تاثیر عصاره الکلی سیر بر بیان ژن کدکننده پروتیین انتقال‌دهنده غشایی ABCA1 در ماکروفاژهای THP-1 انسانی

زهرا ملک‌پور دهکردی[1]
ابراهیم جوادی[1*]، محمود دوستی[1]
ملیحه پاک‌نژاد[1]، میترا نوربخش[1]
نرگس یاسا[2]، سیاوش گرایش نژاد[1]
رامین حشمت[3]

۱- گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
۲- گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
۳- پژوهشکده تحقیقات غدد و متابولیسم، بیمارستان شریعتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

[*] نویسنده مسئول: تهران، بلوار کشاورز، خیابان قدس، خیابان پورسینا، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی، گروه بیوشیمی بالینی تلفن: ۸۸۹۵۳۰۰۴-۰۲۱
email: javadieb@tums.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۰۱/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۲/۱۷

چکیده

زمینه و هدف: پروتیین انتقال‌دهنده غشایی ATP Binding Cassette transporter A1 (ABC A1) به‌عنوان یک واسط کلیدی در تحویل کلسترول از ماکروفاژهای غنی از لیپید به آپو لیپوپروتیین A1 که اولین مرحله در انتقال معکوس کلسترول در بدن و مرحله قطعی در جلوگیری از آترواسکلروز است، می‌باشد. افزایش بیان ATP binding cassette transporter A1 ممکن است مانع از تشکیل ماکروفاژهای غنی از لیپید شود و به‌دنبال آن خطر بروز آترواسکلروز کاهش یابد. با توجه به خاصیت ضد آترواسکلروزی و ضد آترونیکی سیر در دیواره عروق، هدف از این مطالعه بررسی اثر عصاره الکلی سیر بر بیان ژن ATP binding cassette transporter A1 در ماکروفاژهای THP-1 انسانی می‌باشد. ***روش بررسی:*** با استفاده از آزمایش تعیین دوز توکسیک، دوز توکسیک عصاره الکلی سیر بر ماکروفاژهای THP-1 تعیین شد. سلول‌های ماکروفاژ با غلظت‌های مختلف عصاره الکلی سیر به‌مدت ۴۸ ساعت تیمار شدند. RNA از ماکروفاژهای تیمارشده استخراج و به‌وسیله Real-time PCR بررسی شد. پروتیین از سلول‌های ماکروفاژ تیمار شده استخراج و با آزمایش وسترن بلات مورد بررسی قرار گرفت. ***یافته‌ها:*** غلظت‌های مختلف عصاره الکلی سیر، بیان ATP binding cassette transporter A1 mRNA را به‌میزان ۲۳-۲۰٪ و بیان پروتیین آن‌را به‌میزان ۳۷-۱۸٪ در مقایسه با گروه کنترل (سلول‌های تیمار نشده) به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) افزایش داد. ***نتیجه‌گیری:*** عصاره الکلی سیر دارای اثرات مثبتی بر بیان ژن ATP binding cassette transporter A1 در سلول‌های ماکروفاژ است و احتمالاً با افزایش انتقال معکوس کلسترول در ماکروفاژ از ایجاد آترواسکلروز جلوگیری می‌کند.

کلمات کلیدی: ATP binding cassette transporter A1، عصاره الکلی سیر، آترواسکلروز.

مقدمه

آترواسکلروز (Atherosclerosis) یک بیماری مزمن التهابی و از علل اصلی مرگ و میر در جهان به‌شمار می‌رود. تجمع چربی در دیواره عروق به‌دلایل مختلف، از اتفاقات اولیه آترواسکلروز است.[1] فاکتورهای غذایی نقش کلیدی در توسعه بسیاری از بیماری‌ها از جمله آترواسکلروز بازی می‌کنند.[2و3] مطالعات نشان داده‌اند که عصاره الکلی سیر تعدیل‌کننده فاکتورهای خطر بیماری‌های قلبی- عروقی، از جمله کاهش کلسترول خون،[4] کاهش فشار خون،[5] جلوگیری از اکسید شدن لیپوپروتیین با چگالی پایین (LDL)،[6و7] بهبود عملکرد عروق[8] و ممانعت از آسیب سلول‌های اندوتلیال[9] است. علاوه بر اثر سیر بر فاکتورهای خطر آترواسکلروز، سیر دارای خواص ضد آترونیک و ضد آترواسکلروتیک بر دیواره عروق نیز می‌باشد[10و11] و از ایجاد آترواسکلروز جلوگیری می‌کند. افزایش LDL اکسید شده[12] و تشکیل سلول‌های کفی شکل غنی از چربی[13و14] دو فاکتور مهم و قطعی در تشکیل و توسعه ضایعات آترواسکلروزی می‌باشند. در واقع سلول‌های کفی‌شکل هنگامی به‌وجود می‌آیند که ماکروفاژهای دیواره عروق مقدار زیادی LDL اکسید شده (ox-LDL) را که از نظر آنتی‌ژنیک فعال است، برداشت نموده و استرهای کلسترول به‌مقدار زیاد در سیتوپلاسم آن‌ها تجمع یابد.[15] تشکیل و تجمع سلول‌های کفی‌شکل، عامل اصلی پیشرفت رگه‌های چربی و ایجاد ضایعات پیچیده و پلاک‌های آترواسکلروزی است.[15] از طرفی لیپوپروتیین با چگالی بالا (HDL) و آپوپروتیین A-I نقش مهمی در انتقال معکوس کلسترول از ماکروفاژهای غنی از لیپید به کبد دارند و از تجمع کلسترول استر در ماکروفاژها و تشکیل سلول‌های کف‌آلود جلوگیری

