

## اثرات سرخارگل بر دستگاه ایمنی: فرضیه تا واقعیت

دکتر سید میثم ابطحی فروشانی: استادیار و متخصص ایمنی شناسی، گروه میکروب شناسی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران. meysamabtahi@hotmail.com

دکتر شاهنم غیبی: دانشیار گروه کودکان، مرکز تحقیقات چاقی مادر و کودک، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران. gheibi1345sh@gmail.com

\* هادی اسمعیلی گورچین قلعه: دانشجوی دکتری ایمنی شناسی، گروه میکروب شناسی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران (\*نویسنده مسئول). h.smali69@yahoo.com

بهمن منصوری مطلق: دانشجوی کارشناسی ارشد ایمنی شناسی، گروه میکروب شناسی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران. b.mansori68@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۹۳/۲/۱۴

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۰/۴

### چکیده

زمینه و هدف: سال‌هاست که در طب سنتی از گیاه سرخارگل به منظور پیشگیری و درمان طیف گسترده‌ای از بیماری‌ها از قبیل سرماخوردگی معمولی، درمان سرفه، عفونت‌های ریوی، اختلالات جلدی و حتی بیماری‌های مزمن ناشی از نقص ایمنی استفاده می‌شود. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات تعدیل‌کنندگی عصاره هیدروالکلی گیاه سرخارگل (*L. Echinacea purpurea*) بر موش‌های سوری متعاقب چالش با پادگن گویچه‌های سرخ گوسفند (SRBC-Sheep Red Blood Cells) می‌باشد.

روش کار: جامعه مورد مطالعه، شامل ۱۴ موش سوری نر بود که در دو گروه مساوی به طور تصادفی قرار گرفتند و با پادگن SRBC ایمونیزه شدند. موش‌های گروه تیمار از ابتدای مطالعه به مدت دو هفته روزانه عصاره هیدروالکلی گیاه سرخارگل (۰/۰۲۵ میلی‌گرم-خوراکی) را دریافت نمودند. ایمنی هومورال و ایمنی سلولی (اختصاصی)، قابلیت انفجار تنفسی ماکروفاژها و میزان تکثیر سلول‌های ایمنی سنجیده شد. به منظور مقایسه از آزمون من-ویتنی یو در محیط نرم افزاری SPSS 19 استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج به دست آمده حاکی از افزایش معنی‌دار تیتراژ پادتن ضد SRBC در سرم موش‌های گروه تیمار به میزان  $205/267 \pm 10/933$  همزمان با کاهش شدت واکنش سلولی به میزان  $15/288 \pm 4/202$  نسبت به گروه شاهد می‌باشد. میزان تکثیر لنفوسیت‌های طحالی در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی‌داری به میزان  $0/227 \pm 1/821$  افزایش یافته بود. با این حال، به نحوه قابل توجهی میزان قابلیت انفجار تنفسی و تولید نیتریک اکسید به ترتیب  $0/702 \pm 0/020$ ،  $50/253 \pm 2/032$  در جمعیت سلول‌های فاگوسیتیک طحال موش‌های گروه تیمار نسبت به موش‌های شاهد کاهش معنی‌داری یافته بود. مقدار احتمال  $p < 0/05$  به عنوان سطح معنی‌دار در تمامی محاسبات در نظر گرفته شد.

نتیجه‌گیری: از آنجایی که شدت انفجار تنفسی و قابلیت تولید نیتریک اکسید در سلول‌های فاگوسیتیک به طور مشخصی کاهش می‌یابد، بنابراین به نظر نمی‌رسد که سرخارگل اثرات واقعاً مفیدی در تقویت سیستم ایمنی داشته باشد. با این حال ممکن است که عصاره هیدروالکلی گیاه سرخارگل به عنوان یک ترکیب طبیعی تعدیل‌کننده دستگاه ایمنی مورد توجه قرار گیرد.

کلیدواژه‌ها: گیاه سرخارگل، ایمنی هومورال، ایمنی سلولی

### مقدمه

اولین بار در سال ۱۳۷۲ از مجارستان به ایران آورده و نام سرخارگل بر آن نهاده شد (۵). ترکیبات موثر موجود در گیاه سرخارگل شامل آلکامیدها، پلی ساکاریدها، ترکیبات فنولی شامل اسید کافئیک و مشتقات آن مانند اسید شیکوریک می‌باشد (۶). مشخص شده است اسید کافئیک دارای اثر آنتی‌اکسیدانی است (۷) و از این طریق مانع تکثیر سلول‌های سرطانی سینه (۷) و کبد (۸) می‌شود. انجمن فرآورده‌های گیاهی آمریکا،

