اثر ال-گلوتامین بر میزان قند خون ناشتا و ضایعات پاتولوژیکی حاصل از دیابت خود ایمن در موش نر نژاد C57BL/6

یاسر جعفری خطایلو[1]، دکتر نوروز دلیرژ[2]، دکتر امیرعباس فرشید[3]، صابر ظفر شمس پور[4]، دکتر شهرام شهابی*[5]

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۲/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۱/۰۲/۰۲

چکیده

پیش زمینه و هدف: مطالعات گذشته نشان داده است که تعدیل ایمنی شاید یک روش مناسب برای درمان دیابت نوع یک باشد. ال-گلوتامین، القاء کننده غیر سمی پروتئین‌های شوک حرارتی (HSP)، اثرات تعدیل کننده ایمنی دارد. هدف این مطالعه هم ارزیابی اثرات این دارو روی سطح قند خون ناشتا و ضایعات هیستوپاتولوژیکی پانکراس در موش‌های نر دیابتی شده C57BL/6 می‌باشد.

مواد و روش‌ها: دیابت در موش‌های نر C57BL/6 القاء شد و موش‌ها به طور تصادفی در چهار گروه قرار گرفتند (N=5). (کنترل مثبت، دریافت دارو قبل القاء بیماری، دریافت دارو بعد القا بیماری، گروه نرمال). هفت روز بعد از آخرین دز القایی استرپتوزوتوسین (STZ)، نمونه‌های خون از موش‌ها جمع آوری شدند و برای تعیین سطح قند خون ناشتا توسط دستگاه گلوکومتر خودکار ارزیابی شدند، همچنین ۱۴ روز پس از آخرین دز القایی STZ، موش‌ها نخاعی شده و پانکراس‌های آن‌ها جمع آوری شد و توسط روش H&E رنگ‌آمیزی شدند؛ و سپس لام‌ها جهت بررسی ارتشاح لکوسیتی، ادم، پرخونی، دژنراسیون و ضخیم شدن دیواره عروق خونی پانکراس ارزیابی شدند. جهت تجزیه و تحلیل داده‌هایی پاتولوژیکی از روش آنالیز واریانس یک طرفه Scheffe test (ANOVA)، نرم-افزار SPSS19 و بقیه داده‌ها از روش Turkey's test استفاده گردید.

یافته‌ها: موش‌هایی که ال-گلوتامین را دریافت کرده بودند به طور برجسته‌ای سطح قند خونشان و ضایعات پاتولوژیکی آن‌ها پایین آمده (به طور میانگین ۱۹۹ در گروه دارو قبل درمان و ۲۱۸ در گروه دارو بعد درمان) بود ($P<0.05$).

بحث و نتیجه گیری: ال-گلوتامین اثرات مثبتی در درمان دیابت نوع ۱ دارد و شاید در آینده ای نزدیک برای درمان دیابت نوع یک در انسان هم استفاده شود.

کلید واژه‌ها: دیابت نوع یک، ال-گلوتامین، موش نر C57BL/6

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و سوم، شماره دوم، ص ۱۴۰-۱۳۳، خرداد و تیر ۱۳۹۱

آدرس مکاتبه: ارومیه، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده پزشکی، تلفن: ۰۴۴۱-۲۷۸۰۸۰۰

Email:s_shahabi@umsu.ac.ir

مقدمه

دیابت نوع یک همراه با تظاهرات کلینیکی ارتشاح شدید لکوسیتی به جزایر لانگرهانس پانکراس می‌باشد که معمولاً این واقعه به صورت تأخیری در مراحل بیماری روی می‌دهد. این بیماری در نتیجه‌ی حمله لنفوسیت‌های T به سلول‌های β جزایر لانگرهانس پانکراس تولید کننده انسولین می‌باشد (۱). به طور تجربی و آزمایشگاهی القاء دیابت نوع ۱ در جوندگان توسط استرپتوزوتوسین (STZ) با دزهای متوالی و پایین صورت می‌گیرد که از لحاظ کلینیکی و ایمونوهسیتولوژیکی شبیه بیماری هست که در انسان روی می‌دهد (۲). در گذشته از سرکوب سیستم ایمنی برای درمان بیماری‌های خود ایمن از جمله دیابت نوع یک استفاده می‌کردند و از جمله داروهایی که در این رابطه مورد استفاده قرار می‌گرفتند عبارت بودند از: پردنیزولون، ترکیب پردنیزولون با آزاتیوپرین و سیکلوسپورین و ... که علاوه بر سرکوب سیستم ایمنی یکسری اثرات جانبی مضر هم داشتند و هم به

