Downloaded from journals.ajaums.ac.ir at 9:33 +0330 on Thursday February 15th 2018

مقاله تحقیقاتی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ارتش جمهوری اسلامی ایران

سال دهم ● شماره ۴ ● صفحات ۲۶۱ تا ۲۶۷ ● زمستان ۱۳۹۱

بررسی اثرایمونو مدولاتوری عصاره‌ی گیاه آلوئه ورا و تاثیر آن بر کاندیدا آلبیکنس در مدل حیوانی

*زهره فرح‌نژاد[۱]، طوبی غضنفری[۲]، مهتاب نوری‌فر[۳]

تاریخ اعلام وصول: ۹۱/۶/۲۸ تاریخ اعلام قبولی مقاله: ۹۱/۹/۱۳

چکیده

سابقه و هدف: ترکیبات گیاهی منابع مهمی در طب هستند و از زمان‌های گذشته برای پیشگیری و درمان بسیاری از بیماریها مورد استفاده قرار گرفته‌اند. بررسیها نشان می‌دهد که گیاه آلوئه ورا سبب تعدیل وتنظیم پاسخ‌های ایمنی می‌شود.کاندیدیازیس یکی از شایع‌ترین عفونت‌های قارچی می‌باشد و گونه کاندیدا آلبیکنس چهارمین علت شایع عفونت بیمارستانی می‌باشد. یکی از اجزا مهم سیستم ایمنی بیگانه خوارهایی نظیر ماکروفاژها هستند که با شناسایی و تخریب این قارچ به مقابله با آن می‌پردازند از این رو این مطالعه با هدف بررسی اثرات عصاره گیاه آلوئه ورا بر فعالیت وتحریک ماکروفاژها در مقابل کاندیدا آلبیکنس و در مدل موشی طراحی گردید.

مواد و روش‌ها: مطالعه حاضر یک مطالعه ازمایشگاهی (experimental) میباشد و در مدل حیوانی کار شده است. درابتدا ۵ گروه موش تهیه شده به وسیله قارچ کاندیدا آلبیکنس آلوده شدند و سپس یک هفته جهت فعالیت کاندیدا فرصت داده شد. عصاره گیاه آلوئه ورا با غلظت‌های mg/kg ۱۰۰، ۲۰۵۰، ۱۰ تهیه شده و به ۴ گروه از موشها تزریق شد. سپس ماکروفاژهای درون صفاقی موش‌ها گرفته شد و در انتها از تست MTT به منظور ارزیابی فعالیت حیاتی ماکروفاژهای درون صفاقی استفاده گردید.

یافته‌ها: در این مطالعه آزمایشها در موشها نشان می‌دهد که عصاره گیاه آلوئه ورا باعث افزایش فعالیت ماکروفاژی درحضور مایتوژن در موشهای Balb/c آلوده به کاندیدا در همه‌ی دوزهای mg/kg ۱۰۰، ۲۰۵۰، ۱۰ شده و این افزایش نسبت به گروه کنترل معنی‌دار بوده است (P<۰/۰۰۱).

بحث و نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان می‌دهد که عصاره گیاه آلوئه ورا نقش تأثیرگذاری در تحریک سیستم ایمنی دارد. بنابراین لازم است در اهداف آتی، جداسازی و تخلیص بیوشیمیایی دقیق عصاره آلوئه ورا به منظور بررسی خواص ایمونومدولاتوری گیاه آلوئه ورا بر عملکرد و فعالیت ماکروفاژها بررسی گردد.

کلمات کلیدی: کاندیدا آلبیکنس، آلوئه ورا، ماکروفاژ، ایمونومدولاتور

مقدمه

در سالهای اخیر برر سی‌های فراوانی در مورد خواص دارویی ژل آلوئه ورا انجا م شده است و نتایج بسیار ارزنده‌ای را حاصل نمو ده است که شامل اثرات متعددی است و باعث شده که ژل این گیاه در صنایع دارویی و غذایی کاربردهای فراوانی داشته باشد محصو لات دارویی آن بصورت کرم، پماد، شربت، ژل و محصولات غذایی

۱ـ استادیار، ایران، تهران، دانشگاه علوم پزشکی آجا، دانشکده پزشکی، گروه انگل و قارچ شناسی
تلفن: ۸۵۹۵۲۴۰۱-۰۲۱ آدرس الکترونیک: zfarahnejad@yahoo.com
۲ـ استاد، ایران، تهران، دانشگاه شاهد، دانشکده پزشکی، گروه ایمونولوژی
۳ـ استادیار، ایران، تهران، دانشگاه علوم پزشکی آجا، دانشکده پزشکی، گروه بیماریهای عفونی

Downloaded from journals.ajaums.ac.ir at 9:33 +0330 on Thursday February 15th 2018

آن شامل انواع نوشابه‌ها و... به صورت روتین مورد استفاده وسیع در دنیا قرار گیرد. یکی از اثرات ذکر شده برای ژل گیاه آلو ئه ورا، خواص ایمونومدولاتوری آن است که شامل پاسخ‌های گوناگون سیستم ایمنی می‌باشد (۱).

