

تأثیر فرآورده MS14 بر پاسخ ایمنی هومورال در موش Balb/c

رویا یارانی^{۱*}، طوبی غضنفری^۲، محسن ناصری^۳، سمیه فلاح‌نژاد^۴ و مرضیه اقتداردوست^۵

*- نویسنده مسئول، استادیار، گروه ایمنولوژی، دانشکده پزشکی و گروه تحقیقاتی تنظیم پاسخهای ایمنی دانشگاه شاهد،

پست الکترونیک: ryaraee@yahoo.com

۲- دانشیار، گروه ایمنولوژی، دانشکده پزشکی و گروه تحقیقاتی تنظیم پاسخهای ایمنی دانشگاه شاهد

۳- استادیار، گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی و مرکز گیاهان دارویی دانشگاه شاهد

۴- دانش‌آموخته رشته پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد

۵- کارشناس، گروه ایمنولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۸۶

تاریخ اصلاح نهایی: اسفند ۱۳۸۷

تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۸۸

چکیده

سیستم ایمنی در اتیولوژی و پاتوفیزیولوژی بیماریهای متعددی دخالت می‌کند. بنابراین تعدیل پاسخهای ایمنی، از جمله پاسخهای ایمنی هومورال می‌تواند در بهبود و کنترل این بیماریها مؤثر باشد. گیاهان دارویی به‌عنوان یکی از منابع غنی ایمنومدولاتورها (تنظیم‌کننده‌های پاسخ ایمنی) مطرح هستند. در این مطالعه به بررسی تأثیر فرآورده گیاهی-دریایی MS14 بر پاسخ ایمنی هومورال اولیه و ثانویه در موش پرداخته شده است. برای بررسی پاسخ هومورال اولیه، تعداد ۱۹ رأس موش ۶-۸ هفته‌ای Balb/C، به دو گروه ۷تایی دارو و یک گروه ۵تایی کنترل تقسیم شدند. دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم MS14 به مدت ۵ روز به موشهای گروه دارو و حلال MS14 به موشهای گروه کنترل خورانده شد. همزمان با روز اول تجویز دارو، گلبول قرمز گوسفند (SRBC) به داخل صفاق موشها تزریق و خونگیری از قلب موشها در روز ششم انجام شد و تیتراژ آنتی‌بادی آگلوتین‌کننده سرم اندازه‌گیری شد. برای بررسی پاسخ ثانویه، موشها در پنج نوبت با تزریق SRBC ایمونیزه شدند و همزمان MS14 با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به آنها خورانده شد و در روز دهم خونگیری انجام شد. در پایان، بعد از جدا کردن سرم، تیتراژ آنتی‌بادی آگلوتین‌کننده بررسی شد و همچنین بخشی از سرم برای سنجش IgG در فریزر -۷۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. غلظت IgG در این نمونه‌ها به روش الایزا اندازه‌گیری شد. داروی MS14 موجب کاهش تیتراژ آنتی‌بادی سرم در پاسخ هومورال اولیه در مقایسه با گروه کنترل دارو می‌شود. به این ترتیب که میانگین تیتراژ آنتی‌بادی در گروه کنترل، ۴۴/۵۷۱ و در گروه دارو با دوز ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، ۲۷/۶ و در گروه دارو با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، ۷/۳۳ بوده است. در پاسخ ثانویه اگرچه کاهش مختصر در تیتراژ آنتی‌بادی در چند بار تکرار تست آگلوتیناسیون دیده شد، ولی نتایج از نظر آماری معنی‌دار نبوده است (میانگین تیتراژ در گروه کنترل ۲۵/۶ و در گروه دارو ۱۱/۲). میزان IgG سرم موشهای کنترل و دریافت‌کننده MS14 نیز اختلاف معنی‌دار از نظر آماری نداشته است (گروه کنترل ۳۷۴/۹ نانوگرم در میلی‌لیتر و گروه دارو ۳۸۲/۱ نانوگرم در میلی‌لیتر). فرآورده گیاهی MS14 می‌تواند موجب کاهش آنتی‌بادی در پاسخ اولیه که عمدتاً IgM هستند شود ولی در شرایط آزمایش ما تأثیری بر آنتی‌بادی در پاسخ ثانویه که عمدتاً IgG است ندارد. با بررسی بیشتر این فرآورده و مکانیسمهای احتمالی آن می‌توان MS14 را به‌عنوان یک ایمنومدولاتور بالقوه با قدرت کاهش پاسخهای IgM معرفی و در موارد بیماریهایی که پاتوژن آنها با IgM مرتبط است بکار برد.

