مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره ۲۳، شماره ۶، شهریور ۱۳۹۴
صفحه: ۵۴۷-۵۳۹

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol. 23, No.6, Aug-Sep 2015
Pages:539-547

بررسي عصاره متانولی برخی گیاهان بومی استان یزد بر تکثیر سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی و ترشح اینترلوکین چهار

نرگس جمشیدیان طهرانی[۱]، حسین هادی ندوشن*[۲]، سیدعلی میرغنی‌زاده بافقی[۳]
علیرضاکریم‌اله[۴]، محمود وکیلی[۵]، مریم اسدی[۶]

چکیده

مقدمه: گونه‌های Echinops ilicifolius، Echinops jesdianus، Echinops ceratophorus و Echinops lasiolepis ازگیاهان بومی استان یزد می‌باشند که تاکنون اثر ایمنومدولاتوری آن‌ها مورد بررسی قرار نگرفته است. هدف این مطالعه تعیین تأثیر غلظت‌های مختلف این گیاهان بر میزان تکثیر سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی و ترشح سایتوکین اینترلوکین چهار بود.

روش بررسی: عصاره ریشه گونه‌های Echinops jesdianus، Echinops ceratophorus، Echinops ilicifolis وEchinops lasiolepis با استفاده از روش خیساندن تهیه گردید. سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی از سه فرد داوطلب به ظاهر سالم فراهم و با حضور غلظت‌های ۰/۱ ، ۱، ۱۰، ۱۰۰ و۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر آنها همراه با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌متر از میتوژن فیتوهماگلوتینین کشت داده شد. میزان تکثیر سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی با استفاده از کیت Brdu تعیین گردید. میزان تولید اینترلوکین چهار در سوپرناتنت این سلول‌ها با روش سنجش آنزیمی(ELISA) اندازه‌گیری شد. $p < ۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

نتایج: عصاره‌های ریشه گونه‌های مورد مطالعه در تمام غلظت‌ها بر تکثیر سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی اثر مهارکنندگی داشتند. اما فقط تأثیر عصاره ریشه‌گونه lasiolepsis در غلظت‌های مختلف معنی‌دار بود($p=۰/۰۴۵$). سطح میانگین اینترلوکین چهار در سوپرناتنت نمونه کنترل و غلظت‌های مختلف مورد بررسی یکسان بود.

نتجه‌گیری: نتایج نشان داد که عصاره ریشه جنس Echinops اثر مهاری بر تکثیر سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی داشته و با کاهش تولید اینترلوکین چهار در برخی گونه‌ها احتمالاً اثر ایمنومدولاتوری دارد. بررسی تأثیر فراکشن‌های این عصاره‌ها بر سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: اینترلوکین چهار، سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی، گیاهان بومی استان یزد، گونه‌های اکینوپس

۱. کارشناس ارشد گروه ایمنولوژی، پردیس بین الملل دانشگاه علوم پزشکی و بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران
۲. دانشیار گروه ایمنولوژی، مرکز تحقیقات ایمنولوژی تولید مثل، دانشگاه علوم پزشکی و بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران
۳. عضو هیئت علمی گروه ایمنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران
۴. استادیار گروه فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران
۵. دانشیار گروه پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی و بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران
۶. کارشناس ارشد گروه ایمنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران
*(نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۹۹۸۳۵۶۲۸۵۴۰۶+ پست الکترونیکی: hhadin@ssu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۴/۱۱

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-27]

