

## پاسخ های سایتوکاینی در موش های BALB/c ایمیونیزه شده با اوآلبومین پس از دریافت خوراکی ۵-هیدروکسی متیل فورفورال

\* محمد علیزاده<sup>۱</sup>، حامد خدائی<sup>۲\*</sup>

- (۱) مرکز تحقیقات علوم تغذیه، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران  
 (۲) کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۱۶

تاریخ دریافت: ۹۵/۵/۲۵

### چکیده

**مقدمه:** ۵-هیدروکسی متیل فورفورال(5-HMF) یکی از مهم ترین محصولات غیرآنزیمی واکنش میلارد می باشد. طیف گسترده ای از مواد غذایی و نوشیدنی ها در رژیم غذایی روزانه انسان حاوی مقایر بالایی از 5-HMF می باشد. در سالیان گذشته نتایج متناقضی در مورد اثرات 5-HMF مطرح بوده است. در تعدادی از مطالعات اخیر اثرات مفید این ترکیب بر روی سیستم ایمنی گزارش شده است، با توجه به نقش سایتوکین های ترشح شده از سلول های T helper (Th) در واکنش های التهابی بدن، هدف از این مطالعه بررسی تاثیر 5-HMF بر روی سطوح سرمی ایترافرون گاما و ایترولوکین<sup>۴</sup>، به ترتیب به عنوان دو سایتوکین مهم سلول های Th1 و Th2 در موش های c BALB ایمیونیزه شده با اوآلبومین می باشد.

**مواد و روش ها:** موش های BALB/c (پنجم موش در هر گروه) به چهار گروه شامل: کنترل، مواجهه (ایمیونیزه شده با اوآلبومین)، دوز پایین(۱۸۸ mg/kgBW) و دوز بالا(۷۵۰ mg/kgBW) 5-HMF تقسیم بندی شدند. ایمیونیزاسیون در گروه های مواجهه و دریافت کننده 5-HMF در روزهای ۷ و ۲۸ مطالعه صورت گرفت. سطوح ایترافرون گاما و ایترولوکین<sup>۴</sup> به روش الایزا در سرم موش های هر ۴ گروه تعیین شد.

**یافته های پژوهش:** میانگین سطح سرمی ایترولوکین<sup>۴</sup> در گروه های دریافت کننده 5-HMF کاهش یافت( $P<0.001$ ). هم چنین میزان سرمی ایترافرون گاما به طور معنی داری در گروه مداخله پایین تر از گروه مواجهه بود( $P<0.05$ ). علاوه بر این، تفاوت معنی داری در میزان ایترولوکین<sup>۴</sup> و ایترافرون گاما بین دو گروه مداخله مشاهده نشد( $P>0.05$ ).

**بحث و نتیجه گیری:** یافته های مطالعه حاضر نشان داد 5-HMF می تواند موجب کاهش تولید برخی از اجزای پاسخ سایتوکاینی Th1 و Th2 در سرم موش های c BALB ایمیونیزه شده با اوآلبومین شود.

### واژه های کلیدی: ۵-هیدروکسی متیل فورفورال، اوآلبومین، سایتوکاین

\* نویسنده مسئول: کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

Email: hamedkhodaeii@yahoo.com

Copyright © 2018 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

## مقدمه

سایتوکاین ها مورد استفاده قرار گرفته است که با عوارض بسیاری در بیماران همراه بوده اند(۱). 5-HMF محصول اصلی واکنش غیرآنژیمی میلارد می باشد که از یک حلقه فورانی متصل به گروه های عملکردی الکلی و آلدھیدی تشکیل شده است. طی واکنش غیرآنژیمی میلارد، قندهای احیاء کننده همانند فروکتوز و گلوکز با اسیدهای آمینه واکنش داده و محصول اصلی واکنش 5-HMF تشكیل می شود(۲). طیف گسترده ای از مواد غذایی و نوشیدنی ها در رژیم غذایی انسان از جمله: غلات صبحانه و نان(۳) حاوی مقادیر مختلفی از 5-HMF می باشد. با این وجود، شرایط اسیدی، دمای بالا، زمان فرآیند غذایی و فعالیت آب می تواند میزان تشکیل این ترکیب فورانی را در مواد غذایی تحت تاثیر قرار بدهد(۴). میزان دریافت رژیمی روزانه 5-HMF در مقادیر مختلفی گزارش شده است(۵).