امروزه در بسیاری از بیماریها، از جمله بیماریهای عفونی، سرطان، خودایمنی، نقص ایمنی از ارزیابی‌های پاسخ ایمنی به عنوان راهکاری جهت تشخیص درست و طراحی پروتکل‌های درمان کارآمد استفاده می‌شود. در بسیاری از این بیماری‌ها پارامترهای سیستم ایمنی از تنظیم خارج شده و افزایش یا کاهش این پارامتری‌ها می‌توانند به عنوان شاخصی از وضعیت بیماری تلقی گردند (۳,۲). ایمونومدولاتورها از جمله مواد با ارزشی هستند که می‌توانند پاسخ‌های ایمنی را تحت تاثیر قرار داده و بخش‌های مختلف این سیستم را به حالت تعادل برگردانند. دستیابی به این مواد با مکانیسم‌های شناخته شده مدنظر محققین رشته‌های مختلف علوم پزشکی می‌باشد (۴).

یکی از مشکلات دنیای امروز که کلید آن را در تحریک و تقو یت پا سخ‌های ایمنی و تنظیم این پاسخ‌ها جستجو می کنند انواع عفونتهای کاندیدیایی می‌باشد. کا ندیدا آلبیکنس یک قارچ فرصت طلب است که در ضعف سیستم ایمنی می‌تواند شرایط رشد خود را پایدار نموده و با توجه به انواع ساپرس کننده‌های سیستم ایمنی در زندگی ماشینی امروز شامل آلاینده‌های هوایی، تغذیه نامناسب، استرس، بیماریهای عفونی دیگر و سرطانها موضوع عفونت کاندیدایی به صورت یک مشکل جدی مطرح می‌شود (۷-۵).

در حال حاضر مطالعات گسترده‌ای در مورد شناسایی مواد تعدیل کننده پاسخ ایمنی یا ایمونو مدولاتور از ترکیبات طبیعی در دست انجام است.

یکی از این ترکیبات عصاره‌ای است که از گیاه آلوئه ورا جدا و مطالعات زیادی در خصوص آن انجام شده است. گزارشهای متعددی در خصوص اثرات مختلف این گیاه به ویژه اثرات ایمونومدولاتوری آن در جهت تنظیم سیستم ایمنی وجود دارد (۸). بسیاری از خواص مفید این گیاه از جمله تحریک سیستم ایمنی ومهار سیستم ایمنی و همچنین خواص ضدالتهابی آن به ژل این گیاه نسبت داده می‌شود (۹). کربوهیدراتهای ذخیره‌ای ژل مانند مانان استیله شده یاآسمانان همچنین پکتین موجود در مزوفیل دیواره سلولها مسئول خواص ایمونولوژیکی آن هستند (۱۰و۹). نشان داده شده است عصاره الوئه و کربوهیدراتهای آن می‌تواند ماکروفاژها را فعال کنند و ماکروفاژهای فعال شده نیتریک اکساید تولید می‌کنند (۱۲و ۱۱و ۹). دو مشتق تازه دی هیدروکومارین ۱و۲ که از الوئه ورا جدا شده‌اند خاصیت ایمونومدولاتوری دارند و فعالیت فاگوسیتوزی را افزایش می‌دهند همچنین بر انیونهای سوپراکسید را در ماکروفاژهای صفاقی موش افزایش می‌دهند (۱۳).

از آنجا که تاکنون مطالعات هدفمند جهت بررسی خواص ایمونومدولاتوری ترکیبات این گیاه با جدا سازی فراکشنهای مستخرج از آن و بررسی تک تک آنهاجهت شناسایی دقیق مواد ایمونومدولاتور واستفاده کاربردی از آن علیه عوامل عفونی صورت نگرفته است و با توجه به نقش تنظیم وتصحیح پاسخ‌های فاگوسیتوزیس درکاهش نرخ وقوع عفونتهای قارچی به ویژه کاندیدیازیس سیستمیک در بیماریهای صعب العلاج ومزمن مانند سرطان و قندو بیماران ایمونوساپرس و دارای نقص سیستم ایمنی اولیه لزوم استفاده ازیک ایمونومدولاتور در جهت ممانعت از گسترش بیماری احساس گردید.

بدین منظور این مطالعه باهدف دستیابی به یک ماده ایمونو مدولاتورمناسب ازگیاه آلوئه ورا در مقابل قارچ کاندیدا البیکنس به عنوان یک مدل عفونی در مدل موشی طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه اثر عصاره آلوئه ورا بر فعالیت ضدکاندیدایی ماکروفاژهای صفاقی موش در مدل حیوانی (Invivo) به شرح زیر مورد بررسی قرا ر گرفت.

