مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۲۸۰/هفته اول خرداد ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۱/۱۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۲/۲

اثر داروی سیلی مارین بر بیان گیرنده‌ی کموکاینی CXCR۳ مربوط به لنفوسیت‌های کمکی نوع ۱

محدثه طغیانی خوراسگانی[۱]، دکتر ناهید اسکندری[۲]، دکتر مرجان قراگوزلو[۲]، دکتر محمد فضیلتی[۳]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: سیلیمارین یک کمپلکس فلاونولیگنان مشتق از گیاه خار مریم (Milk thistle) با نام علمی SilybumMarianum است که به خاطر اثرات حفاظت کبدی و ضد التهابی‌اش معروف است. در سال‌های اخیر، توجه محققان به اثرات تعدیل ایمنی (Immunomodulatory) این گیاه معطوف شده است و در این خصوص، مطالعاتی انجام گردیده است. در مطالعه‌ی حاضر، اثر داروی سیلی مارین بر بیان گیرنده‌ی کموکاینی CXCR۳ (Chemokine (C-X-C motif) receptor۳) لنفوسیت Th۱ (T helper۱) در مقایسه با دی متیل سولفوکساید (DMSO یا Dimethyl sulfoxide) مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها: ابتدا از افراد سالم خون‌گیری انجام شد (n = ۸). سپس با استفاده از فایکول سلول‌های تک هسته‌ای، خون محیطی (PBMC یا Peripheral blood mononuclear cell) جداسازی گردید و در محیط RPMI (Roswell Park memorial institute medium) و در مجاورت سیلی مارین و DMSO با غلظت مناسب (۱۰۰ Mμ) قرار گرفت. درصد سلول‌های $CD۴^{+}T$ بیان کننده‌ی گیرنده‌ی کموکاینی در بین جمعیت‌های لنفوسیت‌های T توسط رنگ‌های FITC (Fluoresseinisothiocyanate) و PE (Phycoerythrin) که روی آنتی بادی‌های منوکلونال ضد انسانی کونژوگه شد، با استفاده از فلوسایتومتری نسبت به شاهد منفی (DMSO) تعیین گردید

یافته‌ها: سیلی مارین در غلظت مورد استفاده (۱۰۰ Mμ) در مقایسه با DMSO به طور قابل ملاحظه‌ای باعث افزایش بیان گیرنده‌ی CXCR۳ گردید ($P < ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: ارزیابی سیلی مارین بر بیان گیرنده‌های کموکاینی، به عنوان یک عامل تعدیل کننده‌ی ایمنی (Modifier) نشان داد که در شرایطی که سرکوب ایمنی (Immunosuppression) مورد نیاز است، می‌تواند داروی ارزشمندی باشد.

واژگان کلیدی: لنفوسیت‌های T helper۱، گیرنده‌ی کموکاینی، سیلی مارین، فلوسیتومتری

ارجاع: طغیانی خوراسگانی محدثه، اسکندری ناهید، قراگوزلو مرجان، فضیلتی محمد. **اثر داروی سیلی مارین بر بیان گیرنده‌ی کموکاینی CXCR۳ مربوط به لنفوسیت‌های کمکی نوع ۱.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۸۰): ۴۶۰-۴۵۳

مقدمه

امروزه تحقیقات زیادی به منظور یافتن داروهای جایگزین در حال انجام است که این داروهای مکمل با اثرات جانبی کمتر، برای جاگزینی داروهای سرکوب کننده‌ی سیستم ایمنی و ضد التهاب کنونی که دارای اثرات نامطلوب هستند، به کار می‌رود.