مقدمه

گیاهان همیشه نقش مهمی در زندگی بشر به عنوان غذا و دارو داشته‌اند. در دهه اخیر استفاده از طب گیاهی برای درمان بیماری‌ها افزایش قابل توجهی داشته است و عصاره گیاهان مختلف از گیاهان سنتی متداول در فرهنگ عوام مورد بررسی قرار گرفته‌اند(۱). در سال‌های اخیر افزایش جهانی مصرف گیاهان به صورت مکمل‌ها و داروها دیده می‌شود و برخی از مطالعات، اثرات گیاهان بر روی سیستم ایمنی را نشان می‌دهد(۲). مطالعات نشان داده‌اند عصاره برخی از گیاهان دارای اثرات بیولوژیکی متفاوتی هستند(۳). از گیاهان هزاران محصول به دست می‌آید که تعدادی از آنها کاربرد دارویی و درمانی دارند. آخرین آمار منتشر شده نشان می‌دهد که بیش از نیمی از یکصد و پنجاه داروی موثری که در آمریکا تجویز می‌شود، حداقل یکی از اجزایش از گیاهان مشتق شده است و حدود هشتاد درصد از جمعیت جهان وابسته به گیاهان یا عصاره گیاهان به عنوان منبع سلامتی هستند(۴). جداسازی مرفین توسط Sertumer حدود دویست سال پیش به عنوان آغاز علم گیاهان دارویی پذیرفته شده است(۵). این کشف نشان داد که داروهای مستخرج از گیاه می‌تواند کاربردهای وسیعی داشته باشند. این تصور با کشف پنی‌سیلین توسعه پیدا کرد و امروزه استفاده از گیاهان و منابع طبیعی در تولید دارو بسیار رواج یافته است. جمعیت زیادی از کشورهای در حال توسعه برای مراقبت و درمان‌های اولیه از طب سنتی و داروهای گیاهی استفاده می‌کنند(۶). اخیراً تمایل زیادی به بررسی گروه جدیدی از ترکیبات با منشاء طبیعی که پاسخ‌های ایمنی را تعدیل می‌کنند، وجود دارد(۷). گیاهان طیف وسیعی از محصولات طبیعی با اثر ضدمیکروبی و ایمونومدولاتوری از جمله، ایزوفلاونوئید، ایندول، فایتواسترول، پلی‌ساکارید، آلکالوئید گلوکان، تانین و غیره را تولید می‌کنند(۸). این ترکیبات و مخصوصاً ترکیبات فنولی مثل کافئیک اسید، کلروژنیک اسید، فرولیک اسید و پی‌کوماریک اسید اثرات تحریک‌کنندگی بر سیستم ایمنی از خود نشان داده‌اند(۹). ایمونومدولاتوری فعل و انفعالات بدن انسان را در جهت حفظ شرایط پایدار و از طریق سیستم خود تنظیمی به پیش می‌رود. سیستم دفاعی بدن یکی از مهم‌ترین سیستم‌های خود تنظیمی است. سیستم ایمنی درجهت حفظ شرایط پایدار و محافظت از سیستم بیولوژیک سعی در ایجاد پاسخ هدف‌دار علیه عوامل مداخله‌کننده از جمله انواع پاتوژن‌ها دارد. این تنظیم می‌تواند با آزادسازی واسطه‌های مهارکننده یا تحریک‌کننده صورت پذیرد. سیستم ایمنی مثالی از یک سیستم خود تنظیمی است که می‌توان با استفاده از دارو در آن مداخله کرد. استفاده درمانی از این مداخله زمانی که با استفاده از دارو بر سیستم ایمنی تأثیر گذاشته شود، اثر ایمونومدولاتوری اطلاق می‌شود(۱۰).

اینترلوکین چهار(IL-4) به عنوان یک سایتوکین که عمدتاً از سلول‌های T کمکی نوع دو ترشح می‌شود، نقش مهمی در کنترل پاسخ‌های ایمنی ایفا می‌کند. به عنوان مثال، IL-4 باعث افزایش بقا در برخی از سلول‌های توموری می‌شود. هر چند چگونگی ایفای نقش آن به خوبی هنوز روشن نیست. در مطالعه Roca و همکاران نقش IL-4 در تکثیر سلول‌های سرطان پروستات مشخص شده است(۱۱).

جنس Echinops به عنوان یک مکمل دارویی، یکی از شناخته‌شده‌ترین مواد برای کاهش عفونت‌های تنفسی در بالغین می‌باشد. عصاره گونه‌های مختلف این گیاه به علت دارا بودن خاصیت ایمونومدولاتوری در مدل حیوانی وانسانی، هم به صورت Vitro و هم Vivo مورد بررسی قرار گرفته است(۱۲). عصاره ریشه هفت گونه از این جنس بر روی سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی افراد ایمن شده با آنفلونزا نشان داد که برخی از این گونه‌ها قادر به افزایش تولید IL-2 و IL-10 هستند در حالی‌که بر میزان تولید اینترفرون گاما(IFNγ) بی‌تأثیرند(۱۳). عصاره سه گونه از جنس Echinopis در موش‌های ایمن‌شده با گلبول‌های قرمز گوسفند جهت تعیین نقش ایمنومدولاتوری آنها مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که میزان آنتی‌بادی و تکثیر لنفوسیت‌های T در پاسخ به آنتی‌ژن و سایتوتوکسیسیته سلول‌های کشنده طبیعی افزایش

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-27]

یافته و میزان سایتو کین‌های IL-2، IL-4 و IFNγ نیز افزایش می‌یابد، درحالی‌که میزان IL-1β و فاکتور نکروز دهنده توموربتا(TNFβ) کاهش نشان می‌داد(۱۴).

