مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲۰، شماره۱۱، بهمن ۱۳۹۴(شماره پی در پی۱۰۶)

اثرات عصاره هیدروالکلی گیاه چایل اوتی بر روی فاگوسیتوز و انفجار تنفسی از عملکردهای ماکروفاژهای صفاقی در موش سوری

سید میثم ابطحی فروشانی*
گروه میکروب‌شناسی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۴/۴/۳۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۰/۱۱

چکیده

زمینه و هدف: در برخی از مطالعه‌ها به اثرات ضد التهابی گیاه چایل اشاره شده است، ولی تا کنون تحقیق جامعی در مورد اثرات این گیاه بر عملکردهای سیستم ایمنی صورت نگرفته است. هدف از این مطالعه بررسی اثرات تعدیل کنندگی گیاه چایل اوتی بر پاسخ‌های ماکروفاژها در موشهای سوری بود.

روش بررسی: این مطالعه تجربی می‌باشد که شامل ۴۰ سر موش نر سوری است و به طور تصادفی و مساوی در ۴ گروه ده تایی شامل؛ سه گروه تیمار و یک گروه شاهد قرار گرفتند. موش‌های گروه تیمار به مدت سه هفته، روزانه، عصاره هیدروالکلی گیاه چایل‌وتی را به میزان۱۰۰، ۲۰۰ و یا ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت خوراکی دریافت نمودند. موش‌های گروه شاهد هم حجم موش‌های گروه تیمار PBS دریافت نمودند. در انتهای مطالعه ماکروفاژهای صفاقی از موش‌ها جدا شده و میزان برداشت نوترال رد، شدت انفجار تنفسی پس از چالش با تترافوبول استات و شدت انفجار تنفسی پس از چالش با مخمر اپسونیزه در بین آنها سنجیده شد. داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و تست توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج حاصل از تحریک سلول‌های ماکروفاژ با استرفوربول نشان دهنده کاهش معنی‌دار قابلیت انفجارتنفسی در سلول‌های ماکروفاژ استحصال شده از موش‌های تحت تیمار با عصاره هیدروالکلی چایل اوتی در مقایسه با گروه کنترل بود($p<۰/۰۱$). با این حال زمانی که از مخمر اپسونیزه به عنوان عامل محرک برای سلول‌های ماکروفاژ استفاده شد، تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها شاهد و تیمار از نظر قابلیت انفجار تنفسی وجود نداشت. هم‌چنین نتایج برداشت نوترال رد به وسیله ماکروفاژها نیز نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار بین ماکروفاژهای استحصال شده از گروه‌ها شاهد و تیمار بود.

نتیجه‌گیری: با وجود این که دریافت عصاره هیدروالکلی چایل اوتی منجر به کاهش تولید رادیکال‌های آزاد بالقوه آسیب رسان می‌شود، بر قابلیت سلول‌های ماکروفاژ در چالش با یک عفونت واقعی، اختلالی ایجاد نمی‌کند.

کلمات کلیدی : چایل اوتی، ماکروفاژ، موش سوری

* **نویسنده مسئول: سید میثم ابطحی فروشانی** ، ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده دامپزشکی، گروه میکروب شناسی
Email: meysamabtahi@hotmail.com

مقدمه

امروزه استفاده از داروهای گیاهی بسیار گسترده است. دلایل متعددی برای افزایش استفاده از گیاهان دارویی وجود دارد. بر اساس برآورد سازمان بهداشت جهانی، بیش از ۸۰ درصد مردم در کشورهای جهان سوم به طب سنتی برای برآورده ساختن نیازهای بهداشتی خود وابسته هستند(۲ و۱). مردمان فقیر در کشورهای جهان سوم قدرت مالی لازم جهت استفاده از علم نوین پزشکی را نداشته، لذا به طب سنتی وگیاه درمانی کاملاً وابسته می‌باشند(۳ و۲). بسیاری براین باورند که این محصولات از طبیعت به‌دست می‌آیند و کاملاً سالم و بی‌ضرر هستند.طب سنتی به سیستم‌های بهداشت و سلامت بسیاری از کشورهای جهان از جمله؛ چین، مکزیک، نیجریه و تایلند وارد شده است. علاوه بر کشورهای جهان سوم در کشورهای پیشرفته نیز داروهای گیاهی تحت لیسانس محصولات پزشکی قرار گرفته‌اند و بر استفاده از آنها نظارت می‌شود(۳).

