# بررسی اثر ضدقارچی آب انار (*Punica granutum* L.) در موش‌های صحرایی نر دیابتی آلوده شده توسط کاندیدا آلبیکنس


- **سعیده رئیس‌محمدی‌دهجی**: گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین- پیشوا
- **مریم عیدی***: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین- پیشوا
- **فاطمه نوربخش**: گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین- پیشوا


تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۵ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۵


## چکیده

**هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر آب انار با غلظت های ۲۰، ۵۰، ۱۰۰ و۲۰۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن بر سیستم ایمنی و بر رشد قارچ کاندیدا آلبیکنس (ATCC ۱۰۲۳۱) در موش‌های صحرایی مدل دیابتی شده توسط آلوکسان می‌باشد. موش‌های صحرایی توسط تزریق درون صفاقی آلوکسان (۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) دیابتی شدند. سپس حیوانات با خوراندن دوز عفونی کاندیدا آلبیکنس به‌میزان نیم مک فارلند به موش‌های صحرایی آلوده شدند. تیمار روزانه آب انار در غلظت‌های مختلف به‌مدت ۱۲روز انجام شده و نمونه‌گیری روزانه از دهان حیوانات انجام و روی محیط کشت قارچی سابرو دکستروز آگار، کشت داده و کلنی‌های قارچ شمارش شد. نتایج حاصل نشان داد که تیمار خوراکی آب انار موجب کاهش تعداد کلنی قارچ کاندیدا آلبیکنس در موش‌های صحرایی دیابتی شده و کاهش موثر تعداد کلنی‌های شمارش شده در روز سوم از تیمار آب انار مشاهده شد (p<۰/۰۰۱). هم‌چنین، اثر درمانی آب انار باعث افزایش تعداد گلبول سفید خون و لنفوسیت‌ها (p<۰/۰۰۱) و کاهش تعداد نوتروفیل‌ها در موش‌های دیابتی نسبت به گروه شاهد شد. بنابراین، آب انار باعث تقویت سیستم ایمنی و مانع از رشد قارچ کاندیدا آلبیکنس در موش‌های صحرایی دیابتی می‌شود.**


**کلمات کلیدی:** آب انار، دیابت، گلبول سفید، کاندیدا آلبیکنس، موش صحرایی



* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: maryameidi@gmail.com

download date: 12/16/2024
https://www.magiran.com/p1712310

## مقدمه

دیابت شیرین گروهی هتروژن از بیماری‌های متابولیک است که مشخصه آن‌ها افزایش مزمن قندخون و اختلال متابولیسم کربوهیدرات، چربی و پروتئین می‌باشد (Andreoli و همکاران، ۲۰۰۱). دیابت نوع ۲ معمولاً با دیگر مشکلات متابولیکی مانند مقاومت به انسولین، هیپرتری گلیسریدمی، فشارخون پایین، چاقی احشایی و ترشح تنظیم نشده آدیپونکتین همراه است که به‌عنوان سندرم متابولیک شناخته شده و یک ریسک فاکتور عمده بیماری‌های قلبی- عروقی محسوب می‌شود (Klein و همکاران، ۲۰۰۴). دیابت نوع ۲ یک بیماری فامیلی است و دلایل‌های متقاعد کننده‌ای در حمایت از این موضوع وجود دارد. اگر هر یک از والدین مبتلا به دیابت نوع ۲ باشند، خطر بروز بیماری در فرزندان ۲۰٪ بوده و اگر هر دو والد مبتلا باشند، خطر بروز بیماری به ۴۰٪ می‌رسد (Bennett، ۲۰۰۰).

دیابت نوع ۲ اختلال متابولیکی شایعی است که شیوع آن در جهان در حال افزایش است. آمار ابتلا به دیابت ملیتوس در سال ۲۰۱۱، در حدود ۳۶۶ میلیون نفر در کل جهان بوده است. پیش‌بینی می‌شود که این آمار تا سال ۲۰۳۰ به ۵۵۲ نفر برسد (Azimi-Nezhad و همکاران، ۲۰۰۸). شیوع دیابت در افراد بالای ۳۰ سال ایران بیش از ۱۴٪ گزارش شده است (دلاوری و همکاران، ۲۰۰۴). عفونت‌های قارچی دهان یکی از شایع‌ترین عفونت‌های فرصت‌طلب در افراد دیابتی است (Abu-Elteen و Abu-Alteen، ۱۹۹۸). دیابت ملیتوس یک بیماری مزمن است که به‌علت اختلالات به‌وجود آمده در این بیماران، آن‌ها را نسبت به برخی از عفونت‌ها مستعد می‌سازد. در این بیماران اختلالات دهانی مثل خشکی دهان (گزروستومیا)، اختلال چشایی (سیالوز)، پلاک دهانی و واکنش‌های لیکنوئید، بیماری‌های لثه‌ای و پریودونتال، پوسیدگی‌دندان، تغییرات زبان و کاندیدوز دهانی شایع است (Belazi و همکاران، ۱۹۹۸). گزارش‌های مکرری دال بر افزایش شیوع گونه‌های کاندیدایی در حفره دهان فرد دیابتی نسبت به غیردیابتی‌ها وجود دارد (Albrecht و همکاران، ۱۹۹۲). استفاده از دندان مصنوعی نیز شانس کاندیدیازیس را در افراد دیابتی و غیردیابتی افزایش می‌دهد (Abu-Elteen و Abu-Alteen، ۱۹۹۸). رایج‌ترین شکل عفونی کاندیدیازیس، اینترتریگو، پارونیشیا و انیکومایکوزیس است. با وجود طبیعی بودن غلظت آنتی‌بادی سرمی سیستم ایمنی هومورال در افراد دیابتی، اختلاف در سیستم ایمنی اولیه (ذاتی) بین افراد سالم و دیابتی مشاهده شده است. کاهش و تخریب شیمیوتاکسی، کاهش فاگوسیتوز، افزایش چسبندگی نوتروفیل‌ها به اندوتلیوم رگی، کاهش دیاپدز، تشکیل اگزودای سلول‌های پلی مورفونوکلئر و آسیب اعمال مونوسیت ها و ماکروفاژها از دیگر نقص‌های ایمنی در این افراد است (Geerling و Hoepelman، ۱۹۹۹). هم‌چنین، در ایمنی سلولی اکتسابی به‌مقدار ناچیزی مهار پاسخ ارتشاح لنفوسیت‌ها نسبت به محرک‌های مختلف در افراد دیابتیک ثابت شده است. در ایمنی ذاتی هومورال بیماران دیابتیک، کاهش فاکتور ۴ کمپلمان و کاهش تولید سایتوکاین بعد از تحریک مشاهده می‌شود. چسبندگی میکروارگانیسم‌ها به سلول‌های دیابتیک در آسیب و عیار بالای عفونت در بیماران دیابتی با اهمیت است. با توجه به این‌که با تنظیم قندخون و کنترل بیماری دیابت، نقص‌های یادشده اصلاح می‌شود، ولی به حد طبیعی نمی‌رسد.