واژه‌های کلیدی: تنظیم پاسخ ایمنی، MS14، پاسخ هومورال، آگلوتیناسیون، IgM، IgG

مقدمه

سیستم ایمنی در اتیولوژی و پاتوفیزیولوژی بیماریهای متعددی دخالت می‌کند. تعدیل یا تنظیم پاسخهای ایمنی به منظور بهبود و کنترل بیماریها، سالهاست که مدنظر محققان رشته‌های مختلف علوم پزشکی است. پاسخهای سیستم ایمنی می‌تواند توسط عوامل متعددی از جمله برخی ترکیبهای موجود در باکتریها، قارچها، گیاهان و نیز محصولات مصنوعی تنظیم شود (Borchers *et al.*, 1997). در سالهای اخیر تلاشهای فراوانی توسط محققان جهت یافتن مواد تنظیم‌کننده سیستم ایمنی (ایمونومدولاتورها) صورت گرفته است که می‌تواند کاربردهای متعددی داشته باشد (Butter *et al.*, 2007; Leemol & Girgia, 2000) و شناسایی مواد ایمونومدولاتور یکی از اهداف تحقیقاتی رشته‌های مختلف پزشکی محسوب می‌شود (Liu *et al.*, 1997). غضنفری و محمدحسن، (۱۳۷۳). گیاهان دارویی به‌عنوان یکی از منابع غنی از مواد ایمونومدولاتور مطرح می‌باشند. مطالعات فراوانی در مورد اثرهای ایمونومدولاتوری گیاهان دارویی در کشورهای با سابقه طب سنتی قوی صورت گرفته است. در کشور ما به‌رغم گنجینه غنی طب سنتی ایران و منابع متنوع گیاهان دارویی متأسفانه کمتر به این موضوع پرداخته شده است (ناصری، ۱۳۸۳). MS14 یک ترکیب گیاهی - دریایی است که با فرمولاسیون خاص از ۹۰٪ شاه میگو (King prawn) از خانواده سخت‌پوستان، ۵٪ کرفس وحشی (*Apium graveolens*) و ۵٪ هوفاریقون (*Hypericum perforatum*) یا علف‌چای تهیه شده است (Tafreshi *et al.*, 2008). اثر فارماکولوژیکی و سمیت دارویی این فرآورده قبلاً در موش صحرایی (حاج‌هاشمی و همکاران، ۱۳۸۳) و انسان

مورد بررسی قرار گرفته است و جزء مواد غیرسمی و خوراکی طبقه‌بندی می‌شود (ناصری و همکاران، ۱۳۸۶) و شواهدی مبنی بر اثر ایمونومدولاتوری آن مطرح است (Tafreshi *et al.*, 2008).

یکی از پاسخهای مهم سیستم ایمنی پاسخ هومورال می‌باشد که منجر به تولید آنتی‌بادی از جمله آنتی‌بادی IgM (عمدتاً در پاسخ اولیه) و IgG (عمدتاً در پاسخ ثانویه) می‌شود که هر یک نقش مهمی در سیستم ایمنی دارند (Pratt & Kaplan, 2000). در این مطالعه ما بر آن شدیم که اثر فرآورده طبیعی MS14 را بر پاسخهای ایمنی هومورال اولیه و ثانویه (با بکار بردن متدهای متفاوت تحریک آنتی‌ژنی و اندازه‌گیری آنتی‌بادی آگلوتینه کننده یا غلظت IgG سرمی) مورد مطالعه قرار دهیم.

مواد و روشها

حیوان آزمایشگاهی

۱۹ رأس موش Balb/c ماده با سن ۸-۶ هفته خالص و یکسان از نظر ژنتیکی که در شرایط دما و رطوبت کنترل شده و محیط فاقد پاتوژن نگهداری می‌شدند، از دانشکده پزشکی شاهد تهیه شد و به‌طور تصادفی به گروههای ۷تایی دارو و گروه ۵تایی کنترل تقسیم شدند.

