مجله علوم پایه پزشکی ایران، جلد ۱۰، شماره۱، بهار ۱۴،۱۳۸۶ - ۸
تاریخ دریافت: ۸۵/۷/۱۶- تاریخ پذیرش: ۸۶/۵/۱۰

تاثیر فرآورده گیاهی ACA1 بر پاسخ تکثیری و تولید نیتریک اکساید توسط ماکروفاژهای صفاقی موش Balb/c

*[1] طوبی غضنفری، [2] رویا یارائی، [3] محسن ناصری، [4] عماد ثنایی، [4] رامین ابراهیمی

چکیده

هدف

فرآورده گیاهی ACA1 از یک گیاه بومی ایرانی که درطب سنتی ایران در درمان سرطان به کار می رفته گرفته شده است. بررسی های گذشته نشان داد که این گیاه دارای اثر کشنده بر رده سلولی سرطان معده (AGS) و رده سلولی سرطان ملانومای انسانی (SK-MEL3) در محیط آزمایشگاهی است. این بررسی ها همچنین نشان داد که اثر این دارو بر سلولهای فیبروبلاست L929 که در اینگونه مطالعات به عنوان رده سلولی استاندارد مورد استفاده قرار می گیرد؛ به طور معنی داری کمتر است. این مطالعه جهت بررسی تاثیر این فرآورده بر سیستم ایمنی ذاتی موش Balb/c طراحی شد.

مواد و روش کار

به دنبال تزریق داخل صفاقی ACA1 به حیوان آزمایشگاهی به مدت پنج روز، فعالیت رشد و تکثیر ماکروفاژهای صفاقی به روش MTT سنجیده شد. تولید نیتریک اکساید (NO) توسط ماکروفاژها ی صفاقی نیز، به روش گریس اندازه گیری گردید.

نتایج

دوز ۲۰ mg/kg ACA1، موجب افزایش معنی دار فعالیت تکثیری سلولهای ماکروفاژ نسبت به گروه کنترل، در حضور محرک PMA گردیدند ($p< ۰/۰۰۱$). بدون حضور PMA اثر تحریکی قابل توجهی بر ماکروفاژهای صفاقی مشاهده نگردید. تولید NO توسط ماکروفاژهای صفاقی در دوزهای ۲۰، ۵۰ و mg/kg ۱۰۰ با حضور PMA به طور معنی داری افزایش یافته بود (به ترتیب $p< ۰/۰۰۱$ و$p= ۰/۰۱$ و $p< ۰/۰۰۱$). بدون حضور PMA نیز در دوز ۲۰ و mg/kg ۵۰ از ACA1 ، تولید NO توسط ماکروفاژهای صفاقی افزایش قابل توجهی نسبت به گروه کنترل نشان داد (به ترتیب $p< ۰/۰۰۱$ و $p< ۰/۰۲$).

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که داروی ACA1 می‌تواند به صورت وابسته به دوز فعالیت رشد و تکثیر ماکروفاژهای صفاقی را القا نموده و باعث افزایش تولید نیتریک اکساید توسط این ماکروفاژ ها شود. با توجه به اثرات کشندکی اختصاصی مشاهده شده بر سلولهای سرطانی و اثر ایمونو مدولاتوری فوق به نظر می رسد با ا انجام مطالعات بیشتری در این زمینه با استفاده از دوزها و دوره های درمانی مختلف در مدلهای حیوانی و انسانی، بتوان به دارویی مفید جهت درمان اختصاصی سرطان به روش کموایمونوتراپی دست یافت.

کلمات کلیدی: ACA1، فعالیت تکثیری ماکروفاژ، نیتریک اکساید.

۱ - دانشیار گروه ایمونولوژی، گروه تحقیقاتی تنظیم پاسخ‌های ایمنی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد
* نویسنده مسئول: ghazanfari@shahed.ac.ir
۲ - استادیار گروه ایمونولوژی، گروه تحقیقاتی تنظیم پاسخ‌های ایمنی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد
۳ - استادیار گروه فارماکولوژی، گروه تحقیقاتی طب سنتی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد
۴ - دانش آموخته دکتری عمومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