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-24]

می‌کنند[۱۶] که این عمل به‌واسطه پروتیین ABCA1 که یک پروتیین ناقل غشایی در ماکروفاژ است صورت می‌گیرد.[۱۷] ABCA1 به‌عنوان یک تنظیم‌کننده کلیدی برداشت کلسترول به‌واسطه آپوپروتیین‌ها و جلوگیری از تشکیل سلول‌های کفی‌شکل شناخته شده است.[۱۸] به‌طوری که پیشنهاد شده است که افزایش بیان ABCA1 در ماکروفاژها به‌طور مستقیم با افزایش سطح HDL،[۱۹] تحریک ترشح کلسترول از طریق HDL و متعاقباً ممانعت از پیشرفت آترواسکلروز ارتباط دارد.[۲۰و۲۱] لذا، با توجه به اثر مثبت سیر در پیش‌گیری از بیماری‌های قلبی- عروقی، لازم است مکانیسم‌های اثر مستقیم سیر و عصاره‌های آن بر آترواسکلروز بررسی شود. به‌همین منظور با توجه به اهمیت نقش ABCA1 در انتقال معکوس کلسترول و هم‌چنین نقش آن در تولید HDL، افزایش بیان آن یکی از راه‌کارها در درمان آترواسکلروز است و هدف از این مطالعه بررسی اثر عصاره الکلی سیر بر بیان ژن ABCA1 در ماکروفاژهای انسانی است.

روش بررسی

مطالعه حاضر از نوع تجربی بوده و در آزمایشگاه‌های کشت سلولی و تحقیقاتی دانشگاه علوم پزشکی تهران، گروه بیوشیمی طی سال‌های ۹۰-۱۳۸۸ انجام گرفت. مواد مورد استفاده در این تحقیق شامل سلول‌های مونوسیت THP-1 انسانی که از انستیتوپاستور خریداری شد. محیط کشت سلولی RPMI 1640، گلوتامین، پنی‌سیلین و سرم جنین گاوی (FBS) از شرکت گیبکو آمریکا تهیه شد. کیت استخراج RNA (RNeasy protect cell mini kit)، کیت سنتز cDNA (Quantitect Rev. transcription kit)، پرایمر ژن ABCA1 و پرایمر ژن β-Actin از شرکت کیاژن کشور آلمان خریداری شد. کیت SYBR green Real time PCR ساخت شرکت تاکارا کشور ژاپن برای بررسی‌های بیان ژن به‌کار گرفته شد. آنتی‌بادی ضد ABCA1 از شرکت نووس، آنتی‌بادی ثانویه Horseradish peroxidase (HRP)-conjugated goat anti-rabbit IgG از شرکت بتیل و آنتی‌بادی ضد β-Actin از شرکت سیگما که همگی ساخت کشور آمریکا بودند، تهیه گردید. Phorbol 12-myristate13-acetate (PMA)، dimethyl sulfoxide (DMSO) و بقیه مواد مصرفی از شرکت سیگما آلمان خریداری شد.

تهیه عصاره الکلی سیر: سیر تازه از منطقه همدان تهیه شد که پس از تمیز کردن، با رنده مخصوص سیر، رنده شدند. به سیرهای رنده شده، الکل اتانول ۸۰٪ اضافه شد و به‌مدت ۲۴ ساعت در اتاق نگه‌داری شد، بعد از این مدت، محلول رویی دکانت و جمع‌آوری شد. دوباره الکل اضافه شد و این پروسه چهار بار تکرار شد. عصاره به‌دست آمده توسط دستگاه روتاری تغلیظ شد و با استفاده از دستگاه فریز درایر عصاره خشک و به‌صورت پودر در آورده شد.

