط ATRA مانع از افزایش قند خون در موش‌های دیابتی شد. هم‌زمان با کاهش تکثیر لنفوسیتی، ATRA به‌طور قابل‌توجهی باعث مهار تولید سایتوکاین‌های پیش التهابی IL-17 وIFN-γ گردید درحالی‌که باعث افزایش سطح سایتوکاین‌های ضدالتهابی IL -10 و TGF-β در مقایسه با گروه کنترل دیابتی شد ($p<0.05$).

نتیجه‌گیری: درمان با ATRA در موش‌های دیابتی باعث مهار افزایش قند خون، کاهش تکثیر لنفوسیتی، مهار تولید سایتوکاین‌های پیش التهابی IL-17 و IFN-γ شد درحالی‌که باعث افزایش سطح سایتوکاین‌های ضدالتهابی IL -10 و TGF-β در مقایسه با گروه کنترل دیابتی شد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که ATRAممکن 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، آل- ترانس رتینوئیک اسید، سایتوکاین

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و پنجم، شماره نهم، ص ۷۹۰-۷۸۴، آذر ۱۳۹۳

آدرس مکاتبه: ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده دامپزشکی، گروه میکروب‌شناسی، تلفن: ۳۲۷۷۱۹۲۶

Email: Email:n.delirezh@urmia.ac.ir

مقدمه

دیابت نوع ۱ در اثر تخریب سلول‌های بتای پانکراس که تولیدکننده انسولین هست توسط حمله سلول‌های ایمنی به‌ویژه لنفوسیت‌های T اتوراکتیو $CD4^+$و $CD8^+$، B سل‌ها، ماکروفاژ و دندریتیک سل‌ها به وجود می‌آید (۱). برای روشن شدن مکانیسم پاتوژنیک دیابت نوع ۱ در انسان و آزمون روش‌های درمانی جدید مدل‌های پری‌کلینیکال مختلف از بیماری وجود دارد. یکی از این روش‌ها ایجاد دیابت در جوندگان توسط استرپتوزوتوسین (STZ) با دوزهای متوالی و کم هست (۲). سایتوکین‌های مختلفی ازجمله IFN-γ، TNF-α، IL-1 وهمچنین IL-17 در ایجاد دیابت نوع ۱ مؤثر است درحالی‌که تصور می‌شود که سایتو کین های ضدالتهابی ازجمله IL-4،IL-10 و TGF-β در جلوگیری از بیماری نقش مهمی دارند (۳). آل ترانس رتینوئیک اسید (ATRA) ازجمله متابولیت‌های فعال ویتامین آ می‌باشد که دارای خواص تعدیل گر ایمنی و ضدالتهابی می‌باشد. مطالعات گذشته نشان داده آل ترانس رتینوئیک اسید در جلوگیری ازپیشرفت مدل جانوری برخی از بیماری‌های خودایمن ازجمله آنسفالومیلیت خودایمن تجربی (۴)، نفریت خود ایمن (۵)، لوپوس (۶) و آرتریت خودایمن (۷) موثراند.

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

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

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

[٤] پروفسور گروه فارماکولوژی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-04-19]

ATRA در شرایط In vitro باعث ساپرس پاسخ‌های Th1 و افزایش پاسخ‌های Th2 می‌شود (۸) واز این رو در درمان بیماری‌های خودایمن برای سوق پاسخ‌های ایمنی از Th1 به سمت Th2 مورد توجه بوده است و تأثیر آن بر روی پاسخ‌های Th17 وسلولهای T تنظیمی (Treg) کمترمورد توجه بوده است. در این مطالعه پس از القاء بیماری و اطمینان از شروع بیماری اقدام به درمان با آل ترانس رتینوئیک و بررسی اثرات درمانی آن بر روی میزان قند خون، میزان تکثیر لنفوسیت‌های طحالی و تولید سایتوکین‌های IFN-γ ، IL-17، IL-10 و TGF-βمورد ارزیابی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه که به‌صورت تجربی انجام شد، جامعه مورد مطالعه شامل موش‌های نر نژاد خالص C57BL/6 با محدوده سنی ۶ تا ۸ هفته (وزن gr20-۱۵) که از انیستیتو 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 ATRA (20 mg/kg/day) برای ۲۱ روزمتوالی به‌صورت داخل صفاقی قرار گرفتند (گروه تحت درمان).

