

Therapeutic Effects of Tretinoin on Plasma Insulin and Nitric Oxide Levels in Streptozotocin-induced Diabetes in C57BL/6 Mice

Farin Malekifard¹,
Nowruz Delirez²,
Rahim Hobbenaghi³,
Hassan Malekinejad⁴

¹ PhD Student in Immunology, School of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

² Associate Professor, Department of Microbiology, School of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

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

(Received September 15, 2015 ; Accepted January 23, 2015)

Abstract

Background and purpose: Tretinoin is the most active metabolite of Retinoic acid (RA) in the body .It has a variety of biological activities, including antioxidant and immunomodulatory effects on a number of inflammatory and autoimmune conditions. The purpose of this study was to investigate the effects of tretinoin on plasma insulin and nitric oxide levels in streptozotocin-induced diabetes in mice.

Materials and methods: In this experimental study, 15 male C57BL/6 mice were divided into 3 groups (n= 5 per group) including a normal group, diabetic control group (streptozotocin: 40 mg/kg/day for 5 consecutive days) and treatment group (tretinoin: 20 mg/kg/day i.p. for 21 days after induction of diabetes).Then, the levels of nitric oxide in spleen cell culture supernatant and insulin level of plasma were evaluated. Data was analyzed by One-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test in Microsoft Excel.

Results: Tretinoin prevented the STZ-induced reduction in plasma insulin, indicating a possible protective effect of tretinoin against β -cell damage. Also, nitric oxide production significantly reduced in treatment group ($P<0.05$).

Conclusion: These findings indicate that tretinoin may have a therapeutic effect against the autoimmune destruction of the pancreatic beta-cells during the development of STZ-induced type 1 diabetes in mice.

Keywords: diabetes mellitus, type 1, tretinoin, nitric oxide

J Mazandaran Univ Med Sci 2016; 26(136): 1-8 (Persian).

اثر درمانی ترتینوئین بر سطح انسولین پلاسما و میزان نیتریک اکساید در موش های C57BL/6 دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

فرین ملکی فرد^۱

نوروز دلیرز^۲

رحیم حب نقی^۳

حسن ملکی نژاد^۴

چکیده

سابقه و هدف: ترتینوئین از جمله فعال ترین متابولیت های رتینوئیک اسید در بدن است که دارای انواع فعالیت های بیولوژیکی از جمله اثر آنتی اکسیدانی و تعدیل گر ایمنی در موارد التهابی و خودایمنی می باشد. هدف از این مطالعه بررسی اثرات ترتینوئین بر سطح انسولین پلاسما و میزان نیتریک اکساید در موش های C57BL/6 دیابتی شده با استرپتوزوتوسین بود.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی، ۱۵ سر موش نر C57BL/6، به ۳ گروه ۵ تایی تقسیم بندی شدند: (۱) گروه نرمال، (۲) گروه کنترل دیابتی (تزریق استرپتوزوتوسین روزانه ۴۰ mg/kg/day برای ۵ روز متوالی) و (۳) گروه درمانی (تزریق ترتینوئین روزانه ۲۰ mg/kg/day i.p. برای ۲۱ روز پس از القای دیابت). سپس میزان تولید نیتریک اکساید در محیط کشت سلول های طحالی و سطح انسولین پلاسما سنجیده شد. داده های آماری توسط آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و Tukey s test توسط نرم افزار آماری Microsoft Excel مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها: ترتینوئین مانع از کاهش سطح انسولین پلاسما ایجاد شده توسط STZ شد که نشان از اثر پیشگیرانه ترتینوئین در تخریب سلول های B بود. هم چنین تولید نیتریک اکساید به طور قابل ملاحظه ای در گروه درمانی کاهش یافت ($p < 0.05$).

استنتاج: این یافته ها نشان می دهد که ترتینوئین ممکن است اثر درمانی در برابر تخریب خودایمن سلول های بتا پانکراس در طی دیابت نوع ۱ ایجاد شده توسط STZ در موش داشته باشد.