فرآورده گیاهی MS14

پودر داروی MS14 از گروه فارماکولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد تهیه و بر حسب دوز مورد نظر (دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در سرم فیزیولوژی حل شد و با استفاده از فیدینگ تیوب به‌صورت خوراکی و در حجم ۱۰۰ میکرولیتر به موشهای گروه دارو داده شد. در بررسی ایمنی هومورال ثانویه فقط

عیار آنتی‌بادیهای آگلوتینه‌کننده که در مقابل آنتی‌ژن (گلوبول قرمز گوسفند) تولید شده‌اند نیز سنجش می‌شود. در روز دهم خونگیری از موشها انجام می‌شود، سپس سرم موشها جدا شده و بخشی از آن جهت سنجش IgG در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شود. تست هماگلوتیناسیون مشابه مرحله قبل انجام می‌شود. برای سنجش IgG سرم از کیت اختصاصی برای سنجش IgG سرم موش به روش ساندریچ الایزا استفاده می‌شود. پلیت الایزا طبق دستورالعمل کیت با آنتی‌بادی اول پوشیده می‌شود و بعد از مرحله بلاک و شستشو، نمونه‌های سرم و استانداردهای مربوطه اضافه می‌شود. بعد از انکوباسیون و شستشوی پلیت، آنتی‌بادی دوم که نشاندار با آنزیم است اضافه شده و در مرحله آخر بعد از شستشو، سوبسترا اضافه می‌شود. واکنش با اضافه‌کردن اسیدسولفوریک (۲ نرمال) متوقف و رنگ ایجاد شده توسط دستگاه الایزا ریدر خوانده می‌شود. از منحنی استاندارد برای محاسبه غلظت IgG استفاده می‌شود.

آنالیز آماری

نتایج مربوط به تیتر آنتی‌بادی به‌وسیله تست مان ویتنی مورد ارزیابی آماری قرار گرفت و برای سنجش IgG با روش الایزا از آزمون تی استیودنت (T-test) استفاده شد. در هر دو تست، مقدار P کمتر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

الف- پاسخ ایمنی هومورال اولیه

در بررسی پاسخ ایمنی اولیه، میانگین تیتر آنتی‌بادی در گروه کنترل $48/124 \pm 44/571$ و در گروه دارو با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم $27/6 \pm 9/69$ و در گروه دارو با دوز

از دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دارو استفاده شد. موشهای گروه کنترل روزانه ۱۰۰ میکرولیتر سرم فیزیولوژی به همین شیوه دریافت می‌کردند.

ایمونی‌زاسیون

در بررسی ایمنی هومورال اولیه در روز شروع تجویز خوراکی، به تمامی موشها ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون ۳٪ گلوبول قرمز گوسفندی به‌صورت داخل صفاقی تزریق شد (ایمونی‌زاسیون برای پاسخ اولیه). در بررسی ایمنی هومورال ثانویه، سوسپانسیون ۵٪ گلوبولهای قرمز گوسفند در روزهای ۱، ۲، ۳، ۵ و ۷ به‌صورت داخل صفاقی به هر دو گروه تزریق شد (علی‌محمدیان و محمودزاده نیکنام، ۱۳۷۴).

بررسی ایمنی هومورال اولیه

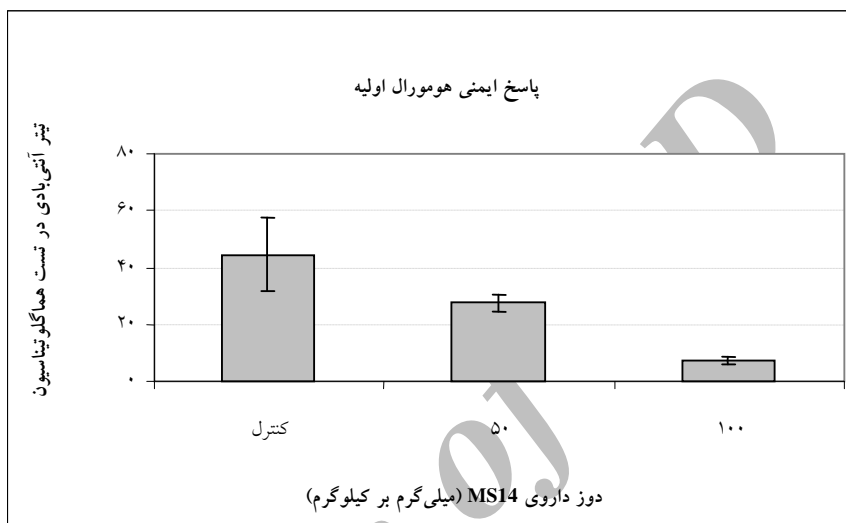
برای بررسی پاسخ هومورال اولیه، تیتر یا عیار آنتی‌بادیهای آگلوتینه‌کننده که در مقابل آنتی‌ژن (گلوبول قرمز گوسفند) در بدن حیوان تولید شدند، سنجش می‌شود. در روز ششم بعد از بیهوش کردن موشها، خونگیری از قلب انجام شده و سرم آن جدا می‌شود. رقت سریال (از ۱/۲ تا ۱/۱۰۲۸) از سرم در پلیت‌های ۹۶ خانه ته‌گرد تهیه شده (دوپلیکیت) و سوسپانسیون ۵٪ از گلوبول قرمز گوسفند به همه چاهکها اضافه می‌شود و ۲ ساعت انکوباسیون در دمای اتاق انجام می‌شود. سپس وقوع آگلوتیناسیون در چاهکها مطالعه شده و تیتر هر نمونه براساس رقت آخرین چاهکی که آگلوتیناسیون در آن مشاهده شد محاسبه می‌شود (علی‌محمدیان و محمودزاده نیکنام، ۱۳۷۴).