کشت و تمایز سلولی: سلول‌ها در محیط کشت RPMI 1640 حاوی ۱۰٪ FBS، گلوتامین، آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین (۱۰۰ U/ml) و استرپتومایسین (۱۰۰µg/m) کشت داده و در انکوباتور دارای ۵٪ CO_2 در دمای ۳۷ °C نگه‌داری شدند. به‌منظور تبدیل سلول‌های مونوسیت THP-1 به ماکروفاژ، سلول‌های مونوسیت به‌مدت ۷۲ ساعت در محیط کشت حاوی ۵۰ng/ml ترکیب Phorbol 12-myristate 13- acetate (PMA) کشت داده شدند و جهت اثبات تمایز مونوسیت‌ها به ماکروفاژ از مشاهده مرفولوژی آن‌ها زیر میکروسکوپ استفاده شد.

آزمایش MTT و تعیین دوز سمی: جهت تعیین دوز سمی عصاره الکلی سیر و مشخص کردن دوز LC50 (مقداری از دارو که برای ۵۰٪ جمعیت مورد مطالعه سمی و کشنده است) از آزمایش MTT که بر اساس احیاء نمک 3-[4, 5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl (tetrazolium bromide) توسط آنزیم سوکسینات دهیدروژناز میتوکندری سلول‌های زنده به بلورهای آبی‌رنگ و نامحلول فورمازان است، استفاده شد. به این منظور، پس از کاشته شدن و تیمار سلول‌ها با غلظت‌های مختلف عصاره الکلی سیر به‌مدت ۴۸ ساعت، محیط کشت روی سلول‌ها برداشته و ۲۰۰µl محیط کشت حاوی ۰/۵mg/ml از ماده MTT، به سلول‌ها اضافه شد و به‌مدت سه ساعت در انکوباتور، انکوبه شد. سپس محیط رویی سلول‌ها برداشته شد و ۱۰۰µl DMSO اضافه شد تا بلورهای فورمازان به‌صورت محلول ارغوانی‌رنگ یکنواخت درآیند. جذب این محلول در ۵۴۰nm با استفاده از ELISA reader قرائت شد. هر آزمایش سه بار تکرار گردید.

بررسی بیان ABCA1 mRNA: به‌منظور تعیین تأثیر عصاره الکلی سیر بر بیان ژن ABCA1 در ماکروفاژهای THP-1، این سلول‌ها تحت تأثیر غلظت‌های مختلف این عصاره (۳mg/ml، ۱/۵، ۰/۷۵) به‌مدت ۴۸ ساعت تیمار شدند. سلول‌ها لیز شده و RNA آن‌ها با استفاده از کیت RNeasy cell mini kit، استخراج شد. از روی RNA، با استفاده از کیت quantiTect reverse transcription و مطابق با دستورالعمل کیت، cDNA ساخته شد. cDNA ساخته شده با استفاده از کیت SYBR

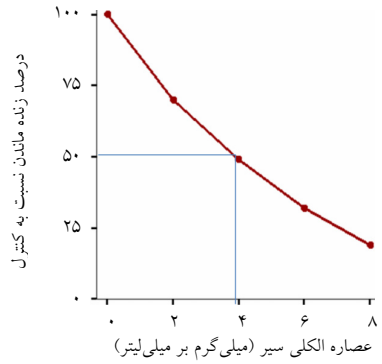
[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-24]

Green و روش Real-time PCR و هم‌چنین پرایمرهای طراحی‌شده برای ABCA1 و β-Actin مطابق دستورالعمل کیت، تکثیر شده و مقدار محصول در هر نمونه تیمار شده با مقدار کنترل (تیمار نشده) مقایسه گردید. به‌عنوان نرمالایزر از ژن مرجع β-Actin استفاده شد. روش CtΔΔ برای مقایسه نیمه‌کمّی نمونه‌ها به‌کار گرفته شد. آزمایشات به‌صورت دوتایی انجام‌شد و حداقل سه‌بار تکرار گردیدند.