از جمله‌ی این داروها، فلاونوئیدها گروهی از ترکیبات طبیعی هستند که در اغلب گیاهان یافت

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، اصفهان، ایران
۲- استادیار، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر ناهید اسکندری
Email: neskandari@med.mui.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

می‌شوند. این ترکیبات پلی فنولیک، طیف قابل توجهی از فعالیت‌های بیوشیمیایی اثرگذار بر اعمال پایه‌ای سلول نظیر تکثیر، تمایز و آپوپتوز را نشان می‌دهند. در میان فلاونوئیدها، سیلی مارین یک کمپلکس فلاونوگلینان مشتق از گیاه خار مریم (Milk thistle) با نام علمی Silybummarianum است که ترکیبی از Silybin، Silychristin و Silydianin می‌باشد. سیلی مارین به خاطر اثرات حافظت کبدی و ضد التهابی‌اش معروف است. از این ترکیب در درمان بیماری‌های مختلف کبدی نظیر مسمومیت‌های الکلی یا دارویی، مسمومیت‌های قارچی و هپاتیت‌های ویروسی در کلینیک استفاده می‌شود. مطالعات فارموکولوژیکی نشان داده‌اند که سیلی مارین حتی در دوزهای بالا، برای بیماران مبتلا به سیروز کبدی سمی نمی‌باشد (۳-۱).

مطالعات وسیع طی دهه‌ی اخیر نشان داده‌اند که سیلی مارین می‌تواند تکثیر انواعی از سلول‌های توموری (نظیر سلول‌های توموری مربوط به پروستات، سینه، تخمدان، کولون، ریه و مثانه) را مهار کند. علاوه بر خواص حفاظت کبدی و ضد التهابی، سیلی مارین دارای اثرات ضد سرطانی و آنتی اکسیدانی نیز می‌باشد. این مطالعات پیشنهاد می‌کنند که مواجهه با سیلی مارین موجب ایجاد وقفه در پیشروی سیکل سلولی می‌شود (۴).

در سال‌های اخیر، توجه محققان به اثرات تعدیل ایمنی (Immunomodulatory) این گیاه معطوف شده است و در این خصوص، مطالعات متعددی انجام گردیده است (۶-۵، ۳-۱). با این حال، اثر سیلی مارین بر سلول‌های ایمنی از جمله لنفوسیت‌های T و نیز مکانیسم‌های مربوط تا حد زیادی ناشناخته است.

بعضی از مقالات با بررسی اثر مهاری سیلی مارین بر تکثیر سلول‌های T در شرایط آزمایشگاهی، نشان داده‌اند که با مهار سایتوکاین‌های IFN-γ (Interferon gamma) و IL-۲ (Interleukin۲) همراه بوده است (۵). در مقابل، عده‌ای دیگر اثر تحریکی آن را به شیوه‌ی وابسته به دوز (Dose-dependent) بر تکثیر لنفوسیت‌ها نشان داده‌اند (۷).

در یک مطالعه که بر روی بیماران مبتلا به سیروز الکلی انجام شده است، اثر تحریکی سیلی مارین بر پاسخ لنفوسیت‌های خون محیطی به میتوژن‌ها به دنبال تجویز خوراکی Legalon (سیلی مارین) گزارش شده است(۸).

پس ممکن است ارزیابی سیلی مارین بر بیان گیرنده‌های کموکاینی که نوعی سایتوکاین هستند، نه تنها برای توصیف مکانیسم تعدیل ایمنی این دارو، بلکه برای ایجاد یک کلاس جدید از عوامل سرکوب کننده‌ی ایمنی ارزشمند باشد. از سوی دیگر، در صورت اثبات عدم سمی بودن برای لنفوسیت‌های T انسانی، به عنوان یک داروی جایگزین برای داروهای سرکوبگر ایمنی بدون عوارض جانبی جدی در کلینیک قابل استفاده خواهد بود.