در چندین سال گذشته مواد غذایی با مقادیر 5-HMF بالا به عنوان یک ریسک فاکتور برای سلامتی انسان مطرح بوده است به طوری که در برخی از مطالعات اثرات ژنتیکی، موتابژنیک و کارسینوژنیک 5-HMF گزارش شده است(۶). با این وجود، مطالعاتی هم وجود داشته است که اثرات مضر ذکر شده را تایید نکرده اند. در مطالعه انجام شده توسط گونه اثرات نئوپلاستیک در بافت های مختلف حیوانات که در معرض دوزهای مختلف 5-HMF قرار گرفته بودند نشان داده نشد(۷). مطالعه ای دیگر با استفاده از دو روش مختلف نشان داد که 5-HMF نمی تواند اثرات کارسینوژنیک داشته باشد(۸).

در مطالعات چند سال اخیر نه تنها اثرات مضر 5-HMF گزارش نشده، بلکه اثرات مفید این ترکیب فورانی بیشتر آشکار شده است. ژاوو و همکاران این ترکیب فورانی را به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی مطرح کردند که می تواند در شیمی درمانی برای بیماران سرطانی مورد استفاده قرار بگیرد(۹) و اثرات ضد اکسیداتیو آن در مطالعات مختلفی بررسی شده و نتایج مثبتی را نشان داده اند(۱۰). علاوه بر مطالعات ذکر شده، اثرات مفید دیگری از جمله اثر حفاظتی بر

میزان شیوع بیماری های آلرژیک در دنیا در سه دهه اخیر به طور چشمگیری رو به افزایش است(۱). ایمونوگلوبین E (IgE) به عنوان یک واسطه مرکزی در بسیاری از بیماری های آلرژیک مطرح بوده است(۲). تنظیم تولید سایتوکاین های پیشبرنده سنتر IgE از جمله راهکارهای درمانی برای بیماری های آلرژیک مورد توجه می باشد(۳). دو زیر گروه از سلول های ایمنی (Th) شامل T helper 1 و Th2 انواع مختلفی از سایتوکاین ها را ترشح می کنند. در میان سایتوکاین های مترشحه از سلول های Th2، توجه اصلی بر روی اینترلوکین ۴ (IL-4) می باشد که نقش کلیدی در سنتر IgE بر عهده دارد(۴).

سلول IL-4 باعث تحريك و تمایز لنفوسيت ها، تعويض ايزوتوب از IgM به توليد IgE در لنفوسيت های B شده و در نتيجه نقش مهمی در القاء و نگهداري آلرژي بازي می کند. تحريك اينترلوکين ۴ می تواند واکنش های ماستسل ها با واسطه سیگنانلینگ IgE را تحت تاثير قرار بدهد. مطالعات نشان داده اند افزایش سطوح سرمی اينترلوکین ۴ ارتباط مستقيمي با ايجاد علائم آلرژيک دارد(۵). اينترلوکين ۴ نقش مرکزی در واکنش های آلرژيک نوع ۱ از طريق عمل كردن به عنوان یک واسطه در تمایز سلول های T می تواند داشته باشد(۶). به همين دليل در ساليان اخير ترکيبات آنتي اينترلوکين ۴ به عنوان هدفي برای درمان بیماري های مربوط به آلرژي وابسته به IgE مطرح شده است(۷). از طرف دیگر اينترفرتون گاما(IFN-γ) به عنوان يكی از مهم ترین سایتوکاین های تولیدی از سلول های Th1 در ايماني سلولی نقش داشته و پاسخ ايماني مرتبط با Th2 را متوقف می کند(۸). مطالعات نشان داده اند IFN-γ نقش بسیار مهمی در واکنش های آلرژيک وابسته به لنفوسيت های Th2 ایفا می کند(۹). اينترفرتون گاما می تواند موجب رهایی سایتوکین های پیش التهابی در زمان واکنش های آلرژيک شود(۱۰). در ساليان اخير داروهای مختلفی از جمله گلوکورنوتوكسین، سیکلوسپورین A و تاکرولیموس برای درمان بیماری های آلرژیک از طريق تنظیم تولید

