فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۲۸، جلد ۸، شماره ۱، زمستان ۹۳، صفحه ۴۱ تا ۴۷

بررسی اثر بتاگلوکان دیواره سلولی جدایه AT-۳ ساکارومایسس سرویزیه بر فرآیند انفجار تنفسی مونوسیت های خون محیطی افراد مبتلا به دیابت نوع ۲

محمد حسین آرش اسدی راد[۱] ، آزاده توفیقی[۱]، علی شهنواز[۳]
۱- گروه میکروبیولوژی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان. ایران. a_assadirad@yahoo.com
۲- گروه ریاضی و آمار، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان. ایران.

تاریخ دریافت: ۹۳/۸/۲۰ تاریخ پذیرش:۹۳/۹/۱۷

چکیده

زمینه و هدف: دیابت ملیتوس یک بیماری مزمن همراه با اپیدمی نهفته است. مبتلایان به دیابت در معرض عوارض ناشی از اختلالات متابولیسمی و نقص در دستگاه ایمنی قرار دارند. امروزه استفاده از محرک های سیستم ایمنی مانند بتاگلوکان یکی از روش های مورد توجه محققین جهت کاهش عوارض ناشی از دیابت است. تحقیق حاضر با هدف بررسی اثر بتاگلوکان دیواره سلولی جدایه AT-۳ *ساکارومایسس سرویزیه* بر فرآیند انفجار تنفسی مونوسیت های خون محیطی افراد مبتلا به دیابت صورت گرفته است.

روش کار: نمونه برداری از خون محیطی ۵۳ مورد بیمار دیابتی و ۵۰ مورد غیر دیابتی با میانگین ۳۹ سال از بیمارستان ولیعصر زنجان انجام شد. سلول های جدایه AT-۳ *ساکارومایسس سرویزیه* با استفاده از سونیکاتور شکسته شدند. دیواره سلولی آن ها جدا سازی شد. بتا گلوکان از دیواره استخراج شد. آزمون Nitro Blue Tetrazolium جهت بررسی میزان انفجار تنفسی مونوسیت های تحریک شده با بتا گلوکان مورد استفاده قرارگرفت. داده ها با کمک آنالیز واریانس چند طرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته ها: نتایج حاکی از افزایش میزان انفجار تنفسی مونوسیت های تحریک شده با بتاگلوکان دیواره سلولی جدایه *ساکارومایسس سرویزیه* در هر دو جنس زن و مرد مورد مطالعه بود. میزان اثربخشی وابسته به دوز غلظت بتاگلوکان و به طور معنی داری در زنان بیشتر از مردان بود ($P \leq ۰/۰۱$).

نتیجه‌گیری: بتا گلوکان مستخرج از جدایه AT-۳ *ساکارومایسس سرویزیه* یک فعال کننده قوی سیستم ایمنی بوده است.

واژه های کلیدی: دیابت، بتاگلوکان، انفجار تنفسی، *ساکارومایسس سرویزیه*.

مقدمه

دیابت ملیتوس، از شایع ترین بیماری های متابولیکی بدن انسان است(۳۲). بر اساس آمار سازمان بهداشت جهانی میزان شیوع در کل دنیا بالا بوده و تخمین زده شده است که تا سال ۲۰۳۵ تعداد مبتلایان به ۵۹۲ میلیون نفر برسد(به عبارتی دیگر، از هر ده نفر یک نفر)(۳۴). تحقیقات نشان داده است که دیابت به طور مستقیم و غیر مستقیم باعث ضعف سیستم ایمنی می شود و تحت چنین شرایطی استعداد ابتلا به عفونت نسبت به افراد سالم افزایش می یابد. کنترل دیابت و تنظیم قند خون باعث اصلاح نقص های ذکر شده می شود ولی مقدار آن به حد طبیعی نمی رسد(۳۰، ۱۰). در سال های اخیر، راه کارهای درمانی غیر دارویی با روی کرد تغذیه ای و جایگزینی آنتی بیوتیک ها با عوارض جانبی کمتر در کنترل عوارض ناشی از دیابت نوع ۲ مد نظر محققان بوده است. یکی از راه حل های بهبود ایمنی، کاهش ابتلا به بیماری های عفونی و عوارض ناشی از آن، با استفاده از محرک های سیستم ایمنی می باشد(۱۸،۱۲). بیگانه خوار ها نقش مهمی در دفاع بدن در برابر مهاجمان میکروسکوپی بازی می کنند. بیگانه خوارهای حرفه ای شامل نوتروفیل ها و سیستم بیگانه خواری تک هسته ای، مونوسیت ها و ماکروفاژها می باشند. نوتروفیل ها با مهاجرت به سمت بیگانه و بلعیدن آن نخستین خط دفاعی در برابر عوامل بیگانه محسوب می شوند. مونوسیت های خون محیطی نیز دارای فعالیت فاگوسیتی، کموتاکسی و