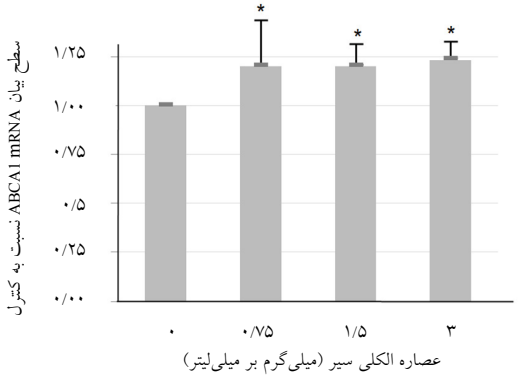
بررسی بیان پروتیین: جهت تأیید نتایج به‌دست آمده از Real-time PCR، اثر عصاره الکلی سیر بر بیان پروتیین ABCA1 نیز مورد بررسی قرار گرفت. در این روش پس از تیمار ماکروفاژها با غلظت‌های مختلف عصاره الکلی سیر (۳mg/ml، ۱/۵، ۰/۷۵) به‌مدت ۴۸ ساعت، سلول‌ها دو بار با بافر فسفات سالین شستشو داده شدند و پروتیین سلول‌ها با استفاده از بافر لیز سلولی (20 mM Hepes, 150mM NaCl, 4mM EDTA, 10mM sodium pyrophosphate, 100mM sodium fluride, 10µg/ml aprotinin, 10µg/ml leupeptin, 2% phenylmethylsulfonyl fluoride, and 1% Triton X-100) استخراج شد. با استفاده از روش برادفورد مقدار پروتیین موجود در لیزات سلولی مشخص شد و ۳۰ میکروگرم از پروتیین هر یک از نمونه‌ها به ژل ۸٪ سدیم دو دسیل سولفات- پلی‌آکریل آمید انتقال داده شد و الکتروفورز شدند. پس از این مرحله پروتیین‌های تفکیک شده، با استفاده از دستگاه بلاتینگ به‌غشای PVDF منتقل شدند. بلاکینگ با استفاده از بافر فسفات سالین حاوی ۵٪ شیر خشک انجام گرفت و سپس با آنتی‌بادی اختصاصی پروتیین مورد نظر با رقت ۱/۱۰۰۰ (ABCA1) و یا کنترل با رقت ۱/۱۰۰۰ (β-Actin) و متعاقباً آنتی‌بادی نشان‌دار با آنزیم HRP با رقت ۱/۵۰۰۰ انکوبه شده و در نهایت باند مربوط به پروتیین به کمک سوبسترای کمّی لومینسانس HRP ظاهر گردیده و با استفاده از نرم‌افزار Imagej دانسیتومتری و آنالیز شدند. داده‌ها با نرم‌افزار SPSS ویراست ۱۵ و با آزمون آماری ANOVA تحلیل شدند. اختلاف‌ها زمانی معنی‌دار تلقی شد که P<۰/۰۵ بود. داده‌ها به‌صورت SE± میانگین ارایه شدند.

یافته‌ها

برای به‌دست آوردن غلظت سمی عصاره الکلی سیر بر ماکروفاژهای THP-1 آزمایش MTT در غلظت‌های ۰، ۲، ۴، ۶ و ۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره الکلی سیر انجام شد و LC50 عصاره الکلی سیر برای ماکروفاژهای THP-1، ۴mg/ml تعیین شد (شکل ۱). همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌گردد، عصاره الکلی سیر بیان ژن ABCA1 را در سطح RNA به‌طور معنی‌داری افزایش داده است. به‌طوری که در غلظت‌های ۰/۷۵ و ۱/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره الکلی سیر، بیان ABCA1 RNA نسبت به گروه کنترل (سلول‌های تیمار نشده) ۲۰٪ افزایش دارد (P<۰/۰۵) و در غلظت سه میلی‌گرم در میلی‌لیتر بیان ABCA1 RNA ۲۳٪ نسبت به گروه کنترل (سلول‌های تیمار نشده)

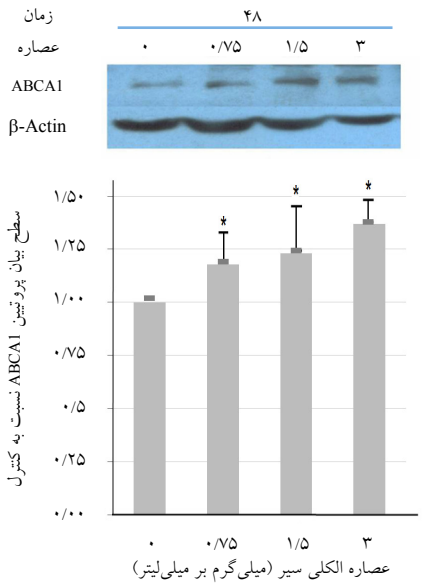


شکل-۱: اثر غلظت‌های مختلف عصاره الکلی سیر بر زنده ماندن ماکروفاژهای THP-1. سلول‌های ماکروفاژ THP-1 با غلظت‌های ۰mg/ml، ۲، ۴، ۶ و ۸ عصاره الکلی سیر به مدت ۴۸ ساعت تیمار شده و درصد زنده ماندن با آزمایش تعیین دوز توکسیک ارزیابی شد. (مقادیر به‌صورت درصد نسبت به گروه کنترل (تیمار نشده) می‌باشد و به‌صورت میانگین± انحراف‌معیار بیان شده است).