گیاه سرخارگل (*Echinacea purpurea*) از خانواده گیاهان ستاره آسا (Asteraceae) می‌باشد (۱). سال‌هاست که در طب سنتی از گیاه سرخارگل به منظور پیشگیری و درمان طیف گسترده‌ای از بیماری‌ها از قبیل سرماخوردگی معمولی، درمان سرفه، عفونت‌های ریوی، اختلالات جلدی و حتی بیماری‌های مزمن ناشی از نقص ایمنی استفاده می‌شود (۲-۴). بذر گیاه *Echinacea purpurea*

حیوان خانه دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه تهیه شده بود. این موش‌ها در شرایط استاندارد آب، غذا، دما و نور کافی نگهداری شدند. کلیه مراحل این تحقیق در کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه ارومیه مورد تایید قرار گرفته است. پس از طی زمان مورد نظر جهت تطابق موش‌ها (۲ هفته)، حیوانات به طور تصادفی در دو گروه به شرح زیر قرار گرفتند:

گروه تیمار: موش‌های این گروه در روز شروع آزمایش و یک هفته بعد از آن به صورت داخل صفاقی تحت تزریق  $1 \times 10^9$  گویچه سرخ گوسفند (SRBC) در حجم ۰/۱ میلی‌لیتر قرار گرفتند. همچنین موش‌های گروه تیمار از ابتدای مطالعه به مدت دو هفته، روزانه عصاره هیدروآلکلی گیاه سرخارگل (۰/۲۵ میلی‌گرم - خوراکی) را دریافت نمودند (۲۱).

گروه شاهد: موش‌های این گروه مشابه با گروه قبلی تحت چالش با پادگن SRBC قرار گرفتند. از روز شروع ایمونیزاسیون به این موش‌ها به صورت یک روز در میان با ۰/۱ میلی‌لیتر PBS حاوی ۲٪ DMSO به شیوه داخل صفاقی تزریق شد.

**ارزیابی ایمنی هومورال اکتسابی:** برای بررسی پاسخ هومورال، تیتر یا عیار آنتی‌بادی‌های آگلوتینه کننده که در مقابل آنتی ژن (گلبول قرمز گوسفند) در بدن حیوان تولید شدند، سنجش شد. بعد از بیهوش کردن موش‌ها، خون‌گیری از قلب انجام شده و سرم آن جدا گشت. رقت سریال (از ۱/۲ تا ۱/۱۰۲۸) از سرم در پلیت‌های ۹۶ خانه ته گرد تهیه شده (دوپلیکیت) و سوسپانسیون ۵ درصد از گلبول قرمز گوسفند به همه چاهک‌ها اضافه شد و ۲ ساعت انکوباسیون در دمای اتاق انجام گشت. سپس وقوع آگلوتیناسیون در چاهک‌ها مطالعه شده و تیتر هر نمونه بر اساس رقت آخرین چاهکی که آگلوتیناسیون در آن مشاهده شد، محاسبه گردید (۲۲ و ۲۳).

**ارزیابی ایمنی سلولی اکتسابی:** بدین منظور شدت واکنش ازدیاد حساسیت تاخیری و همچنین میزان تکثیر لنفوسیت‌های موجود در بین جمعیت سلول‌های طحالی بررسی شد.

الف) سنجش واکنش ازدیاد حساسیت تاخیری

جنس اکیناسه را در کلاس یک ایمنی (بدون خطر در صورت استفاده مناسب) طبقه بندی نموده است (۹). جنس اکیناسه مانند سایر اعضای خانواده کاسنی به ندرت باعث واکنش‌های آلرژی می‌شوند و در مطالعات سم شناسی هیچ گونه اثر جهش‌زایی از آن‌ها گزارش نشده است (۹).

با وجود گزارش‌هایی مبنی بر اثرات تحریک‌کنندگی سیستم ایمنی توسط گیاه سرخارگل (۱۰-۱۲)، مطالعات دیگری وجود چنین اثراتی در رابطه با این گیاه را مورد شک و تردید قرار داده است (۱۳-۱۶). البته باید در نظر داشت که برخی از مقالاتی که به اثرات تحریک‌کننده سیستم ایمنی توسط گیاه سرخارگل اشاره داشته‌اند بر روی برخی از اجزای خاص عصاره گیاه از قبیل مشتقات کافئیک اسید، آلکیل‌آمیدها و پلی‌ساکاریدها متمرکز شده‌اند (۲۰-۱۷). این درحالی است که در طب سنتی به طور معمول از همه قسمت‌های گیاه استفاده می‌شود. با نظر داشت به این مطالب، مطالعه حاضر به بررسی اثرات تعدیل‌کنندگی گیاه سرخارگل بر پاسخ‌های ایمنی هومورال و سلولی متعاقب چالش با پادگن گویچه‌های سرخ گوسفند (Sheep Red Blood Cells-SRBC) در مدل موشی پرداخته است.