تعدیل واکنش‌های ایمنی نقش مهمی را در بهبود عملکرد بدن به دنبال چالش‌های ایمونولوژیک بازی می کند. در مواقعی که دستگاه ایمنی میزبان نیازمند مهار و یا بالعکس تقویت عملکرد می‌باشد، ممکن است که گیاهان با ویژگی تعدیل کننده واکنش‌های ایمنی به عنوان رهیافت جایگزین داروهای شیمی درمانی استفاده شوند(۵ و۴).

سلول‌های ماکروفاژ نقش مهمی را در آغاز و گسترش پاسخ‌های ایمنی ذاتی و همچنین شکل دهی به عملکرد سیستم ایمنی اکتسابی بازی می‌کنند(۶). ماکروفاژها به طور معمول تقریباً با همان سرعتی که نوتروفیل‌ها به میکروب پاسخ می‌دهند، عمل می‌کنند، ولی طول عمر آنها در جایگاه‌های التهاب بسیار بیشتر از نوتروفیل‌ها است. برخلاف نوتروفیل‌ها، ماکروفاژها مراحل پایانی تمایزی را سپری نکرده و همچنان می‌توانند در محل التهاب تقسیم سلولی انجام دهند. بنابرین ماکروفاژها سلول‌های اجرایی اصلی در مراحل انتهایی پاسخ ایمنی ذاتی (چند روز پس از شروع عفونت) محسوب میشوند (۷ـ۹).این سلول‌ها نقش مهمی را در حفظ هموستاز و ترمیم بافتی از طریق برداشت بقایای سلولی و پاکسازی سلول‌های آپوپتوتیک بازی می‌کنند(۱۰و۱۱). مطالعه های قبلی همچنین نشان داده است که ماکروفاژها بر اساس ریزمحیط اطرافی خود قادر به برنامه‌ریزی و تبدیل به سلول‌هایی با عملکرد و فنوتیپ متفاوت می‌باشند(۱۴ـ۱۲).

از زمان‌های دور گیاه چایل اوتی (مرغ ویا چایر) در برخی از مناطق ایران ازجمله درآذربایجان به عنوان یک گیاه دارویی شناخته شده است. در طب سنتی این منطقه، ریشه و ریزوم آن برای درمان بیماری‌هایی نظیر تهوع، استفراغ، فشارخون بالا و ناراحتی‌های گوارشی استفاده می‌شود(۱۵). این گیاه در اکثر نقاط ایران نیز از جمله در مازندران، آذربایجان، کردستان، اصفهان، اطراف تهران و زابل می‌روید(۱۶). همچنین گیاه مزبور در باورهای سنتی مردم منطقه آذربایجان به عنوان داروی ضد چربی

خون نیز کاربرد دارد. اثرات متعددی از قبیل اثرات آنتی اکسیدانتی و ضد التهابی به این گیاه نسبت داده شده است(۱۷). از جمله ترکیب‌های عصاره این گیاه می‌توان به بتا کاروتن، بتا سیسترول[1]، ویتامین C، اسیدپالمیتیک، فلاونوئیدها، ساپونین‌ها، تری ترپنوئیدها[2]، آلکالوئیدها، فورفورال، گلوکز، فروکتوز و سلنیوم اشاره نمود(۱۸). به اثرات ضدالتهابی این گیاه نیز در برخی از مطالعه‌ها اشاره شده است(۱۰). التهاب و عملکردهای سیستم ایمنی در ارتباط نزدیک با یکدیگر می‌باشند(۵). با وجود این که برخی از اثرات ضد التهاب به گیاه چایل اوتی منسوب شده است، ولی تا کنون تحقیق جامعی در مورد اثرات این گیاه بر عملکردهای سیستم ایمنی صورت نگرفته است. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات احتمالی تعدیل کنندگی گیاه چایل اوتی بر پاسخ‌های ماکروفاژهادر موش‌های سوری بود.

روش بررسی

این یک مطالعه تجربی است، که از اردیبهشت لغایت تیر ۱۳۹۴ در دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه انجام شده است. جامعه مورد مطالعه، شامل موش‌های نر سوری با محدوده سنی ۶ تا ۸ می‌باشد که از حیوان خانه دانشکده دامپزشکی تهیه شدند. این موش‌ها در شرایط استاندارد آب، غذا، دما و نور کافی نگاهداری شدند. کلیه مراحل این تحقیق در کمیته اخلاق پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه مورد تأیید قرار گرفت.