شکل-۲: نتایج Real-time PCR بیان ABCA1 mRNA در ماکروفاژهای THP-1. ۱µg از RNA تهیه شده از ماکروفاژهای THP-1 تیمار شده با غلظت‌های مختلف عصاره الکلی سیر، آزمایش real-time PCR شد. هر آزمایش سه‌بار تکرار و مقدار mRNA در هر نمونه به‌صورت نسبی و در مقایسه با گروه کنترل (تیمار نشده، ستون صفر) ارزیابی شد. سطح ABCA1 mRNA به‌طور معنی‌داری در سلول‌های ماکروفاژ THP-1 افزایش دارد. مقادیر به‌صورت میانگین± انحراف‌معیار بیان شده است و * تفاوت معنی‌داری (P<۰/۰۵) می‌باشد.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-24]



شکل-۳: نتایج اثر عصاره الکلی سیر بر بیان پروتئین ABCA1 در ماکروفاژهای THP-1. سلول‌های ماکروفاژ پس از ۴۸ ساعت تیمار شدن، لیز و پروتئین‌ها با الکتروفورز SDS-PGE جداسازی و با ایمنوبلاتینگ ارزیابی شدند. مقادیر با کنترل داخلی β-Actin نرمالایز و در نهایت سطح پروتئین در هر نمونه به‌صورت نسبی و در مقایسه با گروه کنترل (تیمار نشده، ستون صفر) ارزیابی شد. سطح پروتئین ABCA1 به‌طور معنی‌داری در سلول‌های ماکروفاژ THP-1 افزایش دارد. مقادیر به‌صورت میانگین± انحراف‌معیار بیان شده است و * تفاوت معنی‌داری (P<۰/۰۵) می‌باشد.

افزایش دارد (P<۰/۰۵). عصاره الکلی سیر مقدار پروتئین مربوط به ABCA1 را پس از تیمار به‌مدت ۴۸ ساعت، به‌طور معنی‌داری افزایش داده است. همان‌طور که در شکل ۳ نشان داده شده‌است، غلظت‌های مختلف عصاره الکلی سیر (۰/۷۵، ۱/۵ و ۳ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به ترتیب بیان پروتئین ABCA1 را ۱۸٪، ۲۳٪ و ۳۷٪ نسبت به گروه کنترل (سلول‌های تیمار نشده) افزایش داده‌است (P<۰/۰۵).

بحث

در مطالعه ما اثر عصاره الکلی سیر بر بیان ژن ABCA1 مورد بررسی قرار گرفت و نشان داده شد که عصاره الکلی سیر بیان ژن ABCA1 را هم در سطح mRNA و هم در سطح پروتئین افزایش می‌دهد. همان‌گونه که نتایج نشان می‌دهد، عصاره الکلی سیر پس از ۴۸ ساعت تیمار سلول‌های THP-1، بیان ABCA1 mRNA را به‌میزان ۲۳-۲۰٪ و بیان پروتئین را به‌میزان ۳۷-۱۸٪ نسبت به سلول‌های کنترل افزایش داد. چندین مطالعه اهمیت عملکرد ABCA1 در برداشت کلسترول از ماکروفاژها و تحویل آن به آپو A-I را نشان داده‌اند.[۲۳و۲۲و۱۷] Oram نشان داد که پروتئین ABCA1 انتقال کلسترول سلولی از غشای سلولی به آپولیپوپروتئین فقیر از چربی را وساطت می‌کند[۲۴و۱۷] و Van Dam نشان داد که بین افزایش ضخامت دیواره عروق و اختلال در خروج کلسترول سلولی ناشی از نقص عملکرد ABCA1 ارتباط وجود دارد[۲۵] به‌طوری که اگر ABCA1 در ماکروفاژهای موش‌های هیپرلیپیدمیک غیرفعال شود، آترواسکلروز افزایش می‌یابد.[۲۷و۲۶]