## روش کار

**تهیه عصاره گیاهی:** بعد از تهیه گیاه سرخارگل، جنس و گونه آن توسط کارشناس تعیین گردید. سپس به وسیله دستگاه خرد کننده، کل گیاه به صورت پودر در آورده شد. مقدار ۰/۱ گرم از پودر گیاه به دقت وزن شده و بر روی آن ۲۰ میلی‌لیتر متانل ۸۰ درصد ریخته، مخلوط را خوب شیک کرده و سپس به مدت ۲ ساعت در بن ماری با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد گذاشته شد. پس از گذشت ۲ ساعت عصاره‌ها توسط کاغذ صافی، فیلتر شده و در بالن ژوژه ۲۰ میلی‌لیتری با حلال متانول ۸۰ درصد به حجم رسانده شد.

**ایمن سازی و تیمار حیوانات:** جامعه مورد مطالعه در این بررسی تجربی که به صورت موردی/شاهدی انجام شده است، شامل ۱۴ موش نر سوری با محدوده سنی ۶ هفته می‌باشد که از

احیاء ماده MTT (۳) - (۴،۵) - دی متیل تیازول ۲- ایل) - (۵،۲ - دی فنیل تترازولیوم بروماید) توسط سلول‌های زنده و در حال تکثیر سبب تشکیل کریستال‌های فورمازون گردید که با افزودن ۱۰۰ میکرولیتر DMSO به حالت محلول در آمد. سپس شدت رنگ در طول موج ۴۹۰ نانومتر تعیین و ایندکس تحریک بر اساس رابطه زیر محاسبه گردید (۲۴):

$$\text{اندکس تحریک} = \frac{\text{بلانک OD} - \text{در حضور پپتید OD}}{\text{بلانک OD} - \text{در عدم حضور پپتید OD}}$$

**ارزیابی فعالیت ایمنی سلولی ذاتی:** بدین منظور شدت انفجار تنفسی و میزان تولید نیتریک اکسید در جمعیت سلول‌های فاگوسیتیک طحال بررسی شد. سنجش قابلیت انفجار تنفسی در جمعیت سلول‌های فاگوسیتیک طحال: سوسپانسیون سلولی به تعداد  $10^6 \times 2$  سلول به ازای هر میلی لیتر تهیه شد. این سلول‌ها در پلیت‌های کشت ۲۴ خانه به مدت دو ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵ درصد دی اکسید کربن انکوبه گردید، سپس خانه‌ها با محیط کشت هنکس به منظور حذف لنفوسیت‌ها شستشو داده شدند. سلول‌های باقیمانده به مدت یک ساعت با مخمر اپسونیزه انکوبه گردید. آنگاه ۱۰۰ میکرولیتر محلول زیمنوزان و NBT (نیترو بلو تترازولیوم) (شرکت Sigma - آمریکا) به هریک از خانه‌ها اضافه گردید و به مدت یک ساعت دیگر انکوبه گردید. در نهایت ۴۰۰ میکرولیتر N-N دی متیل فورماید 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. ۲۰۰ میکرولیتر از مایع رویی از هر یک از خانه‌ها را در میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای ریخته و نتیجه با الیزان‌نگار در طول موج ۵۴۰ نانومتر قرائت گردید (۲۵).

**اندازه گیری نیتریک اکسید:** میزان تولید نیتریک اکسید توسط روش رنگ سنجی گریس (Griess) و استفاده از منحنی استاندارد

(DTH): ۴۸ ساعت قبل از خون‌گیری به کف پای چپ حیوانات  $1 \times 10^9$  SRBC در حجم ۰/۱ میلی-لیتر تزریق شد. همزمان ۰/۱ میلی‌لیتر PBS به پای راست جانوران تزریق شد. پس از گذشت ۴۸ ساعت و قبل از خون‌گیری ضخامت پای موش‌ها به کمک کولیس (Mauser Dial Caliper - Germany) سنجیده شد. میزان ایمنی سلولی طبق رابطه زیر محاسبه گردید (۲۲ و ۲۳):

$$\text{مقدار تورم پای راست} - \text{مقدار تورم پای چپ} = \text{شاخص واکنش ایمنی سلولی} \\ \text{مقدار تورم پای راست}$$