بعد از تهیه گیاه چایل اوتی، جنس و گونه آن به وسیله کارشناس تعیین گردید. سپس به وسیله دستگاه خرد کننده، کل گیاه به صورت پودر در آورده شد. عصاره هیدروالکلی(حلال آب و اتانول به نسبت حجمی ۵۰ به ۵۰) بر اساس شیوه ای مشابه به وسیله نجفی و همکاران تهیه شد(۱۹).

پس از طی زمان مورد نظر جهت تطابق موش‌ها (۲ هفته)، حیوانات به طور تصادفی در ۳ گروه تیمار و یک گروه شاهد(هرگروه ۱۰ موش) قرار گرفتند. موش‌های گروه تیمار از زمان شروع مطالعه به مدت سه هفته، روزانه، عصاره هیدروالکلی گیاه چایلوتی را به میزان ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت خوراکی دریافت نمودند. موش‌های گروه شاهد هم حجم موش‌های گروه تیمار بافر فسفات دریافت نمودند.

پس از اتمام مدت زمان مطالعه تمام موش‌ها به شیوه قطع نخاع کشته شدند. سپس ۸ میلی‌لیتر بافر فسفات استریل سرد به داخل حفره شکمی موش‌ها تزریق شد. پس از تزریق و ماساژ آهسته به منظور رهایش سلول‌ها، مایع تزریق شده به کمک پیپت پلاستیکی از صفاق موش مکیده شد. مایع به دست آمده به داخل لوله آزمایش در شرایط روی یخ منتقل شد. سلول‌ها سه بار با بافر فسفات چهار درجه سانتی‌گراد شستشو داده شدند. پس از شمارش

1-β-sitosterols
2-Triterpenoid

سلول‌ها (میزان زنده مانی ۹۴ درصد) سوسپانسیون سلولی به تعداد $۱۰^{۶}$ در هر میلی لیتر در محیط کشتDMEM(Gibbco ـ آلمان) تهیه و به چاهک‌های پلیت‌های ۲۴ خانه اضافه و به مدت دو ساعت در شرایط ۵ درصد ،Co2 انکوبه شد. مایع رویی خارج و چاهک‌ها سه بار با بافر فسفات ..... (۳۷ درجه سانتی‌گراد) شسته شدند تا سلول‌های غیر چسبنده حذف شوند. سلول‌هایی که به کف فلاسک چسبیده باقی می‌مانند، عمدتاً ماکروفاژ خواهند بود(۲۰).

به منظور ارزیابی میزان پایه(غیر اختصاصی) تولید رادیکال‌های آزاد به وسیله ماکروفاژها از روش داویس و همکاران استفاده شد(۱۱).به طور خلاصه، ماکروفاژها به مدت ۲۰ دقیقه با تترا دکانوئیل فوربول استات(Sigma–آمریکا) در غلظت نهایی۱۰۰ میلی‌گرم بر نانوگرم به همراه یک دهم درصد نیتروبلوتترازولیوم[۱](NBT)(Sigma-آمریکا)پلیت‌های۲۴ خانه حاوی ماکروفاژ افزوده شده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. به هر چاهک ۴۰۰ میکرولیتر از ماده دی متیل فورمایـد[۲] (Sigma–آمریکا)اضافه شد و چند دقیقه محتوای پلیت شیک شد. آن‌گاه۲۰۰ میکرولیتر از مایع رویی از هر یک از خانه‌ها را در میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای ریخته و نتیجه با الایزا نگار در طول موج ۵۴۰ نانو متر قرائت گردید. دانسیته نوری از محلول با دستگاه الایزا ریدردر طول موج۴۹۲ میلی‌گرم بر نانوگرم تعیین شد.

سنجش انفجار تنفسی پس از برداشت مخمر اپسونیزه به وسیله احیاء نیتروبلوتترازولیوم (NBT)؛ این تست برای تعیین توانایی ماکروفاژها جهت تولید واسطه‌های فعال اکسیژن (به عنوان یکی از مراحل مهم در محدود سازی عامل پاتوژن) به کار می‌رود(۲۱). به طور خلاصه ماکروفاژهای موجود پلیت‌های ۲۴ خانه به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵ درصد دی اکسید کربن در حضور مخمر اپسونیزه ($۱۰^{۸}$سلول در هر میلی لیتر) و یک دهم درصد نیتروبلوتترازولیوم(NBT) انکوبه گردید. در نهایت ۴۰۰ میکرولیتر دی متیل فورمایـد به هر یک از خانه‌ها اضافه گردید و با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. میزان ۲۰۰ میکرولیتر از مایع رویی از هر یک از خانه‌ها را در میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای ریخته و نتیجه با الایزا نگار در طول موج ۵۴۰ نانو متر قرائت گردید (۲۲).