بیماران دیابتی به‌علت نقص ایمنی ناشی از دیابت، بیش‌تر دچار عفونت می‌شوند. چنان‌چه عفونت‌های ادراری، تنفسی (شامل توبرکلوزیس)، کله‌سیستیت، فاشئیت نکروزان، زخم‌های‌پا، ایدز و هپاتیت همواره در بیماران دیابتی شیوع بیش‌تری داشته است. ضعف سیستم ایمنی ناشی از اثرات متعدد و چندگانه دیابت و عوارض ناشی از آن است. افزایش قندخون در بیماری دیابت موجب اختلال عملکرد سلول‌های فاگوسیتی (کموتاکسی، مهاجرت سلول‌های ایمنی و تجمع آن‌ها در محل التهاب) می‌شود. علاوه بر این، در دیابت تیپ یک، نقص مسیر کمپلمان و کاهش تعداد لنفوسیت‌های T، در یک چهارم موارد دیده شده است. از سوی دیگر، بروز عفونت در بیماران دیابتی با ایجاد اختلالات هورمونی و تغییرات سایتوکینی باعث جلوگیری از انتشار انسولین شده و با به‌وجود آوردن هیپرگلیسمی در بیمار، کتواسیدوز ایجاد می‌نماید (Bouse و همکاران، ۲۰۰۳). یکی از عوامل سیستم ایمنی که امروزه توجه خاصی به عملکرد آن‌ها می‌شود، سایتوکاین‌ها و گیرنده‌های آن‌ها می‌باشند. در مطالعات مختلف، اختلال سایتوکاین‌ها و برهم خوردن تعادل سایتوکاینی را در ایجاد دیابت نوع۲ دخیل دانسته‌اند (Bouse و همکاران، ۲۰۰۳؛ Mavridis و همکاران، ۲۰۰۳).

مطالعات نشان می‌دهند بیماران مبتلا به دیابت در توازن بین سایتوکاین‌ها دچار اختلال نسبی می‌باشند. بنابراین، به‌نظر می‌رسد این دسته از بیماران در قسمتی از الگوی سایتوکینی برای توازن تولید سایتوکاین دچار نقص می‌باشند. سلول‌های مونوسیت بیماران دیابتی نوع ۲ تمایل بیش‌تری به تولید سایتوکاین التهابی دارند (Giulietti و همکاران، ۲۰۰۷). اینترفرون گاما سایتوکاینی است که عمدتاً توسط لنفوسیت‌های T و سلول‌های کشنده طبیعی تولید و ترشح می‌شوند (Tsiavou و همکاران، ۲۰۰۵). محققین علم ایمنی‌شناسی بر این عقیده هستند که اینترفرون گاما نقطه کلیدی برای جهت تنظیم مکانیسم‌های مربوط به بیماری‌های خود ایمن می‌باشد (Cooke، ۲۰۰۶).

خانواده کاندیدا، مخمرها و قارچ‌های تک‌سلولی فاقد رشته هستند که به شکل کروی یا بیضوی دیده می‌شوند و از طریق جوانه زدن تکثیر می‌یابند. برخی دیگر از گونه‌های مخمری قادرند با روش تولیدمثل جنسی تکثیر یابند. تکثیر سلول‌های مخمری روی



download date: 12/16/2024
https://www.magiran.com/p1712310

محیط کشت، ایجاد کلن‌هایی شبیه به کلنی باکتری می‌نماید (Malekzadeh و Shahamat، ۲۰۰۷).

مخمرها برای بشر دارای مزایا و معایب بسیاری هستند. با توجه به فواید آن‌ها، امروزه یکی از معضلات پزشکی، حضور مخمرهایی است که با تشکیل ساختارهای بیوفیلم منجر به عفونت‌های بیمارستانی می‌شوند. از بیماری‌زاترین این مخمرها جنس کاندیدا می‌باشد. عفونت‌های مرتبط با این نوع مخمر، به کاندیدیازیس معروف است که طیف وسیعی از عفونت‌های بیمارستانی را شامل می‌شود (Turrini و Sant، ۲۰۰۲). رده‌های کاندیدا به‌خوبی شناسایی شده که همسفره میکروارگانسیم‌های موجود حفره دهان در ۲۵ درصد بالغین سالم و ۵۰ درصد بیماران بیمارستانی می‌باشند. ازجمله عفونت‌های شایع در بیماران مبتلا به دیابت نوع دو، کاندیدیازیس دهانی است که مهم‌ترین گونه کاندیدیایی با فراوانی ۳۸ درصد توسط کاندیدا آلبیکنس گزارش شده است (Mubarak و همکاران، ۲۰۱۳). گونه‌های کاندیدا چهارمین عامل آلودگی خونی و عامل ۵۰ درصد کاندیدمیا[۱] و عامل ۸۰ درصد کاندیدیازیس اروفارنژیال[۲] و واژینیت کاندیدیایی هستند. جنس کاندیدا بیش از ۲۰۰ گونه دارد، اما تعداد اندکی از آن‌ها به‌عنوان عامل عفونت گزارش شده‌اند که مهم‌ترین آن‌ها کاندیدا آلبیکنس است (Sullivan و همکاران، ۲۰۰۴). شایع‌ترین گونه‌های کاندیدا که منجر به کاندیدیازیس می‌شود، به‌غیر از کاندیدا آلبیکنس شامل کاندیدا کروزه‌ای[۳]، کاندیدا گیلرموندی[۴]، کاندیدا تروپیکالیس[۵]، کاندیدا پاراپسیلوزیس[۶]، کاندیدا دابلیننسیس[۷]، کاندیدا کفیر[۸] و کاندیدا گلابراتا[۹] است.

