صلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۲۵، شمارهٔ ۲، صفحهٔ ۲۵۲-۲٤٤ (۱۳۸۸)

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

رویا یارائی[1*]، طوبی غضنفری[2]، محسن ناصری[3]، سمیه فلاح‌نژاد[4] و مرضیه اقتداردوست[5]

۱*- نویسنده مسئول، استادیار، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی و گروه تحقیقاتی تنظیم پاسخهای ایمنی دانشگاه شاهد،
پست الکترونیک: ryaraee@yahoo.com
۲- دانشیار، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی و گروه تحقیقاتی تنظیم پاسخهای ایمنی دانشگاه شاهد
۳- استادیار، گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی و مرکز گیاهان دارویی دانشگاه شاهد
٤- دانش‌آموخته رشته پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد
۵- کارشناس، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۸٦ تاریخ اصلاح نهایی: اسفند ۱۳۸۷ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۸۸

چکیده

سیستم ایمنی در اتیولوژی و پاتوفیزیولوژی بیماریهای متعددی دخالت می‌کند. بنابراین تعدیل پاسخهای ایمنی، ازجمله پاسخهای ایمنی هومورال می‌تواند در بهبود و کنترل این بیماریها مؤثر باشد. گیاهان دارویی به‌عنوان یکی از منابع غنی ایمونومدولاتورها (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 ۸-٦ 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 تیتر آنتی‌بادی آگلوتین‌کننده سرم اندازه‌گیری شد. برای بررسی پاسخ ثانویه، موشها در پنج نوبت با تزریق SRBC ایمیونیزه 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، تیتر 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 تیتر آنتی‌بادی سرم در پاسخ هومورال اولیه در مقایسه با گروه کنترل دارو می‌شود. به این ترتیب که میانگین تیتر آنتی‌بادی در گروه کنترل،٤٤/۵۷۱ و در گروه دارو با دوز ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، ۲۷/٦ و در گروه دارو با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، ۷/۳۳ بوده است. در پاسخ ثانویه اگرچه کاهش مختصر در تیتر آنتی‌بادی در چند بار تکرار تست آگلوتیناسیون دیده شد، ولی نتایج از نظر آماری معنی‌دار نبوده است (میانگین تیتر در گروه کنترل ۲۵/٦ و در گروه دارو ۱۱/۲). میزان IgG سرم موشهای کنترل و دریافت کننده MS14 نیز اختلاف معنی‌دار از نظر آماری نداشته است (گروه کنترل ۳۷٤/۹ 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 ایمونومدولاتور بالقوه با قدرت کاهش پاسخهای IgM معرفی و در موارد بیماریهایی که پاتوژنز آنها با IgM مرتبط است بکار برد.

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

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 ازجمله 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، ۱۳۸٦) 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 ازجمله 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 ۸-٦ هفته خالص و یکسان از نظر ژنتیکی که در شرایط دما و رطوبتِ 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 و۱۰۰ 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

از دوز۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دارو استفاده شد. موشهای گروه کنترل روزانه ۱۰۰ میکرولیتر سرم فیزیولوژی به همین شیوه دریافت می‌کردند.

ایمیونیزاسیون

در بررسی ایمنی هومورال اولیه در روز شروع تجویز خوراکی، به تمامی موشها ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون ۳٪ گلبول قرمز گوسفندی به‌صورت داخل صفاقی تزریق شد (ایمیونیزاسیون برای پاسخ اولیه). در بررسی ایمنی هومورال ثانویه، سوسپانسیون ۵٪ گلبولهای قرمز گوسفند در روزهای ۱، ۲، ۳، ۵ و ۷ به‌صورت داخل صفاقی به هر دو گروه تزریق شد (علی‌محمدیان و محمودزاده نیکنام، ۱۳۷٤).

بررسی ایمنی هومورال اولیه

برای بررسی پاسخ هومورال اولیه، تیتر یا عیار آنتی‌بادیهای آگلوتینه‌کننده که در مقابل آنتی‌ژن (گلبول 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 ۹٦ خانه ته‌گرد تهیه شده (دوپلیکیت) و سوسپانسیون ۵٪ از گلبول 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، ۱۳۷٤).