واژه های کلیدی: دیابت نوع ۱، ترتینوئین، نیتریک اکساید

مقدمه

و هم چنین IL-17، در ایجاد دیابت نوع ۱ موثر است؛ در حالی که تصور می شود که سایتوکین های ضد التهابی از جمله IL-10، IL-4 و TGF- β در جلوگیری از بیماری نقش مهمی دارند (۲). غلظت گونه های واکنش پذیر اکسیژن و یا نیتروژن از جمله سوپر اکساید، نیتریک

دیابت نوع ۱ در اثر تخریب سلول های بتای پانکراس توسط حمله سلول های ایمنی به ویژه لنفوسیت های T اتوراکتیو CD4⁺ و CD8⁺، سل ها، ماکروفاژ و دندریتیک سل ها به وجود می آید (۱). سایتوکین های مختلفی از جمله IL-1، TNF- α ، IFN- γ

E-mail: n.delirez@urmia.ac.ir

مؤلف مسئول: نوروز دلیرز - ارومیه: دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، دانشکده پزشکی

۱. دانشجوی دکتری ایمنی شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۲. دانشیار، گروه میکروب شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۳. دانشیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۴. استاد، گروه فارماکولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۶/۲۴ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۴/۶/۳۱ تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۱۱/۳

اکساید و پراکسی نیتريت در شرایطی از جمله التهاب می تواند تا حدی افزایش یابد که مانع فعالیت های دفاعی آنتی اکسیدانی طبیعی بدن گردد. چنین استرس های اکسیداتیو و یا نیتراتیو مسبب تخریب اجزای حیاتی سلول می گردد (۳). با توجه به ماهیت خود التهابی بیماری دیابت نوع ۱ و تاثیر رادیکال های آزاد از جمله نیتريك اکساید در ایجاد آسیب های بسیار در دیابت خود ایمن (۴)، به نظر می رسد استفاده از ترکیبات آنتی اکسیدانی در درمان بیماری دیابت نوع ۱ مفید باشد. ترتینوئین (آل ترانس رتینوئیک اسید (ATRA) از جمله متابولیت های فعال ویتامین آ می باشد که دارای خواص تعدیل گر ایمنی، ضد سرطانی، ضد التهابی و آنتی اکسیدانی می باشد (۵). مطالعات گذشته نشان داده آل ترانس رتینوئیک اسید در جلوگیری از پیشرفت مدل جانوری برخی از بیماری های خودایمن از جمله آنسفالومیلیت خودایمن تجربی (۵)، نفريت خود ایمن (۶)، لوپوس (۷) و آرتریت خودایمن (۸) موثراند. با توجه به خاصیت آنتی اکسیدانی و تعدیل کنندگی ایمنی ATRA، در این مطالعه پس از القاء بیماری توسط استرپتوزوتوسین و اطمینان از شروع بیماری دیابت نوع ۱، اقدام به درمان با ترتینوئین و بررسی اثرات درمانی آن بر روی میزان قند خون، سطح انسولین پلاسما و میزان نیتريك اکساید در محیط کشت سلول های طحالی شد.

مواد و روش ها

در این مطالعه که به صورت تجربی انجام شد، جامعه مورد مطالعه شامل ۱۵ سر موش نر نژاد خالص C57BL/6 با محدوده سنی ۶ تا ۸ هفته (وزن ۲۰-۱۵ gr) بودند که از انستیتو پاستور ایران خریداری شده بودند. این موش ها 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 تایید قرار گرفت. موش ها به صورت تصادفی به سه گروه ۵ تایی تقسیم

شدند. گروه A شامل موش های سالمی بودند که تحت هیچ تیماری قرار نگرفتند و فقط بافر سیترات با pH=۴/۵ به آن ها تجویز می شد. گروه B شامل موش هایی بودند که تنها دیابت در آن ها القاء شده بود (گروه کنترل دیابتی). گروه C شامل موش هایی بودند که بعد از القاء دیابت (پس از آخرین دوز تجویزی STZ)، تحت درمان با ترتینوئین (20 mg/kg/day) برای ۲۱ روز متوالی به صورت داخل صفاقی قرار گرفتند (گروه تحت درمان).

- /لقاء دیابت: قبل از تجویز هر دوز (streptozotocin) STZ، موش ها به مدت چهار ساعت ناشتا می شدند و حتی پوشال بستر آن ها نیز جمع آوری می شد. سپس STZ (Sigma, Germany) را به صورت داخل صفاقی تا پنج روز متوالی در یافت می کردند (۱۰ دقیقه قبل از تجویز STZ، ۴۰ mg/kg از آن در ۲۰۰ میکرولیتر سیترات بافر با pH= 4/5 حل می شد). موش ها زمانی دیابتی شده ارزیابی می شدند که میزان قند خون ناشتا بیش تر از 250 mg/dl بود (۹).