نیز خاصیت چسبندگی شدیدی هستند و زمانی که وارد بافت می شوند به اسم ماکروفاژ خوانده می شوند. در حالت طبیعی هر یک از سلول های بیگانه خوار هنگامی که در معرض یک عامل فعال کننده قرار می گیرند با پدیده ای به نام انفجار تنفسی(Respiratory Burst) رو به رو خواهند شد. در این حالت مصرف انفجاری اکسیژن در آن ها که با افزایش فرآیند گلیکولیز(هواخواه) و تولید رادیکال های آنیون سوپراکسید همراه است صورت می گیرد(۱۹). گزارش حاصل از اکثر تحقیقات نشان می دهد که نقص در انفجار تنفسی نوتروفیل ها و مونوسیت های تحریک شده افراد دیابتی دیده شده است. بتاگلوکان ها پلی ساکاریدهایی از گلوکز هستند که می توانند توسط بسیاری از موجودات یوکاریوتی و پروکاریوتی تولید شوند. این ترکیبات، کاربردهای فراوانی در داروهای حیوانی و انسانی، صنایع داروسازی، آرایشی، بهداشتی و شیمیایی دارند(۱۳). بتاگلوکان ها می توانند به صورت محلول و یا ذره به عنوان عامل قوی فعال کننده سیستم ایمنی در انسان و حیوانات مبتلا به نقصان ایمنی مورد استفاده قرار گیرند(۲۹). عمده فعالیت بتاگلوکان ها در پاسخ ایمنی سلول های ایمنی که ماکروفاژها خوانده می شوند دیده شده است. انواع مختلف بتاگلوکان در مخمر نان، قارچ های ماکروسکوپی، کپک ها، جلبک ها، پوست جو و یولاف شناسایی شده اند. محصولات تجاری موجود، حاوی گلوکان هایی از منابع مختلف با فعالیت های متفاوت است. علت این تفاوت را می توان در ساختار و ترکیب متفاوت آن ها جستجو نمود(۱۸). بتاگلوکان های حاصل از منابع مختلف دارای ساختار مشابهی هستند با این وجود تفاوت های ساختاری بسیار کوچکی در آن ها دیده شده که منجر به تفاوت در فعالیت بیولوژیکی آن ها شده است. بتاگلوکان های مخمری بخشی از دیواره سلولی مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* با پیکره گلوکزی و اتصالات$\beta(1\rightarrow3)$ گلیکوزیدی و انشعابات$\beta(1\rightarrow6)$ هستند(۱۳، ۱۲). لایه داخلی دیواره سلولی مخمر از بتاگلوکان با پروتئین ها، مانان و مقدار کمی کیتین ساخته شده است(۳۱). مطالعات در مورد بتاگلوکان نشان داده است که این پلی ساکارید می تواند ماده ای مهم و قابل توجه در ارتقا سلامت انسان به حساب آید با این وجود مطالعات بیشتر در این زمینه مورد نیاز است(۲۱). درمطالعه حاضر، کل ذره گلوکان مستخرج از جدایه AT- ۳ *ساکارومایسس سرویزیه*، جهت نشان دادن قابلیت فاگوسیتی مورد بررسی قرار گرفته است. انفجار تنفسی به وسیله تشکیل سوپراکسید در سلول های تک هسته خون محیطی افراد مبتلا به دیابت در پاسخ به ذره کامل بتاگلوکان، مورد سنجش قرار گرفت.