-القاء دیابت: قبل از تجویز هر دوز STZ (streptozotocin) 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 در یافت 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 خون گیری 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.

-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 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 Concanvalin μg/ml۲ 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، IL-10 و TGF-β از کیت‌های الایزا (Bendermed Co, Germany) استفاده شد و بر طبق دستورالعمل مندرج در دفترچه‌ی راهنمای هرکدام از کیت‌ها اقدام گردید.

- بررسی میزان تکثیر سلول‌های ایمنی با روش MTT: پس از طی مراحل ذکرشده، به دنبال شمارش سلول‌ها سوسپانسیونی حاوی ۱×۱۰^{۶} سلول در میلی‌لیتر تهیه گردید و ۱۰۰ میکرو لیتر از آن در هر یک از چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای ته تخت ریخته شد. برای هر نمونه سه تکرار در حضور Con A μg/ml۲ و سه تکرار بدون حضور Con A در نظر گرفته شد. به‌عنوان بلانک نیز در سه چاهک از محیط RPMI خالی استفاده گردید. بعد از ۷۲ ساعت نگهداری در انکوباتور حاوی CO_2 ۵ درصد، به هر چاهک ۲۵ میکرو لیتر محلول MTT (۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر PBS) افزوده شد و به مدت ۴ ساعت دیگر نگهداری گردید. در این مدت احیای ماده MTT توسط سلول‌های زنده در حال تکثیر سبب تشکیل کریستال‌های فورمازون گردید که با افزودن ۱۰۰ میکرو لیتر DMSO به حالت محلول در آمد. سپس شدت رنگ در طول‌موج

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-04-19]

۴۹۰ نانومتر تعیین و ایندکس تحریک بر اساس رابطه زیر محاسبه گردید:

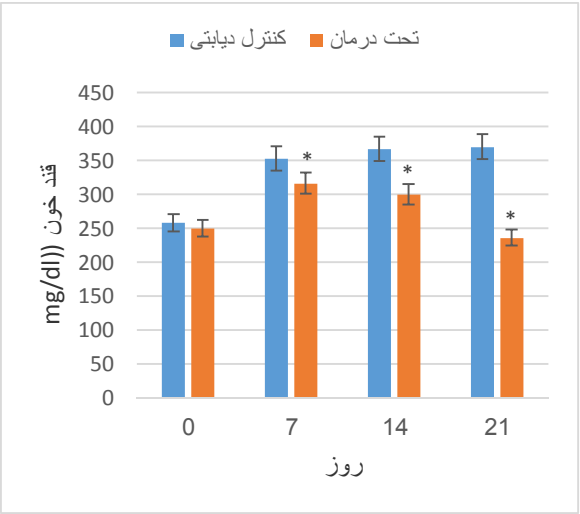
شاخص تحریک: OD پرولیفراسیون لنفوسیت‌های تحریک‌شده با Con A - OD بلانک / OD پرولیفراسیون لنفوسیت‌ها در عدم حضور Con A - OD بلانک

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

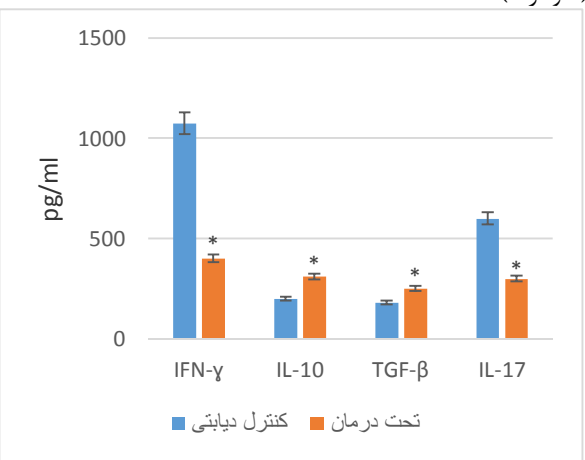
بررسی میزان قند خون ناشتای موش‌ها در تمامی گروه‌ها در طی ۲۱ روز پس از تجویز ATRA نشان داد که در گروه موش‌های دیابتی که دارو دریافت کرده بودند (گروه تحت درمان) نسبت به گروه شاهد دیابتی که دارو دریافت نکرده بودند (گروه کنترل دیابتی) به‌صورت معنی‌داری (P<0/05) پایین‌تر بوده است (نمودار ۱).