- /ارزیابی قند خون ناشتا: بدین منظور توسط سرنگ های انسولینی، بعد از مقید کردن موش ها، از ورید دمی آن ها اقدام به خون گیری کرده و سپس توسط دستگاه خودکار گلو کومتر (Accu-Chech Compact plus, Irland) میزان گلوکز خون آن ها در روز صفر (آغاز درمان)، روز ۷، روز ۱۴ و روز ۲۱ پس از القاء دیابت بررسی شد.

- /ارزیابی انسولین پلاسما: قبل از کشتار موش ها، خونشان در روز ۲۱ در لوله های هپارینه جمع آوری گردید. پلاسما جداسازی و در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد تا اندازه گیری انسولین پلاسما نگهداری گردید. سطح انسولین پلاسما با استفاده از کیت الایزا انسولین موش (Cut-off 10 U/ml) اندازه گیری شد (Mercodia, Sweden).

- کشت سلولی طحال و سنجش نیتريك اکساید: ۲۱ روز پس از آغاز درمان، موش ها نخاعی شده و

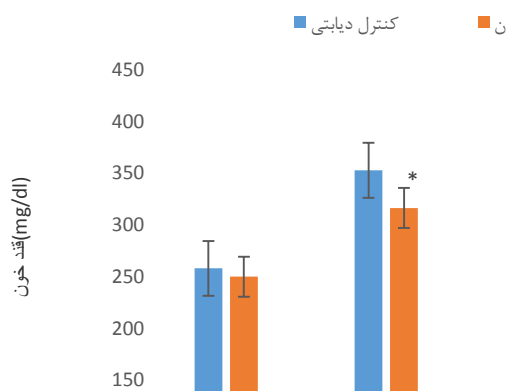
حرارت اتاق نگهداری گردید. در نهایت، جذب نوری نمونه در طول موج ۵۳۰ نانومتر توسط دستگاه الیزانگار قرائت گردید. هم‌زمان با استفاده از غلظت‌های مختلف نیتريت سدیم، منحنی استاندارد ترسیم گردید و از طریق رگرسیون و معادله خطی، غلظت نیتريت نمونه‌ها تعیین گردید (۱۰).

آنالیز آماری

از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و Tukey s test برای مقایسه بین گروه‌ها استفاده گردید. در تمام بررسی‌ها، $p < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد. برای ترسیم نمودارها از نرم افزار (۲۰۰۷) Microsoft Excel Means $\pm$ SEM گزارش گردید.

یافته‌ها

میزان قندخون ناشتای موش‌ها در گروه موش‌های دیابتی که ترتینوئین دریافت کرده بودند (گروه تحت درمان)، نسبت به گروه شاهد دیابتی که ترتینوئین دریافت نکرده بودند (گروه کنترل دیابتی)، به‌صورت معنی‌داری پایین‌تر بوده است ($p = 0.03$) (نمودار شماره ۱).



نمودار شماره ۱: تاثیر ترتینوئین بر میزان قند خون ناشتا در روزهای ۰، ۷، ۱۴، ۲۱ روز پس از آغاز درمان (* نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $p = 0.03$) بین گروه دریافت‌کننده دارو و گروه کنترل دیابتی)

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. به منظور حذف گلبول‌های قرمز پس از سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه در دور $g = 200$ ، ۵ میلی‌لیتر بافر لیزکننده (۰/۱۵ مول کلرید آمونیوم، ۱۰ میلی‌مول بی‌کربنات پتاسیم و ۰/۱ میلی‌مول EDTA با $pH = 7.2$) بر روی رسوب سلولی به دست آمده افزوده شد. پس از ۵ دقیقه، ضمن افزودن ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت، بار دیگر به مدت ۱۰ دقیقه در دور $g = 200$ سانتریفیوژ گردید. سپس رسوب سلولی در محیط کشت RPMI حاوی ۱۰ درصد به حالت سوسپانسیون در آورده شد. پس از شمارش سلول‌ها، سوسپانسیون سلولی با $10^6 \times 2$ سلول در میلی‌لیتر از آن تهیه شد. این سلول‌ها در پلیت‌های کشت ۲۴ خانه در حضور $2 \mu g/ml$ 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 شده و ذخیره گردید.