[1] دانشجوی دکترای تخصصی ایمونولوژی، دپارتمان میکروبیولوژی، دانشگاه ارومیه

[2] استادیار بخش میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

[3] دانشیار بخش پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

[4] پزشک عمومی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

[5] دانشیار ایمونولوژی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

صورت بلند مدت استفاده از آن‌ها ممکن نبود و با قطع دارو هم رجعت بیماری را داشتیم پس این نتایج ضعیف باعث شکل گیری تئوری تعدیل ایمنی شد که در این روش سیستم ایمنی بدون سرکوب عملکرد آن تعدیل می‌شد (۳) از تعدیل کننده‌های سیستم ایمنی پروتئین‌های شوک حرارتی (HSP) و داروهای القاء کننده آن‌ها می‌باشند، HSPها، پروتئین‌هایی هستند که تحت شرایط استرس محیطی یا پاتوفیزیولوژیکی سنتز می‌شوند (۴) و تحت این شرایط می‌توانند در گردش خون آزاد شوند و باعث شکل‌گیری پاسخ‌های ایمنی شوند و نشان داده شده است که آزاد سازی پروتئین‌های شوک حرارتی و واکنش ایمنی به آن‌ها در پاتوژنز بیماری‌های مزمن مثل دیابت خود ایمن نقش دارند (۵) و در میان این HSPها، hsp70 نقش حفاظتی بالقوه‌ی ویژه‌ای را در حفاظت بافتی و سلولی به عهده دارد و نشان داده شد که افزایش hsp70 در سلول‌های بتای جزایر لانگرهانس پانکراس رت باعث افزایش مقاومت آن‌ها در مقابل نیتریک اکساید، واسطه‌های فعال اکسیژن و عوامل سمی سلول‌های بتا می‌شود (۶)؛ و از طرف دیگر مشخص شده است که در دیابت نوع ۱ نقصی را در حفاظت توسط hspها داریم و بیان ساختمانی hsp ها از جمله hsp70 هم کاهش می‌یابد (۷). یکی از داروهای القا کننده‌ی hspها از جمله hsp70 ال-گلوتامین می‌باشد که مشخص شده اثرات تعدیل کننده ایمنی دارد (۸). ال-گلوتامین قبلاً به عنوان یک اسید آمینه‌ی غیر ضروری محسوب می‌شد ولی اکنون بسته به شرایط مثل بیماری و استرس جزء اسیدهای آمینه ضروری محسوب می‌شود و از طرف دیگر ال-گلوتامین، سلول‌ها و بافت‌ها را از استرس و آسیب حفاظت می‌کند (۹). در مطالعه‌ی حاضر برای اولین بار در دنیا به بررسی اثر ال-گلوتامین به عنوان یک القاء کننده‌ی پروتئین‌های شوک حرارتی از جمله hsp70 بر میزان قند خون ناشتا، میزان ارتشاح لکوسیتی، دژنره شدن، ادم، پر خونی و ضخیم شدن دیوارهٔ عروق خونی در جزایر لانگرهانس پانکراس موش‌های نر نژاد خالص C57BL/6 پرداختیم.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به صورت تجربی به طور مشترک در پژوهشکده زیست فن آوری و دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه و دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه از بهمن سال ۸۹ تا تیرماه سال ۹۰ به صورت invivo صورت گرفت. جامعه مورد مطالعه شامل موش‌های نر نژاد خالص C57BL/6 با محدوده سنی ۶ تا ۸ هفته (وزن 15-20gr) بودند که از انیستیتو پاستور ایران خریداری شدند و به صورت تصادفی به چهار گروه و در هر گروه پنج عدد موش به صورت تصادفی قرار گرفت. گروه A شامل موش‌های سالمی بودند که تحت هیچ تیماری قرار نگرفتند و فقط بافر سیترات با pH=۴/۵ به آن‌ها تجویز می‌شد. گروه B شامل موش‌های دیابتی بودند که تنها بیماری دیابت در آن‌ها القاء شده بود. گروه C شامل موش‌هایی بودند که ۷۲ ساعت قبل از القای بیماری داروی ال-گلوتامین را با دز ۷۵mg/kg (sigma, Germany) را به صورت داخل صفاقی دریافت نمودند و بعد از اولین القاء STZ (Sigma, Germany) هم پنج دز دارو را هر ۲۴ ساعت و به مقدار ۵۰۰ میکرو لیتر دریافت نمودند. گروه D شامل موش‌هایی بودند که ۱۲ ساعت بعد از دریافت آخرین دز STZ داروی ال-گلوتامین را هر ۲۴ ساعت با پنج دز متوالی دریافت نمودند (به مقدار ۵۰۰ میکرو لیتر به صورت داخل صفاقی با دز ۷۵mg/kg). هر گروه از موش‌ها در قفس‌های مجزا و تمیز در اتاقی با دمای ثابت ۲۵c° و سیکل ۱۲ ساعته روشنایی، تاریکی نگهداری می‌شدند و به مقدار کافی به آب و غذا دسترسی داشتند.

القاء دیابت: قبل از تجویز هر دز STZ موش‌ها به مدت چهار ساعت ناشتا می‌شدند (تمامی گروه‌ها) و حتی پوشال بستر آن‌ها هم جمع آوری می‌شد سپس STZ را به صورت داخل صفاقی تا پنج روز متوالی دریافت می‌کردند. (۵۰mg/kg در ۲۰۰ میکرو لیتر سیترات بافر با pH=۴/۵ که ۱۰ دقیقه قبل از تجویز حل می‌شد) (۱۰).

ارزیابی قند خون ناشتای موش‌ها: 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-CHEK® Compact plus, Irland) میزان گلوکز خون آن‌ها در روز صفر (۱ روز قبل از القاء بیماری) و ۷ روز پس از آخرین تجوز STZ بررسی شد.