(ب) بررسی میزان تکثیر لنفوسیت‌های موجود در بین جمعیت سلول‌های طحالی با روش MTT: به دنبال خون‌گیری از موش‌ها، طحال آن‌ها تحت شرایط استریل خارج و بعد از قطعه قطعه شدن در ۵ سی سی محیط کشت RPMI-1640 (شرکت Sigma - آمریکا) حاوی ۱۰٪ FBS (شرکت Gibco - آلمان) له گردید. بافت حاصل جهت تهیه سوسپانسیون سلولی از توری سیمی به قطر ۰/۲ میلی متر عبور داده شد. پس از سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه در ۲۰۰g، به منظور حذف RBCها، بر روی رسوب سلولی به دست آمده ۵ سی سی بافر لیز کننده افزوده شد. بعد از ۵ دقیقه ضمن افزودن ۱۰ سی سی محیط کشت بار دیگر به مدت ۱۰ دقیقه در ۲۰۰g سانتریفیوژ شد. سپس رسوب سلولی در محیط کشت RPMI حاوی ۱۰٪ FBS به حالت سوسپانسیون حاوی  $10^6$  سلول به ازای هر میلی لیتر در آورده شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از آن در هر یک از چاهک های پلیت ۹۶ خانه ای ته تخت ریخته شد. برای هر نمونه سه تکرار در حضور ۵۰ میکرولیتر از محلول فیتوهمگلوتینین (۱ میلی گرم بر میلی لیتر) و سه تکرار بدون حضور فیتوهمگلوتینین در نظر گرفته شد. به عنوان بلانک نیز در سه چاهک از محیط RPMI خالی استفاده شد. بعد از ۷۲ ساعت گرمخانه گذاری در انکوباتور حاوی ۵٪ CO<sub>2</sub> به هر چاهک ۲۵ میکرولیتر محلول MTT (۵ میلی گرم بر میلی لیتر در PBS) افزوده شده، به مدت ۴ ساعت دیگر گرمخانه گذاری گردید. در این مدت

### یافته‌ها

موش‌های تحت تیمار با عصاره هیدروالکلی گیاه سرخارگل به طور معنی داری کاهش در واکنش DTH را نشان دادند. در مقابل تیترا پادتن در گروه تیمار نسبت به گروه شاهد به طور معنی داری افزایش را نشان داد (جدول ۱). نتایج حاصل از تست NBT حاکی از کاهش قابلیت انفجار تنفسی مونوسیت/ماکروفاژهای طحالی می‌باشد. در همین راستا نتایج تست گریس نیز حاکی از کاهش تولید نیتریک اکسید در سلول‌های فاگوسیتیک طحالی موش‌های گروه تیمار نسبت به گروه شاهد بود. در کنار این تغییرات، نتایج تست MTT حاکی از افزایش در میزان تکثیر لنفوسیتی در گروه درمانی با عصاره هیدروالکلی گیاه سرخارگل در قیاس با گروه شاهد می‌باشد (جدول ۲). مقدار احتمال  $p < 0.05$  به عنوان سطح معنی دار در تمامی محاسبات در نظر گرفته شد.

### بحث و نتیجه گیری

سیستم ایمنی موجود زنده وظیفه شناسایی سلول‌ها و مولکول‌های خودی را از بیگانه، از بین بردن یا بی‌خطر کردن آن‌ها و همچنین حفظ هموستاز بدن را برعهده دارد. تعدیل واکنش‌های ایمنی نقش مهمی را در بهبود عملکرد بدن به دنبال چالش‌های ایمونولوژیک بازی می‌کند. در مواقعی که دستگاه ایمنی میزبان نیازمند مهار و یا بالعکس تقویت عملکرد می‌باشد، گیاهان دارای

نیتريت سدیم تعیین گردید. به طور خلاصه، سلول‌های طحالی پس از مجاورسازی با فیتو هم‌گلوتینین مشابه با روش توضیح داده شده در مورد تست MTT، مجاور شدند. آنگاه ۱۰۰ میکرولیتر از مایع رویی کشت سلول‌های طحالی به صورت دوتایی به داخل چاهک‌های پلت ۹۶ خانه‌ای ته تخت ریخته شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از محلول ۱ درصد سولفانیل آمید (شرکت Sigma- آمریکا) به چاهک‌ها اضافه شد. پلیت به مدت ۱۰ دقیقه در تاریکی و درجه حرارت اتاق نگهداری شد. آنگاه به تمام حفره‌ها ۱۰۰ میکرولیتر از محلول ۱ درصد N-1-1 نفتیل اتیلن دی آمین دی هیدرو کلراید (شرکت Sigma- آمریکا) اضافه شد و بار دیگر به مدت ۱۰ دقیقه در تاریکی و درجه حرارت اتاق نگهداری شد. در نهایت جذب نوری نمونه در طول موج ۵۳۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا نگار قرائت گردید. هم‌زمان با استفاده از غلظت‌های مختلف نیتريت سدیم منحنی استاندارد ترسیم شده و از طریق رگرسیون و معادله خطی، غلظت نیتريت موجود در نمونه‌ها تعیین گردید.

**آنالیز آماری:** جهت مقایسه از آزمون Mann-Whitney-U استفاده شد. مقدار احتمال  $p < 0.05$  به عنوان سطح معنی دار در نظر گرفته شد. کلیه بررسی‌های آماری در محیط نرم افزار SPSS ویراست ۱۹ انجام شد. کلیه داده‌ها به صورت  $Mean \pm SD$  گزارش گردید.