مواد و روش ها

نمونه برداری

۵۳ مورد بیمار دیابتی نوع ۲ مراجعه کننده به بیمارستان ولیعصر زنجان و ۵۰ مورد غیر دیابتی از ۱۸ تا ۵۲ سال سن و با میانگین ۳۹ سال، در نیمه اول سال ۱۳۹۲ به صورت کاملاً تصادفی جهت نمونه برداری انتخاب، و از آن ها با رضایت کامل به میزان ۵ میلی لیتر خون وریدی به صورت هپارینه تهیه شد.

جداسازی مونوسیت ها ی خون محیطی

جهت جداسازی سلول های مونوسیتی خون محیطی، خون هپارینه با بافر فسفات(Hanks Buffer Salt Solution; HBSS) به نسبت ۱:۲ رقیق سازی گردید. گرادیان غلظتی HBSS با وزن مخصوص ۱/۱۱۳ جهت جداسازی اولیه سلول ها از هم به کار برده شد. پس از سانتریفیوژ گلبول های قرمز، نوتروفیل ها هر یک در یک لایه و سلول های تک هسته ای مونوسیت و لنفوسیت ها نیز در یک لایه قرار گرفته بودند. لایه رویی برداشته، سپس جداسازی مونوسیت ها نیز به واسطه خاصیت چسبندگی آن ها به سطوح پلاستیکی، از

لنفوسیت ها انجام گرفت. محتویات مونوسیت و لنفوسیت درون پلیت کشت سلول ریخته و محیط کشت سلول F10 و FCS(Fetal Calf Serum) ۱۰٪ اضافه و ۲ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شد. تحت چنین شرایطی مونوسیت ها به سطح جامد چسبیده و لنفوسیت ها معلق ماندند. در پایان محتویات درون پلیت با استفاده از بافر HBSS گرم شستشو گردید تا سلول های لنفوسیتی از محیط جدا شدند. یک دست بودن سلول ها با استفاده از رنگ آمیزی غیر اختصاصی استراز(Non-Specific Esterase; NSE) مورد تأیید قرار گرفت.

استخراج بتاگلوکان دیواره سلولی

مخمر فلوکوله ساکارومایسس سرویزیه بومی AT-۳ جهت انجام تحقیق حاضر مورد استفاده قرار گرفت. کشت انبوه توسط محیط کشت Potato Dextrose Broth (PDA) به مدت ۴۸ ساعت و در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد تحت شرایط هوازی ۱۵۰rev/min تهیه شد. از خاصیت تشکیل فلوکول مخمر AT-۳ جهت جداسازی فاز مایع از فاز جامد استفاده و سپس با سرم فیزیولوژی استریل شستشو داده شد(۲۹).

جهت تهیه بتاگلوکان دیواره سلولی، سوسپانسیونی از مخمرها در بافر فسفات سدیم سرد(۰/۱ مولار،pH =۷/۲) تهیه شد. دستگاه سونیکاتور در دامنه ۶۰٪ طی ۲ دقیقه، جهت شکستن سلول ها استفاده گردید(۳). جداسازی دیواره سلولی از عصاره سیتوپلاسمی با استفاده از سانتریفیوژ و در g× ۵۰۰۰ به مدت ۱ دقیقه انجام گرفت(۲۷، ۱۷، ۳). ۱ گرم از دیواره سلولی به دست آمده، با ۱۰ میلی لیتر هیدروکسید سدیم ۲٪ مخلوط و در حرارت ۹۰ درجه سانتی گراد به مدت ۵ ساعت قرار گرفت. پس از خنک شدن سوسپانسیون به مدت ۱۰ دقیقه در g× ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شد. مایع رویی جدا و با اسید استیک ۲ مولار خنثی گردید(pH=۷). به اندازه ۳ برابر حجم مایع رویی، الکل اتیلیک مطلق سرد اضافه و ۲۵ ساعت در یخچال نگهداری شد. پس از گذشت این زمان مجدداً نمونه سانتریفیوژ شد. ۰/۱ گرم از رسوب به دست آمده در ۱ میلی لیتر از اسید استیک ۳٪ حل و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. مایع رویی با هیدروکسید سدیم ۲ مولار خنثی و نمونه بتاگلوکان محلول در آزمایش های بعدی مورد استفاده قرار گرفت(۱۴).