در این مطالعه، برای اولین بار اثر غلظت‌های مختلف عصاره ریشه گیاهان(شکر تیغال خاسی Echinops ilicifolius، شکر تیغال یزدی Echinops jesdianus، شکر تیغال شاخدار Echinops ceratophorus و شکر تیغال اردستانی Echinops lasiolepis که همگی از گیاهان بومی استان یزد می‌باشند، بر میزان تکثیر سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی و میزان تولید IL-4 در افراد داوطلب به ظاهر سالم مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی

ریشه گیاهان(شکر تیغال خاسی، کد هرباریوم ۸۱۴) Echinops ilicifolius، (شکر تیغال یزدی، کد هرباریوم ۹۸۸) Echinops jesdianus، (شکر تیغال شاخدار،کد هرباریوم ۲۳۸۵)Echinops ceratophorus و(شکر تیغال اردستانی، کد هرباریوم ۱۴۳۷) Echinops lasiolepis که همگی از گیاهان بومی استان یزد بوده از مناطق مختلف استان جمع‌آوری و توسط کارشناس مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد تائید شد. عصاره‌گیری از ریشه بر طبق استاندارد و با روش Maceration انجام گردید. ریشه گیاهان با آب مقطر شستشو داده و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک گردید. نمونه‌های خشک شده در چرخ صنعتی آسیاب شده و به مدت ۷۲ ساعت در متانول ۸۵ درصد(شرکت مرک) خیسانده و در این مدت دائماً ظرف حاوی گیاه و متانول تکان داده شد. سپس با قیف بوخنر و پمپ خلاء مواد صاف گردید و بعد از آن، با دستگاه روتاری محلول به دست آمده، تغلیظ گردید تا حلال از عصاره جدا و سپس خشک گردید. بازده، که نسبت وزن عصاره به دست آمده به وزن گیاه اولیه می‌باشد، محاسبه شد. از هر عصاره گیاهی غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر دردی متیل سولفوکسید(DMSO) تهیه و به عنوان ذخیره اصلی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد فریز و نگهداری شد، سپس از آنها رقت‌های ۰/۱، ۱، ۱۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر با استفاده ازمحیط کشت RPMI-1640(Sigma Aldrich) تهیه شد.

از سه داوطلب به ظاهر سالم که به مرکز انتقال خون یزد جهت اهدای خون مراجعه کرده بودند، سه کیسه خون تهیه شد. سن این افراد ۲۵ تا ۴۵ سال و همگی مرد بودند. پس از آزمایش‌های غربال‌گری انتقال خون شامل HIV, HCV , HBS Ag وRPR و همچنین اطمینان از عدم آلودگی، به آزمایشگاه مرکز تحقیقات ایمونولوژی تولیدمثل دانشکده پیراپزشکی منتقل گردید.

سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی با استفاده از سانتریفیوژ بر روی محیط فایکول(شرکت بهار افشان، ایران) جدا و میزان زنده بودن سلول‌ها با استفاده از تریپان بلو (Sigma Aldrich) تعیین گردید. در هر چاهک پلیت کشت تعداد۱۰۰ هزار سلول در ۸۰ میلی‌لیتر از محیط کشت قرار داده شد. در این تست، میتوژن فیتو هماگلوتینین (PHA, Sigma Aldrich) با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و به حجم ۱۰ میلی‌لیتر به هر چاهک اضافه شد. عصاره ریشه گیاهان مربوطه در غلظت‌های نهایی۰/۱، ۱،۱۰،۱۰۰و۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و در حجم ۱۰ میلی‌لیتر به هر چاهک اضافه شد. میزان مهار یا تکثیرسلولی بر اساس دستورالعمل کیت انجام شد(روچه، آلمان). بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون پلیت‌ها در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، ۵ درصد CO2 و رطوبت ۹۸ درصد به حفره‌ها ۱۰ میلی‌لیتر از محلول Labeling اضافه و ۲۴ ساعت پلیت‌ها در شرایط انکوباسیون قبلی قرار داده شدند. سپس سوپرناتنت حفره‌ها از پلیت‌ها در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه خشک شدند. آنگاه ۲۰۰ میکرولیتر از محلول فیکساتور اضافه و پلیت‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شدند. پس از شستشو، ۱۰۰ میکرولیتر از محلول-Anti-BrdU POD به حفره‌ها اضافه و بعد از ۹۰ دقیقه انکوباسیون و شستشوی مجدد و اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر از محلول سوبسترا و کونژوگه و انجام انکوباسیون، ۲۵ میکرولیتر از محلول متوقف‌کننده به حفره‌ها اضافه و سپس جذب آنها را در طول موج ۴۵۰ نانومتر و طول موج رفرانس ۶۳۰ نانومتر خوانده شد(آمریکا,Stat Fax 3200 Microplate Reader, Awareness).