به منظور ارزیابی برداشت نوترال به وسیله ماکروفاژها به طور خلاصه، محلول ۳۳ درصد نوترال رد (Sigma ـ آمریکا) به میزان ۱۰ درصد محیط کشت ماکروفاژها افزده شد و سلول‌ها به مدت ۲ ساعت دیگر انکوبه شدند. بعد از طی این مدت محیط کشت خارج شده و سلول‌ها سه بار با بافر فسفات شسته شدند. پس از شستشوی سلول‌ها، هم حجم محیط کشت اولیه از محیط حاوی ۱ درصد اسید استیک در اتانول ۵۰ درجه به مدت ده دقیقه افزوده شده و به

1- Nitroblue tetrazolium
2-Dimethylformamide

آرامی شیک شدند. در انتها دانسیته نوری(OD) ۲۰۰ میکرولیتر از محلول با دستگاه الایزا ریدر و طول موج ۵۴۰ نانو متر تعیین شد(۲۳).

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه تست نوکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

در تست احیای NBT توانایی و ظرفیت ماکروفاژها در تولید رادیکالهای آزاد به ویژه آنیون سوپراکسیداز مشخص می‌گردد. آنیون سوپراکسید تولید شده، ماده رنگی NBT (زرد، شفاف و محلول در آب) را احیا نموده و به فورمازان آبی نامحلول تبدیل می‌کند. میزان فورمازان تولید شده به عنوان شاخصی از عملکرد انفجار تنفسی فاگوسیت‌ها با روش فتومتری سنجیده شد(۲۲). نتایج حاصل از تحریک سلول های ماکروفاژ با استرفوربول نشان دهنده یک کاهش معنی‌دار قابلیت انفجارتنفسی در سلول های ماکروفاژ استحصال شده از موش‌های تحت تیمار با عصاره هیدروالکلی چایل اوتی در مقایسه با گروه کنترل می‌باشد($p<۰/۰۱$)(جدول ۱). به این صورت که در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به ترتیب یک کاهش ۸/۸ ، ۲۰ و ۱۹ در شدت انفجار تنفسی صورت گرفت (جدول ۱). البته بر اساس تجزیه و تحلیل داده‌ها به نظر می‌رسد در دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به بالا این کاهش به صورت وابسته به دوز اتفاق نمی‌افتد(جدول ۱). با این حال زمانی که از مخمر اپسونیزه به عنوان عامل محرک برای سلول‌های ماکروفاژ ستفاده می‌شود، تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های شاهد و تیمار از نظر قابلیت انفجار تنفسی وجود نداشت(جدول ۱).

هم‌چنین نتایج برداشت نوترال رد به وسیله ماکروفاژها نیز نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین ماکروفاژهای استحصال شده از گروه‌های شاهد و تیمار می‌باشد.

جدول ۱ : ارزیابی فعالیت ماکروفاژهای صفاقی در موشهای گروه کنترل و تیمار شده با عصاره هیدروالکلی چایاوتی

گروه	انفجار تنفسی پس از تحریک با استر فوربول(جذب نوری)	انفجار تنفسی پس از تحریک با مخمر اپسونیزه (جذب نوری)	برداشت نوترال رد (جذب نوری)
کنترل	۰/۸۱۴±۰/۰۵۲	۱/۸۲±۰/۲۶	۰/۶۲۴±۰/۰۴۴
عصاره با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم	۰/۷۴۳±۰/۰۴۹[a]	۱/۷۷±۰/۳	۰/۶۷۷±۰/۰۵۴
عصاره با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم	۰/۶۵۰±۰/۰۴۲ [ab]	۱/۷۴±۰/۲۵	۰/۶۵۴±۰/۰۴۲
عصاره با دوز ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم	۰/۶۶۱±۰/۰۵۵ [ab]	۱/۷۰±۰/۲۷	۰/۶۴۴±۰/۰۳۹

[a]اختلاف معنی‌دار در سطح $p<۰/۰۱$ نسبت به گروه کنترل

[b]اختلاف معنی‌دار در سطح $p<۰/۰۵$ نسبت گروه دریافت کننده عصاره با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم

بحث

استفاده از گیاهان دارویی با خاصیت تعدیل کنندگی ایمنی همواره مورد توجه بوده است، با این حال مستندات علمی در این زمینه به نسبت محدود می‌باشد. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات احتمالی تعدیل کنندگی گیاه چایل اوتی بر پاسخ‌های ماکروفاژهادر موش‌های سوری بود.