روش تیمار

بررسی میزان انفجار تنفسی

غلظت های ۰/۰۳ و ۰/۰۶ درصد بتاگلوکان استخراج شده از دیواره سلولی جدایه AT-۳ جهت تحریک فرآیند انفجار تنفسی مونوسیت های خون محیطی استفاده و سنجش میزان انفجار تنفسی توسط آزمون Nitro Blue Tetrazolium (NBT) انجام شد. طبق روش استاندارد، سلول هایی که در سیتوپلاسم خود دارای رسوب آبی رنگ فورمازان(نشانه احیای ماده NBT) بودند، مورد شمارش قرار گرفته و در نهایت، درصد سلول های NBT مثبت تعیین شد(۷).

تجزیه و تحلیل آماری

داده های حاصل از نتایج به دست آمده به صورت میانگین ± خطای استاندارد بیان شدند. آنالیز داده ها توسط آزمون آنالیز واریانس چند طرفه انجام و تفاوت های معنی دار میان گروه های مختلف توسط آزمون توکی با استفاده از نرم افزار آماری SPSS ارزیابی گردید(مرز استنتاج آماری P≤ ۰/۰۵ در نظر گرفته شد).

نتایج

نتایج حاصل از نمونه برداری خون محیطی درنیمه اول سال ۱۳۹۲ با ۵۳ مورد بیمار دیابتی نوع ۲ مراجعه کننده به بیمارستان ولیعصر زنجان و ۵۰ مورد غیر دیابتی از ۱۸ تا ۵۲ سال سن و با میانگین ۳۹ سال، درجدول شماره ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- اثر بتا گلوکان دیواره سلولی جدایه۳-AT *ساکارومایسس سرویزیه* بر فرآیند انفجار تنفسی مونوسیت های خون محیطی گروه های تحت آزمایش

گروه	جنس	تعداد	انفجار تنفسی (میانگین ± انحراف معیار)		P-value
			۰/۰۳٪ بتاگلوکان	۰/۰۶٪ بتاگلوکان	
دیابتی	زن	۲۲	٤/۱ ± ۰/۲٦٦	٥/۹۹ ±۰/۱٦۸	0.000*
	مرد	۳۱	۳/۷۸ ± ۰/۱۹۳	٥/۸٦ ±۰/۱٥۱	0.000*
P-value			0.000*	0.000*	
کنترل	زن	۲۱	٤/٤۲ ± ۰/۲۷۳	٦/۲۹ ±۰/۱٦۹	0.000*
	مرد	۲۹	٤/۲٤ ± ۰/۲۸٤	٦/۲۰۳ ±۰/۱۸۰	0.000*
P-value			0.000*	0.000*	

همان گونه که در جدول ۱ مشاهده می شود، بر اساس اندکس تحریک محاسبه شده در دو غلظت ۰/۰۳ و ۰/۰۶ درصد بتاگلوکان، میانگین (±SD) فرآیند انفجار تنفسی مونوسیت های خون محیطی افراد دیابتی و سالم غیر دیابتی (کنترل) در گروه های زن و مرد از نظر آماری دارای تفاوت معنی داری بوده است($P < ۰/۰۱$).