اکثر مطالعاتی که به بررسی اثر سیلی مارین بر لنفوسیت‌های T پرداخته‌اند، بر روی لاین سلول‌های سرطانی (Cell line) یا لنفوسیت‌های T موشی بوده است (۹، ۴). در مواردی هم که از سلول انسانی استفاده شده است، تحریک و فعال‌سازی بیشتر از طریق میتوژن صورت گرفته است (۹، ۴). این مطالعه با استفاده از سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی (Peripheral blood mononucleated cell) از

www.SID.ir
www.mui.ac.ir
Archive of SID

داوطلبین سالم، کشت در محیط RPMI (Roswell Park memorial institute medium) و در مجاورت سیلی مارین صورت گرفت. هدف از این مطالعه، بررسی اثر داروی سیلی مارین و دی متیل سولفوکساید بر بیان گیرنده‌ی کموکاینی CXC۳ (Chemokine (C-X-C motif) receptor۳) مربوط به لنفوسیت‌های کمکی نوع ۱ (Th۱ یا T helper۱) بود.

روش‌ها

آماده‌سازی سیلی مارین

ابتدا ۰/۰۵ گرم از پودر سیلیمارین (sigma, mw: ۷ g) در ۱ ml دی متیل سولفوکساید (DMSO یا Dimethyl sulfoxide) خالص به منظور ایجاد محلول ذخیره ۱۰۰ mM (Stock solution) حل شد. محلول ذخیره در ویال‌های کوچک تقسیم شد و در ۲۰- °C تا موقع استفاده نگهداری شد. برای تهیه‌ی محلول کار ۱ mM، از سیلیمارین ۱۰۰ mM، ۱۰ µl از سیلیمارین ۱۰۰ mM قطره قطره در ۹۰ µl از دی متیل سولفوکساید ۱۰۰ درصد حل شد. سپس با ۹۰۰ µl از محیط RPMI۱۶۴۰ به حجم ۱ mM رسید.

جداسازی و خالص‌سازی سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی (PBMCs)

نمونه‌ی خون از افراد داوطلب سالم (n = ۸) ۵ ml از خون هپارینه با حجم مساوی از فسفات بافر سالین (PBS یا Phosphate buffered saline) مخلوط شد. مخلوط حاصل با دقت بر روی ۵ ml فایکول برده شد. پس از سانتریفوژ(۲۸۰۰ rpm، ۲۰ دقیقه در دمای اتاق) لایه‌ی حد فاصل پلاسما و فایکول که همان PBMCs است، با پیپت پاستور جمع‌آوری شد. سپس دو مرتبه با PBS شستشو داده شد. سلول‌ها شمارش شدند و Viability آن‌ها با روش علامت‌گذاری تریپان بلو (۰/۴ درصد در PBS) مشخص گردید. لنفوسیت‌های دارای Viability بیش از ۹۵ درصد در مراحل بعدی آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند.