بررسی ایمنی هومورال ثانویه

برای بررسی پاسخ هومورال ثانویه، میزان IgG سرم به‌عنوان معیار مهم مد نظر قرار گرفته است، البته تیتر یا

با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم با $p < 0/013$ در مقایسه با گروه کنترل معنی دار است، ولی در گروه دارو ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم، اختلاف مشاهده شده از نظر آماری معنی دار نیست (شکل ۱).

۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم $7/33 \pm 4/458$ بوده است که نشان دهنده کاهش جدی در تیتراکتیبادی آگلوتینه کننده در دو گروه دارو نسبت به گروه کنترل می باشد. این اختلاف براساس آزمون آماری مان ویتنی در گروه دارو



شکل ۱- میانگین تیتراکتیبادی آگلوتینه کننده در پاسخ هومورال اولیه (تست هماگلوتیناسیون) در گروه های دارو (MS14 خوراکی با دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و گروه کنترل

کنترل $374/86 \pm 52/43$ و در گروه دارو $382/05 \pm 45/3$ نانوگرم در میلی لیتر بود. نتایج با آزمون تی استیودنت آنالیز شد و مشاهده شد که اختلاف میانگین غلظت در دو گروه از لحاظ آماری معنی دار نمی باشد. می توان گفت که میزان IgG ضد گلبول قرمز گوسفندی سرم در اثر خوراندن دارو با دوز ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم تغییر نکرده است (شکل ۳).