بررسی تغییرات پاتولوژیکی پانکراس: بدین منظور ۱۴ روز پس از آخرین دز تجویزی STZ موش‌ها نخاعی شدند؛ و اقدام به جمع آوری پانکراس آن‌ها (تمامی گروه‌ها) شد و بلافاصله پانکراس‌ها در فرمالین بافری ۱۰ درصد خنک قرار گرفتند و بعد از تهیه بلوک‌های پارافینی از آن‌ها، اقدام به لامگیری از بلوک‌ها شد و سپس لام‌ها توسط روش H&E رنگ آمیزی شدند و سپس این لام‌ها از نظر ارتشاح لکوسینی، ادم، پرخونی، تغییرات دژنراتیو و ضخیم شدن عروق خونی جزایر لانگرهانس پانکراس توسط متخصص پاتولوژی با میکروسکوپ نوری بررسی شدند و برای تعیین شدت ضایعه به صورت زیر عمل کردیم:

۰: بدون ضایعه ۱: ضایعه در حد کم ۲: ضایعه در حد متوسط ۳: ضایعه شدید

آنالیز آماری: جهت تجزیه و تحلیل داده‌هایی پاتولوژیکی از روش آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) Scheffe test

همان‌طور که در پاراگراف فوق اشاره شد با استفاده از دادن نمره به شدت ضایعه داده غیر پارامتری را به داده پارامتری تبدیل نمودیم) نرم افزار SPSS ویراست ۱۹ و بقیه داده‌ها از روش Tukey's test (آزمون اختلاف حقیقی که به طور مخفف HSD نامیده می‌شود) استفاده گردید. در تمام بررسی‌ها مقدار ($p>۰/۰۵$) به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد، همچنین ترسیم نمودارها توسط نرم افزار Microsoft Excel 2007 انجام گرفت. داده‌ها به صورت Mean±SEM گزارش گردید.

یافته‌ها

بررسی میزان قند خون ناشتا: مطالعه قند خون ناشتای موش‌ها در تمامی گروه‌ها در روز ۱۲ آزمایش (هفت روز پس از آخرین دز تجویزی STZ) نشان داد که مقدار قند خون ناشتا در گروه‌های که از ال-گلوتامین به عنوان داروی پیشگیری کننده و درمان کننده بیماری دیابت خود ایمن استفاده کرده‌ایم (گروه C و D) نسبت به گروه موش‌های دیابتی که دارو را دریافت نکرده بودند (گروه B) به صورت معنی‌داری ($p< ۰/۰۵$) پایین‌تر بوده است (نمودار ۱).

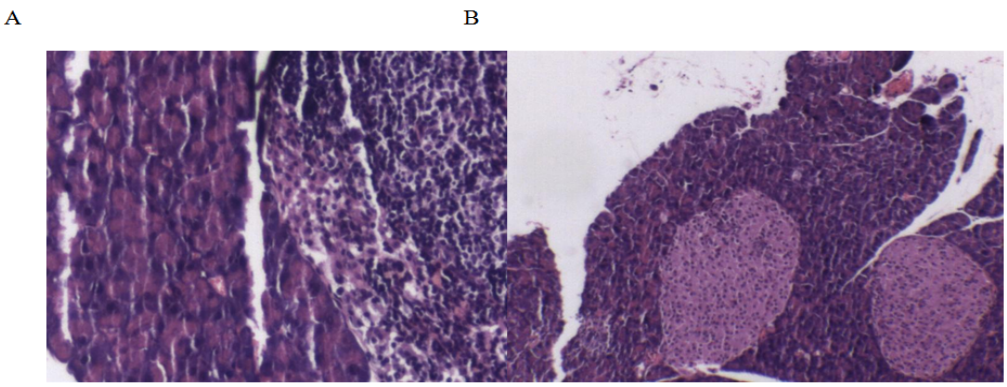
بررسی میزان پر خونی جزایر لانگرهانس پانکراس: نتایج بدست آمده نشان داد در گروهی که بعد از القاء دیابت خود ایمن از ال-گلوتامین به عنوان دارو درمانی استفاده کرده‌ایم (گروه D) نسبت به گروه شاهد دیابتی که دارو دریافت نکرده بودند به طور معنی‌دار ($p< ۰/۰۵$) میزان پر خونی جزایر کمتر بوده است ولی در گروهی که از ال-گلوتامین به عنوان داروی پیشگیری کننده استفاده کرده بودیم (گروه C)، هر چند میزان پرخونی جزایر نسبت به گروه شاهد دیابتی درمان نشده کم‌تر بوده است ولی به صورت معنی‌دار نیست (نمودار ۲).

بررسی میزان ادم در بافت پانکراس: همان‌طور که در نمودار (۲) می‌توان مشاهده نمود در گروهی که از ال-گلوتامین به عنوان داروی پیشگیری کننده بیماری استفاده نموده‌ایم میزان ادم بافت پانکراس نسبت به گروه شاهد دیابتی درمان نشده با دارو کمتر است که البته این اختلاف به صورت معنی‌دار نبوده است.

بررسی تغییرات دژنراتیو جزایر لانگرهانس پانکراس: با توجه به نتایج بدست آمده مشخص شد که در گروه‌هایی که از ال-گلوتامین به عنوان داروی پیشگیری کننده و درمان کننده بیماری استفاده شده است (گروه D و C) میزان تغییرات دژنراتیو در جزایر لانگرهانس پانکراس موش‌ها نسبت به گروه شاهد دیابتی درمان نشده با دارو به طور معنی‌داری کم‌تر بوده است. ($p<0.05$) (نمودار۲).