بحث و نتیجه گیری

امروزه، به واسطه افزایش شیوع بیماری های مزمن مانند دیابت به ویژه دیابت نوع ۲ در سطح جهان، تحقیقات گسترده ای جهت یافتن روش های کنترل کننده و کمک به بهبود افراد مبتلا صورت گرفته است. در این رابطه نقش مؤثر مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* و اجزاء آن به خاطر داشتن عواملی مانند فاکتور تحمل گلوکز، تأثیر بر گیرنده های انسولینی و عامل قوی فعال کننده سیستم ایمنی در بهبود وضعیت بیماری، مورد بررسی قرار گرفته است. میزان اثربخشی آن نیز به گونه میکروب مورد استفاده، نحوه جداسازی و تخلیص اجزاء دیواره نسبت داده شده است (۲۲، ۱۶). بیماری دیابت با هایپرگلیسمی همراه و شیوع عفونت ها نیز با میزان متوسط قند خون در ارتباط است(۳۳). تحقیقات نشان داده است که غلظت آنتی بادی سرمی در افراد مبتلا به دیابت با افراد سالم تفاوت معنی داری نداشته با این وجود در مواردی مانند سیستم ایمنی ذاتی(اولیه)، فاگوسیتوز، جلب شیمیایی و حتی ایمنی سلولی اکتسابی نقص هایی دیده شده است(۳۰، ۲۶، ۱۰). طی تحقیقات انجام شده نقش مثبت بتاگلوکان ها در فرآیند انفجار تنفسی، دگرانولاسیون نوتروفیلی و سایتوکاین های مترشحه از سلول های فاگوسیتی مانند IL-1، IL-6 و TNFα گزارش شده است(۲۵، ۸). فعالیت ایمنی موش های تیمار شده با دوز منفرد بتاگلوکان به میزان mg/kg ۱۵ به صورت داخل صفاقی باعث افزایش معنی داری در فعالیت پراکسیدازی و تولید اکسید نیتریک ماکروفاژهای صفاقی شده است. مطالعات *in vivo* و *in vitro* نشان داده است که عملکرد بیگانه خواری و دفاع ایمنی در افراد مبتلا به دیابت در هر دو سیستم ماکروفاژی و نوتروفیلی دچار اختلال شده است. یکی از دلایل بروز اختلال در عملکرد بلع سلول های دفاعی بدن، کاهش میزان ATP داخل سلولی و تولید مواد واسطه ای از جمله ADP و AMP می باشد. واسطه گری بتاگلوکان در سیستم ایمنی توسط مطالعات متعدد بر روی حیوانات و انسان به اثبات رسیده است، با این وجود گزارش ها در مورد وضعیت انفجار تنفسی در حالت تحریک شده در بیماری های دارای نقص ایمنی مانند دیابت متفاوت و متناقض بوده است(۲۰، ۱۳). بتاگلوکان ها دارای ویژگی های تعدیل کنندگی ایمنی هستند که از این میان می توان به فعالیت ایمنی ذاتی مانند فعالیت انفجار تنفسی اشاره کرد. نقش های متفاوت گیرنده کمپلمان تیپ ۳ و dectin-1 که به عنوان یک گیرنده بتاگلوکان شناخته