بررسی ایمنی هومورال ثانویه

برای بررسی پاسخ هومورال ثانویه، میزان IgG سرم به‌عنوان معیار مهم مد نظر قرار گرفته است، البته تیتر یا عیار آنتی‌بادیهای آگلوتینه‌کننده که در مقابل آنتی‌ژن (گلبول 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 ساندویچ 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

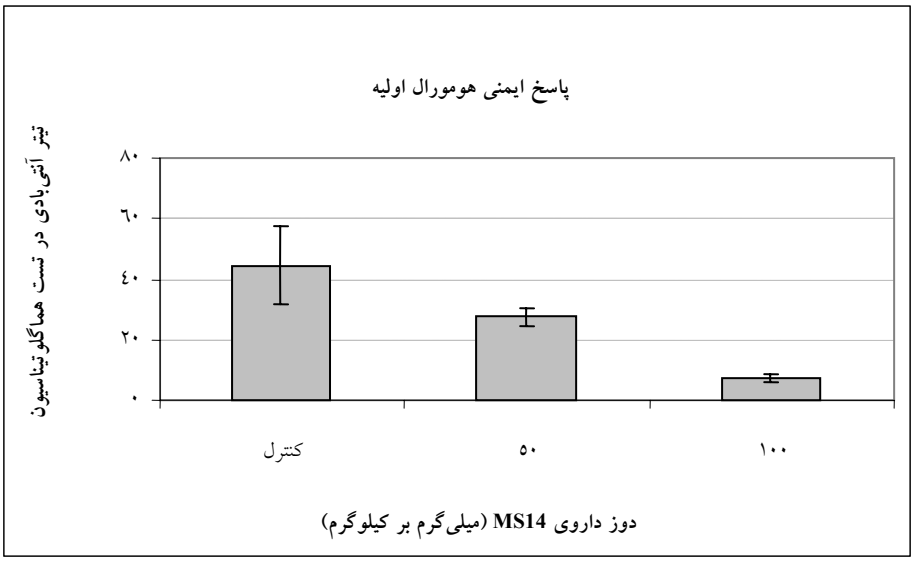
نتایج مربوط به تیتر آنتی‌بادی به‌وسیله تست مان ویتنی مورد ارزیابی آماری قرار گرفت و برای سنجش IgG با روش الایزا از آزمون تی استیودنت (T-test) استفاده شد. در هر دو تست، مقدارP کمتر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

الف- پاسخ ایمنی هومورال اولیه

در بررسی پاسخ ایمنی اولیه، میانگین تیتر آنتی‌بادی در گروه کنترل ٤٤/٥٧١±٤٨/١٢٤ و در گروه دارو با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ۲۷/٦±۹/٦۹ و در گروه دارو با دوز

۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ۷/۳۳±٤/٤٥٨ بوده است که نشان‌دهنده کاهش جدی در تیتر آنتی‌بادی آگلوتینه‌کننده در دو گروه دارو نسبت به گروه کنترل می‌باشد. این اختلاف براساس آزمون آماری مان ویتنی در گروه دارو با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با p<۰/۰۱۳ در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار است، ولی در گروه دارو ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، اختلاف مشاهده شده از نظر آماری معنی‌دار نیست (شکل ۱).



شکل ۱- میانگین تیتر آنتی‌بادی آگلوتینه‌کننده در پاسخ هومورال اولیه (تست هماگلوتیناسیون) در گروههای دارو (MS14 خوراکی با دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و گروه کنترل