تهیه و نگهداری حیوانات و گروه بندی آنها

تعداد ۲۰ سرموش Balb/c سالم از انستیتو پاستور تهیه شد. حیوانات مورد استفاده در این مطالعه موشهای ماده Balb/c، ۸ تا ۱۲ هفته سالم بودند. این موشها در شرایط دما و رطوبت کنترل شده و فاقد پاتوژن نگهداری شدند. ۲۰ عدد موش پس از وزن کشی (با وزن تقریبی ۲۵ گرم) به طور تصادفی به ۵ گروه ۴ تایی تقسیم شدند. یک گروه به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد و چهار گروه دیگر براساس دوز عصاره مورد نظر تقسیم بندی شدند.

Downloaded from journals.ajaums.ac.ir at 9:33 +0330 on Thursday February 15th 2018

تهیه سوش کاندیدا آلبیکنس

در این مطالعه از سوش کاندیداآلبیکنس PTCC که ازسازمان پژوهشهای علمی- صنعتی خریداری شده بود استفاده گردید. در ابتدا این سوش روی محیط سابورودکستروزآگار ویژه، رشد قارچها تازه گردید و بعد از ۴۸ ساعت این سوش از محیط جمع اوری و شستشوداده شد. سپس با استفاده ازلام نئوبارشمارش گردید.

آلوده نمودن حیوانات با کاندیدا آلبیکنس

به همه موشهای ۵ گروه تهیه شده از انستیتو رازی به میزان ۱۰۷ – ۱۰۶ کاندیدا که در محیط مایع RPMI با استفاده از لام نئوبار شمارش شد، بصورت صفاقی تزریق گردید و یک هفته جهت فعالیت کاندیدا در بدن موشها فرصت داده شد.

تهیه عصاره صاف شده آلوئه ورا

عصاره آلوئه ورا از ژل جداشده از برگ گوشتی آن تهیه و صاف گردید. به این ژل که کاملاً از پوسته بیرونی برگ جدا می‌شود به نسبت ۱: ۱ با آب مقطر دوبار تقطیر دیونیزه اضافه و با مخلوط کن بصورت یکنواخت در امده، سپس در دور ۱۴۰۰۰ rpm بمدت ۲۰ دقیقه با سانتریفوژ یخچال دار سانتریفوژ گردید تا صاف شود. محلول حاصل از صافی استریل کننده با منافذ ۰/۲ µm عبور داده شد.

تعیین دوز عصاره برای هر گروه

جهت گروه کنترل سرم فیزیولوژی در نظر گرفته شد. عصاره صاف شده باتوجه به وزن موشها دارای دوز ۱۰۰ mg/kg در هر بار تزریق بود که برای گروه ۱ در نظر گرفته شد. با رقیق کردن عصاره به میزان ۱/۲، ۱/۵ و ۱/۱۰ به ترتیب دوزهای ۵۰mg/kg؛ ۲۰mg/kg و mg/kg ۱۰ به دست آمد که به ترتیب برای گروه‌های ۲ تا ۴ آماده گردید.

نحوه تزریق عصاره

به مدت ۱۴ روز به هر موش گروه کنترل ۰/۱ ml سرم فیزیولوژی و به موشهای گروههای ۴-۱ بترتیب ۰/۱ ml عصاره، رقت ۱/۲ عصاره، رقت ۱/۵ عصاره و رقت ۱/۱۰ عصاره تزریق گردید. گروهها، وزن موشها و دوز دریافتی از عصاره در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱- نحوه تزریق عصاره آلوئه ورا به موش‌ها

گروه ها	دوز دریافتی عصاره mg/kg	میانگین وزن gr
کنترل	۰	۲۵
۱	۱۰۰	۲۵
۲	۵۰	۲۵
۳	۲۰	۲۵
۴	۱۰	۲۵

بیهوش کردن حیوانات و نمونه برداری

۲۴ ساعت بعد از آخرین تزریق، موشها را با استفاده از پنبه آغشته به اتر بیهوش نموده سپس تحت شرایط استریل پس از باز کردن پوست سینه و شکم، بافتهای موردنظر نمونه‌برداری شد.

جداسازی ماکروفاژها

تحت شرایط استریل با تزریق ۵cc سرم فیزیولوژی سرد به صفاق هر یک از موشها و کشیدن آن ماکروفاژهای صفاقی هر موش جمع‌آوری و در لوله‌ای استریل مختص همان موش منتقل گردید و با تکرار این عمل برای هر موش سعی شد ماکروفاژ بیشتری بدست آید. لوله‌های حاوی ماکروفاژها باید در تمام مراحل کار سرد نگهداشته شوند تا از چسبیدن ماکروفاژها به دیواره لوله جلوگیری شود.