شده است همراه با مسیر سیگنالینگ وابسته به آن، در تولید انفجار تنفسی القا شده توسط اشکال فیزیکی متفاوت بتاگلوکان مشتق شده از *ساکارومایسس سرویزیه* در سلول های تک هسته ای خون محیطی انسان مورد آزمایش قرار گرفته است(۶). در تحقیق حاضر، میزان اثر اجزاء دیواره سلولی جدایه AT- ۳ مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* بر توانایی فرآیند انفجار تنفسی مونوسیت های خون محیطی افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ مورد سنجش قرار گرفت. نتایج نشان داد که بهبود میزان انفجار تنفسی مونوسیت های خون محیطی در دو جنس زن و مرد مورد مطالعه، وابسته به دوز غلظت دیواره سلولی بوده و با افزایش دوز، میانگین انفجار تنفسی افزایش یافته است. هم چنین تأثیر غلظت های مختلف بتاگلوکان *ساکارومایسس سرویزیه* سویه AT-۳ بر افزایش و بهبود وضعیت انفجار تنفسی مونوسیت های خون محیطی زنان مبتلا به دیابت به طور معنی داری بیشتر از مردان بوده است($P < ۰/۰۱$). جالب توجه آن که این اختلاف را می توان در مقادیری کمتر، در نتایج حاصل از افزایش انفجار تنفسی زنان و مردان غیر دیابتی نیز مشاهده نمود. نتایج به دست آمده می تواند به علت نقش هورمون های جنسی در میزان فعال سازی دستگاه ایمنی و نیز وجود طیف وسیعی از گیرنده های اندوکرینی نظیر گیرنده های هورمون های جنسی بر روی مونوسیت ها باشد. نتایج حاضر با گزارش تحقیقات Rajaram و همکاران مطابقت دارد(۲۳). مخمر، به عنوان میکروارگانیزمی کاملاً شناخته شده در بیوتکنولوژی و منبع خوبی از ساختار بتاگلوکان است. ترکیب دیواره سلولی مخمر به گونه، سویه و شرایط کشت آن بستگی دارد. ساختار بتاگلوکان و هم چنین فعالیت های بیولوژیکی آن ها تحت شرایط سخت جداسازی می تواند تغییر کند. عواملی مانند ساختار اولیه، حلالیت، درجه شاخه بندی و وزن مولکولی در محیط مایع، نقش مهمی در فعالیت بیولوژیکی بتاگلوکان ها دارد بنابراین، تغییر جنس و گونه می تواند تأثیر گذار باشد(۱۵، ۴). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که فرآیند انفجار تنفسی در بین افراد مبتلا به دیابت نسبت به افراد شاهد کمتر است. این نتایج با نتایج Geerling و همکاران هم خوانی داشت(۱۰)، اما لاریجانی و همکاران در سال ۱۳۸۱ به نبود تفاوت بین سیستم انفجار تنفسی مونوسیت های بیماران دیابتی و گروه شاهد اشاره داشته است(۲). این تفاوت ها می تواند به عواملی نظیر سن، جنس، زمان ابتلا به دیابت و شدت دیابت بستگی داشته باشد(۳۳، ۱۰). مکانیسم فعالیت بیولوژیکی بتاگلوکان هنوز به طور کامل شناخته نشده است با این وجود، برخی از محققان ساختار فضایی آن را مهم ترین بخش در شکل گیری فعالیت آن عنوان کرده اند(۱۲). این در حالی است که محققین دیگر تأثیر گذاری آن را به طور کامل رد می کنند. به خاطر تفاوت های ساختاری بین گلوکان های جداسازی شده از منابع مختلف و تغییرات ناشی از کاهش پتانسیل در نتیجه مراحل جداسازی یا اشتقاق، تعیین فعالیت بیولوژیکی در حد گونه و سویه منبع مورد استفاده امری ضروری به نظر می رسد(۱۱). نتایج، افزایش توان انفجار تنفسی در حضور ۰/۰۳٪ بتاگلوکان دیواره سلولی مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* سویه AT-۳ را نشان داد که با سایر مطالعات هم خوانی دارد(۹، ۵). افزایش سطح غلظت بتاگلوکان به ۰/۰۶٪ باعث افزایش و بهبود وضعیت فرآیند انفجار تنفسی در سطح معنی داری شد ($P \leq ۰/۰۱$). نتایج اخیر با گزارش بسیاری از تحقیقات گذشته مغایرت دارد به گونه ای که Sajeevan و همکاران نشان داده اند که استفاده طولانی مدت از دوز بالای مواد تعدیل کننده سیستم ایمنی مانند بتاگلوکان، به واسطه ایجاد خستگی ایمنی(Immune Fatigue) باعث کاهش فعالیت سیستم ایمنی شده است و اثر بخشی آن را در سطوح پایین بتاگلوکان(سطح ۰/۰۲٪) عنوان کرده

است(۲۴). هم چنین کارگر رضاپور و همکاران، افزایش دوز مصرف بتاگلوکان از ۰/۰۴٪ به ۰/۰۸٪ در جیره غذایی جوجه های گوشتی، تفاوت معناداری در افزایش و یا بهبود عملکرد قدرت انفجار تنفسی گزارش نشده است (۱). به طور خلاصه، این مطالعه نشان داد که غلظت های دیواره سلولی جدایه AT- ۳ *ساکارومایسس سرویزیه* بر فرآیند انفجار تنفسی مونوسیت های خون محیطی افراد مبتلا به دیابت، اثری مثبت و وابسته به دوز داشته و تأثیر آن در زنان بیشتر از مردان بوده است. انجام مطالعات بیشتر در جهت تشخیص مکانسیم اثر، برآورد دقیق دوز مؤثر و استفاده بالینی از آن ها در جهت بهبود و یا کاهش عوارض ناشی از بیماری های مزمن مانند دیابت پیشنهاد می گردد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با کمک و حمایت مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان و از طرح تحقیقاتی درون دانشگاهی شماره ۳۷۶۲ انجام شده است. نویسندگان مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از مسئولین محترم بیمارستان ولیعصر زنجان و همکاران محترم آزمایشگاه تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی زنجان که در پیشبرد این طرح مساعدت نموده اند، ابراز می دارند.