ایمونومدولاتورها از جمله مواد با ارزشی هستند که با اثر بر پاسخ‌های سیستم ایمنی موجب تنظیم این پاسخ ها در جهت افزایش یا کاهش این پاسخ‌ها می‌گردند. تلاش های فراوانی در کشورهای مختلف جهت دستیابی به ایمونومدولاتورها از ترکیبات طبیعی بویژه گیاهان دارویی انجام گردیده است. ترکیباتی از قبیل پلی‌ساکاریدها، لکتین‌ها، پروتئین‌ها و پپتیدها با توانایی تحریک سیستم ایمنی درگیاهان و سایر ترکیبات طبیعی شناسایی شده اند و مطالعاتی جهت استفاده از آنها در ایمونوتراپی سرطان صورت پذیرفته است، اگر چه استفاده کاربردی از این مواد هنوز نیازمند تحقیقات بیشتری است (۱ – ۷). در کشور ما مطالعات کمتری در این مورد صورت گرفته است. با توجه به گنجینه غنی طب سنتی ایران و وجود طیف بسیار گسترده از گیاهان دارویی بومی در کشور ما گروه تحقیقاتی تنظیم پاسخهای ایمنی با همکاری گروه تحقیقاتی طب سنتی ایران در دانشگاه شاهد این مهم را جزو اولویتهای پژوهشی خود قرار داده و مطالعاتی را در خصوص شناسایی گیاهان دارویی با کاربردهای درمانی علیه سرطان در طب سنتی ایران و بررسی اثرات ضد سرطانی و ایمونومدولاتوری آنها در مدلهای مختلف طراحی نموده است. از جمله این مطالعات می توان به بررسی های انجام شده در مورد خواص ایمونومدولاتوری سیر و جداسازی ماده ایمونومدولاتور آن اشاره نمود (۸ – ۱۱). در این مطالعات نشان داده شد که ماده ایمونومدولاتور سیر پاسخ های سلولی و الگوهای سایتوکاینی Th1 را افزایش می دهد (۱۲). این ماده موثره همچنین پاسخ های مختلف ماکروفاژ از جمله بلع، هضم، پاسخ تکثیری و ترشح IL-12 و نیتریک اکساید را افزایش می دهد (۱۳، ۱۴). در همین راستا مطالعاتی روی سایر گیاهان دارویی و فرآورده های گیاهی جهت مقایسه و انتخاب داروهای مناسب تر در دست انجام است. فرآورده گیاهی ACA1 (Anti Cancer Agent-1) بر گرفته از یک گیاه دارویی بومی است که درطب سنتی ایران برای درمان سرطان به کار می‌رفته است (۱۵–۱۷). این فرآورده توسط گروه فارماکولوژی دانشگاه شاهد با فرمولاسیون خاص تهیه شده است. ACA1، پس از انجام آ زمایشاتی در سال ۱۳۸۴با شماره ۳۲۵۰۳ در اداره ثبت مالکیت های صنعتی به عنوان اختراع واکتشاف ثبت گردیده است. در مطالعاتی اثر ضدسرطانی این فرآورده بر رده سلولی آدنوکارسینوم معده(AGS) و ملانوما (SKMEL-3) در محیط آزمایشگاه مورد بر رسی قرار گرفت (۱۸، ۱۹). این بررسی ها نشان داد که ACA1 به صورت وابسته به دوز و زمان بر این دو رده سلولی اثر کشنده دارد و در غلظتهای مشخصی می تواند این دو رده سلولی را با درصد بالایی نسبت به کنترل از بین ببرد (۱۸، ۱۹). امروزه استفاده ازشیمی درمانی در درمان سرطان کاربرد فراوانی یافته است و اکثر داروهای شیمیایی که به این منظور به کار گرفته می شوند اثرات جانبی بسیار مخربی بر بیماران به جای می گذارند. از جمله این اثرات سرکوب پاسخ های سیستم ایمنی است که می تواند عواقب زیانباری به دنبال داشته باشد. بررسی های دیگر در مورد فرآورده ACA1 نشان داد که ACA1 نه تنها پاسخ های ایمنی سلولی را سرکوب نمی کند، بلکه باعث افزایش فعالیت سلولهای طحال موش Balb/c می شود (۲۰). از طرفی ماکروفاژها از جمله سلولهایی هستند که در پاسخ های ایمنی‌ذاتی و اکتسابی نقش بسیار مهمی را بر عهده دارند و سلولهای اجرایی مهمی برای تخریب عوامل مهاجم می‌باشند. ماکروفاژهای فعال می‌توانند انواع سلول‌های توموری را بسیار راحت‌تر از سلول‌های طبیعی نابود کنند. ماکروفاژها با مکانیسم‌های گوناگونی قادر به کشتن سلول‌های توموری هستند (۲۱). نیتریک اکساید(NO) از جمله مواد فعالی است که توسط ماکروفاژهای فعال شده ترشح می شود. NO می‌تواند به تنهائی یا همراه با سایر عوامل با مکانیسم‌های مختلفی بر مقاومت سلول توموری غلبه نماید