کاندیدیازیز پوستی نوعی از عفونت کاندیدایی است که در افراد دچار دیابت شیرین رخ می‌دهد که ضایعات، مرطوب و به‌صورت لکه‌های قرمز رنگ و خارش‌دار بوده که گاهی به‌همراه آن‌ها ضایعات پیرامونی نیز در بخش‌های سالم پوست دیده می‌شوند (Noumi و همکاران، ۲۰۱۰؛Panacek و همکاران، ۲۰۰۹؛ Kuriyama و همکاران، ۲۰۰۵). کاندیدیازیس ازجمله شایع‌ترین و گسترده‌ترین بیماری‌های قارچی انسان است که در سال‌های اخیر در حد زیادی افزایش یافته است (Hay، ۱۹۹۹). این قارچ در بدن فقط به‌صورت کلنی و در تعادل با سایر میکروارگانیسم‌ها زندگی می‌کند و به‌صورت ساپروفیت می‌باشد. این تعادل را عوامل مختلفی به‌هم‌زده و منجر به بروز بیماری علامت‌دار پیش‌رونده فعال می‌گردد (Naeini و همکاران، ۲۰۰۹).

اکنون به یاری پژوهش‌های ژنتیکی، مولکولی و بر اساس تازه‌ترین آمار و ارقامی که به‌دست آمده، گونه‌های مختلف کاندیدا به‌عنوان مهم‌ترین بیماری‌زا قارچی در افراد مبتلا به اختلال دستگاه ایمنی شناخته شده است (Hidalgo و Vazques، ۲۰۱۰).

انار از خانواده Punicaceae با نام علمی *Punica granatum* L. در بسیاری از نواحی دنیا کاشته می‌شود و قسمت‌های مختلف آن دارای ترکیبات مختلفی نظیر تانن‌ها از جمله پونیکالاژین و موادی مانند اسیدپونیکوتانیک می‌باشد. این میوه غنی از ویتامین‌هایی مانند C، B۱ و B۲ و مواد معدنی نظیر سدیم، فسفر، آهن، منیزیم، پتاسیم، ترکیبات قندی ساکارز، گلوکز، فروکتوز و نیز اسیدهای مالیک و سیتریک می باشد (Caroline، ۲۰۱۱؛ Cotron و همکاران، ۱۹۸۹). آب انار تازه شامل ۸۵٪ آب، ۱۰٪ قند و ۱/۵ درصد پکتین، اسید آسکوربیک و ترکیبات فنولی می‌باشد. پلی‌فنل‌ها گروه مهمی از این ترکیبات شیمیایی را تشکیل می‌دهند و تانن‌ها به‌خصوص آنتوسیانین، الاژیک اسید و پونیکلاژین از گروه پلی‌فنل‌ها می‌باشند (Vicente و همکاران، ۲۰۰۲). در مورد ترکیب‌های فنولیک و به‌خصوص پونیکالاژین به‌دست آمده از پوست انار گزارش‌هایی وجود دارد که بیانگر خاصیت ضدمیکروبی آن در برابر قارچ کاندیدا آلبیکنس می‌باشد. خاصیت ضدقارچی عصاره حاصل از پوست میوه انار باتوجه به نوع میکروارگانیسم‌های مورد آزمایش گزارش شده است. به‌عنوان مثال عصاره انار از رشد *Penicillum citrinum* برای هشت روز و از رشد *Aspergillus ochraceus* به‌مدت سه روز جلوگیری می‌کند (سرخوش و همکاران، ۱۳۸۶؛ Burapadaja و Bunchoo، ۱۹۹۵). صادق پور و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که تیمار خوراکی عصاره هیدرومتانولی پوست میوه انار موجب بهبود موثر عفونت قارچی حاصل از کاندیدا آلبیکنس در موش‌های صحرایی دیابتی شده و قدرت اثر آن مشابه داروی ایتراکونازول می‌باشد. ولی مکانیسم اثر آن مورد تحقیق قرار نگرفته است. لذا در پژوهش حاضر اثر ضدقارچی آب انار بر رشد قارچ کاندیدا آلبیکنس و نیز سیستم ایمنی موش‌های دیابتی مورد بررسی قرار می‌گیرد.

## مواد و روش‌ها

**حیوانات:** در این بررسی ابتدا ۳۰سر موش صحرایی نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم از دانشکده دامپزشکی تهران قسمت پرورش

[۱] candidemia
[۲] candidiasis-oropharyngeal
[۳] *C. krusei*
[۴] *C. guilliermondi*
[۵] *C. tropicalis*
[۶] *C. parapsilosis*
[۷] *C. dublinien*
[۸] *C. kefyr*
[۹] *C. glabrata*



https://www.magiran.com/p1712310 download date: 12/16/2024

حیوانات آزمایشگاهی خریداری گردیده و در بخش نگه‌داری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی تهران در شرایط مطلوب دمایی ۲۰ الی ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت کافی ۶۰-۵۰ درصد در قفس‌های نگه‌داری رت قرار داده شدند. حیوانات به آب و مواد غذایی کافی و به میزان مناسب دسترسی داشتند.

**القاء دیابت:** موش‌های صحرایی ابتدا توزین و سپس با تزریق درون صفاقی آلوکسان مونوهیدرات(Sigma) در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن دیابتی شدند. پس از گذشت مدت ۵-۳ روز علائم دیابت مانند پرنوشی، کاهش وزن، افزایش حجم و پرادراری ظاهر شد. به‌منظور اطمینان از القای دیابت، گلوکز خون اندازه‌گیری شد. قند خون ناشتای بالاتر از ۲۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر نشان‌دهنده دیابت قندی در حیوانات بود.