منابع

۱-کارگری رضاپور، ع.، علی حسین مسلک، م.، سلیمانی، س.، ذاکری، ا. ۱۳۹۱. تأثیر بتاگلوکان مخمر بر انفجار تنفسی هتروفیل در جوجه های گوشتی. مجله آسیب شناسی درمانگاهی دامپزشکی، ۶ (۴): ۱۷۰۹-۱۷۱۳.

۲-لاریجانی، ب.، مصفا، ن.، شوشتری زاده، پ.، نورایی، م.، جوادی، ا.، شفایی، ع.، وثیق، ع. ۱۳۸۱. ارزیابی فرآیند انفجار تنفسی سیستم فاگوسیتی(نوتروفیل و منوسیت) در افراد دیابتی نوع ۲ با استفاده از محرک های fmlp و PMA. مجله دیابت و لیپید ایران، ۲(۱):۵۳-۵۷.

3.Agrawal, PB., Pandi, AB. (2003). Isolation of alpha glucosidase from *Saccharomyces cerevisiae*, Cell disruption and adsorption. Biochem Ene J, 15; 37-45.

4.Aguilar-Uscanga, B., Francois, JM. (2003). A study of the yeast cell wall composition and structure in response to growth conditions and mode of cultivation. Lett Appl Microbiol, 37; 268-274.

5.Ai, Q., Mai, K., Zhang, L., Tan, B., Zhang, W., Xu, W., Li, H. (2007). Effects of dietary beta-1, 3 glucan on innate immune response of large yellow croaker, Pseudoscienacrocea. Fish & Shelfish Immunology, 22(4); 394-402.

6.Bose, N., Wurst, LR., Chan, ASH., Dudney, CM., LeRoux, ML., Danielson, ME. (2014). Differential regulation of oxidative burst by distinct beta-glucan-binding receptors and signaling pathways in human peripheral blood mononuclear cells. Glycobiology, 24(4); 379-391.

7.Delamaire, M., Maugendre, D., Moreno, M., Le, G., Allanic, H., Genetet, B. (1997). Impaired leucocyte functions in diabetic patients. Diabetic Medicine, 14; 29-34.

8.Demir, G., Klein, HO., Mandel- Molinas, N., Tuzuner, N. (2007). Beta glucan induces proliferation and activation of monocytes in peripheral blood of patients with advanced breast cancer. International Immunopharmacology, 7; 113-116.

9.Gao, J., Zhang, HJ., Yu, SH., Wu, SG., Yoon, I., Quigley, J. (2008). Effects of yeast culture in broiler diets on performance and immune modulatory function. Poultry Science, 88(10); 2141-2151.

10. Geerling, SE., Hoepelman, AIM. (1999). Immune dysfunction in patients with diabetes mellitus (DM). FEMS Immunology and Medical Microbiology, 26; 259-265.

11. Ha, CH., Lim, KH., Kim, YT., Lim, ST., Kim, CW. (2002). Analysis of alkali-soluble glucan produced by *Saccharomyces cerevisiae* wild type and mutants. Appl. Microbiol. Biotechnol, 58; 370-377.

12. Hromadkova, Z., Ebringerova, A., Sasinkova, V., Sandula, J., Hribalova, V., Omelkova, J. (2003). Influence of the drying method on the physical properties and immunomodulatory activity of the particulate (1→3) β-D-glucan from *Saccharomyces cerevisiae*. Carbohyd Polym, 51; 9-15.

13. Laroche, C., Michaud, PH. (2007). New developments and prospective applications for β (1→3) glucans. Recent Pat on Biotechnol, 1;59-73.

14. Lee, JN., Lee, DY., Ji, IH. (2001). Purification of soluble beta-glucan with immune- enhancing activity from the cell wall of yeast. Biosci Biotechnol Biochem, 65; 837-841.

15. Li, X., Wang, J., Wang, W., Liu, C., Sun, S., Gu, J. (2013). Immunomodulatory activity of a novel, synthetic beta glucan (β-glu6) in murine macrophages and human peripheral blood mononuclear cells. PLOS One, 8(11); 1-11.

16. Lowry, VK. (2005). Purified beta-glucan as an abiotic feed additive up regulates the innate immune response in immature chickens against *Salmonella enterica* serovar Enteritidi. International Journal of Food Microbiology, 98(13); 309-318.