رادیکال‌های آزاد نقش مهمی را در حذف پاتوژن‌ها بازی می‌کنند، با این حال زمانی که میزان تولید این رادیکال ها بیش از حد باشد و یا تولید آنها در شرایط نامناسب صورت گیرد، این رادیکال‌های آزاد منجر به ایجاد و گسترش **التهاب** و آسیب‌های بافتی خواهند شد(۲۴). رادیکال‌های آزاد تولید شده در واکنش‌های التهابی می‌توانند در پاتوژنز بسیاری از بیماری‌ها مانند دیابت خود ایمن نقش مهمی را ایفا نمایند(۲۵). در شرایط طبیعی بین تولید و حذف رادیکال‌های آزاد تعادل وجود دارد. عدم تعادل در فرایند تولید و پاکسازی رادیکال‌های آزاد منجر به بروز استرس اکسیداتیو و تغییرات پاتولوژیک متعدد در سطح ماکرومولکول‌های سلول‌های بدن می‌گردد(۲۶). تولید رادیکال‌های آزاد به وسیله سلول‌های ماکروفاژ در اثر تحریک‌های مختلفی از قبیل فاگوسیتوز مؤثر عوامل میکروبی اپسونیزه شده و یا برخی از سایتوکاین‌ها و مدیاتورهای آزاد شده به دنبال آسیب بافتی یا تنظیم نامناسب ایمنی صورت می‌پذیرد(۲۷). به منظور ارزیابی میزان تولید رادیکال‌های آزاد به وسیله سلول‌های ماکروفاژ در شرایط التهاب مزمن از ترکیب تترادکانوئیل فوربول استات در مطالعه حاضر استفاده شد. نتایج این مطالعه نشان دادند که تیمار قبلی موش‌ها با عصاره چایل اوتی معنی‌دار تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن پس از تحریک با تترادکانوئیل فوربول استات به وسیله سلول های ماکروفاژ می‌باشند. اثرات ضدالتهابی گیاه چایل اوتی به خوبی شناخته شده است. به طور سنتی در هند از این گیاه برای درمان بیماری‌های مزمن التهابی استفاده می‌شود(۲۸). کاهش شدت ادم و التهاب کف پا در رت‌های تیمار شده با کارژینان پس از دریافت عصاره کلروفرمی و متانولیک چایل اوتی گزارش شده است(۲۹). هم‌چنین نشان داده شده است که تجویز خوراکی ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم از عصاره چایل اوتی به صورت روزانه منجر به کاهش معنی‌داری در پاسخ های التهابی و استرس اکسیداتیو در موش‌های مبتلا به روماتوئید آرتریت روماتوئید شده است(۲۸). در مطالعه یگری که به وسیله گارگ و همکاران مشخص شد که علاوه بر قابلیت کاهش التهاب ایجاد شده به وسیله کارژینان، هیستامین، سروتونین و دکستران در موش‌های سفید به وسیله عصاره آبی گیاه چایاوتی، این عصاره میزان واکنش گرانولوماتوز ایجاد شده به وسیله پلت کتان را نیز به نحو قابل توجهی کاهش داده است. ماکروفاژها از اجزای اصلی التهاب گرانوماتوز است(۳۰). به طور مشابه نیز مطالعه حاضر نشان داد که ماکروفاژ استحصالی از موش‌های تحت تیمار با

عصاره هیدروالکلی نیز به دنبال تحریک با استر فوربول میزان فعالیت کمتری را نشان می‌دهند.

با توجه به این که مطالعه‌های فیتوشیمیایی، نشان دادند گیاه چایل اوتی غنی از ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانتی فلاونوئیدها است(۳۱)، احتمالاً بخش مهمی از کاهش شدت تولید غیر اختصاصی رادیکال‌های آزاد در موش‌های تحت تیمار با این گیاه که در این مطالعه مشاهده شد، مربوط به این بخش می‌باشد. آنزیم‌های آنتی اکسیدانی درونزاد مانند کاتالاز مسئولیت سمیت زدایی رادیکال‌های آزاد آسیب‌رسان به عهده دارند. مطالعه‌های چندی نشان داده‌اند که استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های پلی فنولی که در گیاهانی از جمله چایل اوتی به وفور یافت می‌شوند موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله کاتالاز می‌شود(۳۲).