**آلوده کردن حیوانات به قارچ کاندیدا آلبیکنس:** ابتدا قارچ کاندیدا آلبیکنس به شماره استاندارد ATCC۱۰۲۳۱ روی پلیت‌های حاوی سابورودکستروزآگار (Sabourau dextrose Agar) و کلرامفنیکل (Chloramphenicol) کشت داده و پس از قرار دادن در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸-۲۴ ساعت رشد کرده و سلول‌های تازه قارچی به‌دست آمد. یک میلی‌لیتر از قارچی که ۲۴ ساعت قبل از آزمایش در محیط سابورو دکستروز آگار کشت داده شده و به‌حالت فعال درآمده بود (غلظتی معادل نیم مک فارلند که یک غلظت استاندارد است و معادل ۱/۵×۱۰۸ cfu/ml است) به تمام حیوانات مورد بررسی خورانده شد تا بدین‌ترتیب مبتلا به عفونت قارچی شوند. پس از گذشت ۴۸ تا ۷۲ ساعت از عفونی شدن تجربی موش‌ها (آلودگی با کاندیدا) با گرفتن سواپ دهانی و کشت دادن به روش کشت سطحی (Streak plate Method) روی محیط کشت کروم آگار کاندیدا و سابورودکستروز آگار (SDA) حاوی کرامفنیکل تازه تهیه شده، میکروارگانیسم غالب کاندیدا آلبیکنس دیده شد و عفونت تجربی بدین‌وسیله تایید گردید. علاوه بر این، ظهور پلاک‌های سفید و اسکار در دهان حیوانات نیز مشاهده شد.

**تهیه ماده گیاهی:** میوه انار از اطراف شهر راوند کاشان جمع‌آوری و آب آن با دستگاه آبمیوه‌گیری گرفته شد. سپس غلظت‌های ۲۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی لیتر بر کیلوگرم از آن تهیه شد.

**گروه‌های مورد مطالعه:** گروه‌های مورد مطالعه عبارت بودند از: گروه ۱: موش‌های صحرایی دیابتی که توسط قارچ کاندیدا آلبیکنس عفونی شده، ولی آب انار دریافت نکردند (n=۶).

گروه ۲، ۳، ۴و ۵: موش‌های صحرایی دیابتی که توسط قارچ کاندیدا آلبیکنس عفونی شده و آب انار را در غلظت‌های ۲۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند (n=۶).

**نمونه‌گیری:** به‌منظور بررسی اثر درمانی آب انار در روزهای صفر تا دوازدهم پس از شروع تیمار آب انار روزانه از دهان حیوانات با سوآپ استریل مرطوب نمونه‌برداری شده و زیر هود لامینار کشت داده شد. سپس تعداد کلنی‌های رشد یافته در سطح پلیت با دستگاه کلنی کانتر شمارش انجام شد. بعد از این‌که رشد قارچ در تمام دوزها صفر شد، موش‌ها توسط اتر بی‌هوش شدند و از قلب آن‌ها به‌مقدار ۳-۲ سی سی خون گرفته شد و در لوله‌های دارای ماده ضدانعقاد ریخته شده و یک گسترش لامی از هر نمونه تهیه و رنگ‌آمیزی گیمسا انجام شد و شمارش گلبول‌های سفید انجام شد.

**آنالیز آماری:** تجزیه و تحلیل داده‌ها در این تحقیق به روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و آزمون تعقیبی توکی صورت گرفت. داده‌ها به‌صورت mean± S.E.M نشان داده شدند.

## نتایج

اثر تیمار خوراکی آب انار در غلظت‌های ۲۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم بر رشد قارچ کاندیدا آبیکنس در موش‌های آلوده در روزهای صفر تا ۱۲ بعد از شروع تیمار بررسی گردید و با نتایج گروه کنترل آلوده به قارچ مقایسه شد. نتایج نشان داد در روز صفر یا قبل از شروع تیمار آب انار تعداد کلنی کاندیدا آلبیکنس در محیط کشت غیرقابل شمارش بود. در روز سوم دوره، مصرف آب انار در غلظت ۲۰۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم موجب کاهش معنی‌دار تعداد کلنی‌های قارچ در حیوانات تیمار شده گردید و در روز ششم موجب توقف رشد قارچ شد. مصرف آب انار در همه غلظت‌های ۲۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ موجب توقف رشد قارچ در دیابتی دیابتی آلوده به قارچ شد که این تاثیر وابسته به دوز و زمان تیمار بود (جدول ۱).

هم‌چنین، تیمار خوراکی آب انار در غلظت‌های ۲۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم به‌مدت ۱۲ روز موجب افزایش معنی‌دار تعداد گلبول‌های سفید و تعداد لنفوسیت‌ها و کاهش معنی‌دار تعداد نوتروفیل‌ها در هر میلی‌متر مکعب خون در موش‌های تیمار شده در مقایسه با گروه کنترل دیابتی شد (p<۰/۰۰۱)(جدول ۲). این اثر وابسته به دوز بود.

۱۷/۸۷ ۱۲/۴۵ ۱۲/۲۲ ۱۰/۴۷ ۵/۱۳

download date: 12/16/2024
https://www.magiran.com/p1712310

**جدول ۱ : اثر تیمار خوراکی آب انار در غلظت‌های ۲۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم بر تعداد کلنی قارچ کاندیدا البیکنس در روزهای۱۲-۰**

| روز | شاهد | آب انار (میلی لیتر بر کیلوگرم) ۲۰ | ۵۰ | ۱۰۰ | ۲۰۰ |
|---|---|---|---|---|---|
| ۰ | >۱۰۵ | >۱۰۵ | >۱۰۵ | >۱۰۵ | >۱۰۵ |
| ۱ | >۱۰۵ | >۱۰۵ | >۱۰۵ | >۱۰۵ | >۱۰۵ |
| ۲ | >۱۰۵ | >۱۰۵ | >۱۰۵ | >۱۰۵ | >۱۰۵ |
| ۳ | >۱۰۵ | >۱۰۵ | >۱۰۵ | >۱۰۵ | ***۶۲/۱۶ ± ۱/۵ |
| ۴ | >۱۰۵ | >۱۰۵ | ***۸۰/۱۶ ± ۲/۶ | ***۷۲ ± ۲/۱ | ***۳۰ ± ۱/۴ |
| ۵ | >۱۰۵ | >۱۰۵ | ***۴۲/۸۳ ± ۱/۴ | ***۳۲ ± ۱/۴ | ***۸/۵ ± ۰/۹ |
| ۶ | >۱۰۵ | >۱۰۵ | ***۲۸/۶۷ ± ۱/۰ | ***۱۹/۳ ± ۱/۴ | ***۰ |
| ۷ | >۱۰۵ | ***۷۰/۶۷ ± ۳/۱ | ***۱۵/۸۳ ± ۰/۹۸ | ***۹/۱۷ ± ۰/۹۸ | ***۰ |
| ۸ | >۱۰۵ | ***۳۸/۶۷ ± ۲/۹ | ***۸/۶۷ ± ۱/۰۲ | ***۴/۶۷ ± ۰/۷۷ | ***۰ |
| ۹ | >۱۰۵ | ***۲۹/۶۷ ± ۱/۵ | ***۰ | ***۰ | ***۰ |
| ۱۰ | >۱۰۵ | ***۱۷/۵ ± ۰/۹۲ | ***۰ | ***۰ | ***۰ |
| ۱۱ | >۱۰۵ | ***۷/۶۷ ± ۱/۲ | ***۰ | ***۰ | ***۰ |
| ۱۲ | >۱۰۵ | ***۰ | ***۰ | ***۰ | ***۰ |