آماده‌سازی سلول‌ها و شرایط کشت

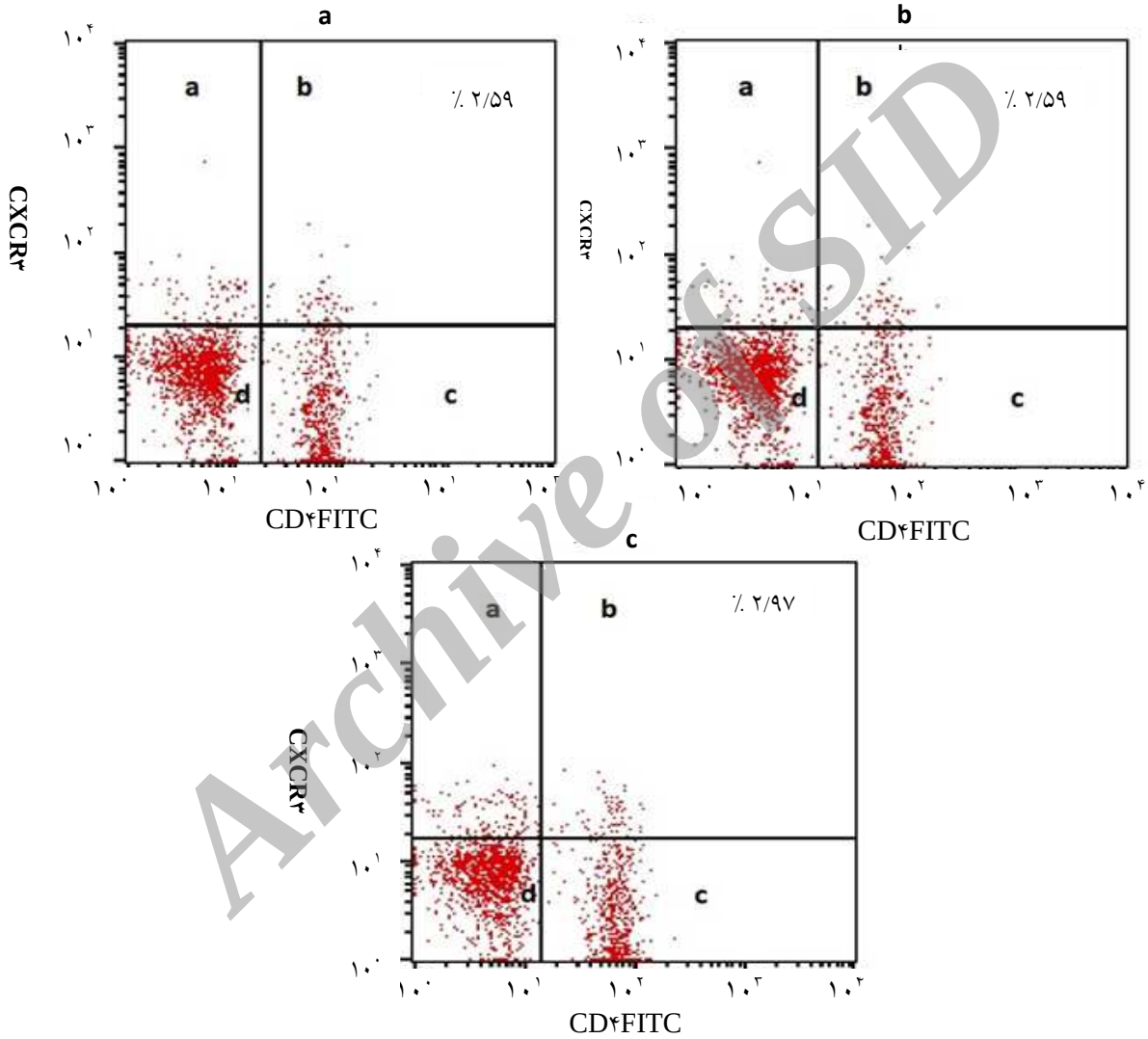
PBMCs جدا شده با غلظت ۸×۱۰^{۵} سلول در میلی‌لیتر در پلیت ۲۴ خانه‌ی مسطح در حجم ۱ میلی‌لیتر با ۱ µg/ml از Con A جهت تحریک میتوژن و در مجاورت ۱۰۰ Mµ سیلی مارین و یا در حلال آن DMSO (به عنوان شاهد منفی) در محیط کشت (که میزان آن از کسر مقدار سلول استفاده شده بر حسب میکرولیتر از ۹۰۰ محاسبه گردید)، قرار داده شد و به مدت ۷۲ ساعت در شرایط استاندارد (دمای ۳۷ °C، رطوبت ۹۵ درصد و $CO_۲$ ۵ درصد) کشت داده شدند. در پایان این دوره‌ی انکوباسیون، سلول‌ها برداشت شدند و برای ارزیابی تغییرات احتمالی در بیان کموکاین گیرنده‌ها مورد بررسی قرار گرفتند.