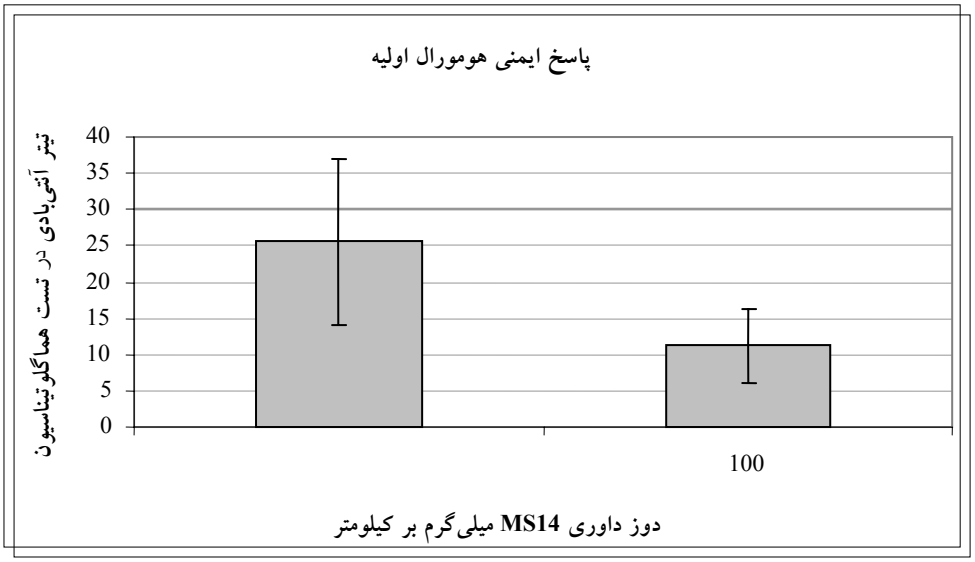
ب- پاسخ ایمنی هومورال ثانویه

تست هماگلوتیناسیون

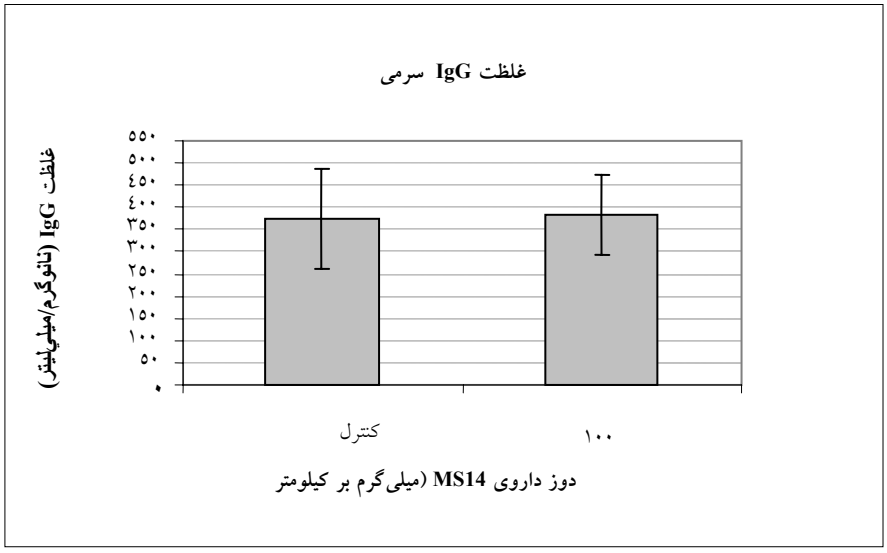
در پاسخ ایمنی ثانویه میانگین تیتر آنتی‌بادی در گروه کنترل ۱۱/٤۷±۲۵/٦ و در گروه دارو ۵/۰۲±۱۱/۲ بوده است. نتایج با آزمون آماری مان ویتنی آنالیز شد و مشاهده شد که این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نیست (در هر بار تکرار تست نیز نتایج مشابهی بدست آمد) (شکل ۲).

تست الایزا جهت سنجش IgG سرم

میانگین غلظت IgG سرم در تست الایزا در گروه کنترل ۵۲/٤۳±۳۷٤/۸٦ و در گروه دارو ٤۵/۳±۳۸۲/۰۵ نانوگرم در میلی‌لیتر بود. نتایج با آزمون تی استیودنت آنالیز شد و مشاهده شد که اختلاف میانگین غلظت در دو گروه از لحاظ آماری معنی‌دار نمی‌باشد. می‌توان گفت که میزان IgG ضد گلبول قرمز گوسفندی سرم در اثر خوراندن دارو با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تغییر نکرده است (شکل ۳).