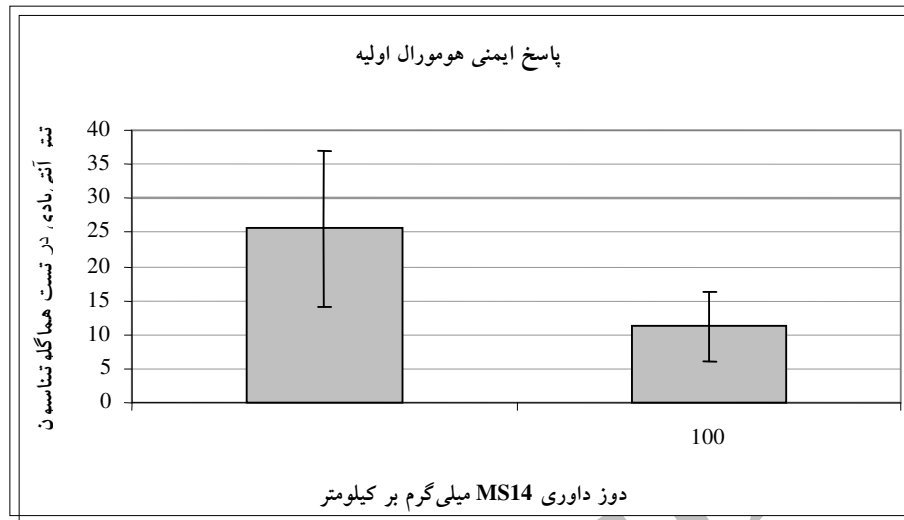
ب- پاسخ ایمنی هومورال ثانویه

تست هماگلوتیناسیون

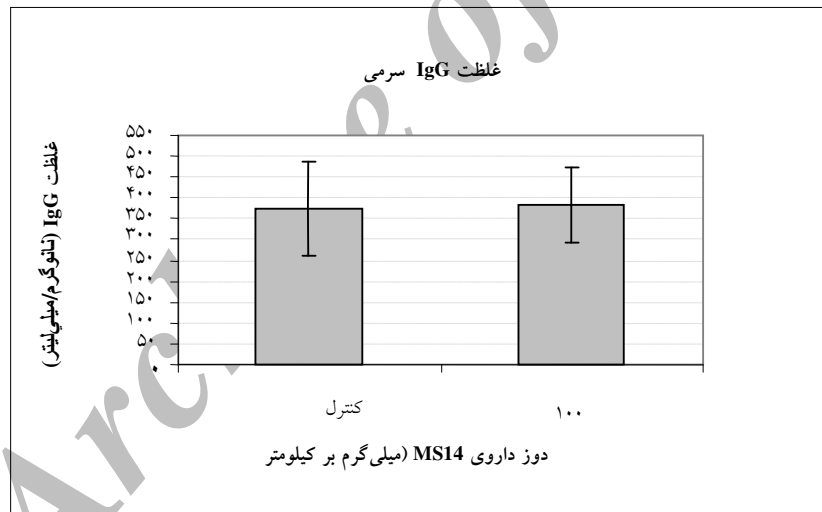
در پاسخ ایمنی ثانویه میانگین تیتراکتیبادی در گروه کنترل $25/6 \pm 11/47$ و در گروه دارو $11/2 \pm 5/02$ بوده است. نتایج با آزمون آماری مان ویتنی آنالیز شد و مشاهده شد که این اختلاف از نظر آماری معنی دار نیست (در هر بار تکرار تست نیز نتایج مشابهی بدست آمد) (شکل ۲).

تست الایزا جهت سنجش IgG سرم

میانگین غلظت IgG سرم در تست الایزا در گروه



شکل ۲- میانگین تیتراژ آنتی‌بادی آگلوتینه‌کننده در پاسخ هومورال ثانویه (تست هم‌گلوتیناسیون) در دو گروه دارو (MS14 خوراکی با دوز 100mg/kg) و گروه کنترل



شکل ۳- میانگین غلظت IgG سرم (نانوگرم بر میلی‌لیتر) در پاسخ هومورال ثانویه در دو گروه دارو (100 میلی‌گرم بر کیلوگرم) و گروه کنترل

پاسخ ایمنی هومورال با دو تست هم‌گلوتیناسیون (به منظور تعیین عیار آنتی‌بادی) و الایزا (سنجش مقدار IgG) ارزیابی شده است.

بحث

در این مطالعه ما به بررسی پاسخ ایمنی هومورال اولیه و ثانویه در موش‌های Balb/c نرمال تحت اثر فرآورده MS14 که یک فرآورده گیاهی-دریایی است پرداخته‌ایم.

کاهش مشاهده شده در پدیده هماگلوتیناسیون مربوط به کاهش IgM باشد، به ویژه که این کاهش در پاسخ اولیه نیز به طور چشمگیری مشاهده شد، اما در عین حال چون در پاسخ هومورال ثانویه میزان IgM تولید شده در مقایسه با IgG کمتر است و از طرف دیگر میزان IgG در دو گروه تفاوتی ندارد، بنابراین کاهش هماگلوتیناسیون به شدت پاسخ اولیه نخواهد بود.

گزارشهای متعددی وجود دارد که نشان می‌دهد ترکیبهای گیاهی می‌توانند موجب کاهش یا افزایش پاسخ هومورال شوند، از جمله مطالعه‌ای که در آن نشان داده شد مصرف خوراکی و تزریق داخل صفاقی *Plantago ovata* موجب کاهش قابل ملاحظه در تیترا آنتی‌بادی هماگلوتینین ضد گلبول قرمز گوسفندی شده است، به خصوص که این کاهش در پاسخ ایمنی اولیه دیده شد (Rezaeiipoor *et al.*, 2000). در مطالعه Liu و همکاران (۲۰۰۵) بر روی عصاره جین سینگ (ginseng) و همچنین در مطالعه Datta و همکاران بر روی پروتئین جدا شده از گیاه کازانوس ایندیکوس (*Cajanus indicus*) نیز اثر تقویت کنندگی سیستم ایمنی هومورال و افزایش قابل ملاحظه در تیترا آنتی‌بادی مشاهده شد. در مطالعه Datta و همکاران (۱۹۹۹) هم پاسخ ایمنی اولیه و هم پاسخ ایمنی ثانویه تقویت شده است. بنابراین می‌توان گفت که اثر MS14 بر پاسخ هومورال اولیه اختصاصی تر است. با توجه به این که MS14 جهت درمان بیماران مبتلا به MS پیشنهاد شده است (ناصری و همکاران، ۱۳۸۶)، یادآوری این نکته جالب به نظر می‌رسد که هر چند IgG، ایمونوگلوبولین غالب در CSF مبتلایان به MS می‌باشد، ولی در مطالعات متعددی به رابطه میان سطح IgM و فعالیت بیماری اشاره شده است (Rudick & Goodkin, 1999; Perini *et al.*,