*** اختلاف از گروه شاهد را نشان می‌دهد (P<۰/۰۰۱).

**جدول ۲: اثر تیمار خوراکی آب انار در غلظت‌های ۲۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم بر تعداد گلبول‌های سفید، لنفوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها در موش‌های صحرایی دیابتی آلوده شده توسط کاندیدا البیکنس**

| تعداد (در هر میکرولیتر خون) | شاهد | آب انار (میلی‌لیتر بر کیلوگرم) ۲۰ | ۵۰ | ۱۰۰ | ۲۰۰ |
|---|---|---|---|---|---|
| گلبول‌های سفید | ۵/۱۳ ± ۴/۶ | ***۱۰/۴۷ ± ۲/۶ | ***۱۲/۲۲ ± ۲/۸ | ***۱۲/۴۵ ± ۱/۹ | ***۱۷/۸۷ ± ۲/۸ |
| لنفوسیت‌ها | ۳۱/۸۳±۳/۸۸ | ***۵۳/۶۷±۲/۰۸ | ***۶۱/۱۷ ±۲/۲۷ | ۷۶***/۵±۱/۵۲ | ***۹۱/۳± ۲/۰۴ |
| نوتروفیل‌ها | ۵۱/۸۳±۷/۱۳ | ***۱۷±۰/۹۷ | ***۱۲/۵±۰/۸ | ***۱۰/۱۷ ±۰/۵ | ***۷/۶۷±۰/۷۲ |

*** اختلاف از گروه شاهد را نشان می‌دهد (P<۰/۰۰۱).

## بحث

دیابت یک بیماری متابولیک همراه با افزایش قندخون است که به‌دلیل کاهش ترشح انسولین از غده لوزالمعده یا مقاومت به انسولین و یا هر دو همراه با افزایش تولید گلوکز از کبد ایجاد می‌شود (American Diabetes Association، ۲۰۰۴).افزایش مزمن قند خون در دراز مدت منجر به صدمه اندام‌های مختلف از جمله سیستم قلبی عروقی، سیستم عصبی و در نهایت اختلال در کارکرد آن‌ها می‌گردد (Moon و Back، ۲۰۰۱). وجود غلظت بالای گلوکز بزاقی همراه با ترشح کم بزاق می‌تواند دلیلی باشد که بیمار دیابتی را مستعد ابتلا به کاندیدیازیس می‌کند. این وضعیت ممکن است شانس رشد قارچ را افزایش دهد (Borg Andersson و همکاران، ۱۹۹۸).تحقیقات اخیر نشان داده که سلول‌های اپیتلیالی دهان بیماران دیابتی چسبندگی بیش‌تری نسبت به گونه‌های کاندیدا از به اشخاص غیردیابتی دارند (Greenspan، ۱۹۹۶).

از سوی دیگر، عملکرد نوتروفیل‌ها نیز در دیابت دچار اختلال شده و به گسترش کاندیدیازیس دهانی در بیماران دیابتی کمک می‌کند (Lamey و همکاران، ۱۹۹۲). ایمنی هومورال در برابر عفونت کاندیدا آلبیکنس نقش به‌سزایی دارد. آنتی‌بادی‌ها با اپسونیزه کردن سلول‌هایی که کاندیدا را بلعیده‌اند، این کار را انجام می‌دهند (Cheng و همکاران، ۲۰۱۲). فعال شدن سلول‌های B و T نیز احتمالاً باعث آزاد شدن سایتوکاین و اینترلوکین می‌شود که به‌صورت غیرمستقیم باعث تحریک سیستم ایمنی می‌گردد (Voelz و همکاران، ۲۰۰۹).



download date: 12/16/2024
https://www.magiran.com/p1712310

نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها در برابر کاندیداآلبیکنس نقش اصلی را به عهده دارند و از طریق مکانیسم‌های اکسیداتیو و غیراکسیداتیو در دفاع شرکت می‌کنند، حذف کاندیداآلبیکنس از بافت به حضور پلی مورفونوکلئرها مربوط است و تخریب ارگانیسم به وسیله هردو راه میلوپراکسیداز و پراکسیداز هیدروژنی انجام می‌گیرد، ماکروفاژها هم از طریق تولید واسطه‌های اکسیژنی و نیتروژنی فعال قادر به انهدام کاندیدا آلبیکنس هستند (Geerling و Hoepelman، ۱۹۹۹). در تحقیق حاضر کاهش تعداد نوتروفیل‌ها نسبت به گروه شاهد آلوده پس از تیمار خوراکی آب انار علامت خوبی بوده است، زیرا طبق نتایج به‌دست آمده در هنگام عفونت قارچی تعداد نوتروفیل‌ها در بدن موش‌های آلوده بالا رفته و این مکانیسم جهت مبارزه با عفونت قارچی می‌باشد، پس از تیمار، آب انار کمک شایانی به سیستم ایمنی جهت مبارزه با عفونت قارچی کرده و عفونت به مرور زمان بهبود یافته و در این‌صورت میزان نوتروفیل‌ها کاهش یافته و به‌حالت طبیعی خود باز گشته است و این نشانه‌ای از تاثیر آب انار در تقویت سیستم ایمنی می‌باشد.