جدول ۱- مقایسه پاسخ ایمنی سلولی و هم‌مورال به دنبال چالش با SRBC بین گروه‌های شاهد و تیمار

گروه‌ها	درصد تورم کف پا	تیترا پادتن ضد SRBC
شاهد	$38/500 \pm 2/212$	$19/235 \pm 6/241$
تیمار	$15/288 \pm 4/202$	$205/267 \pm 10/933$
مقدار احتمال	$< 0.01$	$< 0.001$

جدول ۲- مقایسه میانگین  $\pm$  خطای استاندارد در گروه‌های شاهد و تیمار

گروه‌ها	میزان تکثیر لنفوسیتی <sup>۱</sup>	شدت انفجار تنفسی <sup>۱</sup>	میزان تولید نیتریک اکسید <sup>۲</sup>
شاهد	$0.152 \pm 0.0661$	$1/782 \pm 0.050$	$69/280 \pm 3/114$
تیمار	$1/821 \pm 0.227$	$0.702 \pm 0.020$	$50/253 \pm 2/032$
مقدار احتمال	$< 0.001$	$< 0.001$	$< 0.001$

<sup>۱</sup> شدت جذب نوری (OD)

<sup>۲</sup> بر حسب میکرومولار بر میلی لیتر ( $\mu\text{M/ml}$ )

ویژگی ایمنونومودلاتوری می‌توانند به عنوان ره یافت جایگزین داروهای شیمی درمانی مرسوم استفاده شوند (۲۵ و ۲۶). در بین اجزاء مختلف دستگاه ایمنی، طحال به عنوان یک ارگان ثانویه لنفوئیدی نقش مهمی در حذف پاتوژن‌های موجود در خون و ایجاد پاسخ‌های عمومی ایمنی بازی می‌کند. بدین سبب مطالعه حاضر بر پایه بررسی پاسخ ایمنی هومورال و ایمنی سلولی این بافت متمرکز گردید. از جمله ترکیبات شیمیایی عصاره گیاه سرخارگل ترکیبات فنلی می‌باشد که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشند (۲۷ و ۲۸). ترکیبات فنلی اصطلاح عمومی برای گروه‌های مختلف معطر از جمله فلاونوئیدها، اسید فنل، آنتی‌سیانین‌ها و ایزوفلانوئیدها می‌باشد که به طور طبیعی در طول فرآیند رشد متابولیک گیاه تولید می‌شوند که با عملکرد ضد اکسیدانی، گونه‌های اکسیژن فعال (ROS)، رادیکال‌های آزاد (رادیکال‌های هیدرواکسیل، OH و رادیکال‌های سوپر اکسید آنیون  $O_2$ ) یا رادیکال‌های غیر آزاد اکسیژن فعال (پراکسید،  $H_2O_2$ ) تولید شده در سوخت و ساز بدن را مهار می‌کند (۲۹). در مطالعه حاضر نیز کاهش میزان قابلیت انفجار تنفسی و تولید نیتریک اکسید در بین سلول‌های فاگوسیت کننده موجود در جمعیت سلول‌های طحالی در موش‌های گروه تیمار ممکن است که ناشی از خاصیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی گیاه سرخارگل باشد. دانه و همکارانش ثابت کردند که ترکیب سینارین موجود در عصاره گیاه سرخارگل با بلوکه کردن مولکول CD28 سطح سلول‌های T موجب مهار عملکرد سلول T می‌شود (۳۰). ترکیبات آلکیل آمیدی موجود در سرخارگل دارای اثرات تعدیل کننده ایمنی بوده به طوری که قادر به مهار سلول‌های T رده Jurkat در تولید IL-2 می‌باشد (۳۱). واکنش‌های ایمنی سلولی از قبیل DTH نتیجه همکاری سلول‌های T از دسته Th1 و سلول‌های ماکروفاژ می‌باشد. با وجود اینکه میزان تکثیر لنفوسیت‌های طحالی در مقایسه با گروه شاهد در مطالعه حاضر به طور معنی‌داری افزایش یافته بود، احتمالاً کاهش فعالیت ماکروفاژها (کاهش شدت انفجار تنفسی و تولید