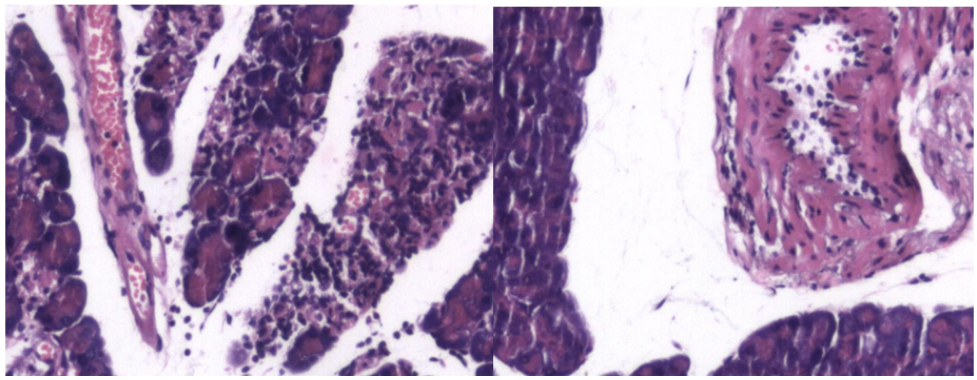
ارزیابی ضخیم شدن دیواره عروق خونی در جزایر لانگرهانس پانکراس: بررسی‌های ما نشان داد در گروه‌هایی که از ال-گلوتامین به عنوان داروی پیشگیری کننده و درمان کننده بیماری استفاده شده است (گروه D و C) میزان ضخیم شدن دیواره‌ی عروق خونی نسبت به گروه شاهد دیابتی درمان نشده با دارو به طور معنی‌داری ($p< ۰/۰۵$) کمتر بوده است (نمودار ۳).

ارزیابی میزان ارتشاح لکوسیتی در جزایر لانگرهانس پانکراس: مطالعات ما نشان داد که میزان ارتشاح لکوسیتی به جزایر لانگرهانس پانکراس در گروهی که از ال-گلوتامین به عنوان داروی پیشگیری کننده بیماری استفاده کرده‌ایم نسبت به گروه دیابتی درمان نشده با دارو به طور معنی‌دار ($p< ۰/۰۵$) کم‌تر بوده است حتی در گروه موش‌هایی که بعد از القای بیماری دیابت خود ایمن از ال-گلوتامین استفاده شده بود میزان ارتشاح لکوسیتی به جزایر نسبت به گروه دیابتی درمان نشده کمتر بود ولی این اختلاف به صورت معنی‌دار نبوده است (نمودار۳).

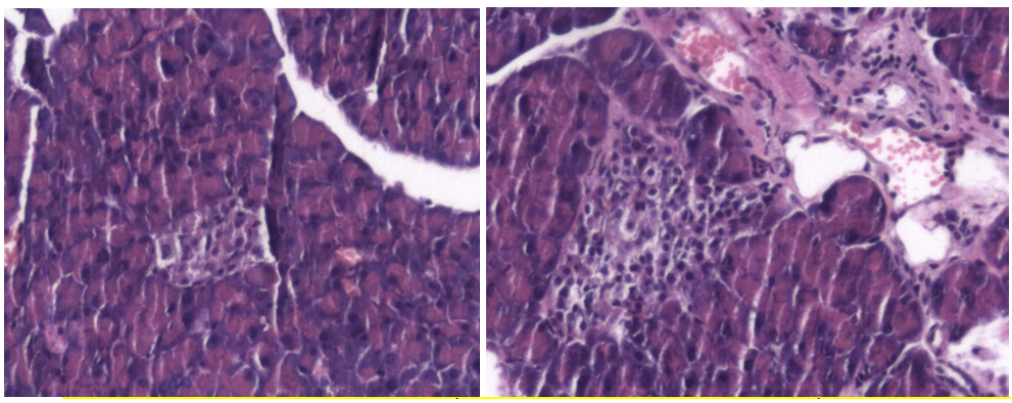


شکل شماره (۱): پانکراس موش- B- گروه نرمال-جزایرلانگرهانس با تراکم سلولی نرمال (H&E,X40) -A. گروه دیابتی- نفوذ شدید لکوسیتی در جزایر لانگرهانس (H&E,X100)