Archive of SID

www.SID.ir

(۲۲). با توجه به نقش ماکروفاژها در ایمنی یافتن در برابر تومور، در این مطالعه اثر این فرآورده بر فعالیت ماکروفاژ با ارزیابی فعالیت رشد و تکثیر و تولید نیتریک اکساید در موش Balb/c مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش کار

تهیه و نگهداری حیوانات

حیوانات مورد استفاده دراین مطالعه موش‌های ماده Balb/c، ۶ تا ۸ هفته بودند که در آزمایشگاه حیوانات دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد، تکثیر و در شرایط دما و رطوبت کنترل شده و فاقد پاتوژن نگهداری شدند. تعداد ۲۰ عدد موش Balb/c سالم پس از وزن کشی بطور تصادفی به ۴ گروه ۵ تایی تقسیم گردیدند.

تهیه دارو

فرآورده ACA1 با فرمولاسیون خاص از یک گیاه دارویی مورد استفاده در طب سنتی ایران در آزمایشگاه گروه فارماکولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد (به صورت پودر) تهیه گردید. دارو با غلظت ۲۵ mg/ml در سرم فیزیولوژی به کمک ورتکس حل شد. محلول حاصل، از صافی استریل کننده (۰/۰۲ μm) عبور داده شد.

مواد

در این مطالعه از محیط کشت RPMI 1640، سرم FBS جهت کشت سلول از سرم جنین گاوی و محلول ۵٪ MTT [۳-(۴و۵ دی متیل ۱-۲ تیازولیل) ۲ و ۵ دی فنیل -۲ H- ترازولیوم بروماید] استفاده شد. تمامی مواد و معرفهای کشت سلول در این مطالعه از نماینده اروپایی شرکت سیگما تهیه گردید.

گروه بندی حیوانات و پروتوکل درمانی:

تعداد ۲۰ عدد موش ماده Balb/c، با وزن تقریبی ۲۵ گرم به ۴ گروه ۵ تایی به طور تصادفی تقسیم شدند. یک گروه به عنوان کنترل در نظر گرفته شده و به سه گروه دیگر به ترتیب مقادیر ۲۰،۵۰ و ۱۰۰ mg/kg از محلول صاف شدهٔ دارو به مدت ۵ روز به صورت داخل صفاقی (i.p.) تزریق شد. در همان زمان روزانه حجم ۰/۱ ml از سرم فیزیولوژی به گروه کنترل به صورت i.p. تزریق گردید.

بیهوش کردن حیوانات و برداشت ماکروفاژهای صفاقی

۲۴ ساعت پس از آخرین تزریق دارو، موشها با استفاده از پنبه آغشته به دی‌اتیل اتر بیهوش شده، سپس تحت شرایط استریل با باز کردن پوست سینه بدون آسیب زدن به پرده صفاقی و با لاواژ سرم فیزیولوژیک سرد از صفاق، سلولهای صفاقی جمع‌آوری شدند.

سنجش اثر ACA1 بر فعالیت ماکرفاژهای صفاقی

سوسپانسیون سلولی یک بار با سرم فیزیولوژیک و یک بار با محیط RPMI 1640 شستشو و به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت 1500 rpm سانتریفیوژ گردید. بعداز بیرون ریختن مایع رویی، در نهایت ۲ میلی‌لیتر محیط RPMI 1640 حاوی FBS (سرم جنین گاوی)[۱] ۱۰ درصد به سلول‌ها اضافه شد. جهت شمارش سلول‌ها از لام نئوبار استفاده گردید. ۵۰ درصد سلولهای جداشده ماکروفاژ بودند. در پلیت ۹۶ خانه برای هر موش ۶ چاهک در نظر گرفته شد و در هر چاهک تعداد ۴۰۰/۰۰۰ سلول کشت داده شد (حاوی ۲۰۰۰۰۰ ماکروفاژ). پلیت به انکوباتور ۳۷°C حاوی ۵٪ CO_2 و ۹۵ ٪ رطوبت منتقل شد. پس از ۲ ساعت و چسبیدن ماکروفاژها به کف چاهک‌ها، با استفاده از سرم فیزیولوژیک ۳۷ درجه کف چاهکها جهت حذف لنفوسیت‌ها و سایر سلول‌های نچسبیده شستشو داده شد. به ۳ خانه از سلول‌های کشت داده شدهٔ هر موش، میتوژن PMA با غلظت ۲۵ mg/ml اضافه گردید، طوری که در مجموع حجم هر چاهک به ۲۰۰ میکرولیتر (μl) رسید. سپس پلیت به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷°C مرطوب و ۵٪ CO_2 نگهداری گردید. بعدازاین مدت پلیت از انکوباتور خارج شده و ۵۰ میکرولیتر از مایع رویی سلول‌ها برای سنجش NO جمع‌آوری شد و ۳۰ میکرولیتر محلول ۵٪ MTT