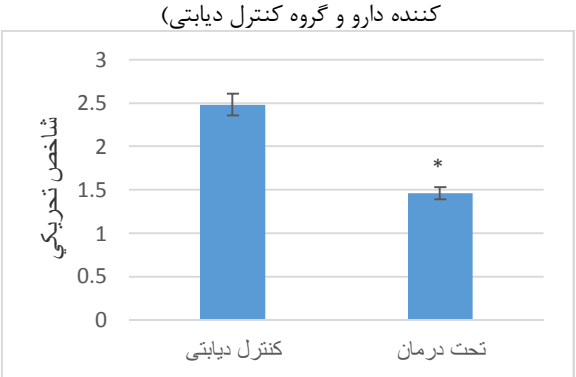
نمودار (۱): تأثیر ATRA بر میزان قند خون ناشتا در روزهای ۰، ۷، ۱۴، ۲۱ روز پس از آغاز درمان (* نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح p< 0.05 بین گروه دریافت کننده دارو و گروه کنترل دیابتی)

میزان سایتوکین‌های پیش التهابی IFN-γ و IL-17 تولید شده در مایع رویی کشت سلول‌های طحالی 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) کاهش و در عوض سطح سایتوکین‌های ضدالتهابی IL-10 و TGF-β در گروه تحت درمان در مقایسه با گروه کنترل دیابتی افزایش معنی‌داری را نشان داد (P<0/05) (نمودار ۲).

نتایج آزمون MTT حاکی از کاهش در میزان تکثیر لنفوسیتی در گروه درمانی با ATRA در مقایسه با گروه شاهد دیابتی بود (نمودار ۳).



نمودار (۲): مقایسه میانگین غلظت سایتوکین‌های IFN- γ ، IL-17، IL-10 و TGF-βدر سوپ رویی کشت سلول‌های طحالی تحریک شده به‌وسیله Con A پس از ۷۲ ساعت کشت. (* نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح p< 0.05 بین گروه دریافت کننده دارو و گروه کنترل دیابتی)



نمودار (۳): مقایسه تکثیر لنفوسیت‌های طحالی تحریک شده با Con A پس از ۷۲ ساعت (* نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطحp<0.05 بین گروه دریافت کننده دارو و گروه کنترل دیابتی)

بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه اقدام به تجویز دارو پس از اطمینان از افزایش قند خون و بروز بیماری در تمامی موش‌های گروه درمانی شده است. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد ATRA موجب کاهش قند خون در گروه درمانی نسبت به گروه کنترل دیابتی می‌گردد؛

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-04-19]

که نشان از نقش مهم ATRA در کنترل پیشرفت بیماری و درمان آن دارد. این نتیجه در راستای تحقیقاتی بوده که از ATRA برای پیشگیری و درمان موش‌های NOD مبتلا به دیابت نوع ۱ استفاده شده است (۹).