در مقابل Aiello و Albrecht نشان دادند که کاهش سطح پروتئین ABCA1، یک فاکتور کلیدی در افزایش زخم‌های آترواسکلروزی می‌باشد[۲۸و۲۶] به‌طوری که Wang نشان داد که با غیر فعال کردن ABCA1 در ماکروفاژها، برگشت کلسترول از ماکروفاژها به کبد و دفع آن به‌طریق صفرا به‌میزان ۵۰٪ کاهش می‌یابد و عملکرد ABCA1 در انتقال معکوس کلسترول، خاصیت ضد آتروژنیک این انتقال‌دهنده را نشان می‌دهد.[۲۹] با توجه به مطالعات انجام گرفته، چنین بر می‌آید که ABCA1 در انتقال معکوس کلسترول و جلوگیری از ایجاد آترواسکلروز نقش دارد و از طرفی افزایش بیان آن منجر به افزایش HDL پلاسما که یک فاکتور ضد آتروژنیک هست نیز می‌شود. مطالعات در انسان و حیوانات آزمایشگاهی نشان داد که یکی از خاصیت‌های عصاره الکلی سیر کاهش سطح کلسترول پلاسما است. به‌دنبال این مطالعه، Effendy با این فرض که عصاره الکلی سیر دارای خاصیت آنتی‌آترواسکلروز است، اثر عصاره الکلی سیر را در توسعه آترواسکلروز در خرگوش بررسی کرد، در این تحقیق، به‌صورت مصنوعی در لایه میوانتیمای رگ‌های کاروتید ۲۴ خرگوش ضخامت ایجاد شد و بعد از دو هفته، به‌طور تصادفی خرگوش‌ها به چهار گروه تقسیم شدند. گروه یک رژیم غذایی استاندارد دریافت می‌کردند، گروه دو رژیم غذایی استاندارد به‌همراه ۸۰۰µg/kg وزن بدن عصاره الکلی سیر دریافت می‌کردند، گروه سه رژیم غذایی استاندارد به‌همراه ۱٪ کلسترول و گروه چهار رژیم غذایی استاندارد همراه ۱٪ کلسترول به‌همراه عصاره الکلی سیر دریافت می‌کردند. بعد از شش هفته بررسی دیده شد که کلسترول سرم در خرگوش‌هایی با رژیم غذایی حاوی کلسترول شش برابر خرگوش‌های با رژیم غذایی عادی است و درمان با عصاره الکلی سیر تاثیر چندانی روی کاهش سطح کلسترول ندارد. در گروه سه زخم‌های حاوی رگه‌های چربی، ۷۰٪

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-24]

ناحیه آئورت توراسیک را می‌پوشاند، در حالی‌که درمان با عصاره الکلی سیر در گروه چهار نشان داد که به‌طور معنی‌داری باعث کاهش سطح این زخم‌ها می‌شود و در گروه یک و دو هیچ زخمی دیده نشد. نتیجه این مطالعه این بود که رژیم غذایی پرچرب، عامل ایجاد رگه‌های چربی در قوس آئورت است که با عصاره الکلی سیر کاهش می‌یابد.[۱۱] Campbell، مکانیسم مولکولی اثر ضد آتروژنیک عصاره الکلی سیر را در خرگوش‌هایی که با رژیم غذایی حاوی ۱٪ کلسترول تغذیه می‌شدند بررسی کرد. وی با درمان این خرگوش‌ها با عصاره الکلی سیر نشان داد که کلسترول پلاسما در این خرگوش‌ها کاهش نیافت اما سطح مقطع رگه‌های چربی در آئورت توراسیک کاهش یافت و مانع از افزایش ضخامت و تجمع چربی در این ناحیه شد. مطالعه آزمایشگاهی این محققان نشان داد که عصاره الکلی سیر کاملاً از تغییر فنوتایپی سلول‌های ماهیچه صاف و تکثیر این سلول‌ها جلوگیری می‌نماید.[۱۰] در یک کارآزمایی بالینی، گروهی تحت درمان با عصاره الکلی سیر همراه با مکمل‌های ویتامین B6، ویتامین B12، اسید فولیک و آرژنین قرار گرفتند و این درمان به‌طور قابل‌توجهی بر فاکتورهای التهابی، اکسیدانی، عملکرد عروق و پیشرفت آترواسکلروز در مقایسه با گروه کنترل اثر گذاشت.[۳۰] با توجه به مطالعات انجام گرفته چنین استنباط می‌گردد که عصاره الکلی سیر دارای خاصیت ضد آترواسکلروزی است، لذا لازم است مکانیسم مولکولی آن نیز مورد بررسی قرار گیرد. در مطالعه ما یکی از مکانیسم‌های احتمالی عصاره الکلی سیر در آترواسکلروز بررسی شد. در این مطالعه نشان داده شد که عصاره الکلی سیر هم بیان ABCA1 mRNA و هم بیان پروتیین ABCA1 را افزایش داد که با توجه به اهمیت بیان ABCA1 در جلوگیری از آترواسکلروز، می‌توان به‌وجود مواد موثر در عصاره الکلی سیر پی برد که در پیش‌گیری از آترواسکلروز نقش دارند.