17. Magnelli,P.,Cipollo, JF., Abeijon, CA. (2001). Refined method for the determination of *Saccharomyces cerevisiae* cell wall composition and beta-(1, 6)-D-glucan fine structure. Analytical Biochemistry. Biochem Ene J., 301; 136-50.

18. Mueller, A., Raptis, J., Rice, PJ., Kalbeisch, JH., Stout, RD., Ensley, HE. (2000). The influence of glucan polymer structure and solution conformation on binding to (1→3) β-D-glucan receptors in a human monocyte-like cell line. Glycobiology, 10; 339-346.

19. Muller, F., Rollag, H., Froland, SS. (1989). Nitroblue tetrazolium reduction in monocytes and monocyte-derived macrophages: Effect of oxidative burst stimulants and interferones. APMIS: Acta Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica, 97; 490-496.

20. Novak, M., Vetvicka, V. (2008). Beta-glucans, history, and the present: immunomodulatory aspects and mechanisms of action. J Immunotoa, 5; 47-57.

21. Petravic-Tominac, V., Zechner-Krpan, V., Grba, S., Srecec, S., Panjkota-Krpavcic, I., Vidovic, L. (2010). Biological effects of yeast β-glucans. Agriculture Conspectus Scienticus, 75(4); 149-158.

22. Qin, F., Aachmann, FL., Christensen, BE. (2012). Length distribution and aggregation of branched (1→3) β-D-glucans from *Saccharomyses cerevisiae*. Carbohyd Polym, 90; 1092-99.

23. Rajaram, MVS., Schlesinger, LS., James, H., Shupnik, MA., Jarjur, WN. (2014). Estrogen modulation of endosome-associated toll-like receptor 8: An IFNα- independent mechanism of sex-bias in systemic lupus erythematosus. Clinical Immunology, 151 (1); 66-74.

24. Sajeevan, TP., Philip, R., Bright Singh, IS. (2008). Dose/frequency: A critical factor in the administration of glucan as immunostimulant to Indian white shrimp Fenneropenaeusindicus. Aquaculture, 287(3-4); 248-252.

25. Sener, G., Eksioglu- Demiraop, E., Getiner, M., Ercan, F., Yegan, BC. (2006). Beta- glucan ameliorates methotrexate- induced oxidative organ injury via its antioxidant and immunomodulatory effects. Europ J Pharmacol, 542; 170-178.

26. Stopinsek, S., Tercelj, M., Salobir, B., Wraber, B., Ihan, A., Rylander, R., Simcic, S. (2010). Effects of fungal cell wall polysaccharides and lipopolysaccharide on *in vitro* tumor necrosis factor alpha production by peripheral blood mononuclear cells of sarcoidosis patients. Zdrav Vestn, 79; 684-689.

27. Tatti, R., Abolghasemi, SJ., Tatina, M., Nasre Tajan, M. (2012). Influence of prebiotic immune wall on growth performance, body composition and immune physiological variables in juvenile great sturgeon, *Huso huso*. Annals of Biological Research, 3(9); 4435-4441.

28. Tofighi, A., Mazaheri Assadi, M., Asadirad, M.H.A., Zare Karizi, S. (2014). Bio-ethanol production by a novel autochthonous thermo-tolerant yeast isolated from wastewater. Journal of Environmental Health Science and Engineering, 12; 107-114.

29. Toklu, HZ., Sener, G. (2006). Beta-glucan protects against burn-induced oxidative organ damage in rats. Int Immunopharmacol, 6(2); 156-169.

30. Vazquez, JA., Sobel, JO. (1995). Fungal infections in diabetes. Infectious Disease Clinics of North America, 9 (1); 97-116.

Vetvicka, V. (2001). β-glucans as immunomodulators. JANA, 3: 31-34.

31. Walker, R., Rodgers, J. (2005). Diabetes. Trans. Gharinat AA. Tehran: Nashr Azmoon Pub; 128 (Persian).

32. Winocour, pH., Lenton, J., Puxty, JAH., Anderson DC. (1988). Leucocyte microbicidal activity assessed by chemiluminescence in elderly non-insuline dependent diabetes mellitus. Diabetes Res., 9; 73-75.

33.www.idf.org/worlddiabetesday