رنگ نوترال رد یک رنگ کاتیونی بوده که به وسیله سلول‌های ماکروفاژ برداشته شده و در لیزوزم‌های آنها ذخیره می‌گردد. میزان برداشت این رنگ به قدرت مقیاسی از فعالیت و یا قدرت حیاتی سلول‌ها بوده و علاوه بر میزان زنده مانی سلول‌ها به قابلیتهای عملکردی غشاء سلولی نیز وابسته است(۳۳). با توجه به این که نتایج حاصل از تست برداشت نوترال رد حاکی از عدم تغییر معنی‌دار در میزان برداشت این رنگ در گروه موش‌های تیمار نسبت به گروه کنترل می باشد، بنابراین کاهش شدت انفجار تنفسی پس از تحریک با تترادکانوئیل فوربول استات به وسیله سلول‌های ماکروفاژ در گروه تیمار مربوط به کاهش قدرت حیاتی ماکروفاژها به وسیله عصاره نیست. با این حال قابلیت انفجار تنفسی سلول‌های ماکروفاژ مجاور شده با مخمر اپسونیزه (مشابه با شرایط یک عفونت واقعی) ، تغییر معنی‌داری پس از دریافت عصاره هیدروالکلی چایل اوتی نسبت به گروه کنترل نیافت. یک عامل عفونی حاوی تعداد زیادی از الگوهای مولکولی متفاوت با میزبان از قبیل اجزای دیواره سلولی می‌باشد. سلول‌های فاگوسیتک از قبیل؛ ماکروفاژها، جهت برداشت و نابودسازی میکروارگانیزم‌ها از گیرنده‌های شناسایی گر الگو (مثل گیرنده های شبه Toll)و گیرنده‌های اپسونیک (مثل گیرنده‌های مربوط به بخش Fc ایمونوگلوبولین و گیرنده های کمپلمان) استفاده می‌کنند(۳۴). براساس نتایج این تحقیق به نظر می‌رسد که با وجود این که عصاره هیدروالکلی چایلوتی دارای اثرات کاهنده تولید رادیکال‌های اکسیژن در مواجه با استرهای فوربول است، ولی در صورت مواجه ماکروفاژ با یک میکروارگانیزم اپسونیزه به دلیل ارسال پیام‌های قوی از طریق گیرنده‌های شناسایی گر الگو و گیرنده‌های اپسونیک بر این عملکرد عصاره فائق می‌شود.

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد با وجود این که دریافت عصاره هیدروالکلی چایل اوتی منجر به کاهش تولید رادیکال‌های آزاد بالقوه آسیب رسان می‌شود، بر قابلیت سلول‌های ماکروفاژ در چالش با یک عفونت واقعی، اختلالی ایجاد نمی‌کند. در نهایت به نظر

می‌رسد عصاره هیدروالکلی گیاه چایل اوتی می تواند که به عنوان یک ترکیب طبیعی تعدیل کننده دستگاه ایمنی مورد توجه قرار گیرد. با این حال ین مطالعه یک مطالعه مقدماتی بوده و لازم است که در آینده کارهای بیشتری از قبیل امتحان عصاره در یک بیماری خود ایمن مثل آرتریت روماتوئید صورت گیرد.

تقدیر و تشکر

این پژوهش حاصل یک طرح پژوهشی می‌باشد، که با حمایت مالی دانشگاه ارومیه انجام شده است.