[۱] Fetal bovine serum

Archive of SID

www.SID.ir

[۳ – (۴و۵ دی متیل ۱-۲ تیازولیل) ۲ و ۵ دی فنیل-۲ H- ترازولیوم بروماید] به سوسپانسیون اضافه گردید و پلیت مجدداً به مدت ۴ ساعت به انکوباتور منتقل شد. بعداز آن محیط رویی هر چاهک با سمپلر کشیده شده و به آن ۱۰۰ µl محلول ایزوپروپرانول اسیدی (اسید کلریدریک ۰/۰۴ نرمال در ایزوپروپرانول) اضافه شد. بعداز حل شدن کریستال‌های بنفش رنگ در مایع رویی جذب نوری چاهک‌ها با دستگاه جذب سنج ELISA reader در طول موج ۴۹۰ نانو متر خوانده شد (۱۹، ۲۳،۲۴).

اندازه‌گیری میزان نیتریک اکساید (NO)

برای این کار، مایع رویی کشتها که قبلاً جمع آوری شده بود در حجم ۱۰۰ میکرولیتر به میکروپلیت های ۹۶ خانه الیزا اضافه گردید. سپس ۵۰ میکرولیتر سولفانیل آمید ۱٪ در اسیدفسفریک ۵٪ و ۵۰ میکرولیتر NEDA ۱٪ در اسیدفسفریک ۵٪ به هر چاهک اضافه شد. سپس تغییر رنگ حاصل شده توسط دستگاه جذب سنج خواننده ELISA در طول موج ۴۹۰ نانومتر خوانده شد (۲۵).

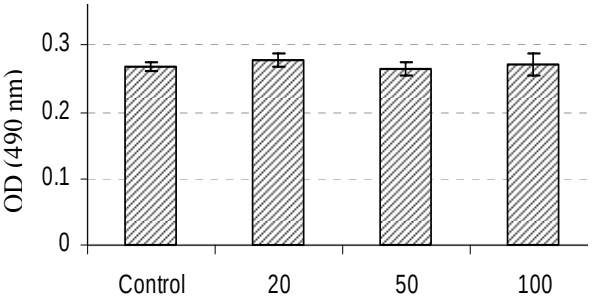
آنالیز داده‌ها

تمامی داده‌ها وارد نرم افزار SPSS شده و آنالیز آماری با استفاده از Univariate GML و POST HOC- TUKEY انجام شد.از برنامه Excel برای تهیه نمودارها و انجام t-test استفاده گردید .

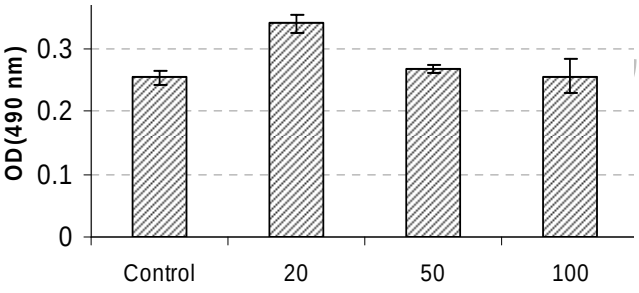
نتایج

فعالیت رشد و تکثیر ماکروفاژهای صفاقی

در حضور میتوژن PMA در محیط کشت ماکروفاژهای صفاقی، افزایش معنی‌داری ($p<۰/۰۰۱$) در فعالیت رشد و تکثیر این سلولها در گروهی که ۲۰ mg/kg ACA1 دریافت نموده بودند مشاهده گردید. در گروه‌هایی که مقادیر ۱۰۰mg/kg و ۵۰ mg/kg از ACA1 دریافت نموده بودند اختلاف معنی داری یافت نگردید. پاسخ تکثیری ماکروفاژهای صفاقی بدون حضور میتوژن PMA نسبت به گروه کنترل اختلاف قابل توجهی نداشت. نمودار ۱ میانگین جذب نوری که شاخصی از میزان زنده بودن و در واقع بیانگر رشد و تکثیر این سلولهاست در گروههای مختلف را بدون حضور PMA و نمودار ۲ در حضور PMA نشان می‌دهد.