References

1. Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340(2):115-26.
2. Rahman K. Historical perspective on garlic and cardiovascular disease. *J Nutr* 2001;131(3s):977S-9S.
3. Genkinger JM, Platz EA, Hoffman SC, Comstock GW, Helzlsouer KJ. Fruit, vegetable, and antioxidant intake and all-cause, cancer, and cardiovascular disease mortality in a community-dwelling population in Washington County, Maryland. *Am J Epidemiol* 2004;160(12):1223-33.
4. Steiner M, Khan AH, Holbert D, Lin RI. A double-blind crossover study in moderately hypercholesterolemic men that compared the effect of aged garlic extract and placebo administration on blood lipids. *Am J Clin Nutr* 1996;64(6):866-70.
5. Reinhart KM, Coleman CI, Teevan C, Vachhani P, White CM. Effects of garlic on blood pressure in patients with and without systolic hypertension: a meta-analysis. *Ann Pharmacother* 2008;42(12):1766-71. Epub 2008 Nov 18.
6. Dillon SA, Burmi RS, Lowe GM, Billington D, Rahman K. Antioxidant properties of aged garlic extract: an in vitro study incorporating human low density lipoprotein. *Life Sci* 2003;72(14):1583-94.
7. Lau BH. Suppression of LDL oxidation by garlic. *J Nutr* 2001;131(3s):985S-8S. Review.
8. Okuhara T. Clinical study of aged garlic extract on peripheral circulation. *Jpn Pharmacol Ther* 1994;22:3695-701.
9. Ho SE, Ide N, Lau BH. S-allyl cysteine reduces oxidant load in cells involved in the atherogenic process. *Phytomedicine* 2001;8(1):39-46.
10. Campbell JH, Efendy JL, Smith NJ, Campbell GR. Molecular basis by which garlic suppresses atherosclerosis. *J Nutr* 2001;131(3s):1006S-9S.
11. Efendy JL, Simmons DL, Campbell GR, Campbell JH. The effect of the aged garlic extract, 'Kyolic', on the development of experimental atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1997;132(1):37-42.
12. Heinecke JW. Oxidants and antioxidants in the pathogenesis of atherosclerosis: implications for the oxidized low density lipoprotein hypothesis. *Atherosclerosis* 1998;141(1):1-15.
13. Babaev VR, Patel MB, Semenkovich CF, Fazio S, Linton MF. Macrophage lipoprotein lipase promotes foam cell formation and atherosclerosis in low density lipoprotein receptor-deficient mice. *J Biol Chem* 2000;275(34):26293-9.
14. Hegyi L, Skepper JN, Cary NR, Mitchinson MJ. Foam cell apoptosis and the development of the lipid core of human atherosclerosis. J Pathol 1996;180(4):423-9.
15. Lusis AJ. Atherosclerosis. *Nature* 2000;407(6801):233-41.
16. Panagotopulos SE, Witting SR, Horace EM, Hui DY, Maiorano JN, Davidson WS. The role of apolipoprotein A-I helix 10 in apolipoprotein-mediated cholesterol efflux via the ATP-binding cassette transporter ABCA1. *J Biol Chem* 2002;277(42):39477-84. Epub 2002 Aug 13.
17. Oram JF, Vaughan AM. ABCA1-mediated transport of cellular cholesterol and phospholipids to HDL apolipoproteins. *Curr Opin Lipidol* 2000;11(3):253-60.
18. Feingold KR, Hardardottir I, Memon R, Krul EJ, Moser AH, Taylor JM, Grunfeld C. Effect of endotoxin on cholesterol biosynthesis and distribution in serum lipoproteins in Syrian hamsters. *J Lipid Res* 1993;34(12):2147-58.
19. Attie AD, Kastelein JP, Hayden MR. Pivotal role of ABCA1 in reverse cholesterol transport influencing HDL levels and susceptibility to atherosclerosis. *J Lipid Res* 2001;42(11):1717-26.
20. Costet P, Luo Y, Wang N, Tall AR. Sterol-dependent transactivation of the ABC1 promoter by the liver X receptor/retinoid X receptor. *J Biol Chem* 2000;275(36):28240-5.
21. Scott J. Heart disease. Good cholesterol news. *J Nutr* 1999;400(6747):816-7, 819.
22. Chen W, Silver DL, Smith JD, Tall AR. Scavenger receptor-BI inhibits ATP-binding cassette transporter 1- mediated cholesterol efflux in macrophages. *J Biol Chem* 2000;275(40):30794-800.
23. Sakr SW, Williams DL, Stoudt GW, Phillips MC, Rothblat GH. Induction of cellular cholesterol efflux to lipid-free apolipoprotein A-I by cAMP. *Biochim Biophys Acta* 1999;1438(1):85-98.
24. Oram JF. HDL apolipoproteins and ABCA1: partners in the removal of excess cellular cholesterol. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23(5):720-7. Epub 2003 Jan 9.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-24]