کشت ماکروفاژها

سوسپانسیون بدست آمده از صفاق هر موش که در لوله‌های جداگانه ریخته شده‌اند به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۵۰۰rpm در دمای در ۸ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ شدند و محیط رویی لوله‌ها دور ریخته شد. سپس برای شستشوی اول ۵cc سرم فیزیولوژی سرد به ماکروفاژهای ته نشین شده اضافه و پس از تکان دادن لوله‌ها مجدداً به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۵۰۰rpm در دمای ۸ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ شد. شستشوی دوم با محیط RPMI (از کمپانی Gibco) سرد انجام شد و پس از دور ریختن محیط رویی حاصل از شستشوی با RPMI به لوله مختص هر موش ۲cc محیط کشت RPMI سرد حاوی ۱۰٪ سرم جنین گاو FBS (از کمپانی Gibco) اضافه گردید. با تکان دادن لوله‌ها و یکنواخت کردن ماکروفاژها در محیط کشت با استفاده از لام نئوبار (ازکمپانی Brand) تعداد

Downloaded from journals.ajaums.ac.ir at 9:33 +0330 on Thursday February 15th 2018

ماکروفاژهای بدست آمده در ۲cc محیط کشت شمارش و حجمی که شامل تعداد ۱۰۵×۲ ماکروفاژ می‌باشد برای هر موش محاسبه شد. جهت کشت ماکروفاژها از پلیت ۹۶خانه استریل کشت سلول (از کمپانی Nunc) استفاده شد. برای هر موش ۳ خانه در نظر گرفته شدو در هر خانه تعداد $۲×۱۰^۵$ ماکروفاژ کشت داده شد. پلیتها در این مرحله در انکوباتور ۳۷درجه سانتیگراد دارای $CO_۲$ ۵٪ قرار داده شد. جهت جدا کردن لنفوسیتهای همراه ماکروفاژها ۲-۱ ساعت پس از ریختن ماکروفاژها در چاهکها و چسبیدن آنها به کف پلیت با استفاده از سرم فیزیولوژی گرم چاهکها را شستشو داده تا لنفوسیتها از داخل چاهکها خارج و کشت فقط شامل ماکروفاژ باشد. در این مرحله حجم محیط چاهکها را به ۲۰۰ µl رسانده وسپس به چاهک‌ها مایتوژن LPS (sigma) اضافه شد و غلظت نهایی آن در هر چاهک به ۱۰ mg/µl رسید. پلیتها مجدداً در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد دارای $CO_۲$ ۵٪ قرار داده شد.

آزمایش متیل تیازون تترازولین MTT

پس از ۲۰ ساعت ۱,۰ حجم محیط هر چاهک، MTT اضافه شد و پلیت مجدداً به مدت ۴ ساعت در انکوباتور قرار گرفت. در طی این مدت تحت اثر آنزیم دهیدروژناز میتوکندری‌ها این ماده که زرد رنگ و محلول می‌باشد به کریستالهای فورمازان که ترکیبی آبی رنگ و نامحلول است تبدیل می‌شود. سپس محیط رویی هر چاهک با سمپلر کشیده شد و به هر چاهک ۱۰۰ µl محلول ایزوپروپرانولول اسیدی (اسید کلریدریک ۰/۰۴ نرمال در ایزوپروپرانولول) اضافه شد. بعد از حل شدن کریستال‌های بنفش رنگ در مایع رویی و انتقال به پلیت الایزا در طول موج ۴۹۲ نانومتر جذب نوری هر چاهک با دستگاه الایزا خوانده شد، که بیانگر تعداد سلولهای زنده در هر خانه می‌باشد.

آنالیز داده‌ها

تمامی داده‌ها وارد نرم افزار G-Instat شده و پس از تعیین میانگین جذب نوری اقدام به تعیین عدد P با استفاده از آزمون ANOVA و تعیین معنی‌دار بودن یا نبودن تفاوت میانگین جوابهای بدست آمده در بین گروه‌ها با یکدیگر مقایسه شد.

اصول اخلاقی تحقیق

در این پژوهش تلاش شد حداقل تعداد موش‌ها انتخاب شوند و موش‌ها قبل از شروع جداسازی ماکروفاژهای صفاقی توسط اتر بی‌هوش شد.

یافته‌ها

در جدول ۲ میانگین جذب نوری ناشی از احیاء MTT متعاقب اثر دوزهای مختلف ۱۰، ۲۰، ۵۰ و۱۰۰میلیگرم بر کیلوگرم عصاره گیاهی آلوئه ورا بر فعالیت حیاتی ماکروفاژهای موشهای Balb/c آلوده به کاندیدا در حضور مایتوژن و همچنین انحراف معیار و مقدار P با استفاده از ازمون ANOVA در نرم افزار G-InStat محاسبه و نشان داده شده است. همچنین از Tukey test بعنوان post test استفاده شده است.