نمودار ۱: **میانگین جذب نوری (OD) در تست MTT در گروههای مختلف بدون حضور PMA در موشهای Balb/c**. سلولهای ماکروفاژ صفاقی در گروههای مختلف که دوزهای متفاوتی از دارو را دریافت نموده وگروه کنترل، در محیط کشت سلول کشت داده شد و فعالیت رشد و تکثیر انها با استفاده از تست MTT بررسی گردید.



نمودار ۲: میانگین جذب نوری (OD) در تست MTT در گروههای مختلف در حضورPMA در موش Balb/c. سلولهای ماکروفاژ صفاقی در گروههای مختلف که دوزهایمتفاوتی از دارو را دریافت نموده و گروه کنترل، در محیط کشت سلول کشت داده شد و فعالیت رشد و تکثیر آنها در حضور میتوژن PMA با استفاده از تست MTT بررسی گردید.

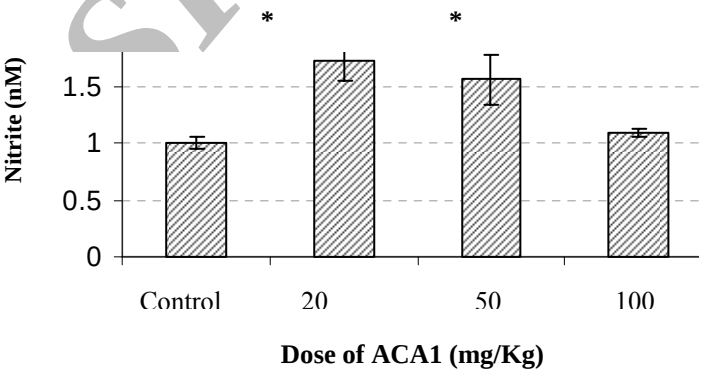
مقایسه نمودار های ۱و ۲ نشان می دهد که فعالیت تکثیری ماکروفاژها در دوز ۲۰ mg/kg در حضور میتوژن افزایش معنی داری نسبت به شرایط بدون حضور میتوژن داشته است.

اثر ACA1 بر تولید نیتریک اکساید (NO) توسط ماکروفاژهای صفاقی

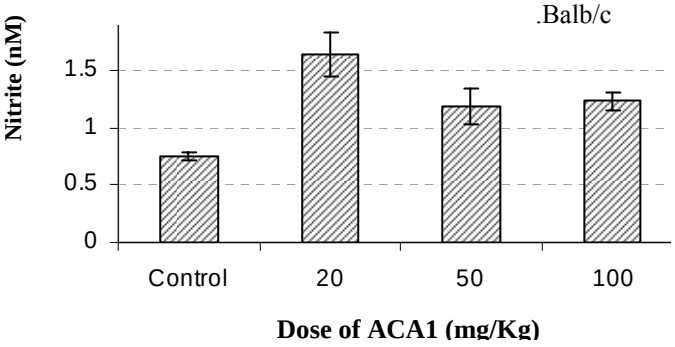
تولید NO در محیط فاقد میتوژن PMA در گروههای ۲۰ mg/kg و ۵۰mg/kg افزایش معنی داری داشت (به

Archive of SID
www.SID.ir

ترتیب p< ۰/۰۰۱ و p=۰/۰۲) ولی این پاسخ در گروه ۱۰۰mg/kg معنی دار نبود. نمودار ۳ میانگین تولید NO در گروههای مختلف را در عدم حضور PMA نشان می‌دهد. تولید NO توسط ماکروفاژهای تحریک شده در حضور میتوژن PMA افزایش قابل توجهی نسبت به گروه کنترل داشت. افزایش تولید NO در تمامی گروهها از نظر آماری معنی دار بود (برای گروه ۲۰ mg/kg، p< ۰/۰۰۱؛ برای گروه ۵۰ mg/kg، p= ۰/۰۱؛ برای گروه ۱۰۰ mg/kg، p< ۰/۰۰۱). نمودار ۴ میانگین تولید NO در گروه‌های مختلف را در حضور میتوژن نشان می‌دهد.