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-27]

درصد مهار رشد لنفوسیت‌ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

$$\text{درصد مهار رشد} = \frac{\text{OD کنترل} - \text{OD نمونه}}{\text{OD کنترل}} \times ۱۰۰$$

غلظت‌هائی از ریشه هرگونه گیاهی که بیشترین اثر مهاری را بروز می‌دادند در حضور میتوژن فیتو هماگلوتینین با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به عنوان گروه مورد و بدون حضور عصاره به عنوان گروه شاهد و تعداد ۱۰۰ هزار سلول در هر حفره پلیت کشت و در حجم نهائی ۱۰۰ میلی‌لیتر به صورت سه‌تائی مورد استفاده قرار گرفت. پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون پلیت‌ها در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، ۵ درصد CO_2 و رطوبت ۹۸ درصد، پلیت‌ها سانتریفیوز شده و سوپرناتنت‌ها برای سنجش میزان IL-4 با روش الیزا و براساس دستورالعمل شرکت سازنده کیت انجام شد(بیوساینس، اتریش). میزان حساسیت اندازه‌گیری کیت سایتوکین IL-4 بر ۱/۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود.

برای تجزیه و تحلیل اطلاعات از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ استفاده شد. ابتدا توزیع نرمال و غیرنرمال بودن متغیرهای مورد مطالعه مورد بررسی قرار گرفت. برای سنجش میانگین تکثیر سلولی، از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و سپس آزمون Ducan استفاده شد. میزان مهار رشد به صورت میانگین±انحراف‌معیار آورده شده است. در تست تعیین میزان تولید سایتوکین به دلیل اینکه توزیع داده نرمال نبود، از آزمون دو زوجی غیر پارامتریک(ویلکاکسون) استفاده شد. غلظت‌ها به صورت میانگین±انحراف‌معیار نشان داده شده است. $p<۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد. نمودارها با نرم‌افزار اکسل ۲۰۰۷ رسم گردید.

نتایج

میزان درصد راندمان عصاره ریشه گیاهان Echinops Echinops ceratophorus, Echinops jesdianus, ilicifolius Echinops lasiolepis, به ترتیب ۴، ۱۰، ۲، ۱۱، ۱۲ و ۳، ۱۰ بود.

عصاره ریشه E.ceratophorus در تمام غلظت‌های مورد استفاده اثر مهارکنندگی را نشان داد. غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با ۵۲ درصد بیشترین اثر و غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با ۹۵ درصد کمترین اثر مهارکنندگی را نشان داد. اثر مهارکنندگی در غلظت‌های مختلف تفاوت معنی‌داری را نشان نداد($p=۰/۳۰۱$). تأثیر عصاره ریشه E.jesdianus درتمام غلظت‌های عصاره ریشه مهاری بود. غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با ۵۹ درصد بیشترین اثر و غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با ۱۰۰ درصد کمترین اثر مهاری را بروز می‌دادند. بین غلظت‌های مختلف، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت($p=۰/۴۲۶$). غلظت‌های مختلف عصاره ریشه گیاه Echinops ilicifolius در تمام غلظت‌ها اثر مهاری را بروز داد. بیشترین تأثیر را غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با ۵۹ درصد و کمترین غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با ۸۵ درصد را نشان می‌داد. بین میزان مهارکنندگی در غلظت‌های مختلف، تفاوت معنی‌داری دیده نشد($p=۰/۷۸۱$). نتایج در جدول شماره ۱ آورده شده است.