تحقیقات گذشته نشان می‌دهد سلول‌های Th1 با تولید سایتوکین‌های پیش التهابی ازجمله IFN-γ، TNF-α، IL-12 باعث فعال سازی ماکروفاژ و T سل‌های سایتو توکسیک شده که مسبب تخریب سلول‌های β پانکراس می‌باشند. درحالی‌که IL-4 و IL-10 ترشح شده توسط سلول‌های Th-2 فعال شده مانع تخریب سلول‌های β می‌شوند (۱۰). مطالعات گذشته حاکی از آن است که ATRA سبب مهار تولید IL-12 توسط ماکروفاژ های موش می‌شود و باعث ساپرس پاسخ‌های Th-1 درT CD4+ سل‌ها می‌شود (۱۱). دراین مطالعه نتایج نشان از کاهش سطح سایتوکاین پیش التهابی IFN-γ در موش‌های دیابتی تحت درمان با ATRA دارد. در سال‌های اخیر نشان داده شده که T سل‌ها تولیدکننده IL-17 (Th-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 وتوسط ماکروفاژهای فعال شده توسط سایتوکاین تولید می‌شود که باعث تخریب سلول‌های β می‌شود (۱۳-۱۲) وهمچنین IL-17 باعث افزایش انفلتراسیون نوتروفیل و ماکروفاژ و در نهایت با القاء تولید سایتوکاین‌های پیش التهابی توسط ماکروفاژ های فعال شده و القاء کموکین‌ها سبب بسیج سلول‌های Th1 به بافت پانکراس را سبب می‌شود (۱۴). نتایج حاصله از مطالعه حاضردر موش‌های دیابتی تحت درمان نشان می‌دهد ATRA سبب کاهش سطح سایتوکاین IL-17 می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که IL-10 به‌صورت اگزوژنوس یا با استفاده از القاء آن توسط پروبیوتیک های خوراکی در موش باعث جلوگیری از دیابت نوع ۱ در موش‌ها می‌شود (۱۵).

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 (۱۶). این سایتوکائن به‌عنوان فاکتور مهارکننده‌ی ساخت سایتوکاین[1] شناخته شده است (۱۷).

در این تحقیق افزایش معنی‌دار سطح سایتوکاین IL-10 به همراه کاهش سطح سایتوکاین‌های پیش التهابی IL-17 و IFN-γ ازجمله عوامل مهم در کنترل و درمان موش‌های دیابتی تحت درمان مورد مطالعه می‌باشد. در این مطالعه کاهش تکثیر لنفوسیتی در گروه درمانی با ATRA و به دنبال آن کاهش لنفوسیت‌های اتوراکتیو ازجمله عوامل درمان بیماری می‌باشد. مطالعات گذشته نیز نشان از اثرات ضد تکثیر لنفوسیتی ATRA بوده است (۱۸).

لنفوسیت‌های T تنظیمی یا سلول‌های T reg نقش مهمی در روند تحمل به خود ایفا می‌کند (۱۹-۲۰). شروع بیماری‌های خود ایمن در اثر عدم تعادل بین این سلول‌ها و لنفوسیت‌های Th-17 است (۲۰-۲۱). لنفوسیت‌های T reg برای تکامل خود نیازمند سایتوکاین TGF-β است درحالی‌که سلول‌های Th-17 برای تکامل خود علاوه بر TGF-β نیاز به حضورسایتوکین پیش التهابی IL-6 نیز دارد (۲۲). از طرفی سلول‌های Treg علاوه بر اینکه برای تکامل نیاز به TGF-β دارند، خود نیز توانایی ترشح این سایتوکاین را دارا می‌باشند. TGF-β سایتوکاین ایمونوساپرسور است که باعث مهار پاسخ‌های التهابی می‌شود (۲۳). در بدن رتینوئیک اسید تولید شده توسط سلول‌های دندریتیک موکوسال باعث افزایش جمعیت $Foxp3^+$ Treg از راه وابسته TGF-β و مهار تمایز جمعیت Th-17 می‌شود (۲۴). مطالعات اخیر نشان می‌دهد رتینوئیک اسید در شرایط invitro نیز باعث افزایش سطح سلول‌های $Foxp3^+$ Treg و ممانعت از گسترش سلول‌های Th-17 می‌گردد (۲۵). تجویز ATRA در موش‌های مبتلا به آنسفالومیلیت تجربی خودایمن باعث کاهش سطح سلول‌های Th-17 شده درحالی‌که تغییری در جمعیت سلول‌های Treg مشاهده نشده است (۲۶)، این در حالی است که تجویز ATRA به موش‌های مبتلا به کولیت خود ایمن باعث کاهش سطح سلول‌های Th-17 و افزایش جمعیت سلول‌های $Foxp3^+$ Treg شده است (۲۷).