در دهه اخیر استفاده از مشتقات گیاهی، هم‌چنین درمان‌های پزشکی جایگزین توجه زیادی را به خود جلب کرده است (Pina-Vaz و همکاران، ۲۰۰۴). بررسی فرآورده‌های طبیعی فعال علیه گونه‌های کاندیدا به‌منظور درمان عفونت‌های دهانی ناشی از این قارچ در ۱۰ سال اخیر با تحقیق روی گونه‌های گیاهی به‌طور قابل توجهی افزایش یافته و فرآورده‌های طبیعی مشتق از گیاهان احتمالاً به‌صورت بالقوه منجر به پیدایش ترکیبات جدید خواهند شد که می‌توانند مانع رشد قارچ‌ها شوند (Noumi و همکاران، ۲۰۱۰). نتایج تحقیق حاضر نشان داد تیمار خوراکی آب انار موجب مهار رشد قارچ کاندیدا آلبیکنس در موش‌های صحرایی دیابتی می‌گردد. طبق تحقیقات و گزارش‌هایی که در مقدمه ذکر شد، به‌نظر می‌رسد که ترکیب‌های فنولیک و به‌خصوص پونیکالاژین به‌دست آمده از انار، دارای خاصیت ضدقارچی بیش‌تری در شرایط in vitro در برابر قارچ کاندیدا آلبیکنس می‌باشند.

Belazi (۱۹۹۸) با بررسی و گزارش‌های مکرر نشان داد که شیوع عفونت‌های کاندیدایی در حفره دهان دیابتی‌ها نسبت به غیردیابتی‌ها بیش‌تر است. عقیده عمومی بر این است که استعداد ابتلا به عفونت در افراد دیابتیک بیش‌تر از افراد سالم است و این عفونت‌ها در این گروه خط سیر پیچیده‌تری داشته و میزان شیوع آن با اندازه گلوکز پلاسما در ارتباط می‌باشد. با توجه به موارد فوق الذکر و نتایج آزمایشات انجام شده گیاه انار دارای خواص ضدباکتریایی و ضدقارچی می‌باشد و از این نظر بر علیه طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها اثرات قابل توجهی داشته باشد. میزان اثر ضدمیکروبی این گیاه در گونه‌های مختلف از لحاظ قدرت و طیف اثر متفاوت است. هم‌چنین نحوه استخراج، گونه گیاه، موقعیت جغرافیایی، استرس‌های وارد شده به گیاه، تفاوت‌های درون گونه‌ای بر میزان و نوع ترکیبات شیمیایی گیاه موثر می‌باشند. در توافق با نتایج حاضر، Salehi-Surmaghi (۲۰۰۶) بیان کرده که انار، گیاه شناخته شده‌ای در طب قدیم است و اثرات مختلف آن شناخته و مشخص شده است، به‌طوری‌که تمدن‌های کهن مصر، هند، چین و یونان این گیاه دارویی را شناخته بودند. مهم‌ترین اثراتی که برای انار در کتب سنتی عنوان شده، خاصیت قابض، ضدانگل، ضدسرطان، ضددیابت، ضدقارچی و ضدباکتری آن است. Dhayan و Benny (۲۰۱۳) با بررسی عصاره متانولی انار که دارای فعالیت وسیع‌الطیف ضدمیکروبی است نشان داد که این گیاه در برابر ۱۵۹ نوع باکتری مولد عفونت ادراری جدا شده از بیماران با سنین و جنسیت متفاوت و نیز در برابر چندین نوع باکتری مقاوم نسبت به داروها بسیار موثر عمل می‌نماید. Rustaiyan (۲۰۱۳) با بررسی فعالیت فنولیک در انار در مناطق مختلف ایران از شهرهای گوناگون نظیر: یزد، کاشان، ساوه و ورامین نشان داد که مقدار فنول موجود در این میوه متناسب با منطقه آب و هوایی مختلف و متغیر است. این ماده موثر در انار منطقه راوند کاشان بیش‌تر از از ورامین بود و محدوده جغرافیایی یزد ترکیب موثره بیش‌تری نسبت به انار منطقه ساوه را داراست. Vorvuthikunchai و همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند عصاره الکلی پوست انار را دارای خاصیت ضدمیکروبی قوی علیه باکتری اشرشیاکولی است و مهم‌ترین ترکیبات این عصاره را شامل فلاونوئیدها، استرول‌ها، تری‌ترپن‌ها، فنل‌ها و تانن‌ها معرفی کردند. در نتایج تحقیقات Dughari و Obidah (۲۰۰۸) مشخص گردید ppm ۵۰ از عصاره متانولی پوست ساقه انار می‌تواند به‌صورت کامل جوانه‌زنی اسپور طیف وسیعی از قارچ‌ها را متوقف کند. Nasr و همکاران (۱۹۹۶) گزارش کردند قسمت‌های مختلف انار مانند پوست میوه و برگ‌های آن حاوی مواد فنولیکی مختلفی می‌باشد که ایجاد خاصیت ضدمیکروبی در عصاره گیاه را می نمایند. Kim و همکاران (۲۰۰۲) پوست انار را منبع غنی از آنتی‌اکسیدان‌ها و مواد فنولیکی دانستند. در واقع فعالیت آنتی‌اکسیدانی انار را به حضور مواد فنولیک آن به‌خصوص الاژیک اسید و پونیکالاژین نسبت می‌دهند.

نتایج تحقیق حاضر تاییدکننده کاربرد سنتی پوست میوه انار برای درمان عفونت‌های قارچی در بیماران دیابتی است و کاربرد ضدمیکروبی عصاره انار از این جهت حائز اهمیت است و نیز تحقیق حاضر ثابت کننده اثر تقویتی آب انار بر سیستم ایمنی در مواقع مواجهه با عفونت های قارچی می‌باشد.



https://www.magiran.com/p1712310 download date: 12/16/2024

## تشکر و قدردانی

نتایج پژوهش حاضر مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین- پیشوا می باشد. از زحمات و همکاری‌ها و رهنمودهای بی‌دریغ اساتید بزرگوار و فرهیخته دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین- پیشوا و همکاران محترم دانشکده علوم تخصصی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران که با کمک و رهنمودهای ارزنده‌شان امکان انجام این تحقیق را میسر نمودند، قدردانی می‌گردد.

## منابع

۱. **سرخوش، ع.؛ زمانی، ذ.ا.؛ فتاحی‌مقدم، م.ر.؛ قربانی‌قوژدی، ح. و هادیان, ج., ۱۳۸۶.** مروری بر خصوصیات دارویی فارماکولوژیکی انار.گیاهان دارویی. سال ۶، شماره ۲، صفحات ۱۳ تا ۲۴.