نحوه تهیه پلیت های خوراکی حاوی ۵-HMF گذای معمول به صورت پلیت های خوراکی حاوی کاربئن(۲۰۰ g/kg)، کربوهیدرات(۶۷۰ g/kg)، سلولز(۲۰ g/kg)، مخلوط معدنی(۵۰ g/kg)، ویتامینی(۱۰ g/kg) و روغن ذرت(۵۰ g/kg) بود. برای تهیه پلیت های خوراکی حاوی ۵-HMF ابتدا پلیت های خوراکی معمول توسط آسیاب خرد و دوزهای مشخص ۵-HMF خردباری شده (Matrix Scientific, Pontiac Business Center Drive Elgin, USA) که توسط ترازوی دیجیتال به طور دقیق وزن گیری شده بود اضافه شده و پس از تهیه خمیر به فرم پلیت های خوراکی معمول در آمده و پس از قرارگیری در دمای اتاق به مدت ۲۴ ساعت (برای خشک شدن) در اختیار حیوانات قرار می گرفت. مقدار پلیت خوراکی موجود در هر قفس هر صبح توسط ترازوی دیجیتال وزن شده و پلیت های خوراکی مورد نیاز در قفس های حیوانات قرار داده می شد.

نحوه /ایمیونیزاسیون: مطابق با مطالعات انجام شده(۱۸)، ایمیونیزاسیون در سه گروه از حیوانات در روزهای ۷ و ۲۸ مطالعه، از طریق تزریق داخل صفاقی ۲۰ میکروگرم اوآلبومنین به همراه ۲ میلی گرم آلومینیوم phosphate-buffered saline (PBS) تا حجم ۱۰۰ میکرولیتر رقيق شده بود صورت گرفت. در گروه کنترل تزریق ۱۰۰ میکرولیتر PBS خالص انجام شد (شکل شماره ۱).

اندازه گیری شاخص های سرمی: خونگیری در پایان هفته پنجم بر اساس مطالعات انجام گرفته(۲۴) یک هفته پس از دومین ایمیونیزاسیون پس از بیهوشی با دی اتیل اتر از طریق قلب انجام شد. نمونه های خونی به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق قبل از ساتریفیوژ قرار گرفت، سپس ساتریفیوژ به مدت ۱۵ دقیقه با ۲۰۰۰ RPM انجام گرفته و سرم های حاصل تا زمان آنالیز در دمای -۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری می شدند. اندازه گیری اینترلوکین ۴ و اینترفرون گاما توسط کیت شرکت Hangzhou Eastbiopharm به CK-E11382 و CK-E20011 ترتیب با شماره کیت ۷۵ mg/kgBw ساخت کشور چین به روش الیزا مطابق با دستورالعمل

روی نورون های عصبی(۲۱) توسط ۵-HMF گزارش شده است.

بررسی مطالعات اخیر نشان می دهد ۵-HMF می تواند اثرات مثبتی بر روی سیستم ایمنی نیز داشته باشد. مطالعه invitro اثر ضد آرژی ۵-HMF را در سلول های بازو فیل نشان داد(۲۲) و هم چنین مطالعه دیگر ۵-HMF را به عنوان یک ترکیب ضد التهاب در سلول های آندوتیال عروقی مطرح کرد(۲۳). بنا بر این هدف از این مطالعه بررسی اثر ضد آرژی ۵-HMF از طریق اندازه گیری میزان سرمی برخی اجزای پاسخ سایتوکاینی در موش های c/BALB ایمیونیزه شده با اوآلبومنین می باشد.

## مواد و روش ها

حیوانات: مطالعه حاضر به صورت تجربی در قالب طرح تحقیقاتی مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تبریز و با حمایت مالی آن ها انجام شد و دارای مجوز اخلاق در پژوهش از کمیته اخلاق این دانشگاه با شماره TBZMED.REC.1394.8 می باشد. ۲۰ موش ماده از نژاد c/BALB، سن  $1 \pm 1$  ماه و وزن  $25 \pm 5$  گرم انتخاب شد. قبل از شروع آزمایش ها حیوانات به مدت ۱ هفته در شرایط آزمایشگاهی استاندارد با دسترسی آزاد به آب و غذا، در دمای ۲۲-۲۵ درجه سانتی گراد، سیکل ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی ۴۰-۶۰ درصد نگهداری شدند.