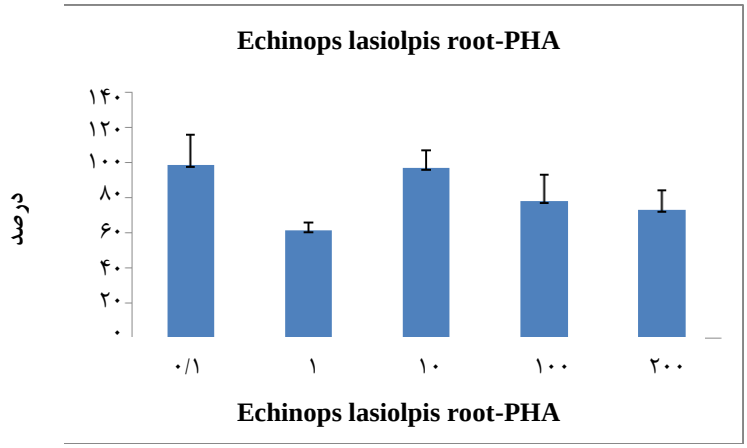
جدول شماره ۱: میانگین درصد مهارکنندگی ریشه عصاره گیاهان مورد مطالعه در غلظت‌های مختلف بر سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی

غلظت(µg/ml) نام گیاه	میانگین±انحراف‌معیار ۲۰۰	میانگین±انحراف‌معیار ۱۰۰	میانگین±انحراف‌معیار ۱۰	میانگین±انحراف‌معیار ۱	میانگین±انحراف‌معیار ./۱
E.ceratophorus	۶۵±۱۳	۵۲±۱۲/۹	۸۲±۱۴/۶	۹۵±۱۰	۸۳±۲۰/۶*
E.jesdianus	۵۹±۱۶/۳	۸۷±۲۰/۱	۹۸±۱۷/۱	۶۶±۱۱/۹	۷۶±۸/۷
E.ilicifolius	۸۳±۱۴/۵	۸۵±۱۸	۷۱±۲۰/۹	۵۹±۱۸/۳	۶۳±۱۵/۸

*اعداد به درصد بیان شده اند. مقدیر بصورت Mean±SEM می‌باشد.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-27]

همان‌طوری که در نمودار شماره ۱ مشاهده می‌شود، غلظت‌های مختلف عصاره ریشه گیاه Echinops lasiolepis در تمام مقادیر اثر مهاری داشت که بیشترین اثر مهاری در غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با ۶۱ درصد و کمترین اثر در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با ۹۸ درصد بود. اثر مهارکنندگی در غلظت‌های مختلف تفاوت معنی‌داری را نشان می‌داد(p=<۰/۰۵).



نمودار شماره ۱: میانگین درصد مهارکنندگی غلظت‌های مختلف ریشه عصاره گونه Lasiolepsis بر سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی(p<۰/۰۵)

میانگین IL-۴ در سوپرناتانت کشت سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی بعد از تأثیر عصاره‌ها در حضور یا بدون میتوژن تفاوت نشان می‌داد، اما این تفاوت در هیچکدام از غلظت‌ها معنی‌دار نبود(p>۰/۰۵). جدول شماره ۲ میزان سایتوکین Il-4 را در دو گروه نشان می‌دهد.

جدول شماره ۲: میزان IL-4 در سوپرناتانت سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی در غلظت‌های مختلف

عصاره ریشه	IL-4 (مورد) میانگین±انحراف‌معیار	IL-4 (شاهد)	غلظت(pg/ml)
Echinops ceratophorus	۴۴/۱±۲۱/۹	۶۰/۳±۳/2*	۱۰۰
Echinops jesdianus	۷/۶±۰/۲	۴۸/۱±۲۱/۹	۲۰۰
Echinops ilicifolius	۲۷/۳±۲/۹	۱/۸±۰/۲	۱
Echinops lasiolepis	۶۵/۷±۲۲/۶	۱۱/۸±۱/۴	۱

* (p>۰/۰۵)

بحث و نتیجه‌گیری

در بخشی از این مطالعه تأثیر عصاره ریشه چهارگونه مختلف از جنس گیاه Echinops که بومی استان یزد می‌باشند بر میزان تکثیر سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی افراد به ظاهر سالم مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که فقط غلظت‌های مختلف عصاره ریشه‌گونه Lasiolepsis نسبت به کنترل از تکثیر سلول‌های تک‌هسته‌ای تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد. در بخش دیگری از این مطالعه نیز تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره ریشه‌های این گیاهان بر میزان سایتوکین اینترلوکین چهار به عنوان یک سایتوکین ضدالتهابی بررسی شد. به نظر می‌رسد از آنجائی که این گونه گیاهان بومی یزد می‌باشند، مطالعات کاملاً مشابه با این مطالعه بر روی آنها انجام نشده و نتایج به دست آمده برای اولین بار گزارش می‌شود. مطالعات موجود و مشابه بر روی گونه‌های دیگر این جنس می‌باشد. در مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۹ امیر غفران و همکاران با بررسی اثر ایمونومدولاتوری عصاره Echinophoracinere از گیاهان بومی