تجزیه و تحلیل فلوسیتومتری

درصد سلول‌های $CD۴^{+}$ T بیان کننده‌ی گیرنده‌ی کموکاین CXCR در بین جمعیت‌های لنفوسیت‌های T، توسط دستگاه FACSCalibur flow cytometer با کامپیوتری که به نرم‌افزار Cell Quest مجهز بود، مشخص گردید و این کار به کمک رنگ‌های FITC (Fluoresseinisothiocyanate) و PE (Phycoerythrin) که روی آنتی بادی‌های منوکلونال ضد انسانی کونژوگه شد، انجام گردید. برای تعیین CD۴ و CXCR۳ به ترتیب از FITC و PE استفاده شد. ۵×۱۰^{۵} PBMCs با ۱۰ میکرولیتر از هر جفت آنتی بادی‌ها نشاندار گردید. بعد از انکوباسیون به

Archive of SID
www.SID.ir

مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق و در تاریکی، سلول‌ها دو بار (۱۰ دقیقه، ۱۵۰۰ rpm) با PBS شسته و سپس در ۰/۵ ml از PBS غوطه‌ور شدند. خلوص لنفوسیت‌ها توسط پارامترهای معمول Forward scatter/ Side scatter به وسیله‌ی جمعیت لنفوسیت‌های CD۴۵ تجزیه و تحلیل گردید. به طور معمول، ۱۰۰۰۰ سلول در هر لوله شمرده شد. ایزوتایپ IgG (Immunoglobulin G) جهت کنترل پس زمینه مورد استفاده قرار گرفت. نتایج به عنوان درصد کلی سلول‌های $CD۴^{+}$ T بیان کننده‌ی گیرنده‌های کموکاینی در بین جمعیت‌های لنفوسیت‌های T بیان شد (شکل ۱).



شکل ۱. تصاویر فلوسایتومتری نشان دهنده‌ی بیان CXCR۳ لنفوسیت‌های $CD۴^{+}$ $CD4^{+}$ T در سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی شکل‌ها به ترتیب a، b و c قبل از کشت و بعد از کشت با سیلی مارین و DMSO

هر تصویر به چهار قسمت تقسیم شده و هر قسمت نشان دهنده‌ی سلول‌هایی است که به وسیله‌ی رنگ فلورسنت مرتبط از یکدیگر جدا شده‌اند.

a: سلول‌های CXCR۳ مثبت، b: سلول‌های CD۴ و CXCR۳ مثبت، c: سلول‌های CD۴ مثبت، d: سلول‌های شاهد منفی

Archive of SID
www.SID.ir

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

متغیر گیرنده‌های کموکاینی در سلول‌های Th۱ با سیلی مارین یا DMSO (شاهد منفی) مجاور شد و از آزمایش Non parametric جفت نمونه‌های Wilcoxon جهت مقایسه‌ی داده‌های گروه‌بندی شده استفاده گردید. اطلاعات جمع‌آوری شده توسط نرم‌افزار آماری SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL) آنالیز گردید. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار در جداول گزارش شدند. P ≤ ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی گردید.

یافته‌ها

درصد سلول‌های $CD۴^{+}$ T بیان کننده‌ی گیرنده‌ی CXCR۳ در بین جمعیت‌های لنفوسیت‌های T قبل از کشت ۵/۱۶ درصد، در مجاورت DMSO با سیلی مارین ۶/۱۷ درصد و ۷۲ ساعت بعد از کشت در مجاورت سیلی مارین حدود ۸/۴۴ درصد تعیین گردید. برای تعیین CD۴، آنتی بادی متصل شده به ماده‌ی فلورسنت FITC و برای تعیین CXCR۳، آنتی بادی متصل شده به ماده‌ی فلورسنت PE، استفاده شد.

یافته‌های حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که مقدار z به دست آمده برای نمونه‌ی سیلی مارین با قبل از کشت برابر ۲/۳۸- می‌باشد (P < ۰/۰۵). از این رو، بین نمونه‌ی سیلی مارین با نمونه‌ی قبل از کشت، تفاوت معنی‌دار وجود داشت (مقدار z نمره‌ی معیاری است که دارای توزیعی با میانگین صفر و انحراف معیار واحد یک می‌باشد) (جدول ۱).