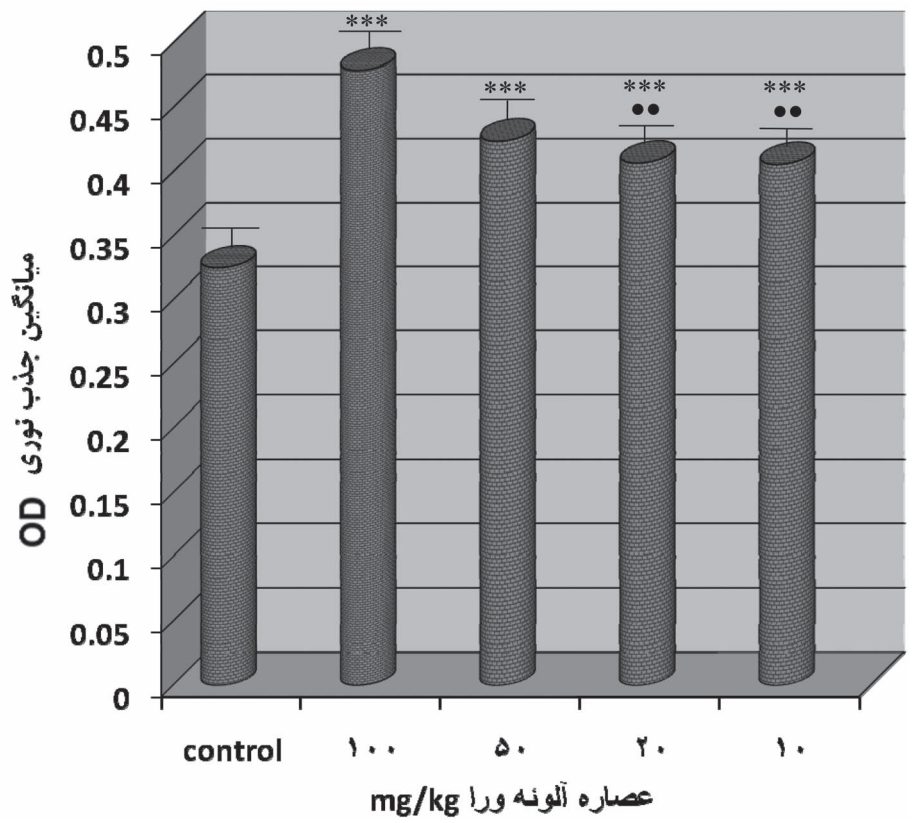
در نمودار ۱- میانگین جذب نوری ناشی از احیاء MTT متعاقب اثر دوزهای مختلف۱۰، ۲۰، ۵۰ و۱۰۰میلیگرم بر کیلوگرم عصاره گیاهی آلوئه ورا بر فعالیت حیاتی ماکروفاژهای موشهای Balb/c آلوده به کاندیدا در حضور مایتوژن رسم گردیده است.

این نمودار نشان می‌دهد عصاره آبی گیاه آلوئه ورا و همه غلظت‌های مختلف آن بر میزان فعالیت حیاتی ماکروفاژها در حضور مایتوژن و در مقایسه باگروه کنترل معنی‌دار بوده است وحاکی از بالاترین میزان فعالیت حیاتی ماکروفاژها در مواجهه با عصاره گیاه آلوئه ورا در دوز ۱۰۰ mg/kg است (P <۰/۰۰۱). دوز ۱۰۰mg/kg این عصاره نیزدر برابر دوزهای ۲۰mg/kg و ۱۰ mg/kg معنی‌دار گردید (P<۰/۰۵). ولی این نتایج دربرابر دوز ۵۰mg/kg معنی‌دار نبوده است (P>۰/۰۵). نتایج مقایسه اثردوز ۵۰ mg/kg این عصاره با سایر دوزها نشان می‌دهد دوز ۵۰ mg/kg درمقایسه با دوزهای ۲۰ mg/kg و mg/kg ۱۰ معنی‌دار نبوده است (P>۰/۰۵) ولی در مقایسه بادوز ۱۰۰ mg/kg

جدول ۲- اثر عصاره گیاه آلوئه ورا برفعالیت ماکروفاژهای صفاقی درحضور مایتوژن

	control	۱۰۰ mg/kg	۵۰ mg/kg	۲۰ mg/kg	۱۰ mg/kg
Average	۰/۳۲۵	۰/۴۶۲	۰/۴۲۴	۰/۴۰۷	۰/۴۰۶
SD	۰/۰۳۸۸۲	۰/۰۳۱۳۷	۰/۰۴۲۳۸	۰/۰۴۰۶۲	۰/۰۳۴۹۹۵
SE	۰/۰۱۲۹۴	۰/۰۱۰۴۶	۰/۰۱۲۲۳	۰/۰۱۱۷۲	۰/۰۱۱۶۶