در این مطالعه افزایش معنی‌دار سطح TGF-β شاید حاکی از افزایش جمعیت سلول‌های $Foxp3^+$ Treg بوده باشد و نقش ایمونوساپرسوراین سایتو کائن به همراه افزایش سطح IL-10 و کاهش سطح سایتوکائن‌های پیش التهابی IL-17 و IFN-γ، با همراهی کاهش تکثیر لنفوسیت‌های خود واکنشگر نقش مهمی در کنترل و بهبود بیماری دیابت نوع ۱ در مطالعه حاضر داشته باشد. در نهایت اینکه به نظر می‌رسد افزودن آل ترانس رتینوئیک اسید به رژیم درمانی افراد مبتلا به دیابت خود ایمن دارای اثرات سودمندی باشد.

تشکر و قدر دانی

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

این مقاله حاصل پایان نامه‌ی دوره‌ی دکتری تخصصی ایمنی شناسی دانشگاه ارومیه بوده است.

[1] Cytokine synthesis inhibitory factor (CSIF)

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-04-19]

References

1. Roep BO, Peakman M. Diabetogenic T lymphocytes in human type 1 diabetes. Curr Opin Immunol 2011; 23: 746–53.
2. Kolb H. Mouse models of insulin dependent diabetes: low-dose streptozocin-induced diabetes and nonobese diabetic (NOD) mice. Diabetes Metab Rev 1987;3(3):751–78.
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. Massacesi L, Castigli E, Vergelli M, Olivotto J, Abbamondi AL, Sarlo F. Immunosuppressive activity of 13-cis-retinoic acid and prevention of experimental autoimmune encephalomyelitis in rats. J Clin Invest 1991; 88: 1331–7.
5. Escribese MM, Conde E, Martin A, Saenz-Morales D, Sancho D, Perez de Lema G, et al. Therapeutic effect of all-trans-retinoic acid (at-RA) on an autoimmune nephritis experimental model: role of the VLA-4 integrin. BMC Nephrol 2007; 8: 3.
6. Perez de Lema G, Lucio-Cazana FJ, Molina A, Luckow B, Schmid H, de Wit C, et al. Retinoic acid treatment protects MLR/lpr lupus mice from the development of glomerular disease. Kidney Int 2004; 66: 1018–28.
7. Brinckerhoff CE, Coffey JW, Sullivan AC. Inflammation and collagenase production in rats with adjuvant arthritis reduced with 13-cis-retinoic acid. Science 1983; 221: 756–8.
8. Kang BY, Chung SW, Kim SN, Kang SN, Choe YK, Kim TS. Retinoid mediated inhibition of interleukin-12 production in mouse macrophages suppresses Th1 cytokine profile in CD4+ T cells. Br J Pharmacol 2000; 130: 581–6.
9. Zunino SJ, Storms D, Stephens CB. Diets rich in polyphenols and vitamin A inhibit the development of type 1 autoimmune diabetes in nonobese diabetic mice. J Nutr 2007; 137: 1216–1221.
10. 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.
11. Kang BY, Chung SW, Kim SN, Kang SN, Choe YK, Kim TS. Retinoidmediated inhibition of interleukin-12 production in mouse macrophages suppresses Th1 cytokine profile in CD4+ T cells. Br J Pharmacol 2000; 130: 581–6.
12. 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.
13. 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.
14. 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-beta and TNF-alpha, by human macrophages. J Immunol 1998; 160: 3513–21.
15. Calcinaro F, Dionisi S, Marinaro M, Candeloro P, Bonato V, Marzotti S. Oral probiotic administration induces interleukin-10 production and prevents spontaneous autoimmune diabetes in the non-obese diabetic mouse. Diabetologia 2005; 48: 1565-75.
16. Saraiva M, O'Garra A. The regulation of IL-10 production by immune cells. Nat Rev Immunol 2010; 10(3): 170-81.
17. Asadullah K, Sterry W, Volk HD. Interleukin-10 therapy-review of a new approach. Pharmacol Rev 2003; 55(2): 241-69.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-04-19]