شکل ۲- میانگین تیتر آنتی‌بادی آگلوتینه‌کننده در پاسخ هومورال ثانویه (تست هماگلوتیناسیون) در دو گروه دارو (MS14 خوراکی با دوز ۱۰۰mg/kg) و گروه کنترل



شکل ۳- میانگین غلظت IgG سرم (نانوگرم بر میلی‌لیتر) در پاسخ هومورال ثانویه در دو گروه دارو (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و گروه کنترل

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

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 تیتر آنتی‌بادی آگلوتینه‌کننده در گروه کنترل بیش از ٦ 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، ۱۳۷٤)، 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).

براساس 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 ایمونوگلبولین‌های 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 کاهش مشاهده شده در پدیده هماگلوتیناسیون مربوط به کاهش IgM باشد، به‌ویژه که این کاهش در پاسخ اولیه نیز به‌طور 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، ازجمله مطالعه‌ای که در آن نشان داده شد مصرف خوراکی و تزریق داخل صفاقی *Plantago ovata* موجب کاهش قابل ملاحظه در تیتر آنتی‌بادی هماگلوتینین ضد گلبول قرمز گوسفندی شده است، به‌خصوص که این کاهش در پاسخ ایمنی اولیه دیده شد (Rezaeipoor *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 کاژانوس ایندیکوس (*Cajanus indicus*) نیز اثر تقویت کنندگی سیستم ایمنی هومورال و افزایش قابل ملاحظه در تیتر 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 اختصاصی‌تر است. با توجه به این که MS14 جهت درمان بیماران مبتلا به MS پیشنهاد شده است (ناصری و همکاران، ۱۳۸٦)، یادآوری این نکته جالب به نظر می‌رسد که هر چند IgG، ایمونوگلبولین 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.*,

2006؛ Villar *et al.*, 2003). حتی گزارش شده است که بر سطح الیگودندروسیتها و پیش‌سازهای آنها و نیز روی میلین، گیرنده IgM به نام $Fc_{\alpha/\mu}R$ 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 اتو ایمیون 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 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.، قفقازی، ت. و احمدی، ا.، ۱۳۸۳. بررسی سمیت تحت حاد داروی طبیعی MS14 در موش صحرایی. دوماهنامه علمی- پژوهشی دانشگاه شاهد، ۵۲(۱۱): ۱٤-۱.
- 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.، ۱۳۷٤. راهنمای عملی ایمونولوژی آزمایشگاهی. (ترجمه)، انتشارات نگاره، تهران، ٦٦۳ 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): ٦٦-۵۳.
- ناصری، م.، احمدی، ا. و قره‌گزلی، ک.، ۱۳۸٦. بررسی سم‌شناسی بالینی فرآورده طبیعی MS14 در بیماران مبتلا به مولتیپل

اسکلروزیس. دوماهنامه علمی- پژوهشی دانشگاه شاهد، ۶۸(۱٤): ٦٥-٥٩.

- اقتداردوست، م.، یارائی، ر.، غضنفری، ط. و ناصری، م.، ۱۳۸۸. تأثیر داروی MS14 بر سپسیس کاندیدائی در موش Balb/C. فصلنامه بیماریهای عفونی و گرمسیری، ٤٤(۱٤)، 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 Bhattachargy, 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 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, Lippncott Williams & wilkins, 1271p.
- Rudick, R.A. and Goodkin, D.E., 1999. Multiple sclerosis therapeutic. London, Martin Dunits, 592p.
- Saveliev, A.N., Ivanen, D.R., Kulminskaya, A.A., Ershova, N.A., Kanyshkova, T.G. and Buneva, V.N., 2003. Amylolytic 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.

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

R. Yaraee[1*], T. Ghazanfari[2], M. Naseri[3], S. Fallahnejad[4] and M. Eghtedardoost[4]

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.