۲. **صادق‌پور, م.؛ عیدی,م. و نوربخش, ف.,۱۳۹۴.** بررسی اثر عصاره هیدرومتانولی پوست انار بر رشد قارچ کاندیدا آلبیکنس در موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط آلوکسان. مجله پاتوبیولوژی مقایسه‌ای. دوره ۱۲، صفحات ۱۵۹۵ تا ۱۶۰۰.

۳. **Abu-Elteen, K.H. and Abu-Alteen, R.M., ۱۹۹۸.** The prevalence of *Candida albicans* populations in the mouths of complete denture wearers. New Microbiol. Vol. ۲۱, pp: ۴۱-۴۸.

۴. **Albrecht, M.; Banoczy, J.; Dinya, E. and Tamas, G.J., ۱۹۹۲.** Occurrence of oral leukoplakia and lichen planus in diabetes mellitus. J Oral Pathol Med. Vol., ۲۱, pp: ۳۶۴-۳۶۶.

۵. **American Diabetes Association. ۲۰۰۴.** Diagnosis and classification of diabetes care. Vol. ۱, pp: s۵-s۱۰.

۶. **Andreoli, T.E.; Carpenter, C.C.J.; Griggs, R. and Losscalzo, J., ۲۰۰۱.** CECIL Essentials of medicine translated by: Ghazi-Jahani B. Tehran: Golban Medical Publishing, pp: ۵.

۷. **Azimi-Nezhad, M.; Ghayour-Mobarhan, M.; Parizadeh, M.R.; Safarian, M.; Esmaeili, H. and Parizadeh, S.M., ۲۰۰۸.** Prevalence of type ۲ diabetes mellitus in Iran and its relationship with gender, urbanization, education, marital status and occupation. Singapore Med J. Vol. ۴۹, pp: ۵۷۱-۵۷۶.

۸. **Belazi, M.A.; Galli-Tsinopoulou, A.; Drakoulakos, D.; Fleva, A. and Papanayiotou, P.H., ۱۹۹۸.** Salivary alterations in insulin- dependent diabetes mellitus. Int J Paediatr Dent. Vol. ۸, pp: ۲۹-۳۳.

۹. **Bennett, P.H., ۲۰۰۰.** Epidemiology of type ۲ diabetes mellitus. In: Leroit D, Taylor SI, Olefsky JM. Diabete Mellitus: a fundamental and clinical text.USA: Lippincott Williams and Wilkins.

۱۰. **Borg Andersson, A.; Birkhed, D.; Berntorp, K.; Lindgarde, F. and Matsson, L., ۱۹۹۸.** Glucose concentration in parotid saliva after glucose/food intake in individuals with glucose intolerance and diabetes mellitus. Eur. J. Oral Sci. Vol. ۱۰۶, pp: ۹۳۱.

۱۱. **Bouse, J.B.; Polonsky, K.S. and Burant, C.F., ۲۰۰۳.** Type ۲ Diabetes In: Larsen, Kronenberg, Melmed, Polonsky Williams textbook of endocrinology. ۱۰th ed. USA: Saunders . pp: ۱۴۲۷-۱۴۵۸.

۱۲. **Burapadaja, S. and Bunchoo, A., ۱۹۹۵.** Antimicrobial activity of tannins from *Terminaliacitrina*. Planta Medical . Vol. ۶۱, pp: ۳۶۵-۳۶۶.

۱۳. **Caroline Bell, S., ۲۰۱۱.**The effects of pomegranate juice consumption on blood pressure and cardiovascular health. ELSEVIER Complementary Therapies in Clinical Practice. Vol. ۱۷, pp: ۱۱۳-۱۱۵.

۱۴. **Cheng, S.C.; Joosten, L.A.; Kullberg, B.J. and Netea, M.G., ۲۰۱۲.** Interplay between *Candida albicans* and the mammalian innate host defense. Infect. Immu. Vol. ۸۰, pp: ۱۳۰۴-۱۳۱۳.

۱۵. **Cooke A., ۲۰۰۶.** Th۱۷ cells in inflammatory conditions. Rev Diabet Stud. Vol. ۳, pp: ۷۲-۷۵.

۱۶. **Cotron, R.S. and Kumar, V., ۱۹۸۹.** Robbins Sr. Robbins Pathologic Basis of Diases ۴th ed. W.B. Saunders Co. pp: ۵۵۳-۵۹۵.

۱۷. **Dhanya, P. and Benny, P.J., ۲۰۱۳.** Antifungal effect of methanolic extracts of leaves of Garcinia Gummi-Gutta L. Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res. Vol. ۲۱, pp: ۳۳۰-۳۳۳.

۱۸. **Dismukes, W.E., Pappas, P.G. and Sobel, J.D., ۲۰۰۳.** Clinical mycology, Oxford University Press.

۱۹. **Doughari, J.H. and Obidah, J.S., ۲۰۰۸.** Antibacterial potentials of stem bark extracts of *Leptadenia lancifolia* against some pathogenic bacteria. Pharmacology online. Vol., ۳, pp: ۱۷۲-۱۸۰.

۲۰. **Giulietti, A.; van Etten, E.; Overbergh, L.; Stoffels, K.; Bouillon, R. and Mathieu, C., ۲۰۰۷.** Monocytes from type ۲ diabetic patients have a pro-inflammatory profile. ۱, ۲۵-Dihydroxyvitamin D (۳) works as anti-inflammatory. Diabetes Res. Clin. Pract. Vol. ۷۷, ۴۷ p.

۲۱. **Geerling, S.E. and Hoepelman, A.I.M., ۱۹۹۹.** Immunedysfunction in patients with diabetes mellitus (DM). FEMS Immunology and Medical Microbiology. Vol. ۲۶, pp: ۲۵۹-۲۶۵.

https://www.magiran.com/p1712310 download date: 12/16/2024

۲۲. **Greenspan, D., ۱۹۹۶.** Xerostomia: diagnosis and management. Oncology (Huntingt). Vol. ۱۰, pp: ۷-۱۱.

۲۳. **Hay, R.J., ۱۹۹۹.** The management of superficial candidasis. J. Am. Acad. Dermatol. Vol. ۴۰, pp: ۳۵-۴۲.