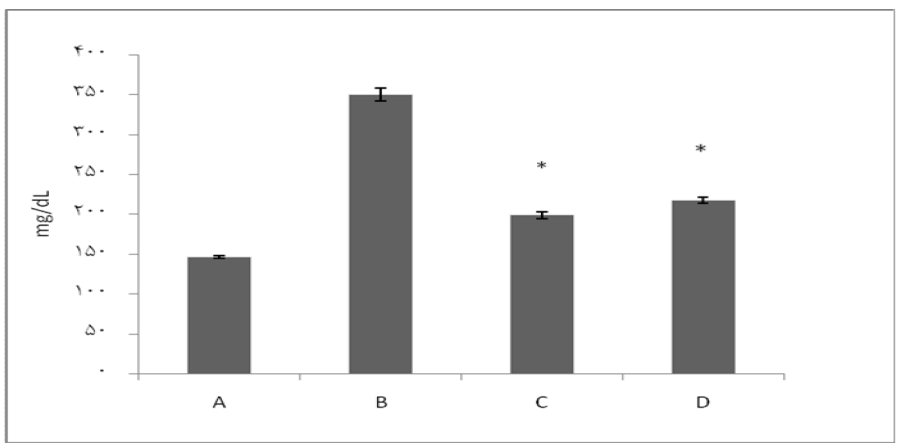
A B



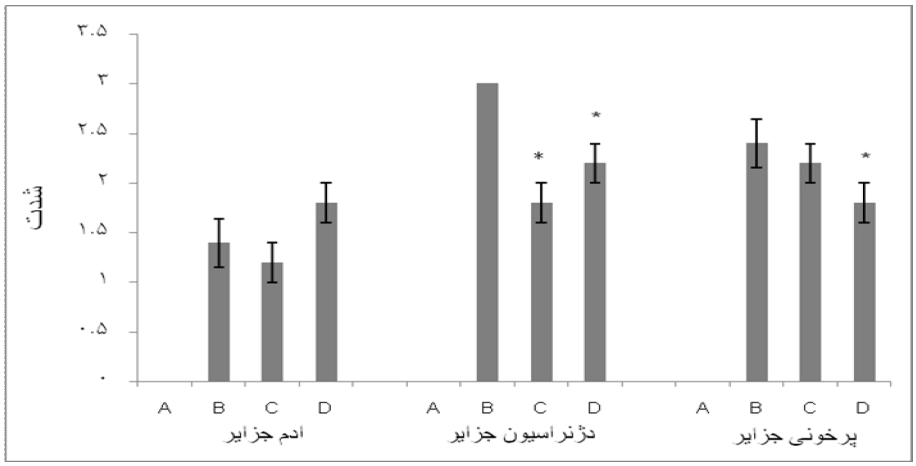
شکل شماره (۲): پانکراس موش- B- گروه دیابتی- پرخونی وادم به همراه نفوذ سلول‌های التهابی (H&E,X100).
A- گروه دیابتی-تغییرات عروقی به صورت ضخیم شدن دیواره (H&E.X100)



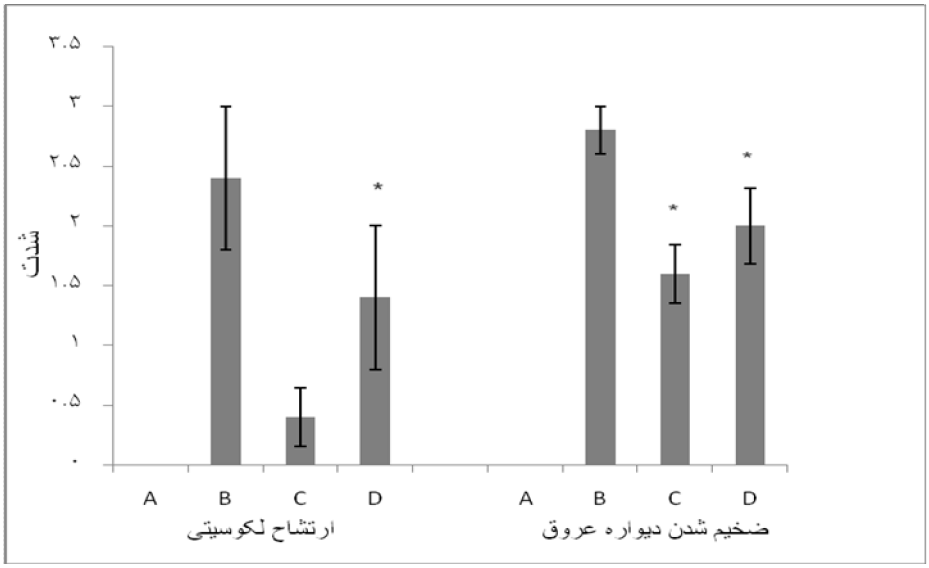
شکل شماره (۳): پانکراس موش- B- گروه درمان شده قبل از القاء دیابت-جزیره لانگرهانس با تغییرات دژنراتیو کم و عاری از واکنش التهابی (H&E.X100). A - گروه درمان شده بعد از القاء دیابت – پرخونی - تغییرات دژنراتیو و نفوذ سلولی خفیف در جزیره لانگرهانس (H&E.X100).



نمودار شماره (۱): میزان قند خون ناشتای موش‌ها. (* نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ($p<0.05$) بین گروه‌های دریافت کننده دارو و گروه دیابتی درمان نشده)



نمودار شماره (۲): شدت پرخونی، دژنراسیون وادم در جزایر لانگرهانس پانکراس موش‌ها. (* نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ($p<0.05$) بین گروه‌های دریافت کننده دارو و گروه دیابتی درمان نشده)



نمودار شماره (۳): شدت ضخیم شدن دیواره عروق خونی و ارتشاح لکوسیتی در جزایر لانگرهانس پانکراس موش‌ها. (*نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ($p<0.05$) بین گروه‌های دریافت کننده دارو و گروه دیابتی درمان نشده)

بحث و نتیجه گیری

امروزه درمان بیماری دیابت نوع ۱ که یک بیماری خود ایمن می‌باشد یک درمان علامتی است که با قطع دارو رجعت علائم بیماری را داریم و تا کنون دارویی که بتواند با مکانیسم ایجاد بیماری دیابت نوع ۱ مقابله کند مورد استفاده قرار نگرفته است، اخیراً برای درمان بیماری‌های خود ایمن داروهای تعدیل کننده سیستم ایمنی و داروهای القاء کننده hspها مورد توجه و مطالعه قرارگرفته‌اند (۳) ال-گلوتامین دارویی است که هم اثرات تعدیل کننده سیستم ایمنی دارد و هم جزء القاء کننده‌های hsp ها از جمله hsp70 می‌باشد (۸) و تاکنون تأثیر آن بر روند بیماری دیابت نوع ۱ و ضایعات پاتولوژیکی ناشی از آن مطالعه نشده است و هدف از مطالعه حاضر هم ارزیابی اثرات درمانی و پیشگیری کننده آن بر ضایعات پاتولوژیکی بیماری و میزان قند خون ناشتا در موش‌های نر C57BL/6 می‌باشد. نتایج ما نشان داد که ال-گلوتامین می‌تواند در کاهش قند خون ناشتا در موش‌های دیابتی مؤثر باشد که در راستای تحقیقاتی بود که روی ۵ پسر و دختر مبتلا به دیابت نوع ۱ (دیابت خود ایمن) انجام شده بود و از گلوتامین در جیره غذایی آن‌ها به همراه ورزش استفاده شد که