از طرف دیگر، مقدار میانگین در مجاورت سیلی مارین در حدود ۲/۳۸ درصد افزایش یافت. همچنین مقدار z به دست آمده برای نمونه‌ی سیلی مارین با DMSO برابر ۰/۵۲۱- می‌باشد که از (P < ۰/۰۵) بزرگ‌تر بود. از این رو بین نمونه‌ی سیلی مارین با نمونه‌ی DMSO تفاوت معنی‌دار وجود داشت. همچنین میانگین نمونه در مجاورت سیلی مارین (۸/۴۴ درصد) بیشتر از میانگین نمونه در مجاورت DMSO (۶/۱۷ درصد) بود.

بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که سیلی مارین باعث افزایش بیان گیرنده‌ی CXCR۳ می‌شود. مشابه این نتایج، در تحقیقی توسط Rabinovich و همکاران (۱۰) اثر Anti-CD۳ بر روی بیان گیرنده‌ی CXCR۳ بررسی شد و نتایج به دست آمده نشان دهنده‌ی افزایش بیان این گیرنده بود. Sallusto و همکاران (۱۱) فقدان کامل یا کاهش mRNA CXCR۳ را بعد از تأثیر anti-CD۳ گزارش کردند. این تناقض می‌تواند به علت تفاوت در آنتی بادی مورد استفاده باشد.

جدول ۱. مقایسه‌ی مقدار Z و سطح معنی‌داری سیلی مارین با قبل از کشت و DMSO با سیلی مارین

TH1- CXCR3		
متغیرها	مقدار Z	مقدار P
سیلی مارین با قبل از کشت	-۲/۳۸۰	۰/۰۱۷
DMSO با سیلی مارین	-۲/۵۲۱	۰/۰۱۲

مقدار Z: نمره‌ی معیاری است که دارای توزیعی با میانگین صفر و انحراف معیار واحد یک می‌باشد.

DMSO: Dimethyl sulfoxide

Archive of SID
www.SID.ir

Qin و همکاران (۱۲) گزارش دادند که CXCR۳ بعد از یک دوره‌ی کشت طولانی با IL-۲ افزایش می‌یابد. از آن جایی که لیگاندهای مرتبط با گیرنده‌ی CXCR۳ توسط IFNγ و سایتوکاین‌های التهابی القا می‌شوند (۱۴-۱۳)، این امر منجر به تولید سلول‌های نوع Th۱ و یک پاسخ متأثر از این سلول‌ها می‌شود. به دلایل متعددی، سیستم ایمنی این توانایی را دارد که علیه آنتی ژن‌های خودی نیز وارد عمل شود و سبب آسیب و عوارض جانبی شود که در نهایت، باعث بروز بیماری (بیماری‌های خود ایمنی) در افراد می‌گردد.

در این راستا، تنظیم پاسخ‌های سیستم ایمنی انسان توسط ایمنی هومورال و سلولی مورد توجه قرار گرفته است. در بسیاری از بیماری‌ها مانند بیماری‌های خود ایمن، سرطان و ...، سرکوب سیستم ایمنی بدن یکی از راه‌های کنترل این گروه از بیماری‌ها می‌باشد که باعث کاهش و یا مهار پاسخ‌های ایمنی شود. به طور معمول، روش‌های متعددی برای سرکوب سیستم ایمنی به کار می‌رود. داروهای سرکوبگر ایمنی (مانند کورتون‌ها، راپامایسین و ...) که لنفوسیت‌های T را مهار یا نابود می‌کنند، یک روش مورد استفاده می‌باشد. مصرف این داروها در دراز مدت در بسیاری از بیماری‌ها همانند لوپوس، آرتریت روماتوئید و ... دارای عوارض جانبی زیادی است. به همین دلیل، در سال‌های اخیر توجه محققان به داروهای تعدیل کننده‌ی سیستم ایمنی با اثرات جانبی کمتر مانند سیلی مارین معطوف شده است (۱۵، ۷).