نتایج مربوط به پاسخ ایمنی هومورال اولیه اختلاف معنی‌داری را میان گروه مصرف‌کننده دارو (با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) و گروه کنترل در تولید آنتی‌بادی آگلوتینه‌کننده نشان می‌دهد، به این ترتیب که تیترا آنتی‌بادی آگلوتینه‌کننده در گروه کنترل بیش از ۶ برابر گروه دارو (با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) می‌باشد. از آنجا که آنتی‌بادی تولید شده در پاسخ اولیه به‌طور عمده IgM است و همین آنتی‌بادی نیز نقش عمده در واکنش‌های آگلوتیناسیون دارد (علی‌محمدیان و محمودزاده نیکنام، ۱۳۷۴)، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که دارو موجب کاهش تولید IgM شده است (هر چند که ممکن است هم‌زمان بر تولید کلاس‌های آنتی‌بادیهای دیگر نیز تأثیر گذاشته باشد).

بر اساس نتایج سنجش IgG با استفاده از تست الایزا، اختلاف معنی‌داری از نظر آماری در غلظت سرمی IgG تولید شده در دو گروه مشاهده نشد که نشان می‌دهد دارو با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و تحت شرایط مطالعه بر میزان IgG تولید شده در پاسخ ثانویه تأثیری نداشته است.

نتایج حاصل از آزمون هماگلوتیناسیون در پاسخ هومورال ثانویه نشان می‌دهد که تجویز دارو به مدت ۹ روز موجب کاهش مختصر ایمونوگلوبولین‌های ضد گلبول قرمز گوسفندی در گروه دارو نسبت به گروه کنترل می‌شود؛ البته از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری نداشته است، اما در هر بار تکرار مشاهده شده است. از آنجا که در پاسخ ثانویه، آنتی‌بادی IgG نیز به میزان زیادی تولید می‌شود، تغییرات آن نیز بر پدیده آگلوتیناسیون تأثیر گذاشته و در واقع برآیند مجموع فعالیت هر دو نوع آنتی‌بادی در این پدیده ارزیابی می‌شود. ممکن است

افزایش وقوع مرگ و میر نشده بلکه آن را نیز کاهش داده است که تأییدی بر این نظریه است که این فرآورده سرکوبگر سیستم ایمنی محسوب نمی‌شود بلکه موجب تعدیل پاسخ می‌شود (اقتداردوست و همکاران، ۱۳۸۸).

در نهایت، می‌توان نتیجه گرفت MS14 با تأثیر بر تولید آنتی‌بادی آگلوتینه‌کننده IgM و با کاهش وابسته به دوز این آنتی‌بادی می‌تواند به‌عنوان یک ایمونومدولاتور در پاسخ هومورال اولیه مطرح باشد و در درمان برخی بیماریهایی که این آنتی‌بادی نقش پاتوژن را دارد مانند بیماری اتوایمیون MS (Saveliev et al., 2003) به‌عنوان تعدیل‌کننده ایمنی بکار رود.

سپاسگزاری

از آقای دکتر امرالله احمدی به جهت همکاری در این پژوهش (ازجمله تهیه فرآورده MS14) تشکر می‌شود.

منابع مورد استفاده

- حاج‌هاشمی، و.، ففقازی، ت. و احمدی، ا.، ۱۳۸۳. بررسی سمیت تحت حاد داروی طبیعی MS14 در موش صحرایی. دوماهنامه علمی- پژوهشی دانشگاه شاهد، ۵۲(۱۱): ۱۴-۱.
- غضنفری، ط. و محمدحسن، ز.، ۱۳۷۳. بررسی تأثیر سیر بر ایمنی سلولی: افزایش حساسیت تأخیری (DTH). دوماهنامه علمی- پژوهشی دانشگاه شاهد، ۷ و ۸(۲): ۸۷-۸۲.
- علی‌محمدیان، م.ح. و محمودزاده نیک‌نام، ح.، ۱۳۷۴. راهنمای عملی ایمونولوژی آزمایشگاهی. (ترجمه)، انتشارات نگاره، تهران، ۶۶۳ صفحه.
- ناصری، م.، ۱۳۸۳. طب سنتی ایران و توسعه آن با استفاده از رهنمودهای سازمان بهداشت جهانی. دانشور، دوماهنامه علمی- پژوهشی دانشگاه شاهد، ۵۲(۱۱): ۶۶-۵۳.
- ناصری، م.، احمدی، ا.، قره‌گزیلی، ک.، ۱۳۸۶. بررسی سم‌شناسی بالینی فرآورده طبیعی MS14 در بیماران مبتلا به مولتیپل