گروه بندی حیوانات: بعد از یک هفته نگهداری موش ها در شرایط آزمایشگاهی استاندارد، به صورت تصادفی به ۴ گروه ۵ تایی تقسیم بندی شدند(۱۷):

گروه کنترل: پلیت های خوراکی معمول+تزریق PBS (phosphate-buffered saline)  
گروه مواجهه: پلیت های خوراکی معمول+تزریق اوآلبومنین

گروه LHMF: پلیت های خوراکی حاوی ۵-HMF +تزریق اوآلبومنین(۱۸۸ mg/kgBw)  
گروه HHMF: پلیت های خوراکی حاوی ۵-HMF +تزریق اوآلبومنین(۷۵ mg/kgBw)

پایین تر بود( $P<0.001$ ). نتایج نشان داد میزان ایترلوکین ۴ در گروه های دریافت کننده 5-HMF به طور معنی داری پایین تر از گروه مواجهه بود( $P<0.001$ ) و 5-HMF به ترتیب در دوز پایین و بالا موجب کاهش ایترلوکین ۴ به میزان ۶۰ و ۴۵ درصد شده بود. تفاوت معنی داری بین میانگین ایترلوکین ۴ در دو گروه دریافت کننده 5-HMF وجود نداشت( $P>0.05$ ).

میانگین و انحراف معیار سطح سرمی ایترفرون گاما سرمی چهار گروه مورد بررسی در نمودار شماره ۱ ارائه شده است. آزمون ANOVA تفاوت معنی داری بین چهار گروه مورد بررسی نشان داد( $P<0.01$ ) به طوری که میزان سرمی ایترفرون گاما در دوز پایین و بالای 5-HMF به ترتیب ۴۹ و ۴۶ درصد پایین تر از گروه مواجهه بود( $P<0.05$ ) هم چنین مقایسه میانگین میزان ایترفرون گاما بین گروه مواجهه با کنترل تفاوت معنی داری نشان داد و در گروه کنترل ۵۴ درصد پایین تر بود( $P<0.01$ ) تفاوت معنی داری بین میانگین ایترفرون گاما در دو گروه دریافت کننده 5-HMF وجود نداشت( $P>0.05$ ).

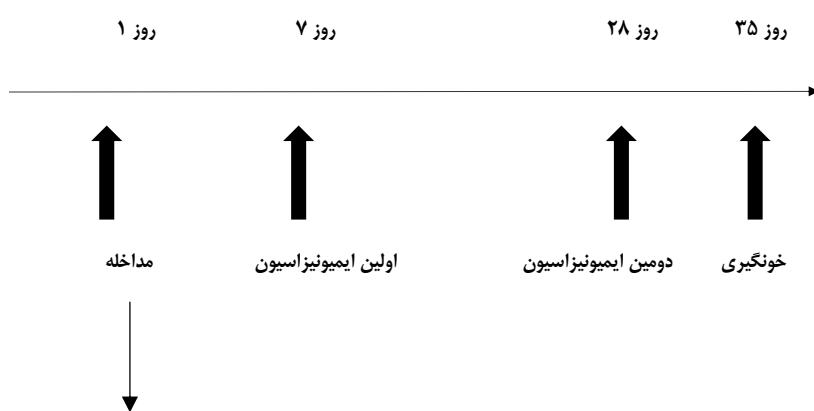
کیت شرکت سازنده با مقایسه چگال نوری نمونه های تست با منحنی استاندارد انجام شد. میزان حساسیت اندازه گیری به ترتیب برای ایترلوکین ۴ و ایترفرون گاما برابر با  $2/53$  و  $2/33$  نانوگرم در میلی لیتر بود.

تحلیل آماری: مقایسه گروه ها با استفاده از آنالیز One-way ANOVA و تست تعقیبی mean $\pm$ S.E.M بررسی گردید. همه داده ها به صورت mean $\pm$ S.E.M ارائه شدند. با استفاده از آزمون کولموگروف اسمیرنوف نرمالیته داده ها به دست آمد. برای تمامی آنالیزها، سطح معنی داری  $P<0.05$  در نظر گرفته شد.

### یافته های پژوهش

مطالعه حاضر در طول پنج هفته انجام گرفت که هیچ گونه تلفاتی در طول مطالعه مشاهده نشد. بنا بر این نتایج ارائه شده مربوط به چهار گروه پنج تایی از حیوانات می باشد که به صورت mean $\pm$ S.E.M در نمودار یک گزارش شده است.