اثرات آنتی اکسیدانی، ضد التهابی و ضد سرطانی سیلی مارین در مقالات متعدد نشان داده شده است (۹، ۴). در رابطه با اثر سیلی مارین به عنوان داروی سرکوبگر سیستم ایمنی در بیماری‌های خود ایمنی مدارک علمی کافی وجود ندارد، بعضی از مطالعات اثر مهاری سیلی مارین را بر تکثیر لنفوسیت‌های T در شرایط Ex vivo و In vitro نشان داده‌اند که با مهار تولید IL-۲ و IFN-γ همراه می‌باشد (۸-۷، ۳). از این رو با توجه به اثر مهاری سیلی مارین بر روی تولید سایتوکاین‌ها، این احتمال وجود دارد که این دارو بر روی بیان گیرنده‌های کموکاینی -که خانواده‌ی بزرگی ازسایتوکاین‌ها هستند- نیز تأثیرگذار باشد.

ارزیابی سیلی مارین بر بیان گیرنده‌ی کموکاینی CXCR۳، نه تنها برای توصیف مکانیسم تعدیل ایمنی این دارو بلکه برای ایجاد یک کلاس جدید از عوامل سرکوب کننده، می‌تواند ارزشمند باشد. از سوی دیگر، در صورت اثبات عدم سمی بودن برای لنفوسیت‌های T انسانی، به عنوان یک داروی جایگزین برای داروهای سرکوبگر ایمنی بدون عوارض جانبی جدی در کلینیک قابل استفاده خواهد بود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از تمامی افراد داوطلب اهدا کننده‌ی خون که در اجرای این تحقیق یاری نمودند، تشکر و سپاسگزاری می‌گردد.

References

1. Li D, Wang Z, Sun P, Jin Y, Lin DH, Hebert SC, et al. Inhibition of MAPK stimulates the Ca^{2+}-dependent big-conductance K channels in cortical collecting duct. Proc Natl Acad Sci USA 2006; 103(51): 19569-74.
2. Gazak R, Walterova D, Kren V. Silybin and

Archive of SID
www.SID.ir

silymarin--new and emerging applications in medicine. Curr Med Chem 2007; 14(3): 315-38.
3. Gharagozloo M, Amirghofran Z. Effects of silymarin on the spontaneous proliferation and cell cycle of human peripheral blood leukemia T cells. J Cancer Res Clin Oncol 2007; 133(8): 525-32.
4. Agarwal R, Agarwal C, Ichikawa H, Singh RP, Aggarwal BB. Anticancer potential of silymarin: from bench to bed side. Anticancer Res 2006; 26(6B): 4457-98.
5. Gharagozloo M, Velardi E, Bruscoli S, Agostini M, Di SM, Donato V, et al. Silymarin suppress CD4+ T cell activation and proliferation: effects on NF-kappaB activity and IL-2 production. Pharmacol Res 2010; 61(5): 405-9.
6. Hussain SA, Jassim NA, Numan IT, Al-Khalifa II, Abdullah TA. Anti-inflammatory activity of silymarin in patients with knee osteoarthritis. A comparative study with piroxicam and meloxicam. Saudi Med J 2009; 30(1): 98-103.
7. Wilasrusmee C, Kittur S, Shah G, Siddiqui J, Bruch D, Wilasrusmee S, et al. Immunostimulatory effect of Silybum Marianum (milk thistle) extract. Med Sci Monit 2002; 8(11): BR439-BR443.
8. Lang I, Nekam K, Deak G, Muzes G, Gonzales-Cabello R, Gergely P, et al. Immunomodulatory and hepatoprotective effects of in vivo treatment with free radical scavengers. Ital J Gastroenterol 1990; 22(5): 283-7.
9. Cheung CW, Gibbons N, Johnson DW, Nicol DL. Silibinin--a promising new treatment for cancer. Anticancer Agents Med Chem 2010; 10(3): 186-95.
10. Rabinovich GA, Ariel A, Hershkoviz R, Hirabayashi J, Kasai KI, Lider O. Specific inhibition of T-cell adhesion to extracellular matrix and proinflammatory cytokine secretion by human recombinant galectin-1. Immunology 1999; 97(1): 100-6.
11. Sallusto F, Kremmer E, Palermo B, Hoy A, Ponath P, Qin S, et al. Switch in chemokine receptor expression upon TCR stimulation reveals novel homing potential for recently activated T cells. Eur J Immunol 1999; 29(6): 2037-45.
12. Qin S, Rottman JB, Myers P, Kassam N, Weinblatt M, Loetscher M, et al. The chemokine receptors CXCR3 and CCR5 mark subsets of T cells associated with certain inflammatory reactions. J Clin Invest 1998; 101(4): 746-54.
13. Farber JM. Mig and IP-10: CXC chemokines that target lymphocytes. J Leukoc Biol 1997; 61(3): 246-57.
14. Cole KE, Strick CA, Paradis TJ, Ogborne KT, Loetscher M, Gladue RP, et al. Interferon-inducible T cell alpha chemoattractant (I-TAC): a novel non-ELR CXC chemokine with potent activity on activated T cells through selective high affinity binding to CXCR3. J Exp Med 1998; 187(12): 2009-21.
15. Morishima C, Shuhart MC, Wang CC, Paschal DM, Apodaca MC, Liu Y, et al. Silymarin inhibits in vitro T-cell proliferation and cytokine production in hepatitis C virus infection. Gastroenterology 2010; 138(2): 671-81, 681.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Isfahan Medical School
Received: 04.02.2014
Vol. 32, No. 274, 1st Week, June 2014
Accepted: 22.04.2014