۲۴. **Hidalgo, J.A. and Vazquez, J.A., ۲۰۱۰.** Candidiasis, http://emedicine.medscape.com/article / Jan ۱۱. ۲۱۳۸۵۳-overview.

۲۵. **Kim, N.D.; Mehta, R.; Yu, W.; Neeman, I.; Livney, T.; Amichay, A.; Poirior, D.; Nicholls, P.; Kirby, A.; Jiang, W.; Mansel, R.; Rumachandran, C. and Rabi, T., ۲۰۰۲.** Adjuvant therapeutic potential of pomegranate *(Punicagranatum)* for human breast cancer. Breast Cancer Research and Treatment. Vol. ۷۱, pp: ۲۰۳-۲۱۷.

۲۶. **Klein, S.; Burke, L.E.; Bray, G.A.; Blair, S.; Allison, D.B. and Pi-Sunyer, X., ۲۰۰۴.** Clinical implication of obesity with specific focus on cardiovascular disease. Circulation. Vol. ۱۱۰, pp: ۲۹۵۲–۲۹۶۷.

۲۷. **Lamey, P.J.; Darwazeh, A.M. and Frier, B.M., ۱۹۹۲.** Oral disorders associated with diabetes mellitus. Diabetes Med. Vol. ۹, pp: ۴۱۰-۴۱۶.

۲۸. **Malekzadeh, F. and Shahamat, M.; ۲۰۰۷.** General microbiology. University of Tehran Press. ۳۰ p.

۲۹. **Mavridis, G.; Souliou, E.; Diza, E.; Symeonidis, G.; Pastore, F. and Vassiliou, A.M., ۲۰۰۸**. Inflammatory cytokines in insulin-treated patients with type ۲ diabetes. Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis. Vol. ۱۸, pp: ۴۷۱-۴۷۶.

۳۰. **Mubarak, S.A.; Robert, A.A. and Baskaradoss, J.K., ۲۰۱۳**. The prevalence of oral *Candida infections* in periodontitis patients with type ۲ diabetes mellitus. Journal of Infection and Public Health. Vol. ۶, pp: ۲۹۶-۳۰۱.

۳۱. **Nasr, C.B.; Ayed, N. and Metch, M., ۱۹۹۶.** Quantitative determination of the polyphenolic content of pomegranate peel. Z. Lebensm. Unters. Forsch. Vol. ۲۰۳, pp: ۳۷۴-۳۷۸.

۳۲. **Naeini, A.; Khosarvi, A.R.; Chitsaz, M.; Shokri, H. and Kamlnejad M., ۲۰۰۹.** Anti-*Candida albicans* activity of some Iranian plants used in traditional medicine. Mycmed. Vol. ۱۹, pp: ۱۶۸-۱۷۲.

۳۳. **Noumi, E.; Snoussi, M.; Hajloui, H.; Valentin, E. and Bakhrouf, A., ۲۰۱۰.** Antifungal properties of *Salvadora persica* and *Juglans regia L.* extracts against oral *Candida* strains. Eur. J. Clin. Microbiol. Inf. Dis. Vol. ۲۹, pp: ۸۱-۸۸.

۳۴. **Pina-Vaz, C.; Rodrigues, A.G.; Pinto, E.; Costa-de-Oliveira, S.; Tavares, C. and Salgueiro, L., ۲۰۰۴.** Antifungal activity of *Thymus* oils and their major compounds. J. Eur. Acad. Dermatol. Vol. ۱۸, pp: ۷۳-۷۸.

۳۵. **Rustaiyan, A., ۲۰۱۳.** Extraction, analysis and study of antioxidant activity and total phenolic of pomegranate (*Punicagranatum* L.) seed oil from four different region of Iran (Yazd, Saveh, Kashan and Varamin). Nature and Science. Vol. ۱۱, pp: ۵۲۴-۵۲۹.

۳۶. **Salehi-Surmaghi, H., ۲۰۰۶.** Medicinal plants and Phytotherapy. DonyaeeTaghzie, Tehran, Iran. Vol. ۶, pp: ۵۹-۶۳.

۳۷. **Sullivan, D.J.; Moran, G.P.; Pinjon, E.; Al-Mosaid, A.; Stokes, C.; Vaughan, C. and Coleman, D.C., ۲۰۰۴.** Comparison of the epidemiology, drug resistance mechanisms, and virulence of *Candida dubliniensis* and *Candida albicans*. FEMS Yeast Research. Vol. ۴, pp: ۳۶۹-۳۷۶.

۳۸. **Tsiavou, A.; Hatziagelaki, E.; Chaidaroglou, A.; Koniavitou, K.; Degiannis, D. and Raptis, S.A., ۲۰۰۵.** Correlation between intracellular interferon-gamma (IFN gamma) production by CD۴+ and CD۸+ lymphocytes and IFN-gamma gene polymorphism in patients with type ۲ diabetes mellitus and latent autoimmune diabetes of adults (LADA). Cytokine. Vol. ۳۱, pp: ۱۳۵-۱۴۱.

۳۹. **Turrini, R.N.T. and Sant, A.H., ۲۰۰۲.** Nosocomial infection and multiple causes of death. J. Pediatr. Vol. ۷۸, pp: ۴۸۵- ۴۹۰.

۴۰. **Vicente, A.P.; Zaquierdo, A.G. and Viguera, C.G., ۲۰۰۲.** *Invitro*gastro-intestinal digestion study of pomegranate juice phenolic compounds, anthocyanins and vitamin C. J. Agric. Food Chem. Vol. ۵۰, pp: ۲۳۰۸-۲۳۱۲.

۴۱. **Voelz, K.; Lammas, D.A. and May, R.C., ۲۰۰۹.** Cytokine signaling regulates the outcome of intracellular macrophage parasitism by *Cryptococcus neoformans*. Infect. Immun. Vol. ۷۷, pp: ۳۴۵۰-۳۴۵۷.

۴۲. **Vorvuthikunchai, S.P.; Sirirak, T.; Limsuwan, S.; Supawita, T.; Iida, T. and Honda, T., ۲۰۰۵.** Inhibitory effect of active compounds from *Punica granatum* on verocytotoxin production by *enterohaemorrhagic Escherichia coli*. Journal of Health Science. Vol. ۵۱, pp: ۵۹۰-۵۹۶.

https://www.magiran.com/p1712310 download date: 12/16/2024