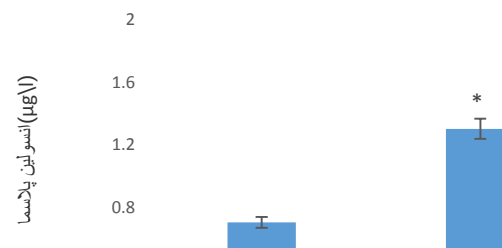
- بررسی میزان نیتريت اکساید: میزان تولید نیتريت اکساید توسط روش رنگ سنجی گریس (Griess) و استفاده از منحنی استاندارد نیتريت سدیم تعیین گردید. به‌طور خلاصه، ۱۰۰ میکرولیتر از مایع رویی کشت سلول‌های طحالی به صورت دوتایی به داخل چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای ته تخت ریخته شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از محلول ۱ درصد سولفانیل‌آمید (آمریکا-Sigma) به چاهک‌ها اضافه گردید. پلیت به مدت ۱۰ دقیقه در تاریکی و درجه حرارت اتاق نگهداری شد. آن‌گاه به تمام حفره‌ها، ۱۰۰ میکرولیتر از محلول ۱ درصد 1-N-1 نفتیل اتیلن دی‌آمید دی‌هیدروکلراید (آمریکا-Sigma) اضافه شد و بار دیگر به مدت ۱۰ دقیقه در تاریکی و درجه

بحث

دیابت نوع ۱ (دیابت جوانی یا دیابت وابسته به انسولین)، بیماری خود ایمن مزمن است که در اثر تخریب سلول‌های بتا توسط سلول‌های ایمنی، تولید انسولین بسیار کاهش می‌یابد و فرد نیازمند به تزریق انسولین می‌باشد (۲). استرپتوزوتوسین (STZ) توکسین سلول‌های بتا پانکراس می‌باشد و زمانی که با دوز کم و متوالی (MLDS) در گونه‌های حساس جوندگان تجویز شود، مسبب ایجاد التهاب در جزایر پانکراس می‌شود و یکی از مدل‌های پری کلینیکال مختلف از بیماری برای روشن شدن مکانیسم پاتوفیزیولوژی دیابت نوع ۱ در انسان و تست روش‌های درمانی جدید می‌باشد (۱۱). در این مطالعه، اقدام به تجویز ترتینوئین به گروه درمانی، پس از اطمینان از افزایش قندخون و بروز بیماری دیابت نوع ۱ شده است. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد ترتینوئین موجب کاهش قندخون در گروه درمانی نسبت به گروه کنترل دیابتی و افزایش میزان انسولین در مقایسه با گروه کنترل دیابتی می‌گردد که نشان از نقش مهم ترتینوئین در کنترل پیشرفت بیماری و درمان آن دارد. این اثر کاهشی ترتینوئین بر میزان قندخون در مطالعه حاضر در راستای تحقیقاتی بوده که از ترتینوئین برای پیشگیری و درمان موش‌های NOD مبتلا به دیابت نوع ۱ استفاده شده است (۱۲).

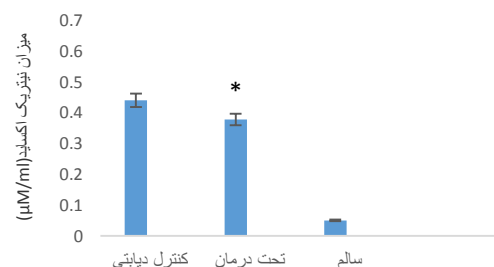
Tsuchiya و همکاران نشان داده اند که تجویز خوراکی ترتینوئین از طریق افزایش بیان گیرنده لپتین سبب افزایش حساسیت به انسولین در موش‌های C57BL/6 می‌گردد (۱۳). در مطالعه دیگر بر روی رده سلولی INS-1، مشاهده شد که ترتینوئین سبب افزایش آزادسازی انسولین می‌گردد. در این مطالعه اثر ریتینوئیک اسید به عنوان آگونیست RAR- γ , RXR و rosiglitazone به عنوان PPAR γ agonist، به دلیل داشتن اثر متقابل بر روی هم، به صورت همزمان و جداگانه بر میزان انسولین مورد بررسی قرار گرفت (۱۴) که این تحقیق در راستای نتایج مطالعه ما بود.

برای ارزیابی عملکرد سلول‌های بتا در این مطالعه، میزان انسولین پلاسما مورد ارزیابی قرار گرفت. سطح انسولین پلاسما در گروه MLDS (کنترل دیابتی) به طور چشمگیری در مقایسه با سایر گروه‌ها کاهش داشت. ترتینوئین مانع از کاهش سطح انسولین پلاسما ایجاد شده توسط MLDS شد که نشان از اثر پیشگیرانه ترتینوئین در تخریب سلول‌های B بود ($p=0/001$) (نمودار شماره ۲).