The Effect of Silymarin on the Expression of Chemokine Receptors in T Helper 1 (Th1) Cells

Mohaddese Toghiani-Khorasgani[1], Nahid Eskandari MD, PhD[2], Marjan Gharagozloo PhD[2], Mohammad Fazilati PhD[3]

Original Article

Abstract

Background: Silymarin, apolyphenolic flavnoid derived from milk thistle (Silybum marianum), is known to have anti-inflammatory, hepatoprotective, and anticarcinogenic effects. The aim of this study was to investigate the effect of silymarin on the chemokine receptor of (T helper) Th1 cells.

Methods: Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) from 8 healthy individuals were activated with Conconavalin 'A' and treated with silymarin (100 µM) or dimethyl sulfoxide (DMSO), as negative control, in a standard condition (RT: 37 and CO_2: 5%). Cells were incubated (72 hours) and then examined for the cytometric evaluation of chemokine receptor CXCR3 expression on Th1 cells. Peripheral blood lymphocyte subpopulations were identified and evaluated by two color flow cytometric analysis. A nonparametric paired samples Wilcoxon test was applied to compare the grouped data. Results were expressed as the mean ± standard deviation (SD). P-values < 0·05 were considered to indicate significant differences.

Findings: PBMCs treated with silymarin increased the expression of CXCR3 on Th1 cells. These results were significantly (P = 0.017) in all samples.

Conclusion: This study provided evidences of effectiveness for silymarine on the expression of CXCR3. Therefore, in future, silymarine could be used instead of other drugs such as immunosuppressive with fewer side effects in autoimmune diseases.

Keywords: Silymarine, Chemokine receptor, T helper cells, Flow cytometry

Citation: Toghiani-Khorasgani M, Eskandari N, Gharagozloo M, Fazilati M. **The Effect of Silymarin on the Expression of Chemokine Receptors in T Helper 1 (Th1) Cells.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(280): 453-60

Archive of SID

1- Department of Biology, Payam-e-Noor University, Isfahan, Iran
2- Assistant Professor, Department of Immunology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Professor, Department of Biology, Payam-e-Noor University, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Nahid Eskandari MD, PhD, Email: neskandari@med.mui.ac.ir

www.SID.ir