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-27]

ایران بر روی سلول‌های تک‌هسته ای خون محیطی با روش MTT مشاهده کردند که در تمام عصاره‌ها مهار تکثیر لنفوسیت‌ها در غلظت‌های بالا مشاهده شده و استنباط کردند که این اثر مهاری در بعضی از گیاهان به دلیل القای آپوپتوز می‌باشد(۱۵). این تحقیق با نتایج حاضر هم‌خوانی داشت. مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۷ توسط McCann و همکاران انجام شد. در آن تحقیق نشان داده شد که عصاره ریشه Echinacea بر روی سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی اثر تحریکی دارد و باعث تکثیر آنها می‌شود و سطح ترشح IL-10, IL-2 و TNF را افزایش می‌دهد. همچنین عصاره ریشه Echinops purpura بر روی دو گروه از افراد توسط McCann اثر داده شد. گروه اول واکسن آنفولانزا دریافت نکرده بودند، اما گروه دوم واکسن را دریافت کرده بودند. پس از بررسی، نتایج نشان داد که در هر دو گروه میزان تحریک تکثیر سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی دیده شد، اما میزان ترشح سیتوکین متفاوت بود و تنها سیتوکین IL-10 در هر دو گروه افزایش یافت(۱۶). در مطالعه‌ای که توسط Kapai و همکاران در سال ۲۰۱۱ بر روی Echinacea purpurea انجام شد، مشخص گردید که این گیاه اثر ایمونومدولاری وسیعی دارد، و بسته به رقت آن در دوز پایین، می‌تواند اثر ضدالتهابی نیز داشته باشد(۱۷). Senchina و همکاران در سال ۲۰۰۹ تأثیر عصاره ریشه، ساقه، برگ و گل عصاره Echinacea purpurea را بر روی سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی و تأثیر آن بر روی تکثیر لنفوسیت‌ها و ترشح سیتوکین IL-10 ,TNF ,IL-1 را سنجیدند و متوجه شدند اثر عصاره ریشه گیاه موثرتر از عصاره اندام‌های هوایی می‌باشد(۱۸). در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۷ توسط Zhai و همکاران بر روی گونه‌های متفاوت Echinacea انجام شد، مشخص گردید که عصاره Echinacea species, Echinacea angustifolia, Echinacea pallid و Echinacea purpurea به صورت ایمونومدولاتور غیراختصاصی عمل می‌کنند. البته از لحاظ عملکرد مقداری با هم متفاوتند. این تحقیق بر روی RBC های گوسفند انجام شد. همگی IFNα را افزایش، IL-1 و TNFα را کاهش می‌دهند. اما اثر دو عصاره گیاه Echinacea angustifolia و Echinacea pallid بر روی سلول‌های موشی، باعث افزایش IL-4 و IL-10 به طور قابل ملاحظه‌ای می‌شود(۱۴). این یافته با نتایج ما تناقض داشت. در مطالعه‌ای که توسط Alaoui-Jamali و همکاران در سال ۲۰۰۲ انجام شد، خواص ضدسرطانی Echinop sspinosus را در آمریکا ثبت نمودند. آنها بخش‌های مختلف عصاره ریشه Echinops spinosus را به منظور تست‌کردن فعالیت ضدتکثیری بر رده‌های سلولی، سلول‌های سرطان‌های تخمدانی انسانی(A2780) و سلول‌های سرطان سینه(MCF7) اثر دادند، نتایج نشان داد که بخش‌های محلول در الکل بر روی هر دو رده سلولی خواص ضدتکثیری دارند، اما بخش‌های محلول در آب چنین اثری ندارند(۱۹). در این تحقیق نیز از عصاره الکلی استفاده شد. پیشنهاد می‌شود از گونه‌هایی که موثر بودند، فراکسیون یا فراکسیون‌های موثر این گیاهان جداسازی شود و در مرحله بعد شناسایی ترکیب یا ترکیبات موثر این گونه‌ها صورت گیرد. در مورد گونه و غلظت‌هایی که اثر مهارکنندگی بر تعداد سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی داشتند، مکانیسم این مهارکنندگی که از طریق آپوپتوز یا نکروز است، بررسی شود و تأثیر این عصاره‌ها بر تولید سایتوکین‌های دیگر از جمله IL-10 ,IL-12,IL-2 ,TNF, و IL-1β نیز توصیه می‌گردد.