REFERENCES

1.Sen T, Samanta SK. Medicinal plants, human health and biodiversity: a broad review. Adv Biochem Eng Biotechnol 2015; 147: 59-110.
2.Sofowora A, Ogunbodede E, Onayade A. The role and place of medicinal plants in the strategies for disease prevention. Afr J Tradit Complement Altern Med 2013;10(5): 210-29.
3.Hur M, Campbell AA, Almeida-de-Macedo M, Li L, Ransom N, Jose A, et al. A global approach to analysis and interpretation of metabolic data for plant natural product discovery. Nat Prod Rep 2013; 30(4): 565-83.
4.Visavadiya NP, Soni B, Dalwadi N. Evaluation of antioxidant and anti-atherogenic properties of Glycyrrhiza glabra root using in vitro models. Int J Food Sci Nutr 2009; 60(2): 135-49.
5.Abtahi Froushani SM, Esmaili Gouvarchin Galee H, Khamisabadi M, Lotfallahzade B. Immunomudulatory effects of hydroalcoholic extract of Hypericum perforatum. Avicenna J Phytomed 2015; 5: 62-8.
6.Grando FC, Felicio CA, Twardowschy A, Paula FM, Batista VG, Fernandes LC, et al. Modulation of peritoneal macrophage activity by the saturation state of the fatty acid moiety of phosphatidylcholine. Braz J Med Biol Res 2009; 42: 599-605.
7.Martinez FO, Gordon S. The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment. F1000 Prime Rep 2014 ; 3(6):1-35.
8.Jin X, Yao T, Zhou Z, Zhu J, Zhang S, Hu W, et al. Advanced Glycation End Products Enhance Macrophages Polarization into M1 Phenotype through Activating RAGE/NF-kappaB Pathway. Biomed Res Int 2015; 2015: 1-12.
9.Wen G, Zhang C, Chen Q, Luong LA, Mustafa A, Ye S, et al. A novel role of matrix metalloproteinase-8 in macrophage differentiation and polarization. J Biol Chem 2015 ;290(31):19158-72.
10. Dhandapani R, Sabna B. Phytochemical constituents of some Indian medicinal plants. Anc Sci Life 2008: 27: 1-8.
11. Davies PJ, Murtaugh MP, Moore WT, Johnson GS, Lucas D. Retinoic acid-induced expression of tissue transglutaminase in human promyelocytic leukemia (HL-60) cells. J Biol Chem 1985: 260: 5166-74.
12.Kim J, Hematti P. Mesenchymal stem cell-educated macrophages: a novel type of alternatively activated macrophages. Exp Hematol 2009; 37(12): 1445-53.
13.Italiani P, Boraschi D. From Monocytes to M1/M2 Macrophages: Phenotypical vs. Functional Differentiation. Front Immunol 2014; 5: 514-25.
14.Cho DI, Kim MR, Jeong HY, Jeong HC, Jeong MH, Yoon, SH, et al. Mesenchymal stem cells reciprocally regulate the M1/M2 balance in mouse bone marrow-derived macrophages. Exp Mol Med 2014; 46: e70.
15. Miraldi E, Ferri S, Mostaghimi V. Botanical drugs and preparations in the traditional medicine of West Azerbaijan (Iran). J Ethnopharmacol 2001; 75: 77-97.
16.Soraya H, Moloudizargari M, Aghajanshakeri S, Javaherypour S, Mokarizadeh A, Hamedeyazdan S, et al. Angiogenic effect of the aqueous extract of Cynodon dactylon on human umbilical vein endothelial cells and granulation tissue in rat. Daru 2015; 29:10.
17. Audday B, Erreira M, Lasina F, Lafon L, Arredondo F, Dajas F. Screening of antioxidant activity of three Indian medicinal plants, traditionally used for the management of neurodegenerative diseases. J Ethnopharmacol 2003; 84:131-8.
18.Santhi R, Kalaiselvi KSA. Aanti-lipid peroxideative activites of Cynodon dactylon AND *Moringa oleifera* against ELA induced mice. Pharmacology Online 2009; 3: 544-9.
19.Najafi M, Ghavimi H, Gharakhani A, Garjani A. Effects of hydroalcoholic extract of *Cynodon dactylon* (L.) pers. on ischemia/reperfusion-induced arrhythmias. DARU J Pharm Sci 2008; 16: 233-8.
20.Ray A, Dittel BN. Isolation of Mouse Peritoneal Cavity Cells. Journal of Visualized Experiments . 2010; 35: 1488.
21.Newman SL, Holly A. Candida albicans is phagocytosed, killed, and processed for antigen presentation by human dendritic cells. Infect Immun 2001; 69: 6813-22.
22.Haq A, Lobo PI, Al-Tufail M, Rama NR, Al-Sedairy ST. Immunomodulatory effect of Nigella sativa proteins fractionated by ion exchange chromatography. Int J Immunopharmacol 1999; 21: 283-95.