(Villar et al., 2003; 2006). حتی گزارش شده است که بر سطح الیگودندروسیتها و پیش‌سازهای آنها و نیز روی میلین، گیرنده IgM به نام Fc α μ R بیان می‌شود (Nakahara et al., 2003). با توجه به اینکه MS14 نیز بدون تأثیر بر IgG موجب کاهش IgM در پاسخ هومورال شده است، ممکن است مکانیسم مفیدی در ارتباط با این بیماری یا سایر بیماریهای اتوایمیون باشد که IgM در پاتوژنز آنها نقش مؤثرتری دارد. البته لازم به تذکر است که به نظر بیشتر محققان مکانیسم ایمنی مهمی که در اتیولوژی MS دخیل است به واسطه سلولهای T می‌باشد (Rowland, 2005)، بنابراین بررسی جداگانه تأثیر MS14 بر پاسخهای ایمنی سلولی نیز لازم است.

تأثیر این فرآورده بر سایر پاسخهای ایمنی ازجمله ایمنی سلولی و همچنین ایمنی ذاتی در دست بررسی می‌باشد. براساس نتایج اولیه این مطالعات (داده‌های در دست انتشار) به نظر می‌رسد MS14 اثر ایمونومدولاتوری خود را از مسیرهای متعددی ایفا می‌کند؛ یعنی به خلاف بیشتر داروهای سرکوبگر ایمنی که موجب سرکوب عمومی پاسخهای ایمنی می‌شوند، این فرآورده به‌طور انتخابی بر برخی پاسخها اثر کاهش‌دهنده و بر برخی اثر افزایش‌دهنده دارد. نتایج اولیه مطالعات انجام شده با MS14 در گروه ایمونولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد نشان می‌دهد که MS14 موجب کاهش تولید NO ماکروفاژهای صفاق و هم‌زمان بالا بردن فعالیت تکثیری لنفوسیت‌های طحال شده است که تأییدی بر این مطلب است که MS14 می‌تواند به‌عنوان یک ایمونومدولاتور قابلیت‌های مناسبی داشته باشد و بهتر است که بررسیهای بیشتری در مورد آن صورت گیرد. از طرف دیگر، مصرف این فرآورده در مدل موشی سپسیس کاندیدائی موجب