مقایسه میانگین سطح سرمی ایترلوکین ۴ بین چهار گروه مورد مطالعه با استفاده از آزمون ANOVA اختلاف معنی داری نشان داد( $P<0.001$ ) مقایسه میانگین میزان ایترلوکین ۴ بین گروه مواجهه با کنترل تفاوت معنی دار نشان داد و در گروه کنترل ۵۰ درصد



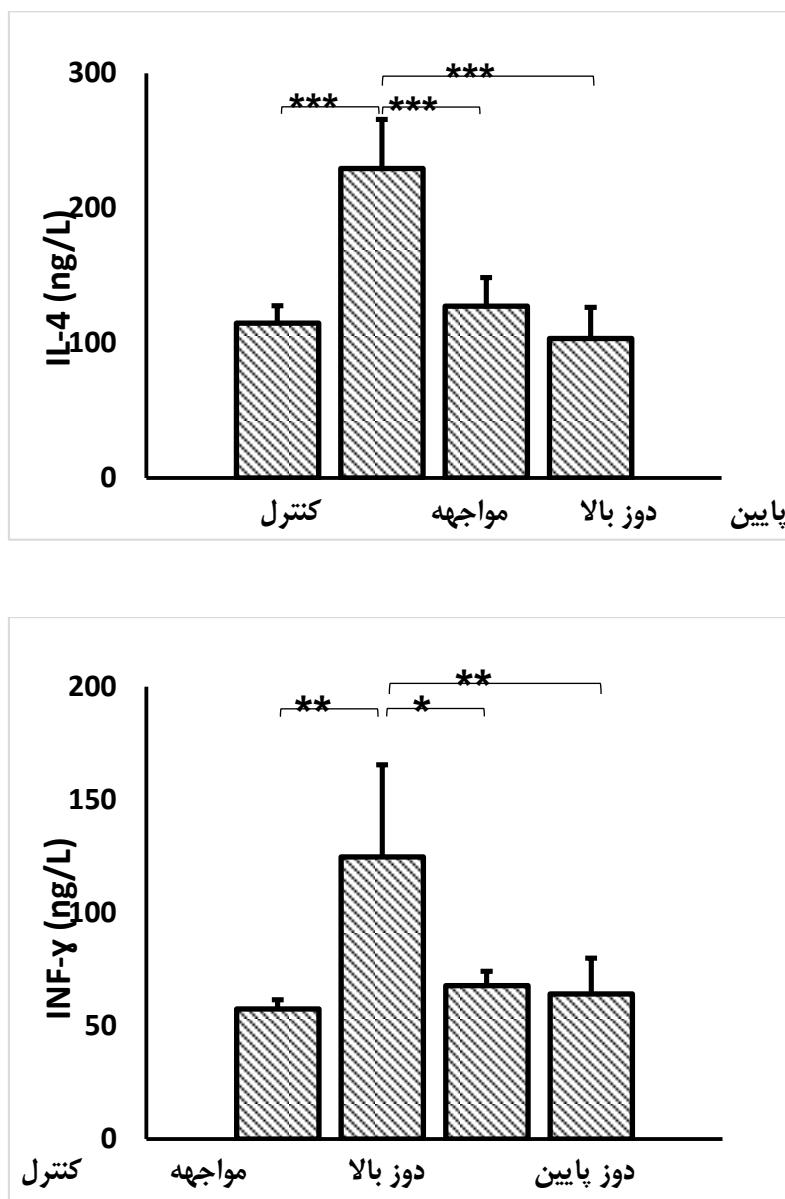
گروه کنترل: پلیت های خوراکی معمول+تزریق PBS ( phosphate- buffered saline)

گروه مواجهه: پلیت های خوراکی معمول+تزریق اولبومین

گروه LHMF: پلیت های خوراکی حاوی 5-HMF (۱۸۸ mg/kgBw)+تزریق اولبومین

گروه HHMF: پلیت های خوراکی حاوی 5-HMF (۷۵۰ mg/kgBw)+تزریق اولبومین

شکل شماره ۱. پروتکل انجام مطالعه



نمودار شماره ۱. اثر ۵-HMF در دوز ۱۸۸ و ۷۵۰ mg/kg bw IFN- $\gamma$  و IL-4 بر سطوح سرمی (mg/kg bw) در موش های BALB/c ایمیونیزه شده با اوآلبومین. هر ستون mean $\pm$ S.E.M را نشان می دهد. \*\*\*P<0.001، \*\*P<0.01، \*P<0.05.