Downloaded from journals.ajaums.ac.ir at 9:33 +0330 on Thursday February 15th 2018



نمودار ۱- بررسی اثر عصاره ابی الوئه ورا برفعالیت ماکروفاژهای صفاقی در حضور مایتوژن
*****:: مقایسه غلظت‌های مختلف عصاره با گروه کنترل را نشان می‌دهد و (P<۰/۰۰۱) است.**
••: مقایسه بین گروههای مختلف را نشان میدهد و (P<۰/۰۵)

معنی‌دار بوده است (P <۰/۰۵) همچنین نتایج مقایسه اثر دوز mg/kg ۲۰ این عصاره با سایر دوزها نیز معنی‌دار نبوده است (P >۰/۰۵)

بحث و نتیجه‌گیری

کاندیدیازیس یکی از شایع‌ترین عفونت‌های قارچی می‌باشد که بوسیله جنس کاندیدا ایجاد می‌شود. این قارچ از زمانهای گذشته یکی از مهم‌ترین عوامل ایجاد کننده عفونت‌های بیمارستانی در افراد مبتلا به نقص ایمنی بوده و بعنوان چهارمین عامل شایع عفونت‌های خونی و یکی از علل شایع مرگ و میر در آمریکا می‌باشد. در برخی نواحی حتی بعنوان دومین عامل شایع عفونتها در نظر گرفته شده است (۲ و ۱).

گزارشات متعدد نشان دهنده این است که عفونت‌های قارچی شدید و مکرر در بیمارانی دیده می‌شود که دچار نقص یا کاهش عملکرد در یکی از سیستم‌های ایمنی می‌باشند. این گزارشات شیوع عفونت‌های قارچی به ویژه کاندیدیمی و کاندیدیازیس منتشره را در بیماران بخش پیوند، سرطان و جراحی توضیح داده و علت آن را نوتروپنی و کاهش سلولهای پلی مورفونوکلئر و منوسیت‌ها به ویژه در نقش آنها به عنوان اجزاء مهم سیستم ایمنی ذاتی می‌دانند (۱۶-۱۴).

علی‌رغم مطالعات مشهود در مورد خواص دارویی و ایمونومدولاتوری گیاه آلوئه ورا، مورد اثر آن بر سیستم ایمنی در عفونت کاندیدایی کمتر مورد بررسی قرار گرفته است و به این سوال که آیا این گیاه و عصاره ژل آن می‌تواند در تحریک پاسخ‌های ایمنی علیه کاندیدا آلبیکنس موثر باشد و یا کدام پاسخ را می‌تواندعلیه این عفونت فعال کند و یاآنکه چه دوزی منا سب‌تر است، هنوز پاسخ مناسبی داده نشده است. تاکنون مطالعات زیادی در رابطه با گیاه آلوئه ورا بومی ایران انجام نشده وگزارشات نشان می‌دهند که جغرافیا در خواص این گیاه تأثیر می‌گذارد. بدین منظور این تحقیق با هدف بررسی اثر عصاره ژل آلوئه ورا در دوزهای مختلف در مدل حیوانی و تحریک پاسخ‌های ایمنی ذاتی در بخش فعالیت حیاتی ماکروفاژها

Downloaded from journals.ajaums.ac.ir at 9:33 +0330 on Thursday February 15th 2018

بااستفاده از MTT طراحی گردید.

در سال ۱۹۸۳ آزمایش MTTبعنوان جایگزینی برای روش رادیواکتیو پیشنهاد شد. در این روش آنزیماتیک از نمکهای محلول تترازولیوم که مهمترین آنها MTT است به عنوان سوبسترای واکنش استفاده می‌شود. بوسیله این آزمایش ساده و دقیق می‌توان پاسخ سلولهای مختلف را به فاکتورهای خارجی از جمله فاکتورهای رشد، داروهای سایتوتوکسیک و سایر عوامل شیمیائی ارزیابی کرد. بطوریکه میزان فعالیت و سرعت تکثیر سلولها ممکن است تحت تاثیر هورمونها، فاکتورهای رشد، سایتوکینها و میتوژنها افزایش یافته یا تغییری نکند. همچنین تحت تاثیر بعضی از داروها و عوامل سایتوتوکسیک نظیر داروهای ضد سرطان ممکن است سلولها دچار نکروز یا آپوپتوز شده و سرعت تکثیر یا رشدشان کاهش یابد (۱۸–۱۷).