نتیجه آن کاهش قند خون ناشتا در این افراد بوده است (۱۱)، از آنجا که ورزش هم مانند ال-گلوتامین باعث افزایش hsp ها از جمله hsp70 (۷) می‌شود، می‌توان این احتمال را مطرح کرد که شاید اثرات مفید این hsp ها از جمله hsp70 است که روی پایین آمدن قند خون ناشتا در این افراد و همچنین موش‌های مورد مطالعه ما، مؤثر بوده است.

در ارتباط با بررسی‌های پاتولوژیکی باید ذکر کنیم که سلول‌های جزایر لانگرهانس در گروه کنترل سالم، تغییراتی را نشان نداده و کاملاً سالم بودند (شکل۱) در صورتی که در گروه موش‌های دیابتی درمان نشده با دارو ساختار میکروسکوپی جزایر تغییر کرده که این تغییرات شامل تغییرات دژنراتیو و نکروتیک بوده و جزایر کوچک‌تر دیده می‌شدند و میزان تراکم سلول‌های این جزایر کاهش یافته بود و تغییرات عمومی هم شامل پر خونی، ادم، ضخیم شدن دیواره عروق، ارتشاح لکوسیتی نیز در بافت پانکراس موش‌های دیابتی درمان نشده با ال-گلوتامین ملاحظه شد (شکل ۱و۲) ولی استفاده از ال-گلوتامین باعث کاهش این تغییرات در گروه‌هایی شد که از این دارو هم در پیشگیری و هم در درمان بیماری دیابت خود ایمن استفاده کردیم (شکل۳). البته استفاده از سایر تعدیل کننده‌های سیستم ایمنی نتایجی مشابه در بر داشته است به عنوان مثال در طی یک مطالعه که از leflunomide (به عنوان یک داروی تعدیل کننده ایمنی همانند ال-گلوتامین) در درمان دیابت نوع ۱ در موش‌های مبتلا به این بیماری استفاده شد، علاوه بر کاهش قند خون (مطابق نتایج این پژوهش) در گروه‌های درمان شده نسبت به گروه بیمار درمان نشده با دارو، میزان تخریب β سل‌های جزایر لانگرهانس و نکروز جزایر کاهش یافته بود و از شدت ارتشاح لکوسیتی هم کاسته شده بود که در راستای نتایج این تحقیق بوده است (۲). حال این قضیه که چطور ال-گلوتامین از طریق القاء hsp ها از جمله hsp70 می‌تواند چنین اثراتی بگذارد قابل بحث است که از طریق ذکر مثال‌هایی به آن می‌پردازیم. البته در مطالعه حاضر نیز به اندازه گیری hsp70 در سرم موش‌ها پرداخته شد که نتایج در اینجا آورده نشده است. در مطالعه‌ای روی موش‌ها در مدل Fibroblast-like synoviocytes مشخص شده که hsp70 می‌تواند باعث القاء سایتوکاین‌های ضد التهابی از جمله اینترلوکین ۱۰[1] شود (۱۲) و مطالعه روی IL-10 در موش‌های NOD مبتلا به دیابت خود ایمن نشان داده است که IL-10 می‌تواند از شدت ارتشاح لکوسیتی به جزایر لانگرهانس پانکراس در موش‌های درمان شده با دارو نسبت به گروه بیمار درمان نشده به طور معنی‌داری ($p< ۰/۰۵$) بکاهد (۱۳) و از طرف دیگر مشخص شده گلوتامین علاوه بر افزایش تولید سایتوکاین‌های ضد التهابی در موکوس روده‌ی انسان در عین حال می‌تواند تولید بازال اینترلوکین ۶ و ۸[2] را هم در روده کاهش دهد و از آنجا که IL-6 در تولید اینترلوکین ۱۷[3] نقش مهمی را ایفا می‌کند می‌تواند باعث کاهش IL-17 (و در نتیجه آن سرکوب رده سلولی T های کمکی ۱۷[4] نیز شود و مشخص شده که تمامی این اثرات به علت القاء hsp از جمله hsp70 توسط گلوتامین می‌باشد (۱۴) و همان‌طور هم که مشخص شده است رده سلولی Th17 در بیماری‌های خود ایمن از جمله دیابت خود ایمن رده سلولی اصلی درگیر می‌باشد و در اصل سلول‌های Th17 التهاب بافتی را با القاء سایتوکاین های پیش التهابی و القاء کموکاین‌هایی که باعث بسیج شدن سلول‌های T کمکی ۱ (Th1) به بافت هدف می‌شوند را باعث می‌شوند (می‌دانیم التهاب و ضایعات بافتی در بیماری‌های خود ایمن در نتیجه هجوم سلول‌های TH17وTH1 به بافت هدف می‌باشد) (۱۵) و از طرف دیگر hsp ها از جمله hsp70 می‌توانند باعث القاء سلول‌های T تنظیمی (همان‌طور که می‌دانیم سلول‌های T تنظیمی در مهار رده‌های سلولی TH17وTH1 نقش مهمی دارند) و در نتیجه سرکوب شدن فرایند خود ایمنی گردند (۱۶) پس به صورت خلاصه می‌توان گفت که ال-گلوتامین از یک طرف باعث القاء hsp از جمله hsp70 شود و از طرف دیگر باعث القاء سایتوکاین‌های ضد التهابی از جمله اینترلوکین ۱۰ و Tهای تنظیمی شوند و از آن سو در نتیجه آن باعث سرکوب شدن رده‌های سلولی Th1 و Th17 می‌شود و در نتیجه آن، روند التهاب و ضایعات پاتولوژیکی در بافت هم کاهش می‌یابد.