به طور خلاصه، نتایج ما نشان می‌دهد که عصاره ریشه جنس Echinops ازگیاهان بومی استان یزد در غلظت‌های مختلف اثر مهاری بر تکثیر سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی داشته و با کاهش تولید اینترلوکین چهار در برخی گونه‌ها احتمالاً اثر ایمنومدولاتوری دارند. بررسی فراکشن‌های این عصاره‌ها و نیز نحوه عملکرد و مکانیسم‌های این اثرات در سطح مولکولی و بیان ژن پیشنهاد می‌شود.

سپاسگزاری

این تحقیق حاصل بخشی از پایان‌نامه سرکار خانم نرگس جمشیدیان تهرانی دانشجوی کارشناسی ارشد ایمنولوژی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی یزد واحد پردیس بین الملل می‌باشد. نویسندگان از راهنمایی‌های ارزنده استادان گرانقدر دانشگاه علوم پزشکی شیراز آقای دکتر امین‌اله بهاالدینی و خانم دکتر زهرا امیرغفران صمیمانه تشکر می‌کنند.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-27]

از همکاران مرکز تحقیقات ایمنی‌شناسی تولیدمثل دانشکده پیراپزشکی یزد و بخش گیاهان دارویی دانشکده داروسازی علوم پزشکی شهید صدوقی یزد به خصوص آقای دکتر وحیدی، که همکاری‌های لازم را در این تحقیق نموده‌اند، مراتب سپاسگزاری به عمل می‌آید.

References:

1- Sudhanshu NR, Mittal S, Menghani E, Rao N. ***Screening of various extracts of gymnema sylvestre(retz.) R.Br. ex Schult. for antimicrobial activity.*** J Medi Plants Res 2012; 6(26): 4343-46.

2- Khajuria A, Gupta A, Suden P, Singh S, Malik F, Singh J, et al. ***Immunomodulatory activity of biopolymeric fraction BOS 2000 from Boswellia serrata.*** Phytother Res 2008; 22(3): 340-48.

3- Amirghofran Z, Bahmani M, Azadmehr A, Ashouri E, Javidnia K. ***Antitumor activity and apoptosis induction in human cancer cell lines by Dionysia termeana.*** Cancer Invest. 2007; 25(7): 550-54.

4- Boskabady MH, Mehrjardi SS, Rezaee A, Rafatpanah H, Jalali S. ***The impact of Zataria multiflora Boiss extract on in vitro and in vivo Th1/Th2 cytokine(IFN-gamma/IL4) balance.*** J Ethnopharmacol 2013; 150(3): 1024-131.

5- Hartmann T. ***From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism.*** Phytochemistry 2007; 68(22–24): 2831-846.

6- Wachtel-Galor S, Benzie IFF. ***Herbal Medicine: An Introduction to Its History, Usage, Regulation, Current Trends, and Research Needs. Biomolecul Clinic Aspects, 2011; 2nd ed. CR C Press.***

7- Satdive RK, Abhilash P, Fulzele DP. ***Antimicrobial activity of Gymnema sylvestre leaf extract.*** Fitoterapia 2003; 74(7-8): 699-701.

8-Rastogi B, Tiwari U, Dubey A, Bawra B, Nandini D, Saraf DK, et al. ***Immunomodulating Activity of Cleome Gynandra.*** Pharmacol 2009; 2: 151-69.

9- Cherng JM, Chiang W, Chiang LC. ***Immunomodulatory activities of common vegetables and spices of Umbelliferae and its related coumarins and flavonoids.*** Food Chemistry 2008; 106(3): 944-50.

10- ***IAH AC Immunomodulation.*** 2007.

11- Roca H, Craig MJ, Ying C, Varsos ZS, Czarnieski P, Alva AS, et al. ***IL-4 induces proliferation in prostate cancer PC3 cells under nutrient-depletion stress through the activation of the JNK-pathway and survivin up-regulation.*** J Cell Biochem 2012; 113(5): 1569-80.