ایتلولوکین ۴ نقش مهمی در شروع واکنش های آرژیک وابسته به IgE دارا می باشد و توقف سنتز آن با کاهش تولید IgE همراه است(۲۵). از طرف دیگر نتایج به دست آمده نشان داد میزان اینترفرون گاما نیز به طور معنی داری در هر دو دوز دریافت کننده ۵-HMF ۵ کاهش یافته است. در چندین سال گذشته داروهای مختلفی برای درمان بیماری های آرژیک از طریق تعديل سایتوکاین های ترشح شده از سلول های

### بحث و نتیجه گیری

در مطالعه حاضر، اثر ۵-HMF در دو دوز مختلف بر روی برخی اجزای پاسخ سایتوکاینی در سرم موش های BALB/c ایمیونیزه شده با اوآلبومین مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مطالعه نشان داد، ۵-HMF در هر دو دوز دریافتی موجب کاهش قابل توجه ایتلولوکین ۴، سایتوکاین کلیدی در پاسخ ایمنی Th2 شد و افزایش دوز تاثیر معنی داری در نتایج نشان نداد.

حساس به ردوكس NF-kB قرار می گیرد. توقف تولید NF-kB با کاهش سنتر بسیاری از سایتوکاین ها همراه خواهد بود(۳۰). در این راستا، مطالعه ای توسط کیم و همکاران نشان داد 5-HMF از طریق مهار تولید NF-kB می تواند اثرات ضد التهابی داشته باشند(۲۳). بنابراین به نظر می رسد فعالیت آنتی اکسیدانی 5-HMF می تواند نقش مهمی در اثرات ضد التهابی و ضد آلرژی این ترکیب داشته باشد.

در کل نتایج مطالعه حاضر برای اولین بار نشان داد، 5-HMF می تواند موجب کاهش تولید برخی از اجزای پاسخ سایتوکاینی Th1 و Th2 در سرم موش های BALB/c ایمیونیزه شده با اولوپومین شود. مطالعات آینده می تواند دستاوردهای مهمی در زمینه استفاده از 5-HMF به عنوان مکمل یا داروی ضد آلرژی به دست آورد. هم چنین طبق نتایج این مطالعه این ترکیب می تواند در بیماری های مرتبط با افزایش سایتوکین های Th1 و Th2 نقش داشته باشد. با این وجود مطالعات بیشتری برای بررسی مکانسیم دقیق تر و عوارض احتمالی پیشنهاد می شود.

### سپاسگزاری

از مرکز تحقیقات علوم تغذیه دانشگاه علوم پزشکی تبریز به جهت حمایت مالی از این پژوهه قدردانی می شود. از مرکز تحقیقات کاربردی علوم داروبی دانشگاه علوم پزشکی تبریز جهت تهیه و نگهداری حیوانات کمال تشکر به عمل می آید. این مقاله قسمتی از پایان نامه حامد خدایی برای اخذ مدرک کارشناسی ارشد علوم تغذیه می باشد.

### References

- Hansen T, Evjenth B, Holt J. Increasing prevalence of asthma allergic rhinoconjunctivitis and eczema among schoolchildren three surveys during the period 1985-2008. *Acta Pediatr* 2013;102: 47-52.
- Menz G, Ying S, Durham SR, Corrigan CJ, Robinson DS, Hamid Q, et al. Molecular concepts of IgE-initiated inflammation in atopic and nonatopic asthma. *Allergy* 1998;53:15-21.
- Barnes PJ. Cytokine modulators as novel

استفاده شده اند که به دلیل عوارض متعددی که به همراه داشته اند با محدودیت مصرف رو به رو شده اند(۱۱). بنا بر این، با وجود برخی از نگرانی ها در مورد اثرات غذایی حاوی 5-HMF بالا، به نظر می رسد این ترکیب می تواند در تعديل سایتوکاین های التهابی نقش مهمی ایفا کند.

مطالعات بسیاری وجود دارد که نشان می دهد ترکیبات آنتی اکسیدانی توانایی بالایی در کاهش تولید سایتوکاین های ترشح شده از سلول های Th دارند(۲۶). چندین مطالعه اخیر اثرات آنتی اکسیدانی 5-HMF را بررسی و این ترکیب را به عنوان یک آنتی اکسیدان بالقوه مطرح کرده اند. ژاوو و همکاران گزارش کردند، 5-HMF موجب کاهش رادیکال های آزاد می شود و از طرف دیگر می تواند موجب افزایش آنزیم های آنتی اکسیدانی از جمله: گلوتاتیون پراکسیداز(GPx)، سوپراکسید دیسموتاز(SOD) و کاتالاز(CAT) شود(۱۹). پراکسیداسیون لیپیدها و ارزیابی دفاع آنتی اکسیدانی در بافت مغز حیوانات نشان داد، 5-HMF موجب کاهش مقدار مالون دی آلدھید(MDA) و SOD در این بافت می شود(۲۷) و موجب حفاظت از آسیب اکسیداتیو القاء شده توسط ایسکمی مغزی در رت ها شد(۲۸). یونگ و همکاران به این نتیجه رسیدند، گروه های عملکردی در 5-HMF شامل باندهای دوگانه، اتم اکسیژن آلدھیدی و اکسیژن موجود در حلقه فورانی مهم ترین نقش را در اثرات آنتی اکسیدانی این ترکیب فورانی ایفا می کنند(۲۹). به نظر می رسد مکانسیمی که ترکیبات آنتی اکسیدانی همانند 5-HMF موجب کاهش تولید سایتوکاین ها می شود تحت تاثیر مهار فاکتور رونویسی