نمودار ۳ : میانگین افزایش تولید NO بدون حضور PMA در موش Balb/c.



نمودار ٤: میانگین افزایش تولید NO در حضور PMA در موش‌های Balb/c.

مقایسه نمودار های ۳ و ۴ نشان می دهد که میزان ترشح نیتریک اکساید توسط ماکروفاژهای صفاقی نسبت به کنترل در حضور میتوژن افزایش بیشتری داشته تا در عدم حضور مایتوژن نسبت به کنترل خودش.

بحث

داروی ACA1 (Anti Cancer Agent-1) یک فرآورده برگرفته از یک داروی گیاهی بومی ایران با سابقه استفاده درمانی برای سرطان در طب سنتی ایران است، که توسط گروه فارماکولوژی دانشگاه شاهد تهیه شده است . در این مطالعه اثر ACA1 برماکروفاژهای صفاقی در موش BALB/C مورد بررسی قرار گرفت. ماکروفاژها از جمله سلول‌های ایمنی هستند که در پاسخ‌های ایمنی ذاتی و همچنین ایمنی اختصاصی نقش مهمی را ایفا می‌کنند. در ایمنی علیه تومورها، ماکروفاژها نقش بسیار مهمی هم در عرضه آنتی‌ژنها به سلول‌های T و ایجاد یک پاسخ سلولی قوی و هم خود به عنوان یک سلول موثر ایفا می‌کنند. همان طور که یافته های این مطالعه نشان می‌دهد فعالیت رشد وتکثیر ماکروفاژهای صفاقی در حضور میتوژن PMA در موش‌هایی که فرآورده ACA1 با دوز ۲۰mg/kg دریافت کرده بودند، نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری نشان داد. در حالی که در گروههایی که ۵۰ و ۱۰۰ mg/kg از ACA1 دریافت نموده بودند اختلاف قابل توجهی نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد. در کشت فاقد PMA هیچ یک از دوزها نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری نداشتند. در واقع میتوژن PMA در دوز ۲۰ mg/kg فعالیت ماکروفاژهای صفاقی را به طرز قابل توجهی افزایش داد.

در سال ۱۳۸۴ در مطالعه دیگری اثر داروی ACA1 بر رده سلولی آدنوکارسینوم معده (AGS) بررسی شد و با رده سلولی استاندارد L929 مورد مقایسه قرار گرفت (۱۱). نتایج آن مطالعه نشان داد که مقادیر ۱ mg/ml از ترکیب ACA1 به طور مؤثری تکثیر سلول‌های سرطانی را مهار نموده بدون این که بر سلولهای L929 تأثیر معنی‌داری بگذارد. بر اساس نتایج بدست آمده دراین تحقیق داروی ACA1 بر رده سلولی AGS اثر سیتوتوکسیک دارد که این اثر وابسته به دوز و زمان است. بیشترین اثر سیتوتوکسیک به ترتیب در دوزهای

Archive of SID
www.SID.ir

mg/ml ۵، mg/ml ۲ و mg/ml ۱در فاصله زمانی ۴۸ و ۷۲ ساعت که بین ۹۰-۸۰ درصد بود، مشاهده شد. در حالی که این اثر در مورد سلول‌های L929 ۱۸ درصد بود. بر اساس آن مطالعه مناسبترین دوز برای AGS که کمترین اثر مهاری را بر رده سلولی استاندارد L 929 داشته و بیشترین اثر سیتوتوکسیک را بر رده سلولی AGS داشته باشد؛ دوز mg/ml ۱ و مناسبترین زمان فاصله زمانی ۴۸ ساعت است (۱۱). این گروه تحقیقاتی همچنین در مطالعه دیگری در سال ۱۳۸۵ اثر ACA1 را بر رده سلولی سرطان ملانومای انسانی مورد مطالعه قرار داد و نشان داد که این فرآورده به صورت وابسته به دوز و زمان بر سلولهای سرطانی ملانوما Sk-MEL3 نیز اثر سایتوتوکسیسیته داشته و این اثردر ۲۴ ساعت با بیشترین دوز به کار رفته (mg/ml ۵) ۴۷ درصد و در ۴۸ ساعت ۶۵ درصد و در ۷۲ ساعت ۷۱ درصد بوده است (۱۲). در مطالعه‌ای که توسط ابراهیمی و غضنفری در سال ۱۳۸۴ در مورد اثر داروی ACA1 بر پاسخ ایمنی سلولی موش Balb/c انجام شد، مشخص گردید که پاسخ تکثیری لنفوسیت‌های طحالی در موشهایی که فرآورده ACA1 را با دوزهای mg/kg ۲۰ و mg/kg ۵۰ دریافت نموده بودند، به طور معنی داری نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است (۱۳).