- immunoglobulin M in oligodendrocytes and myelin of mouse central nervous system. *Neuroscience Letters*, 337(2): 73-76.
- Perini, P., Renzato, F., Calabrese, M., Battistin, L. And Gallo, P., 2006. Intrathecal IgM production and clinical onset correlates with a more severe disease course in multiple sclerosis. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 7: 953-955.
 - Pratt, D.S. and Kaplan, M.M., 2000. Evaluation of abnormal liver-enzyme results in asymptomatic patients. *The New England Journal of Medicine*, 342(17): 1266-1271.
 - Rezaeipoor, R., Saeidnia, S. and Kamalinejad, M., 2000. The effect of *Plantago ovata* on humoral immune responses in experimental animals. *Journal of Ethnopharmacology*, 72(1-2): 283-286.
 - Rowland, L.P., 2005. *Merrit's Neurology*. 11th ed. New York, Lippincott Williams & wilkins, 1271p.
 - Rudick, R.A. and Goodkin, D.E., 1999. *Multiple sclerosis therapeutic*. London, Martin Dunitz, 592p.
 - Saveliev, A.N., Ivanen, D.R., Kulminskaya, A.A., Ershova, N.A., Kanyshkova, T.G. and Buneva, V.N., 2003. Amyolytic activity of IgM and IgG antibodies from patients with multiple sclerosis. *Immunology letters*, 86(3): 291-297.
 - Tafreshi, A.Z., Ahmadi, A., Ghaffarpur, M., Mostafavi, H., Rezaeizadeh, H., Minaie, B., Faghihzadeh, S. and Naseri, M., 2008. An Iranian herbal-marine medicine, MS14, ameliorates experimental encephalomyelitis. *Phototherapy Research*, 22(8): 1083-1086.
 - Villar, L.M., Masjuan, J., González-Porqué, P., Plaza, J., Sádaba, M.C., Roldán, E. and Bootello, A., 2003. Intrathecal IgM synthesis is a prognostic factor in multiple sclerosis. *Annals of neurology*, 53(2): 222-226.
- اسکلروزیس. دوماهنامه علمی- پژوهشی دانشگاه شاهد، ۶۸(۱۴): ۶۵-۵۹.
- اقتداردوست، م، یارائی، ر، غضنفری، ط. و ناصری، م، ۱۳۸۸. تأثیر داروی MS14 بر سبسیس کاندیدائی در موش Balb/C فصلنامه بیماریهای عفونی و گرمسیری، ۴۴(۱۴)، درحال چاپ.
- Borchers, A.T., hckman, R.M., Keen, C.L., Stem, J.S. and Gershwin, M.E., 1997. Complementary medicine: a review of immunomodulatory effects of Chinese herbal medicines. *American Journal of Clinical Nutrition*, 66(6): 1303-1312.
 - Butter, S., Heaken, B. and Herrlinges-Qariuia, K., 2007. Arginie supplementation enhances mitogen-induced splenocytes proliferation but does not effect in vivo indicators of antigen-specific immunity in mice. *Nutritional immunology*, 85(1): 1146-1150.
 - Datta, S., Sinha, S. and Bhattachary, P., 1999. Effect of a herbal protein, CI-1, isolated from *Cajanus indicus* on immune response of control and stressed mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 67(3): 259-267
 - Leemol, D. and Girgia, K., 2000. Immunomodulatory activity of *Withania somnifera*. *Journal of Ethnopharmacology*, 71(1): 193-200.
 - Liu, C.J., Hung, W.C. and Tseng, J., 2005. Long-term oral administration of ginseng extract modulates humoral immune response and spleen cell functions. *American Journal of Chinese Medicine*, 33(4): 651-661.
 - Liu, J., Yoshida, M., Wang, M., Okai, Y. and Yamashita, U., 1997. B cell stimulating activity of seaweed extract. *International Journal of Immunopharmacology*, 19(3): 135-142.
 - Nakahara, J., Seiwa, C., Shibuya, A., Aiso, S. and Asou, H., 2003. Expression of Fc receptor for

The effect of MS14 on primary and secondary humoral Immune Response in Balb/C Mice

R. Yaraee^{1*}, T. Ghazanfari², M. Naseri³, S. Fallahnejad⁴ and M. Eghtedardoost⁴

1*- Corresponding author, Department of Immunology, Faculty of Medicine and Immunoregulation Research Group, Shahed University, Tehran, Iran, E-mail: ryaraee@yahoo.com

2- Department of Immunology, Faculty of Medicine and Immunoregulation Research Group, Shahed University, Tehran, Iran

3- Department of Pharmacology, Faculty of Medicine and Herbal Medicine Research Center, Shahed University, Tehran, Iran

4- Shahed University, Tehran, Iran

Received: March 2008

Revised: March 2009

Accepted: May 2009

Abstract

Immune system participates in etiology and pathophysiology of numerous diseases. Modulation of immune responses including humoral immune responses has been considered as a useful approach in control and disease treatments and immunomodulators can be effective in this regard. Herbal drugs are known as a source of immunomodulators. In this study the effect of MS14, a herbal – marine preparation, on humoral immune response in animal model is considered. MS14 have been orally administered (50 and 100 mg/kg) to 6-8 weeks old female Balb/C mice 5 days, the mice were immunized once using SRBC and were bled at day 6 (primary humoral response). Alternatively the mice were immunized multiple times during two weeks for secondary immune response in control group and MS14 (100 mg/kg). Serial dilutions of serum were prepared and agglutination test was performed using SRBC for primary and secondary sera. Serum IgG level in secondary sera has been determined by sandwich ELISA test. Antibody titer of primary serum was significantly reduced in agglutination test (the mean titer of antibody was 44.571 in control group and 27.6 in 50 mg/kg of MS14 and 7.33 in 100 mg/kg of MS14). Although, a little reduction has been observed in level of agglutinating antibody titer for secondary serum, but the reduction was not statistically significant (the mean titer of antibody was 25.6 in control group and 11.2 in MS14 group). Serum IgG level in control and MS14 group was not statistically significant as well (374.9 ng/ml in control and 382.1ng/ml in MS14 group). It can be concluded that MS14 possibly induces part of its immunomodulatory effect by reducing the production of IgM in primary humoral response but it has not any effect on IgG production in secondary humoral response.

Key words: Immunomodulator, MS14, humoral immune response, agglutination, IgG, IGM.