therapies for asthma. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* R2002;42:81-98.

4. Kashiwada M, Deborah M, McKeag L, Murray K, Schröder A, Stephen M et al. IL-4-induced transcription factor NFIL3/E4BP4 controls IgE class switching. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 107: 812-26.5

5. Saba MA, Akbari H, Banihashemian SM, Jazayeri H, Talaei SA, Banihashemian SH, et al. [Relationship between serum levels of IL-4 and IgE with disease severity in

- allergic asthma]. J Kashan Uni Medl Sci 2013; 17:366-72. (Persian)
6. Haas H, Falcone F, Holland M, Schramm G, Haisch K, Gibbs B. Early interleukin-4: its role in the switch towards a Th2 response and IgE mediated allergy. *Int Arch Allergy Immunol* 2000; 119:86-94.
  7. Schmidtweber CB. Anti-IL-4 as a new strategy in allergy. *Chem Immunol Allergy* 2012; 96:120-5.
  8. Fietta P, Delsante G. The effector T helper cell triade. *Riv Biol* 2009; 102:61-74.
  9. Holgate S, Polosa R. Treatment strategies for allergy and asthma. *Nat Rev Immunol* 2008; 8:218-29.
  10. Teixeira L, Fonseca B, Barboza B, Viola J. The role of interferon-γ on immune and allergic responses. *Mem Ins. Oswaldo Cruz* 2005; 100: 137-44.
  11. Dubus JC, Marguet C, Deschildre A, Mely L, Le Roux P, Brouard J, et al. Local side effects of inhaled corticosteroids in asthmatic children influence of drug dose age and device. *Allergy* 2001;56:944-8.
  12. Yong G, Zhang Y, Ying J. Efficient catalytic system for the selective production of 5-hydroxymethylfurfural from glucose and fructose. *Angew Chem* 2008; 120: 9485-88.
  13. Gokmen V, Senyuva H. Improved method for the determination of hydroxymethylfurfural in baby foods using liquid chromatography-mass spectrometry. *J Agric Food Chem* 2006; 54: 2845-49.
  14. Ghadimi SS, Alizadeh M, Esfanjani AT, Hezaveh SJG, Vayghan HJ. Assessment of dietary exposure to 5-hydroxymethylfurfural from traditional Iranian flat breads. *Ital J Food Sci* 2014;26:169-73.
  15. Rufianhenares JA, Cueva SP. Assessment of hydroxymethylfurfural intake in the Spanish diet. *Food Addit Contam* 2008; 25:1306-12.
  16. Capuano E, Fogliano V. Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural a review on metabolism toxicity occurrence in food and mitigation strategies. *Food Sci Technol* 2011;44:793-810.
  17. Program NT. NTP toxicology and carcinogenesis studies of 5-hydroxymethyl-2-furfural in F344/N Rats and B6C3F1 Mice gavage studies. *Nat Toxicol Prog Tech Rep Ser* 2010; 554:7-12.
  18. Michail K, Matzi V, Maier A, Herwig R, Greilberger J, Juan H, et al. Hydroxymethylfurfural an enemy or a friendly xenobiotic? *Anal Bioanal Chem* 2007;387:2801-14.
  19. Zhao L, Chen J, Su J, Li L, Hu S, Li B, et al. Invitro antioxidant and antiproliferative activities of 5-hydroxymethylfurfural. *J Agr Food Chem* 2013;61:10604-11.
  20. Cao G, Cai H, Cai B, Tu S. Effect of 5-hydroxymethylfurfural derived from processed *Cornus officinalis* on the prevention of high glucose-induced oxidative stress in human umbilical vein endothelial cells and its mechanism. *Food Chem* 2013;140: 273-9.
  21. Liu A, Zhao X, Li H, Liu Z, Liu B, Mao X, et al. 5-Hydroxymethylfurfural an antioxidant agent from *Alpinia oxyphylla* Miq. improves cognitive impairment in Aβ 1-42 mouse model of Alzheimers disease. *Int Immunopharmacol* 2014;23: 719-25.
  22. Yamada P, Nemoto M, Shigemori H, Yokota S, Isoda H. Isolation of 5-hydroxymethyl furfural from *Lycium chinense* and its inhibitory effect on the chemical mediator release by basophilic cells. *Planta Med* 2011;77:434-37.
  23. Kim HK, Choi Y, Lee EN, Park JK, Kim S, Park D, et al. 5-Hydroxymethylfurfural from black garlic extract prevents tnfα-induced monocytic cell adhesion to HUVECs by suppression of vascular cell adhesion molecule-1 expression reactive oxygen species generation and NF-κB activation. *Phytother Res* 2011;25:965-74.
  24. Satter MA, Sakai K, Ahmed S, Yoshino K, Yamamoto S, Shimizu Y, et al. Low-protein diet induces oral tolerance to ovalbumin in mice. *J Nutr Sci Vitaminol Tokyo* 2002; 48:51-8.
  25. Redpath S, Heieis G, Perona G. Spatial regulation of IL-4 signalling invivo. *Cytokine* 2015; 75:51-6
  26. Tripathi P, Nair S, Arora N. Supplementation of antioxidants glutathione and α-lipoic acid attenuates oxidative stress and Th2 response in allergic airway inflammation. *Indian J Allergy Asthma Immunol* 2013;27:19-23.
  27. Ya B, Zhang L, Zhang L, Li Y, Li L. 5-hydroxymethyl-2-furfural prolongs survival and inhibits oxidative stress in a mouse