نیتریک اکساید یک متابولیت نیتروژنی حاصل از فعال شدن ماکروفاژها است که با رادیکال‌های اکسیژن ترکیب شده و رادیکال بسیار فعال پراکسی نیتریت را ایجاد می‌کند (۱). ماکروفاژهای فعال شده با ترشح نیتریک اکساید نقش مهمی در دفاع میزبان دارند همچنین سنتز و ترشح این واسطه شیمیایی با مصرف داروها دچار تغییر می‌شوند (۲). نتایج این مطالعه همچنین نشان می دهد که داروی ACA1 تولید NO توسط ماکروفاژهای صفاقی را در محیط کشت حاوی میتوژن PMA افزایش داده است. تولید NO در دوزهای ۲۰، ۵۰ و mg/kg ۱۰۰ نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی داری نشان داد اما در محیط فاقد PAM افزایش تولید NO فقط در دوزهای ۲۰ و mg/kg ۵۰ نسبت به گروه کنترل معنی دار بود.

به طور خلاصه نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که داروی ACA1 می‌تواند باعث القای تکثیر و فعال شدن ماکروفاژهای صفاقی و تولید نیتریک اکساید توسط ماکروفاژ صفاقی موشی شود، در نتیجه ACA1 می‌تواند یک اثر تعدیل کننده ایمنی (ایمونومدولاتوری) داشته باشد. با توجه به این که داروی ACA1 اثر سمیت سلولی وابسته به دوز و زمان دارد شاید دوزهای کمتر از mg/kg ۲۰ ازاین دارو، اثرات تحریک ایمنی بیشتری نسبت به آنچه که دراین مطالعه دیده شد داشته باشد، لذا دراین زمینه مطالعات بیشتری با استفاده از دوزهای مختلف آن پیشنهاد می‌شود. از طرفی با توجه به این که دوزهای ۲۰ و mg/kg ۵۰ اثر سمی نداشته بلکه اثر تحریک کنندگی نیز داشته اند و در مطالعه آقای باصری نیز معادل همین دوزها در in vitro موجب کشندگی سلول های سرطانی شده است؛ به نظر می رسد که این دارو بتواند همزمان از طریق کموتراپی و ایمنوتراپی در جهت درمان سرطان مفید و موثر باشد و به عنوان دارویی با اثرات کموایمنوتراپی که در حال حاضر مورد جستجوی محققین است، مطرح گردد.

Archive of SID

References

1. Yang X, Guo D, Zhang J, Wu M. Characterization and antitumor activity of pollen polysaccharide. Int Immunopharmaco 2007; 7: 427-438.
2. Hayun M, Naor YW. Merav, Albeck M, Peled, Jeremy A D, Haran-Ghera N, Sredni B. The immunomodulator AS101 induces growth arrest and apoptosis in Multiple Myeloma: Association with the Akt/Survivin pathway. Biochem Pharmaco 2006; 72: 1423-1431.
3. Sunila ES, Kuttan G. Immunomodulatory and antitumor activity of Piper longum Linn. Piperine J Ethnopharmaco 2004; 90: 339-346.
4. Sarangi I, Ghosh D, Bhutia SK, Mallick SK, Maiti TK. Anti-tumor and immunomodulating effects of Pleurotus ostreatus mycelia-derived proteoglycans.Int Immunopharmacol 2006; 6: 1287-97.

www.SID.ir

5. Moradali MF, Mostafavi H, Ghods S, Hedjaroude GA. Immunomodulating and anticancer agents in the realm of macromycetes fungi (macrofungi). Int Immunopharmacol, 2007; 7:701-24.
6. Lull C, Wichers HJ, Savelkoul HF. Antiinflammatory and immunomodulating properties of fungal metabolites. Mediators Inflamm, 2005; 9:63-80.
7. Sarangi I, Ghosh D, Bhutia SK, Mallick SK, Maiti TK. Anti-tumor and immunomodulating effects of Pleurotus ostreatus mycelia-derived proteoglycans. Int Immunopharmacol, 2006; 6: 1287-97.