12- Senchina DS, McCann DA, Asp JM, Johnson JA, Cunnick JE, Kaiser MS, et al. ***Changes in immunomodulatory properties of Echinacea spp. root infusions and tinctures stored at 4 degrees C for four days.*** Clin Chim Acta 2005; 355(1-2): 67-82.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-27]

13- Senchina DS, Wu L, Flinn GN, Konopka del N, McCoy JA, Widrlechner MP, et al. ***Year-and-a-half old, dried Echinacea roots retain cytokine-modulating capabilities in an in vitro human older adult model of influenza vaccination.*** Planta Med 2006; 72(13): 1207-15.

14- Zhai Z, Liu Y, Wu L, Senchina DS, Wurtele ES, Murphy PA, et al. ***Enhancement of innate and adaptive immune functions by multiple Echinacea species.*** J Med Food 2007; 10(3): 423-34.

15- Amirghofran Z, Bahmani M, Azadmehr A, Javidnia K, Miri R. ***Immunomodulatory activities of various medicinal plant extracts: effects on human lymphocytes apoptosis.*** Immunol Invest 2009; 38(2): 181-92.

16- McCann DA, Solco A, Liu Y, Macaluso F, Murphy PA, Kohut ML, et al. ***Cytokine- and interferon-modulating properties of Echinacea spp. root tinctures stored at -20 degrees C for 2 years.*** J Interferon Cytokine Res. 2007; 27(5): 245-436.

17- Kapai NA, Anisimova NY, Kiselevskii MV, Sitdikova SM, Slavetskaya MB. ***Selective cytokine-inducing effects of low dose Echinacea***. Bull Exp Biol Med. 2011; 150(6): 711-13.

18- Senchina DS, McCann DA, Flinn GN, Wu L, Zhai Z, Cunnick JE, et al. ***Echinacea tennesseensis ethanol tinctures harbor cytokine- and proliferation-enhancing capacities.*** Cytokine 2009; 46(2): 267-72.

19- Alaoui-Jamali MA, Batist G, Zamir L***. Echinops extract with anti-cancer activity*** 2002, Google Patents.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-27]

Evaluation of the Methanol Extract of Yazd Native Plants on Peripheral Blood Mononuclear Cell Proliferation and IL-4 Secretion

Jamshidian Tehrani N(MSC)[1], Hadi nedoushan H(PhD)[2], Mirghanizadeh Bafghi SA(PhD)[3], Karimallah A(PhD)[4], Vakili M(PhD)[5], Asadi M(MSC)[6]

[1] *Department of Immunology, International Campus, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.*
[2] *Department of Immunology, Reproductive Immunology Research Center, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.*
[3] *Department of Immunology, Faculty of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.*
[4] *Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.*
[5] *Department of Community Medicine, School of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.*
[6] *Department of Immunology, School of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran*

Received: 28 Jan 2015 ***Accepted:***2 Jul 2015

Abstract

Introduction: Echinops ilicifolius, Echinops jesdianus, Echinops ceratophorus and Echinops lasiolepis are defined as native plants of Yazd that their immunomedulatory effects have not been studied yet. The aim of this study was to determine the effect of different concentrations of these plants on peripheral blood mononuclear cells(PBMCs) proliferation and interleukin(IL)-4 secretions.

methods: Root extracts of Echinops ilicifolius, Echinops jesdianus, Echinops ceratophorus and Echinops lasiolepis were prepared by Maceration method. PBMCs were obtained from three healthy volunteer individuals and cultured with the presence of 0.1,1,10,100 and 200 µg/ml with concentrations of 10 µg/ml of phytohemagglutinin. The rate of cell proliferation was determined by BrdU kit. The IL-4 levels in PBMCs. supernatant were measured by enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA). P value<0.05 was considered significant.

Results: The different concentrations of root extracts of all plants showed inhibitory effect on PBMCs. There was a significant difference among Echinops lasiolepis extracts in different concentrations(p=0.045). The levels of IL-4 were similar in super natant in control group and different concentrations and the control groups.

Conclusions: The results showed that root extracts of Echinops species had inhibitory effect on PBMCs proliferation and in some species with decrease in IL-4 secretion might have immunomedulatory effects. The effect of Echinops extract fractions on PBMC is suggested.

Keywords: IL-4; PBMCs; Yazd native plants; Echinops

This paper should be cited as:
Jamshidian Tehrani N, Hadi nedoushan H, Mirghanizadeh Bafghi SA, Karimallah A, Vakili M, Asadi M. ***Evaluation of the methanol extract of yazd native plants on Peripheral blood mononuclear cell proliferation and il-4 secretion***. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2015; 23(6): 539-47.

Corresponding author: Tel: +9898356285406, Email: hhadin@ssu.ac.ir

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-27]