25. van Dam MJ, de Groot E, Clee SM, Hovingh GK, Roelants R, Brooks-Wilson A, et al. Association between increased arterial-wall thickness and impairment in ABCA1-driven cholesterol efflux: an observational study. *Lancet* 2002;359(9300):37-42.
26. Aiello RJ, Brees D, Bourassa PA, Royer L, Lindsey S, Coskran T, et al. Increased atherosclerosis in hyperlipidemic mice with inactivation of ABCA1 in macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22(4):630-7.
27. Vaisman BL, Lambert G, Amar M, Joyce C, Ito T, Shamburek RD, et al. ABCA1 overexpression leads to hyperalphalipoproteinemia and increased biliary cholesterol excretion in transgenic mice. *J Clin Invest* 2001;108(2):303-9.
28. Albrecht C, Soumian S, Amey JS, Sardini A, Higgins CF, Davies AH, Gibbs RG. ABCA1 expression in carotid atherosclerotic plaques. *Stroke* 2004;35(12):2801-6. Epub 2004 Nov 4.
29. Wang MD, Franklin V, Marcel YL. In vivo reverse cholesterol transport from macrophages lacking ABCA1 expression is impaired. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;27(8):1837-42. Epub 2007 May 31.
30. Budoff MJ, Ahmadi N, Gul KM, Liu ST, Flores FR, Tiano J, et al. Aged garlic extract supplemented with B vitamins, folic acid and L-arginine retards the progression of subclinical atherosclerosis: a randomized clinical trial. *Prev Med* 2009;49(2-3):101-7. Epub 2009 Jun 30.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-24]

Tehran University Medical Journal; Vol. 69, No. 3, June 2011: 146-152

The effect of Alcoholic garlic (Allium sativum) extract on ABCA1 expression in human THP-1 macrophages

Zahra Malekpour-Dehkordi MSc.[1]
Ebrahim Javadi PhD.[1*]
Mahmood Doosti PhD.[1]
Maliheh Paknejad PhD.[1]
Mitra Nourbakhsh PhD.[1]
Narguess Yassa PhD.[2]
Siavash Gerayesh-Nejad PhD.[1]
Ramin Heshmat MD.[3]

1- Department of Biochemistry, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
2- Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
3- Endocrine and Metabolism Research Center, Shariati Hospital, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

[*] Corresponding author: Dept. of Clinical Biochemistry, Keshavarz Blvd., Ghods St., Poorsina St., Tehran University of Medical Sciences, School of Medicine, Tehran, Iran.
Tel: +98-21-88953004
email: javadieb@tums.ac.ir

Received: April 10, 2011 Accepted: May 07, 2011

Abstract

Background: ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1) is a key mediator of cholesterol efflux to apoA-I in lipid-laden macrophages, the first step of reverse cholesterol transport (RCT) in vivo and a critical step in preventing atherosclerosis. Enhanced ABCA1 expression may inhibit foam cell formation and consequently reduce atherogenic risk. On the other hand, garlic, *Allium sativum*, and garlic extracts have been demonstrated to have potential cardiovascular benefits. Moreover, garlic has direct antiatherogenic and antiatherosclerotic effects on artery walls. The aim of this study was to evaluate the effects of alcoholic garlic extract on the expression of ABCA1 in macrophages.

Methods: Cell viability assay was used in order to detect the cytotoxic dose of alcoholic garlic extract on macrophages. Real-time PCR and Western blotting were performed to study the effects of alcoholic garlic extract on the expression of ABCA1. Macrophage cells were treated by different concentrations of alcoholic garlic extract for 48 h. The total RNA of the treated macrophages were extracted and analyzed by real-time PCR. ABCA1 protein expression was also analyzed using the Western blotting technique.

Results: Alcoholic garlic extract increased the ABCA1 mRNA (20-23%) and protein expression (18-37%) in THP-1 macrophage cells compared with the controls (untreated cells).

Conclusion: The results of this study are suggestive of the potential effects of alcoholic garlic extract in increasing ABCA1 expression in macrophages, the possibility of promoting reverse cholesterol efflux in macrophages and preventing atherosclerosis.

Keywords: Alcoholic garlic extract, atherosclerosis, ATP-binding cassette transporter A1.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-24]