نیتریک اکسید) می‌تواند توجیه کننده کاهش میزان شدت واکنش DTH باشد. همچنین ممکن است که افزایش تکثیر لنفوسیت‌های T که در این مطالعه مشاهده شد، ناشی از پلاریزه شدن آن‌ها به سمتی به غیر از سلول‌های Th1 باشد. اثرات تحریکی عصاره گیاه سرخارگل بروی سلول‌های B و سلول‌های NK گزارش شده است (۳۲). پاسخ ایمنی هومورال در مطالعه حاضر با تست هم آگلوتیناسیون ارزیابی شد. نتایج مربوط به پاسخ ایمنی هومورال اختلاف معنی‌داری را میان گروه مصرف کننده عصاره سرخارگل و گروه کنترل در تولید آنتی بادی آگلوتینه کننده نشان می‌دهد، بدین ترتیب که تیتراژ آنتی بادی آگلوتینه کننده در گروه تیمار بیش از ۱۰/۶۶ برابر گروه کنترل می‌باشد. در شرایط pH خنثی گلبول‌های قرمز بار منفی موجود در سطح این سلول‌ها مانع اتصال سلول‌های مزبور به یکدیگر می‌شود. به این نیروی مهاری پتانسیل زتا گفته می‌شود. به خاطر اندازه و ماهیت پنج واحدی مولکول IgM، این آنتی بادی بر سد بار الکتریکی بین گویچه‌های قرمز فارغ آمده و منجر به اتصال آن‌ها به یکدیگر می‌شود. مولکول IgG دارای اندازه کوچک‌تر و تنها دو ظرفیت می‌باشد. بنابراین این مولکول آنتی بادی قادر به خنثی سازی بار الکتریکی بین گویچه‌های قرمز نمی‌باشد. به نظر می‌رسد که با توجه به کوتاه بودن طول دوره مطالعه، آنتی بادی تولید شده بیشتر از کلاس IgM می‌باشد. در بررسی‌های پیشین نیز افزایش تعداد گویچه‌های سفید و سلول‌های طحالی و همچنین قابلیت برداشت میکروارگانیزم سلول‌های مونوسیت به دنبال استفاده از عصاره سرخارگل اشاره شده است (۱۲-۱۰ و ۳۳). البته در فرآیند حذف موثر یک پاتوژن مرحله اساسی پس از برداشت پاتوژن به راه افتادن ساز و کارهای انفجار تنفسی و تولید نیتریک اکسید جهت نابودی موثر عامل برداشت شده می‌باشد. از آنجایی که شدت انفجار تنفسی و قابلیت تولید نیتریک اکسید در سلول‌های فاگوسیتیک به طور مشخصی کاهش می‌یابد، بنابراین به نظر نمی‌رسد که سرخارگل اثر واقعاً مفیدی در تقویت سیستم ایمنی از جمله دفاع ضد میکروبی داشته

## منابع

1. Amira MK, Aboueilla Yasser E, Shahein Sameh S, Tawfik Ahmed M. Phytotherapeutic effects of *Echinacea purpurea* in gamma-irradiated mice, *J Vet Sci*. 2007;8(4):341-51.
2. Bauer R, Wagner H. "Echinacea species as potential immunostimulatory drugs". *EMPRJ*. 1991; 5:253 - 321.
3. Awang DVC, Kindack DG. Herbal medicine. *Echinacea*. *Canadian Pharm J*, 1991; 124(11):512-5.
4. Schoneberger D. The influence of immunostimulating effects of pressed juice from *Echinacea purpurea* on the course and severity of colds. *Pharmacognosy Res*, 1992;8:2-12.
5. Hashemi M. and Soudy S. Study the effect of purple coneflower (*Echinacea purpurea*) extract in tardiness plethora and reproductive response of lien in mouse. *Cell J*. 2007; 4: 254-261. (In Persian).
6. Nasir Z. Comparison effects of *Echinacea purpurea* juices and *Nigella sativa* seeds on performance, some blood parameters, carcass and meat quality of broilers. Ph. D. dissertation, Institute of Animal Breeding and Husbandry University of Hohenheim, Stuttgart. 2007. p. 7-18.
7. El-Refaei MF, El-Naa MM. Antioxidant and Apoptotic Effects of Caffeic Acid Phenethyl Ester Induced Marked Inhibition on Human Breast Cancer Cell Line. *Asian J of Biochem*. 2011; 6: 82-89.
8. Chung T, Sung M, Young C. Novel and therapeutic effect of caffeic acid and caffeic acid phenyl ester on hepatocarcinoma cells: complete regression of hepatoma growth and metastasis by dual mechanism. *FASEB*. 2004;18:1670-81.
9. Ohara M, Kiefer D, Farrel K, Kemper K. A review of 12 commonly used medicinal herbs. *Arch Fam Med*. 1998;7:523-35.
10. Stotzem CD, Hungerland U, Mengs U. Influence of *Echinacea purpurea* on the phagocytosis of human granulocytes. *Med Sci Res*, 1992;20:719-20.
11. Melchart D, Linde K, Worku F, Bauer R, Wagner H. Immunomodulation with *Echinacea*- a systematic review of controlled clinical trials, *Phyto med*. 1994;1:245-54.
12. WHO Monographs on Selected Medicinal Plants. Vol. 1, World Health Organization. Geneva, 1999; p. 136 - 44.
13. Sachin AS, Stephen S, Michael W, Mike R, Craig I. Evaluation of *echinacea* for the prevention and treatment of the common cold: a meta-analysis. *Lancet*, 2007;(7):473-80.
14. Stephen S. *Echinacea* may halve the risk of catching cold. *Scientist*, 2010.24-36.
15. Linde K. New Study on *Echinacea* is Faulty. *Canadian-Based Company Medical*;2005:104-117.
16. Caruso TJ, Gwaltney JM. Treatment of the common cold with *echinacea*: a structured review.