- model of forebrain ischemia. *Neural Regen Res* 2012;7:1722-28.
28. Zhang JH, Di Y, Wu LY, He YL, Zhao T, Huang X, et al. 5-HMF prevents against oxidative injury via APE/Ref-1. *Free Radic Res* 2015;49:86-94.
29. Li YX, Li Y, Qian ZJ, Kim MM, Kim SK. In vitro antioxidant activity of 5-HMF isolated from marine red alga Laurencia undulata in free-radical-mediated oxidative systems. *J Microbiol Biotechnol* 2009;19:1319-27.
30. Checker R, Sandur SK, Sharma D, Patwardhan RS, Jayakumar S, Kohli V, Potent anti inflammatory activity of ursolic acid a triterpenoid antioxidant is mediated through suppression of NF-κB, AP-1 and NF-AT. *PLosone* 2012;7:313-18.



## Cytokine Responses in BALB/c Mice Immunized with Ovalbumin after Oral Administration of 5-Hydroxymethylfurfural

Alizadeh M<sup>1</sup>, Khodaei H<sup>2\*</sup>

(Received: August 15, 2016)

Accepted: February 4, 2017)

### Abstract

**Introduction:** 5-Hydroxymethylfurfural (5-HMF) is one of the most important products of the Millard reaction. Several kinds of food and beverage produce high amount of 5-HMF. In the recent years many profitable effects of this compound have been demonstrated. Because of the role of T helper cells cytokines in the inflammatory responses, this study sought to investigate the effects of 5-HMF on IFN- $\gamma$  and IL-4 levels respectively as Th1 and Th2 cytokines in BALB/c mice immunized with ovalbumin (OVA).

**Materials & methods:** BALB/c mice (n=5 for each group) were grouped as follow: control, vehicle, and two different treatment groups. The treatment groups received daily doses of 188 and 750 mg/kg body weight, respectively). The groups were immunized

with OVA on days 7 and 28 except for the controls. Interleukin 4(IL-4) and interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) levels were measured in serum by ELISA.

**Findings:** IL-4 levels were significantly suppressed in 5-HMF treatment groups ( $P<0.001$ ). IFN- $\gamma$  levels were significantly lowered in the treatment groups ( $P<0.05$ ). Further, no significant difference was observed in IL-4 and IFN- $\gamma$  levels between treatment groups ( $P>0.05$ ).

**Discussion & conclusions:** 5-HMF reduced production of selected components of Th1 and Th2 cytokine responses in immunized BALB/c mice.

**Keywords:** 5-Hydroxymethylfurfural, Cytokine, Ovalbumin

1. Nutrition Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

2. Student Research Center, Faculty of nutrition, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

\*Corresponding author Email: hamedkhodaeii@yahoo.com