۸- غضنفری، طوبی. حسن، زهیر م: بررسی تأثیر عصاره سیر بر ایمنی سلولی ازدیاد حساسیت تأخیری، دانشور جلد ۶ شماره ۷ و ۸، ۱۳۷۴، ص۸۳-۸۸.

۹- غضنفری، طوبی. حسن، زهیرم : بررسی تأثیر عصاره سیر بر ایمنی سلولی» تغییرات هیستولوژیک مراکز، تجمع لنفوسیت‌ها دانشور جلد ۳، شماره ۱۱ و ۱۲، ۱۳۷۵، ص ۴۹-۶۱ .

10. Ghazanfari T, Hassan ZM, et al. Garlic Induced a shift in cytokine Pattern in L.major infected Balb/c mice'. Scand J of Immunol 2000; 52: 491- 495.
11. Ghazanfari T. Hasan ZM, Ebrahimi M, Immunomodulatory activity of a protein isolated from garlic. Int Immunopharmacol 2002; 5:1540-1549.

۱۲. غضنفری، طوبی. حسن زهیر م و همکاران : تنظیم پاسخ‌های سایتوکاینی با استفاده از ماده ایمونومدولاتور جدا شده از سیر... مجله پزشکی کوثر، جلد ۴، شماره ۶، سال ۱۳۸۰.

13. Ghazanfari T, Hasan ZM, Khamesipour A. Enhancement of peritoneal macrophage phagocytic activity against Leishmania major by Garlic (Allium Sativum) treatment. J of Ethnopharmacol. 2006; 103: 333-337.

۱۴- غضنفری، طوبی. حسن، زهیر م. خامسی پور، علی. یارایی، رویا.کاردر، مژگان. جمالی، داود: بررسی اثر ایمونومدلاتور سیر بر میزان ترشح IL-12 توسط ماکروفاژهای صفاقی موش Balb/c آلوده به لیشمانیا ماژور. هشتمین کنگره ایمونولوژی و آلرژی ایران۲۶-۲۸ اردیبهشت ماه ۱۳۸۵، دانشگاه تهران.

۱۵. خراسانی عقیلی، مخزن الادویه، قرن یازدهم.

۱۶. تنکابنی میر محمد زمان، تحفه المومنین، قرن دهم.

۱۷. ابن سینا ابو علی ،القانون فی الطب ،جلد دوم, قرن چهارم.

۱۸. باصری، مهدی، غضنفری، طوبی . بررسی اثر ضد توموری ACA1 بر رده سلولی آدنوکارسینوم معده در "AGS" . پایان نامه دکترای. دانشگاه شاهد، ۱۳۸۴.

۱۹. غضنفری، طوبی. شاهرخی، سمیه. ناصری، محسن وهمکاران : بررسی سمیت فرآورده گیاهی ACA1 بر رده سرطانی ملانومای انسانی، مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران، دوره شانزدهم، شماره ۵۵، آذر و دی ۱۳۸۵ ص ۴۲-۴۹.

۲۰. ابراهیمی، رامین. غضنفری، طوبی. ناصری محسن. بررسی اثر ACA1 بر پاسخ ایمنی سلولی در موش Balb/c.پایان نامه دکتری. دانشگاه شاهد،۱۳۸۴.

21. Baron-Bodo V, Doceur P, Lefebvre ML, Labroquere K, Defaye C, Cambouris C, Prigent D, Salcedo M, Boyer A, Nardin A. Anti-tumor properties of human-activated macrophages produced in large scale for clinical application. Immunobiol 2005; 210: 267-277.
22. Bonavida B, Khineche S, Huerta-Yepez S, Garban H. Therapeutic potential of nitric oxide in cancer Drug Resist Updates 2006; 9: 157-173.
23. Davis L, Kuttan G. Immunomodulatory activity of withania somnifera. J Ethnopharmacol 2000; 71: 193-200.
24. Byun JA, Ryu MH, Lee JK. The immunomodulatory effects of 3-monochoro-1, 2-propanediol on murine splenocyte and peritioneal macrophage function in vitro. Toxicol in vitro 2006; 20: 272-8.
25. Ahmadi-Renani K, Mahmoodzadeh A, Cheraghali AM, Esfahani AA. Effect of Garlic extract on cutaneous leishmaniasis and the role of nitric oxide. IJMS 2002; 27: 97 – 100.

Archive of SID

www.SID.ir