باشد. در برخی مطالعات خواص آنتی‌باکتریایی، آنتی‌ویروسی علیه ویروس مولد بیماری آیدز و خاصیت ضدسرطانی گیاه سرخارگل گزارش شده است (۳۲). البته بسیاری از این مطالعات در شرایط *in vitro* انجام شده و به بررسی اثر مستقیم ترکیبات گیاه بر روی عوامل عفونی و یا سلول‌های سرطانی پرداخته است. طبیعی است که موارد یاد شده هیچ کدام نمی‌تواند حاکی از اثر تقویت کننده سیستم ایمنی و یا شرایط *in vivo* باشد. همچنین با وجودی که در برخی از مطالعات تنها بر جنبه محرک ایمنی این ترکیب اشاره شده است ولی در برخی از مطالعات دیگر از قبیل مطالعه South و Exon بر اثرات مهارکننده ایمنی این گیاه تأکید شده است (۳۱). با همه این تفاسیر بر اساس مطالعه حاضر به نظر می‌رسد که عصاره هیدروالکلی گیاه سرخارگل موجب انحراف پاسخ‌های ایمنی از سمت پاسخ‌های سلولی به هومورال می‌گردد. بنابراین ممکن است که عصاره هیدروالکلی گیاه سرخارگل به عنوان یک ترکیب طبیعی تعدیل کننده دستگاه ایمنی مورد توجه قرار گیرد. مسلم است که این مطالعه تنها یک بررسی مقدماتی بوده و لازم است که آزمایش‌های تکمیلی بیشتری جهت ارزیابی وضعیت پلازما شدن لنفوسیت‌های T و میزان تولید سایر کلاس‌های ایمونوگلوبولین و همچنین سایر شاخصه‌های فعالیت اجزای ایمنی ذاتی از قبیل ماکروفاژها، انجام شود. به نظر می‌رسد که عصاره هیدروالکلی گیاه سرخارگل می‌تواند که به عنوان یک ترکیب طبیعی تعدیل کننده دستگاه ایمنی مورد توجه قرار گیرد.

## تقدیر و تشکر

نگارندگان از زحمات آقای دکتر نورز دلیرژ (سرپرست تحصیلات تکمیلی بخش ایمونولوژی دانشکده دامپزشکی) و آقای مهندس اصغر علیاری (کارشناس آزمایشگاه ایمنی شناسی و کشت سلولی) کمال تقدیر و تشکر را دارند.

pharmaceutical screening method. *J Med Chem*, 2006;49(6):1845-54.

31. Sultan TM, Butt MS, Qayyum MN, Suleria HA. Immunity: plants as effective mediators. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2014;54:1298-308.

32. Currier NL, Sicotte M, Miller SC. Deleterious effects of *Echinacea purpurea* and melatonin on myeloid cells in mouse spleen and bone marrow. *J Leukoc Biol*, 2001; 70(2):274-6.

33. Sadigh-Etaghad S, Khayat – Nuri H, Abadi N, Ghavami S, Golabi M, Shanebandi D. Synergic effect of oral and administration of levamisol and *Echinacea purpurea* on immune response in Wistar rat. *Res Vet Sci*, 2011;91:82-5.

*Clin Infect Dis*, 2005;40(6):807-10.

17. WHO Monographs on Selected Medicinal Plants. Vol. 1., World Health Organization. Geneva, 2001. p. 136 - 44.

18. Roesler J, Emmendorffer A, Steinmuller C, Luttig B, Wagner H, Lohmann-Matthes ML. Application of purified polysaccharides from cellcultures of the plant *Echinacea purpurea* to testsubjects mediates activation of the phagocytesystem. *Int J Immunopharmacol*, 1991; 13(7):931-41.

19. Matthias A, Banbury L, Bone KM, leach DN, Lehmann RP. *Echinacea* alkylamides modulate induced immune responses in T cells. *Fitoterapia*, 2008;(79):53-8.

20. Saunders PR, Smith F, Schusky RW. *Echinacea purpurea* in children: safety, tolerability, compliance and clinical effectiveness in upper respiratory tract infection. *Canadian J Physiol Pharm*, 2007;85:1195-9.