18. Racke MK, Burnett D, Pak SH, Albert PS, Cannella B, Raine CS, et al. Retinoid treatment of experimental allergic encephalomyelitis. IL-4 production correlates withimproved disease course. J Immunol 1995; 154(1): 450-8.
19. O'Connor RA, Taams LS, Anderton SM. Translational mini-review series on Th17 cells: CD4 T helper cells: functional plasticity and differential sensitivity to regulatory T cell mediated regulation. Clin Exp Immunol 2010; 159(2): 137-47.
20. Oukka M. Interplay between pathogenic Th17 and regulatory T cells. Ann Rheum Dis 2007; 66(Suppl 3): iii87-iii90.
21. Petro TM. Regulatory role of resveratrol on Th17 in autoimmune disease. Int Immunopharmacol 2011; 11(3): 310-8.
22. Dong C. Mouse Th17 cells: current understanding of their generation and regulation. Eur J Immunol 2009; 39(3): 640-4.
23. Taylor A. Review of the activation of TGF-b in immunity. Biol 2009; 85: 29-33.
24. Kang, SG, Lim HW, Andrisani OM, Broxmeyer HE, Kim CH. Vitamin A metabolites induce gut-homing FoxP3 +regulatory T cells. J Immunol 2007; 179: 3724–33.
25. Elias KM, Laurence A, Davidson TS, Stephens G, Kanno Y, Shevach EM, et al. Retinoic acid inhibits Th17 polarization and enhances FoxP3 expression through a Stat-3/Stat-5 independent signaling pathway. Blood 2008; 111(3): 1013-20.
26. Mucida D, Park Y, Kim G, Turovskaya O, Scott I, Kronenberg M, et al. Reciprocal TH17 and regulatory T cell differentiation mediated by retinoic acid. Science 2007;317(5835):256–60.
27. Bai A, Lu N, Guo Y, Liu Z, Chen J, Peng Z. All-trans retinoic acid down-regulates inflammatory responses by shifting the Treg/Th17 profile in human ulcerative and murine colitis. J Leukoc Biol 2009; 86(4): 959-69.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-04-19]

Original Article

TREATMENT OF TYPE I DIABETIC MICE WITH AL-TRANS RETINOIC ACID BY INHIBITION OF PROINFLAMMATORY CYTOKINES

Farin Malekifard [1], Nowruz Delirezh[2], Rahim Hobbenaghi[3], Hassan Malekinejad[4]

Received: 6 Jul , 2014; Accepted: 13 Sep , 2014

Abstract

Background & Aims: Type 1 diabetes is an autoimmune condition associated with the T-cell–mediated destruction of Pancreatic β cells. Vitamin A (retinol) and its metabolites (such as all-trans retinoic acid (ATRA)) have a variety of biological activities including immunomodulatory action in a number of inflammatory and autoimmune conditions. The purpose of this study was to investigate the effects of all-trans retinoic acid on the treatment of autoimmune diabetes in mice.

Materials & Methods: Diabetes was induced by multiple low-dose of streptozotocin (MLDS) injection in male C57BL/6 mice. After induction of diabetes, mice were treated with ATRA (20 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 proliferation by MTT test and cytokine production by ELISA.

Results: ATRA treatment prevented hyperglycemia in the diabetic mice. Aside from reducing lymphocyte proliferation, ATRA significantly inhibited the production of proinflammatory cytokines interleukin 17 (IL-17) as well as interferon gamma (IFN-γ) while it increased the level of anti-inflammatory cytokines IL-10 and TGF-β compared with those in diabetic control group ($p<0.05$).

Conclusion: Treatment with ATRA in the diabetic mice prevented hyperglycemia, decreased lymphocyte proliferation, and inhibited the production of proinflammatory cytokines interleukin 17 (IL-17) as well as interferon gamma (IFN-γ). In addition, it increased anti-inflammatory cytokines IL-10 and TGF-β as compared with those in diabetic control group. These findings indicate that ATRA 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, All-trans retinoic acid, Cytokine

Address: Department of Microbiology, School of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran
Tel: +984432771926
Email: n.delirezh@urmia.ac

SOURCE: URMIA MED J 2014: 25(9): 790 ISSN: 1027-3727

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

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-04-19]