نمودار شماره ۲: تاثیر درمان با ترتینوئین بر میزان انسولین پلاسما (* نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ($p=0/001$) بین گروه دریافت کننده دارو و گروه کنترل دیابتی)

به دلیل این که نیتریک اکساید به عنوان ملکول افکتور نقش مهمی در تخریب سلول‌های بتا دارد، در این مطالعه میزان آن در مایع رویی محیط کشت سلول‌های طحالی سنجیده شد. همان‌گونه که نمودار شماره ۳ نشان می‌دهد، میزان نیتریک اکساید در گروه MLDS افزایش داشته است. در حالی که درمان با ترتینوئین سبب کاهش میزان نیتریک اکساید در گروه درمانی گردید ($p=0/001$) (نمودار شماره ۳).



نمودار شماره ۳: تاثیر درمان با ترتینوئین بر میزان نیتریک اکساید مایع رویی کشت طحالی (* نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ($p=0/001$) بین گروه دریافت کننده دارو و گروه کنترل دیابتی)

تحقیقات گذشته نشان می‌دهد سلول‌های Th1 با تولید سایتوکین‌های پیش التهابی از جمله IFN- γ ، TNF- α و IL-12، باعث فعال‌سازی ماکروفاژ و T سل‌های سایتوتوکسیک شده که مسبب تخریب سلول‌های β پانکراس می‌باشند. در حالی که IL-4 و IL-10 ترشح شده توسط سلول‌های Th-2 فعال شده، مانع تخریب سلول‌های β می‌شوند (۱۵). در سال‌های اخیر نشان داده شده که T سل‌ها تولیدکننده IL-17 (Th-17)، نقش مهمی در بسیاری از بیماری‌های خود ایمن از جمله مولتیپل اسکلروز، روماتوئید آرتریت و دیابت نوع ۱ را دارا می‌باشد. IL-17 سایتوکین پیش التهابی است که نقش آن در بیماری دیابت، القاء آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز و به دنبال آن آزادسازی نیتریک اکساید می‌گردد که این امر سبب تخریب سلول‌های β می‌شود (۱۶، ۱۷). نیتریک اکساید در شرایط طبیعی، توسط آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز نوع ۱ و ۳ به مقدار کمی تولید شده و در فعالیت‌های فیزیولوژی بدن شرکت می‌کند. در شرایط پاتولوژیک، مقدار زیادی نیتریک اکساید توسط آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز ۲ تولید شده و در سیستم دفاعی بدن شرکت می‌کند (۱۸، ۱۹). آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز (NOS) یک آنزیم همودایمر بوده و علی‌رغم سادگی ملکول نیتریک اکساید، دارای ساختمان پیچیده‌ای می‌باشد. آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز دارای سه ایزوفرم می‌باشد: Neuronal Nitric Oxide Synthase (nNOS) یا آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز ۱، Inducible Nitric Oxide Synthase (iNOS) یا آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز ۲ و Endothelial Nitric Oxide Synthase (eNOS) یا آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز ۳ (۲۰). سایتوکین‌ها از طریق تحریک آنزیم iNOS و تولید سطح بالایی از نیتریک اکساید، باعث اختلال در عملکرد و کاهش زنده بودن سلول‌های بتا که تولیدکننده انسولین هستند، می‌شود (۲۱). محرک‌هایی که سبب افزایش بیان آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز ۲ می‌گردند، عبارتند از TNF- α ، IL-1 β و IFN- γ (۲۲). این سایتوکاین‌ها در سلول‌های

جزایر لانگرهانس انسان و جوندگان، باعث تحریک رونویسی iNOS می‌شود. این آنزیم باعث تولید NO از ال-آرژنین می‌شود و تولید NO باعث مهار ترشح انسولین می‌گردد (۲۱). ماکروفاژها نقش اساسی در تنظیم بیان آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز ۲ (iNOS) در جزایر از طریق آزادسازی سایتوکاین‌هایی مانند TNF- α و IL-1 β ایفا می‌کنند (۱۹). سلول‌های آندوتلیال جزایر لانگرهانس به عنوان منبع اصلی نیتریک اکساید هستند و در طی گسترش دیابت خودایمن، باعث تخریب سلول‌های بتا می‌گردند (۲۳).