23.Fijalkowski K, Czernomysy-Furowicz D, Irwin JA, Nawrotek P, Pobucewicz A. Secretory virulence factors produced by Staphylococcus aureus isolates obtained from mastitic bovine milk--effect on bovine polymorphonuclear neutrophils. Res Vet Sci 2012; 93: 82-7.
24.Babior BM. Phagocytes and oxidative stress. Am J Med 2000;109: 33-44.
25.Cohen HB, Mosser DM. Extrinsic and intrinsic control of macrophage inflammatory responses. J Leukoc Biol 2013; 94(5): 913-9.
26.Gwyer Findlay E, Hussell T. Macrophage-mediated inflammation and disease: a focus on the lung. Mediators Inflamm 2012; 2012: 140937.
27.Raffaghello L, Bianchi G, Bertolotto M, Montecucco F, Busca A, Dallegri F, et al. Human mesenchymal stem cells inhibit neutrophil apoptosis: a model for neutrophil preservation in the bone marrow niche. Stem Cells 2008; 26:151-62.
28.Garg VK, Khosa RL. Studied the, analgesic and anti-pyretic activity of aqueous extract of cynodon dactylon. Pharmacologyonline 2008; 3:12-8.
29.Yogesh HS , Kichadi SC ,Muchandi IS, Gopalakrishna B. Evaluation of anti-inflammatory activity of Cynodon dactylon Pers. on carrageenan induced paw edema in rats. IJNPR 2013; 4(2): 151-4.
30.Garg VK, Paliwal SK. Anti-Inflammatory activity of aqueous extract of cynodon dactylon. Int J Pharmacol 2011; 7(3): 370-5.
31.Muthukrishnan SD, Kaliyaperumal A, Subramaniyan A. Identification and determination of flavonoids, carotenoids and chlorophyll concentration in Cynodon dactylon (L.) by HPLC analysis. Nat Prod Res 2015; 29: 785-90.
32.Uncini Manganelli RE, Tomei PE. Ethno -pharmacobotanical studies of the tuscan archipelago. J Ethnopharmacol 1999;65:1-10.
33.Antal P, Sipka S, Suranyi P, Csipo I, Seres T, Marodi L, et al. Flow cytometric assay of phagocytic activity of human neutrophils and monocytes in whole blood by neutral red uptake. Ann Hematol 1995; 70: 1-7.
34.Tolle LB, Standiford TJ. Danger-associated molecular patterns (DAMPs) in acute lung injury. J Pathol 2013; 229(2): 145-56.

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

The effects of Hydroalcholic Extract of Cynodon Dactylon on Phagocytosis and Respiratory Burst of Peritoneal Macrophages of NMRI Mice

Abtahi Froushani SM

Department of Microbiology, Veterinary Faculty, Urmia University, Urmia, Iran

Received: 22 Jul 2015 Accepted: 1 Dec 2016

Abstract

Background & aim: The anti-inflammatory effects of *Cynodon dactylon* have been determined in some previous studies, but no comprehensive study on the immunomodulatory effects of this plant was performed so far. The present study was performed to investigate the modulatory effects of *C. dactylon*on macrophages functions of NMRI mice.

Methods: In this experimental study, 40 male mice were divided into 4 groups of 10 (three groups of treatment and a group of control) randomly and equally. Treatment groups received hydroalcoholic extract of C. dactylon for 3 constitutive weeksin at different doses of 100,200 and 400 mg/Kg dialy and orally). Control mice received PBS at the same volume. At the end of study, macrophages isolated from peritoneal cavity of mice and the neutral red uptake, respiratory burst after challenge with tetra phorbol acetate and respiratory burst after challenge with opsonized yeast were evaluated in these population. Data were analyzed using one-way ANOVA and Tukey test.

Results: The results of stimulation of macrophages with ester of phorbol showed a significant increase in respiratory burst of macrophages isolated from treatment groups compared to control mice ($p<0.01$). Nevertheless, when macrophages were challenged with opsonized yeast, there was no significant difference between groups .Moreover, the results of neutral red uptake by macrophages didn't show any significant difference between macrophages of control and treatment groups.

Conclusion: However, the hydroalcoholic extract of *C. dactylon* caused a significant decrease in the production of the potentially harmful free radical, but it could not interfere with the function of macrophages after challenge with a real infection.

Keywords: *Cynodon dactylon*, Macrophage, NMRI-mice.

***Corresponding author: Abtahi Froushani SM,** Department of Microbiology, Urmia University, Urmia , Iran
Email: meysamabtahi@hotmail.com

Please cite this article as follows:
Abtahi Froushani SM. The effects of Hydroalcholic Extract of Cynodon Dactylon on Phagocytosis and Respiratory Burst of Peritoneal Macrophages of NMRI Mice. Armaghane-danesh 2016; 20 (11): 985-995.