این آزمایش یک روش رنگ سنجی است که بر اساس احیا شدن و شکسته شدن کریستالهای زرد رنگ تترازولیوم با فرمول شیمیائی ۳-[۴,۵- dimethylthiazol-۲-yl]-۲,۵- diphenyl - tetrazolium bromide (MTT) بوسیله آنزیم سوکسینات دهیدروژناز و تشکیل کریستالهای آبی رنگ نامحلول انجام می‌شود. در این روش برخلاف سایر روشها مراحل شستشو وجمع اوری سلول که اغلب باعث از دست رفتن تعدادی از سلولها می‌شوند حذف شده و تمام مراحل آزمایش از ابتدای کشت سلولی تا قرائت نتایج با فتومتر، در یک میکروپلیت انجام می‌شوند لذا تکرار پذیری، دقت و حساسیت آزمایش بالا است (۱۹).

در این مطالعه با توجه به این که موش‌ها در ۵ گروه قرار گرفته بودند، جهت مقایسه این گروه‌ها با یکدیگر از آزمون ANOVA استفاده گردید.نتایج نشان داد عصاره گیاهی آلوئه ورا در حضور مایتوژن در همه دوزها باعث آفزایش معناداری در فعالیت حیاتی ماکروفاژهای موشهای Balb/c آلوده به کاندیدا شده است.

با توجه به اینکه ماکروفاژهای حیوانی در حال معمول در حالت خفته هستند و نیاز به فعال کننده دارند در این مطالعه نشان داده شد که حضور مایتوژن (لیپوپلی ساکارید باکتریایی) به عنوان فعال کننده ماکروفاژها برای تأثیر عصاره گیاه آلوئه ورا ضروری است که این نتایج با بررسی‌هایی که توسط دریسدال در سال ۱۹۹۶ و تیذارد در سال ۱۹۹۴ و اینو در سال ۱۹۹۰ و مریام در سال ۱۹۹۶ انجام گردید مطابقت دارد (۲۰).

همچنبن در آزمایشات ما، عصاره آلوئه ورا در حضور مایتوژن در مدل حیوانی بر روی فعالیت ماکروفاژها اثر افزایشی داشته که این نتایج با بررسی‌هایی که در سال ۲۰۰۹ توسط دکتر تکتاز و مطالعه دیگری که در سال ۲۰۰۶ توسط دکتر لیو انجام گردید مطابقت دارد (۲۲و ۲۱).

می‌توان گفت که عصاره گیاه آلوئه ورا در مدل حیوانی نقش مؤثری در تقویت و تحریک ماکروفاژها داشته است و با توجه به اینکه ماکروفاژها نقش مهمی در ایمنی ذاتی و سلولی در جلوگیری از عفونت داردو با توجه به نتایج سایر مطالعات به نظر می‌رسد انجام آزمایشات تکمیلی با هدف شناخت مکانیسم اثرگذاری این گیاه و همچنین تأثیر فراکشن‌های مختلف از عصاره آن در تحریک سیستم ایمنی در مدل حیوانی و در موارد انسانی ضروری است.

References

1- Pugh N., Ross SA., Elsholy MA., Pasco DS. Characterisation of Aloeride, a new high- molcular-weight polysaccharide from Aloe vera with potent immune stimulatory activity. J Agric Food Chem. 2001;49 (2): 1030-40

2- Singh GB, Atal CK. Pharmacology of an extract of salai gugal ex-Boswellia serrata new non-sterodial anti \nflamatory agents. Agents action. 1986;8: 407-412

3- Thatte UM. Ayurveda An important source of medicine. Indian J Clin Pract Medinews. 1995;5: 18

4- Ghazanfari T, Hassan ZM, Ebrahimi M. Immunomodulatory activity of a protein isolated from garlic extract on DTH. Int Immunopharmacol. 2002;2 (11): 1541-9

5- Karabinis A, Hill C, Leclercq B, Tancrede C, Baume D, et al. Risk factors for candidemia in cancer patients: a case-control Study. JClin Microbiol 1988; 26: 429-432.

6- Bross J, Talbor GH, Maislin G> Hurwits S, Strom BL. Risk factors for nosocomial candidemia: a case control study in adults without leukemia. Am JMed 1989; 87: 614-620.

7- Brassart D9 WoltzA, GolliardM, Neeser JR. In vitro inhibition of adhesion of Candida albicans clinical isolates to human buccal epithelial cells byfucalpah 1-2 Gal betabearing complex carbohydrates. Infect Immun 1991;59: 1605-1613.

8- Tharayil JG, Shanker V, Talautikar G, Mathews MS, Abraham AM, et al. Epidemiology of systemic mycoses among renal-transplant recipients India. Transplantation 2003; 75 (9): 1544-51.

9- Reynolds T., Aloes;The genus Aloe. Medicinal and Aromatic plants-Industrial Profile. s, 2004;chapter1, 6 and 13, pp: 3, 111, 311-314.