از مکانیسم‌های دیگر در تخریب سلول‌های بتا، القاء مرگ برنامه‌ریزی شده به وسیله گیرنده سطحی Fas (CD95/APO-1) و لیگاند اختصاصی آن یعنی FasL می‌باشد. گیرنده Fas بر روی سلول‌های بسیاری بیان می‌شود، ولی FasL بر روی تعداد محدودی سلول از جمله سلول‌های T فعال شده و سلول‌های NK بیان می‌گردد. سلول‌های بتا در حالت نرمال، گیرنده Fas را بیان نمی‌کنند، ولی مواجهه با سایتوکین IL-1 β ، باعث بیان آن بر روی سطح سلول‌های بتا می‌گردد (۲۴). علاوه بر این، تولید NO نیز در این امر دخیل است. در نتیجه یک استراتژی درمانی، استفاده از پاک‌کننده‌های رادیکال‌های آزاد (free radical scavengers) و آنتی‌اکسیدان‌ها برای جلوگیری از وقوع مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی مطرح می‌شود (۲۵).

اثر مهار تریپتوفان بر تولید نیتریک اکساید توسط ماکروفاژهای فعال شده پری‌توئن مشاهده شده است (۲۶). تاثیر داروی تریپتوفان (آل‌ترانس رتینوئیک اسید) بر کاهش میزان نیتریک اکساید در مدل بیماری خودایمن مولتیپل اسکلروزیس در موش (EAE) توسط ابطحی و همکاران نشان داده شده است (۲۷). مطالعات نشان داده‌اند که تجویز تریپتوفان به موش‌های دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین، سبب کاهش سطح سایتوکاین‌های پیش التهابی IL-17 و IFN- γ می‌گردد و هم‌چنین باعث افزایش سطح سایتوکاین‌های ضد التهابی IL-10 و

ترتینوئین نقش مهمی در کنترل و بهبود بیماری دیابت نوع ۱ از طریق کاهش سطح نیتریک اکساید و افزایش سطح انسولین پلاسما می تواند داشته باشد. در نهایت این که به نظر می رسد، افزودن آل ترانس رتینوئیک اسید به رژیم درمانی افراد مبتلا به دیابت خود ایمن، دارای اثرات سودمندی باشد.

سپاسگزاری

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

TGF- β می گردد (۲۸). در نتیجه کاهش تولید سایتوکین های پیش التهابی، بر میزان نیتریک اکساید تاثیر گذار است. نیتریک اکساید (در انسان و در جوندگان) ترشح انسولین را مهار کرده و منجر به تخریب سلول های بتا می گردد (۲۳). در این مطالعه نیز افزایش سطح انسولین پلاسما در گروه درمانی می تواند نشان از تاثیر پیشگیرانه ترتینوئین بر تخریب سلول های بتا باشد و از طرفی نیز با کاهش سطح نیتریک اکساید، اثر مهاری آن بر ترشح انسولین کاهش یافته باشد. از نتایج این مطالعه، این گونه به نظر می رسد که