البته طی یک مطالعه هم که رت‌ها توسط Caerulein مبتلا به پانکراتیت حاد شده بودند، در درمان آن‌ها از استرس گرمایی استفاده شد و دیدند که میزان بیان hsp70 در پانکراس آن‌ها افزایش پیدا کرده است و از طرف دیگر از التهاب پانکراس نسبت به گروه بیماری که تحت استرس گرمایی قرار نگرفته بودند به طور معنی‌داری کاسته شده بود (۱۷). البته در مطالعه‌ای که در جیره غذایی رت‌ها به میزان gr/kg/day ۱ گلوتامین قرار گرفته بود و سپس رت‌ها تحت اثر تشعشع اشعه قرار گرفتند و با گروه شاهدی که بدون دریافت دارو تحت اثر تشعشع قرار گرفته بودند مقایسه شدند که مطالعات هیستوپاتولوژیکی حاکی از کاهش التهاب پانکراس در گروهی بود که در جیره آن‌ها از گلوتامین استفاده شده بود که این احتمال بیان شد که شاید علتش اثر گلوتامین در سرکوب مرگ برنامه ریزی شده سلول از طریق کاهش بیان

[1] (IL-10)

[2] (IL-8 IL-6 ,)
[3] (IL-17)
[4] (Th17)

گیرنده‌های مرگ در سطح سلول، کاهش فعالیت آنزیم‌های کاسپاز و افزایش مولکول‌های ضد آپوپتوز باشد (۱۸). پس به عنوان یک احتمال این را هم می‌توان پیشنهاد کرد که شاید ال-گلوتامین اثرات ضد آپوپتوزی هم دارد که در تایید بیشتر این مطلب می‌توان به تحقیقی اشاره کرد که در آن در جیره غذایی رت‌ها از گلوتامین استفاده شده بود و مشاهده شد که بقای سلولی در مقابل تحریکات استرسی مختلف افزایش پیدا کرده است گفته شد که گلوتامین این کار را از طریق hsp70 انجام داده است (۱۹) و از طرف دیگر افزایش بیان hsp70 در جزایر لانگرهانس پانکراس باعث کاهش مرگ سلول‌های بتای جزایر تحت اثر سایتوکاین‌ها می‌شود (۲۰).

و احتمال دیگر در اثرات ال-گلوتامین در تخفیف ضایعات پاتولوژیکی به خصوص کاهش ارتشاح لکوسیتی به جزایر که از مهم‌ترین وقایع در تخریب سلول‌های جزایر لانگرهانس پانکراس می‌باشد، در تغییر دادن مولکول‌های چسبندگی سطوح سلولی می‌باشد که این مولکول‌ها از یک طرف در برخورد مستقیم سلول به سلول و از طرف دیگر در مهاجرت و ارتشاح (homing) سلول‌های تک هسته‌ای به بافت هدف نقش دارند زیرا مشخص شده است که پیشرفت بیماری دیابت خود ایمن نه تنها با گسترش سلول‌های اتوری اکتیو خاص سلول‌های β همراه است بلکه انتراکشن‌های متوالی سلول‌های تک هسته‌ای که شامل مولکول‌های CD28/B7 (۲۱) و همچنین تعدادی لیگاندها و گیرنده‌های چسبندگی را هم شامل می‌شود (۲۲) که این‌ها برای فعال شدن سلول‌های T، عرضه آنتی ژن، لیز شدن سلول‌های هدف به واسطه سلول‌های T کشنده، چسبندگی و مهاجرت لکوسیت‌ها از طریق اندوتلیال عروق لازم هستند (۲) که نتایج بررسی روی موش‌های نر C57BL/6 که در CD18 خود نقص داشتند (CD18 جزء عوامل چسبندگی سطح سلول می‌باشد) و مبتلا به دیابت خود ایمن هم شده بودند نشان داد که این موش‌ها نسبت به گروه شاهد دیابتی که در این مولکول نقص نداشتند سطح گلوکز خونشان به طور معنی‌دار ($p<0/05$) پایین‌تر بوده است و التهاب پانکراس هم نداشتند و تایید کرد که عوامل چسبندگی در مهاجرت لکوسیت‌ها به پانکراس نقش مهمی دارند (۲۳).در پایان می‌توان گفت که استفاده از ال-گلوتامین می‌تواند اثرات مفیدی روی کاهش میزان قند خون ناشتا و ضایعات پاتولوژیکی دیابت خود ایمن در موش‌های نر نژاد خلص C57BL/6 داشته باشد و امید آن که روزی بتوان این نتایج را به انسان‌ها هم تعمیم داد.

تشکر و قدردانی

از پژوهشکده زیست فن‌آوری دانشگاه ارومیه، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه و دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه کمال قدردانی را داریم.