10- Linna Zhang, Ian R. Tizard, " Activation of a mouse macrophage cell line by a cemannan: The major carbohydrate fraction from Aloe vera gel", Immunopharmacology 1996, 35, 119- 128

11- Djeraba A, Quere P. In vivo macrophage activation in chickens with cemannan, a complex carbohydrate extracted from Aloe vera. International Journal of. 2000. 22. 365-372.

12- Karaca K, Sharma JM, Nordgren R. Nitric oxide production by chicken macrophages activated by Acemannan, acomplex carbohydrate extracted from Aloe vera". 1995 Mar;17 (3): 183-8

13- Zhang XF, et al. Isolation, structure elucidation, antioxidative and immunomodulatory properties of two novel dihydrocoumarins from Aloe vera. Bioorg Med Chem Lett.. 2006;16 (4): 949-53.

14- Nucci M, Colombo AL. Risk factors for break hrough candidemia. Eur. J. Clin. Microbiol Infect Dis 2002; 21: 209-211.

15- Karabinis A, Hillc, Leclerot B, Tan Crede C, Baume D, etal. Risk factors for candidemia in Cances patients: a case – control Staby. J Clin Midobisl 1988; 26: 429-432.

16- Bross J, Talbor GH, Maislin G, Hurwits S. Strom BL. Risk factors for nosocomial candidemia: acacia Control Study in adults without Leukemia. Am J Med. 1989: 87: 614-620.

17- Marks DC, Belov L, Davey MW, Davey RA, kidman AD. The MTT cell viability assay for cytotoxicity testing in multidrug-resistant human leukemic cells. Leuk. Res 1992;16 (12): 1165-1167.

18- Hayon T, Dvilansky A, Sphilberg O, Nathan I. Appraisal of the MTT-based assay as a useful tool for predicting drug chemosensitivity in leukemia. Leuk Lymphoma 2003;44 (11): 1957-1962.

19- Sladowski D, Steer s, Clothier R, Balls M. An improved MTT assay. J Immunol Methods 1993 Jan;157 (1-2): 203-7.

20- Reynolds T., Aloes;The genus Aloe. Medicinal and Aromatic plants-Industrial Profile. 2004;chapter 13, pp: 3, 111, 311-314.

21- Taktaz N, Hosseini MJ, Hasanzadeh G, Mortazavi H, Takzare A, Habibi P. Department of Anatomy, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. 2009 Jan;19 (1): 73-7.

22- Liu C, Leung MY, Koon JC, Zhu LF, Hui YZ, Yu B, Fung KP. Macrophage activation by polysaccharide biological response modifier isolated from Aloe vera L. var. chinensis (Haw.) Berg, 2006, Pub med, PMID: 16979117

Downloaded from journals.ajaums.ac.ir at 9:33 +0330 on Thursday February 15th 2018

Downloaded from journals.ajaums.ac.ir at 9:33 +0330 on Thursday February 15th 2018

Immunomodulatory effects of Aloe Vera on of the fungus Candida Albicans in animal model

*Zohreh Farahnejad[1], Tooba Ghazanfari[2], Mahtab Noorifard[3]

Received: 18 Oct 2012 Accepted: 3 Dec 2012

Abstract

Background: Natural products are important resources in herbal medicines and have been long used for prevention and treatment of many diseases. Aloe vera has been shown to modulate the immune response. Candidiasis is one of the most common fungal infections and Candida albicans has become the fourth most common cause of hospital infections. so in this article the effects of Aloe vera plant extracts on macrophage activation has evaluated.

Materials and Methods: First of all we infected the 5 groups of the mice with Candida Albicans and then allowed the Candida to activate in one week. Then the Aloe Vera extract (has) injected to mice. Then intraperitoneal macrophages of mice has got and in the end MTT test (has been) performed in order to evaluate the viability of intraperitoneal macrophages.

Results: In vivo results show that all of doses of the Aloe Vera extract 100mg/kg، 50، 20،10 significantly increased cell viability in presence of mitogen.

Conclusion: This study showed Aloe Vera extracts in the In vivo in presence of immune stimulator has an effective role in stimulating the immune system (in). In Further studies, processing such as isolation and purification of aloe vera components, are necessary to clarify the modulatory effects of aloe vera on macrophage function.

Keywords: aloe vera, Immunomodulator, Candida Albicans

1- Assistant Professor, Aja University of Medical Sciences, Dept. of Parasitology, Tehran, Iran
Tel: +98 21 85952401 E-mail: zfarahnejad@yahoo.com
2- Professor, Shahed University of Medical Sciences, Dept. of Immunology, Tehran, Iran
3- Assistant Professor, Aja University of Medical Sciences, Dept. of Infectious Disease, Tehran, Iran