21. Fusco D, Liu X, Savage C, Taur Y, Xiao W, Kennelly E, et al. *Echinacea purpurea* aerial extract alters course of influenza infection in mice. *J Vaccine*, 2010;28(23):3956-62.

22. Zimecki M, Wiczorek Z. Differential patterns of cyclosporine A-induced inhibition of humoral and cellular immune responses to sheep erythrocytes in mice. *Pol J Pharmacol*, 2001; 53(5):495-500.

23. Hassan ZM, Ebtekar M. Immunological consequence of sulfur mustard exposure. *Immunol Lett*, 2002;83(3):151-2.

24. Fukai H, Goto K, Tabata M. Two antimicrobial flavanones from the leaves of *Glycyrrhiza glabra*. *Chem Pharm Bull*. 1988; 36:4174-6.

25. Qadry JS. Shah and Qadry's pharmacognosy. 12<sup>th</sup> ed. B.S. Shah Prakashan: Ahmadabad; 2004, p. 260-264.

26. Qadry JS. Shah and Qadry's pharmacognosy. 12th ed. B.S. Shah Prakashan: Ahmadabad. 2004; p: 260-264.

27. Huda-Faujan N, Noriham A, Norrakiah AS, Babji AS. Antioxidant activity of plants methanolic extracts containing phenolic compounds. *Afr J Biotechnol*, 2009;8: 484-489.

28. Khanavi M, Hajimahmoodi M, Cheraghi-Niroomand M, Kargar Z, Ajani Y, Hadjiakhoondi A, et al. Comparison of the antioxidant activity and total phenolic contents in some *Stachys* species. *Afr J Biotechnol*, 2009;8:1143-7.

29. Ramarathnam N, Osawa T, Ochi H, Kawakishi S. The contribution of plant food antioxidants to human health. *Trends Food Sci Technol*, 1995;6:75-7.

30. Dong GC, Chuang PH, Forrest MD, Lin YC, Chen HM. Immuno-suppressive effect of blocking the CD28 signaling pathway in T-cells by an active component of *Echinacea* found by a novel



## Effects of *Echinacea pupurea* on the immunity system: from promise to fact

**Seyyed Meysam Abtahi Froushani**, PhD. Assistant Professor of Immunology, Department of Microbiology, Faculty of Veterinary, Urmia University, Urmia, Iran. meysamabtahi@hotmail.com

**Shahsanam Gheibi**, Associate Professor of Pediatrics, Pediatric Gastroenterologist, Maternal and Childhood Obesity Research Center, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran. gheibi1345sh@gmail.com

**\*Hadi Esmaeili Gouvarchin Ghaleh**, PhD student of Immunology, Department of Microbiology, Faculty of Veterinary, Urmia University, Urmia, Iran (\*Corresponding author). H.smaili69@yahoo.com.

**Bahman Mansori Motlagh**, MSc student of Immunology, Department of Microbiology, Faculty of Veterinary, Urmia University, Urmia, Iran. B.mansori68@gmail.com

### Abstract

**Background:** *Echinacea purpurea* has long been used in folk medicine to prevent and treat a wide range of diseases like common cold, simple cough, pulmonary infections, dermatologic disorder and even chronic diseases due to immunodeficiency. This study was conducted to check the immunomodulatory properties of hydroalcoholic extract of *Echinacea purpurea* in NMRI-mice challenged with Sheep Red Blood Cells (SRBCs).

**Methods:** The study population included 14 NMRI-male mice that were randomly grouped in two equal groups and immunized with SRBC. Hydroalcoholic extract of *Echinacea purpurea* were administered to the treatment group mice per os in daily doses of 0.025 mg from the beginning of the study and continued for 2 weeks. Specific humoral and cellular immunity, susceptibility of macrophages respiratory burst and proliferation of immune cells were measured. The Mann-Whitney test was used in order to compare using SPSS 19 software.

**Results:** The findings indicated a significant increase ( $205.267 \pm 10.933$ ) in the level of anti-SRBC antibody and simultaneously a significant decrease ( $15.288 \pm 4.202$ ) in the level of cellular immunity in treatment group compared to control group. Lymphocyte proliferation index in splenocytes was significantly increased ( $1.821 \pm 227$ ) in treatment group. However, the level of respiratory burst intensity ( $0.702 \pm 0.020$ ) and nitric oxide production ( $50.253 \pm 2.032$ ) in phagocytic population of splenocytes dramatically decreased in treatment groups compared to control mice.

**Conclusion:** Since, the respiratory burst and nitric oxide production of phagocytic cells decreased, the possible immunostimulatory effectiveness of *Echinacea purpurea* is doubtful. However, this data suggest that the hydroalcoholic extract of *Echinacea purpurea* may be used as a natural source for purposes of modulating the immune system.

**Keywords:** *Echinacea purpurea*, Humoral immunity, Cellular immunity