References:

1. Denis MC, Mahmood U, Benoist CH, Mathis D, Weissleder R. Imaging inflammation of the pancreatic islets in type 1 diabetes. Immunology 2004;101: 12634-39.
2. Stosic-Grujicic S, Dimitrijevic M, Bartlett R. Leflunomide protects mice from multiple low dose streptozotocin (MLD-SZ- (induced insulitis and diabetes. Clin Exp Immunol 1999; 117: 44-50.
3. Eldor R, Kassem S, Raz I. Immune modulation in type 1 diabetes mellitus using DiaPep277: a short review and update of recent clinical trial results. Diabetes Metab Res Rev 2009; 25: 316-20.
4. Najemnikova E, Rodgers CD, Locke M. Altered heat stress response following streptozotocin-induced diabetes. Cell Stress Chaperones 2007;12 (4): 342-52.
5. Gruden G, Bruno G, Chaturvedi N, Burt D, Pinach S, Schalkwijk C et al. ANTI-HSP60 and ANTI-HSP70 antibody levels and micro/macrovascular complications in type 1 diabetes: the EURODIAB study. J Int Med 2009; 266: 527-36.
6. Burkart V, Hui L, Bellmann K, Wissing D, Jaattela M, Cavallo MG et al. Natural resistance of human Beta cells toward Nitric Oxide is mediated by heat shock protein. J Biolog Chem 2000; 275: 19521-28.
7. Atalay M, Oksala NKJ, Laaksonen DE, Khanna S, Nakao Ch, Lappalainen J et al. Exercise training modulates heat shock protein response in diabetic rats. J Appl Physiol 2004; 97: 605-11.
8. Pei-Hsuan T, Jun-Jen L, Wan-Chun Ch, Man-Hui P, Sung-Ling Y. Effects of dietary glutamine on adhesion molecule expression and oxidative stress

in mice with streptozotocin-induced type 1 diabetes. Clin Nutr 2011;30: 124-9.

9. 9. Morrison AL, Dinges M, Singleton KD, Odoms K, Wong HR, Wischmeyer PE. Glutamine's protection against cellular injury is dependent on heat shock factor-1. Am J Physiol Cell Physiol 2006; 290: C1625-C32.
10. Choi JB, Uchino K, Azumz N, Iwashita Y, Tanak H, Mochizuki M, et al. Little evidence of bone marrow-derived cells into pancreatic beta cells. Diabetologia 2003;46 (10): 1366-74.
11. Mauras N, Xing D, Fox LA, Englert K, Dramaun D. Effects of glutamine on glycemic control during and after exercise in adolescents with type 1 diabetes. Diabetes Care 2010;33: 1951-53.
12. Luo X, Zuo X, Zhang B, Song L, Wei X, Zhou Y, et al. Release of heat shock protein 70 and the effects of extracellular heat shock protein 70 on the production of IL-10 in fibroblast-like synoviocytes. Cell Stress Chaperones 2008;13: 365-73.
13. Battaglia M, Stabilini A, Draghici E, Migliavacca B, Gregori S, Bonifacio E et al. Induction of tolerance in type 1 diabetes via both D4+CD25+T regulatory cells and T regulatory Type1Cells. Diabetes 2006; 55: 1571-80.
14. Coeffier M, Marion R, Ducrottel P, Delchelotte P. Modulating effect of glutamine on IL-1β-induced cytokine production by human gut. Clin Nutr 2003;22: 407-13.
15. Dardalhon V, Korn T, Kuchroo VK, Anderson AC. Role of Th1 and Th17 cells in organ-specific autoimmunity. J Autoimmunity 2008;31: 252-56.
16. Van edena W, Koets A, Van Kooten P, Prakken B, Van der zee R. Immunopotentiating heat shock proteins: negotiators between innate danger and control of autoimmunity. Vaccine 2003; 21: 897-901.
17. Frossard JL, Bhagat L, Lee HS, Hietaranta AJ, Singh VP, Song AM et al. Both thermal and non-thermal stress protect against caerulein induced pancreatitis and prevent trypsinogen activation in the pancreas. Gut 2002;50: 78-83.
18. Erbil Y, Oztezcan S, Giris M, Barbaros U, Olgac V, Bilge H et al. The effect of glutamine on radiation-induced organ damage. Life Sci 2005;78: 376- 82.
19. Jang HJ, Kwak JH, Cho EY, We YM, Lee YH, Kim SC et al. Glutamine induces heat-shock protein-70 and glutathione expression and attenuates ischemic damage in rat islets. Transplant Proceed 2008;40: 2581-84.
20. Mokhtari D, Åkerblom B, Mehmeti I, Wang X, Funa NS, Olerud J et al. Increased Hsp70 expression attenuates cytokine-induced cell death in islets of Langerhans from Shb knockout mice. Biochem Biophys Res Commun 2009; 387: 553-7.
21. Dimitrijevic M, Milenokovic M, Milosavljevic P, Stojic-Vukanic Z, Colic M, Bartlett P. Beneficial effects of leflunomide on cardiac myosin-induced experimental autoimmune myocarditis in rats. Int J Immunother 1998; 14: 9-21.
22. 22. Elliott JT, Dewchand H, Altmann DM. Streptozotocin-induced diabetes in mice lacking αβ T cells. Clin EXP immunol 1997; 109: 116-20.
23. Barlow ShC LW, Matthews KM, Chidlow JH, Kevil KG. CD18 deficiency protects against multiple low-dose streptozotocin-induced diabetes. Am J Phathol 2004; 165: 1849-52.