References

1. Roep BO, Peakman M. Diabetogenic T lymphocytes in human type 1 diabetes. *Curr Opin Immunol* 2011; 23(6): 746-753.
2. Rabinovitch A, Suarez-Pinzon WL. Roles of cytokines in the pathogenesis and therapy of type 1 diabetes. *Cell Biochem Biophys* 2007; 48(2-3): 159-163.
3. Sayre LM, Perry G, Smith MA. Oxidative stress and neurotoxicity. *Chem Res Toxicol* 2008; 21(1): 172-188.
4. Pitocco D, Zaccardi F, Di Stasio E, Romitelli F, Santini SA, Zuppi C, et al. Oxidative stress, nitric oxide, and diabetes. *Rev Diabet Stud* 2010; 7(1): 15-25.
5. Pitocco D, Zaccardi F, Di Stasio E, Romitelli F, Santini SA, Zuppi C, et al. Oxidative stress, nitric oxide, and diabetes. *Rev Diabet Stud* 2010; 7(1): 15-25.
6. 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.
7. 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(3): 1018-1028.
8. Brinckerhoff CE, Coffey JW, Sullivan AC. Inflammation and collagenase production in rats with adjuvant arthritis reduced with 13-cis-retinoic acid. *Science* 1983; 221(4612): 756-758.
9. Amirshahrokhi M, Ghazi-Khansar M. Thalidomide attenuates multiple low-dose streptozotocin-induced diabetes in mice by inhibition of proinflammatory cytokines. *Cytokine* 2012; 60(2): 522-527.
10. Guevaraa I, Iwanejkoa J and Dembińska-Kieć A, Pankiewicz J, Wanat A, Anna P, et al. Determination of nitrite/nitrate in human biological material by the simple Griess reaction. *Clin Chim Acta* 1998; 274(2): 177-188.
11. Kolb H. Mouse models of insulin dependent diabetes: low-dose streptozotocin induced diabetes and non obese diabetic (NOD) mice. *Diabetes Metab Rev* 1987; 3(3): 751-778.
12. 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(5): 1216-1221.
13. Tsuchiya H, Ikeda Y, Ebata Y, Kojima CH, Katsuma R, Tsuruyama T, et al. Retinoids Ameliorate Insulin Resistance in a Leptin-Dependent Manner in Mice. *Hepatology* 2012; 56(4): 1319-1330.
 14. Blumentrath J, Neye H, Verspoh EJ. Effects of retinoids and thiazolidinediones on proliferation, insulin release insulin mRNA, GLUT 2 transporter protein and mRNA of INS-1 cells. *Cell Biochem Funct* 2001; 19(3): 159-169.
 15. Rabinovitch A, Suarez-Pinzon WL. Cytokines and their roles in pancreatic islet beta-cell destruction and insulin-dependent diabetes mellitus. *Biochem Pharmacol* 1998; 55(8): 1139-1149.
 16. Miljkovic D, Cvetkovic I, Momcilovic M, Maksimovic-Ivanic D, Stosic-Grujicic S, Trajkovic V. Interleukin-17 stimulates inducible nitric oxide synthase-dependent toxicity in mouse beta cells. *Cell Mol Life Sci* 2005; 62(22): 2658-2668.
 17. 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(3): 1959-1967.
 18. Nathan C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB J* 1992; 6(12): 3051-3064.
 19. Balon TW. Role of nitric oxide in contraction induced glucose transport. *Adv Exp Med Biol* 1998; 441: 87-95.
 20. Barberger MD, Olson LP, Houk KN. Mechanisms of peroxynitrite oxidations and rearrangements, The Theoretical perspective. *Chem Res Toxicol* 1998; 11(7): 710-711.
 21. Barberger MD, Olson LP, Houk KN. Mechanisms of peroxynitrite oxidations and rearrangements, The Theoretical perspective. *Chem Res Toxicol* 1998; 11(7): 710-711.
 22. Burgrin JP, Shabani M, Chakrvarthy S, Smith DJ. Nitric oxide synthesis is suppressed in steroid-impaired and diabetic wounds. *Wounds* 1995; 7(2): 48-57.
 23. Ignarro LG. Nitric Oxide: Biology and Pathobiology. San Diego, CA: Academic; 2000.
 24. Stassi G, Todaro M, Richiusa P, Giordano M, Mattina A, Sbriglia MS, et al. Expression of apoptosis-inducing CD95 (Fas/Apo-1) on human beta-cells sorted by flow-cytometry and cultured in vitro. *Transplant Proc* 1995; 27(6): 3271-3275.
 25. Zumsteg U, Frigerio S, Holländer G. Nitric Oxide Production and Fas Surface Expression Mediate Two Independent Pathways of Cytokine-Induced Murine β -Cell Damage. *DIABETES* 2000; 49(1): 39-47.
 26. Mehta K, McQueen T, Tucker S, Pandita R, Aggarwal B. Inhibition by all-trans-retinoic acid of tumor necrosis factor and nitric oxide production by peritoneal macrophages. *J Leukoc Biol*, 1994; 55(3): 336-342.
 27. Morvaridi A, Delirezh N, Hobbenaghi R, Abtahi Froushani M, Malekinejad. The effects of All-Trans Retinoic Acid on clinical symptoms, nitric oxide levels and total antioxidant capacity of plasma in mouse model of multiple sclerosis. *Razi Journal of Medical Sciences (RJMS)* 2013; 20(108): 11-19.
 28. Malekifard F, Delirezh N, Hobbenaghi R, Malekinejad H. Treatment of type 1 diabetic mice with All-trans retinoic acid by inhibition of proinflammatory cytokines. *Urmia Med J* 2014; 25(9): 784-790.