

## بررسی اثر ایمونو مدولاتوری عصاره گیاه آلوئه ورا و تأثیر آن بر کاندیدا آلبیکنس در مدل حیوانی

\*زهرا فرح‌نژاد<sup>۱</sup>، طوبی غضنفری<sup>۲</sup>، مهتاب نوری<sup>۳</sup>

تاریخ اعلام قبولی مقاله: ۹۱/۹/۱۳

تاریخ اعلام وصول: ۹۱/۶/۲۸

### 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 و تنظیم 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 بیگانه‌خوارهایی 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 و تحریک ماکروفاژها در مقابل کاندیدا آلبیکنس و در مدل موشی طراحی گردید.

**مواد و روش‌ها:** مطالعه حاضر یک مطالعه آزمایشگاهی (experimental) میباشد و در مدل حیوانی کار شده است. در ابتدا 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 ۱۰، ۲۰۵۰، ۱۰۰ mg/kg 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 در حضور مایتوزن در موشهای Balb/c آلوده به کاندیدا در همه‌ی دوزهای ۱۰، ۲۰۵۰، ۱۰۰ mg/kg شده و این افزایش نسبت به گروه کنترل معنی‌دار بوده است ( $P < 0/001$ ).

**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

ده است که شامل اثرات متعددی است و باعث شده که ژل این گیاه در صنایع دارویی و غذایی کاربردهای فراوانی داشته باشد محصولات دارویی آن بصورت کرم، پماد، شربت، ژل و محصولات غذایی

در سالهای اخیر بررسی‌های فراوانی در مورد خواص دارویی ژل آلوئه ورا انجام شده است و نتایج بسیار ارزنده‌ای را حاصل نمود

۱- استادیار، ایران، تهران، دانشگاه علوم پزشکی آجا، دانشکده پزشکی، گروه انگل و قارچ شناسی

تلفن: ۰۲۱-۸۵۹۵۲۴۰۱ آدرس الکترونیک: zfarahnejad@yahoo.com

۲- استادیار، ایران، تهران، دانشگاه شاهد، دانشکده پزشکی، گروه ایمونولوژی

۳- استادیار، ایران، تهران، دانشگاه علوم پزشکی آجا، دانشکده پزشکی، گروه بیماریهای عفونی

ایمونولوژیکی آن هستند (۹ و ۱۰). نشان داده شده است عصاره الوئه و کربوهیدراتهای آن می‌تواند ماکروفاژها را فعال کند و ماکروفاژهای فعال شده نیتریک اکساید تولید می‌کند (۱۲ و ۱۱). دو مشتق تازه دی هیدروکومارین ۲ که از الوئه ورا جدا شده‌اند خاصیت ایمونومدولاتوری دارند و فعالیت فاگوسیتوزی را افزایش می‌دهند همچنین بر انیونهای سوپراکسیدرا 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 آنها جهت شناسایی دقیق مواد ایمونومدولاتور استفاده کاربردی از آن علیه عوامل عفونی صورت نگرفته است و با توجه به نقش تنظیم و تصحیح پاسخ‌های فاگوسیتوزیس در کاهش نرخ وقوع عفونتهای قارچی به ویژه کاندیدا بازیس سیستمیک در بیماریهای صعب‌العلاج و مزمن مانند سرطان و قندو بیماران ایمونوساپرس و دارای نقص سیستم ایمنی اولیه لزوم استفاده از یک ایمونومدولاتور در جهت ممانعت از گسترش بیماری احساس گردید.

بدین منظور این مطالعه باهدف دستیابی به یک ماده ایمونومدولاتور مناسب از گیاه الوئه 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 الوئه ورا بر فعالیت ضدکاندیدایی ماکروفاژهای صفاقی موش در مدل حیوانی (In vivo) به شرح زیر مورد بررسی قرار 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.

آن شامل انواع نوشابه‌ها و... به صورت روتین مورد استفاده وسیع در دنیا قرار گیرد. یکی از اثرات ذکر شده برای ژل گیاه الوئه 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 پارامترها می‌تواند به عنوان شاخصی از وضعیت بیماری تلقی گردند (۲، ۳). 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 تقویت پاسخ‌های ایمنی و تنظیم این پاسخ‌ها جستجو می‌کنند انواع عفونتهای کاندیدایی می‌باشد. کاندیدا 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 (۵-۷).

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

یکی از این ترکیبات عصاره‌ای است که از گیاه الوئه 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 و مهار سیستم ایمنی و همچنین خواص ضدالتهابی آن به ژل این گیاه نسبت داده می‌شود (۹). کربوهیدراتهای ذخیره‌ای ژل مانند مانان استیله شده یا آسمانان همچنین پکتین موجود در مزوفیل دیواره سلولها مسئول خواص

### تهیه سوش کاندیدا آلبیکنس

در این مطالعه از سوش کاندیدا آلبیکنس PTCC که از سازمان پژوهش‌های علمی - صنعتی خریداری شده بود استفاده گردید. در ابتدا این سوش روی محیط سابورودکستروز آگار ویژه، رشد قارچها تازه گردید و بعد از ۴۸ ساعت این سوش از محیط جمع اوری و شستشوداده شد. سپس با استفاده از لام نئوبار شمارش 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 آمده، 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 ۵۰ mg/kg، ۲۰ mg/kg و ۱۰ mg/kg 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 نمونه برداری 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 ۱۵۰۰ rpm در دمای ۸ درجه سانتیگراد سانتریفوژ 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 ۱۵۰۰ rpm در دمای ۸ درجه سانتیگراد سانتریفوژ 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 (از کمپانی Brand) تعداد

### 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 و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره گیاهی آلوئه‌ورا بر فعالیت حیاتی ماکروفاژهای موشهای Balb/c آلوده به کاندیدا در حضور مایتوزن و همچنین انحراف معیار و مقدار P با استفاده از آزمون 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 مختلف ۱۰، ۲۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره گیاهی آلوئه‌ورا بر فعالیت حیاتی ماکروفاژهای موشهای Balb/c آلوده به کاندیدا در حضور مایتوزن رسم گردیده است.

این نمودار نشان می‌دهد عصاره آبی گیاه آلوئه‌ورا و همه غلظت‌های مختلف آن بر میزان فعالیت حیاتی ماکروفاژها در حضور مایتوزن و در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار بوده است و حاکی از بالاترین میزان فعالیت حیاتی ماکروفاژها در مواجهه با عصاره گیاه آلوئه‌ورا در دوز ۱۰۰ mg/kg است ( $P < 0/001$ ). دوز ۱۰۰ mg/kg این عصاره نیز در برابر دوزهای ۲۰ mg/kg و ۱۰ mg/kg معنی‌دار گردید ( $P < 0/05$ ). ولی این نتایج در برابر دوز ۵۰ mg/kg معنی‌دار نبوده است ( $P > 0/05$ ). نتایج مقایسه اثر دوز ۵۰ mg/kg این عصاره با سایر دوزها نشان می‌دهد دوز ۵۰ mg/kg در مقایسه با دوزهای ۲۰ mg/kg و ۱۰ mg/kg معنی‌دار نبوده است ( $P > 0/05$ ) ولی در مقایسه با دوز ۱۰۰ mg/kg

جدول ۲- اثر عصاره گیاه آلوئه‌ورا بر فعالیت ماکروفاژهای صفاقی در حضور مایتوزن

	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

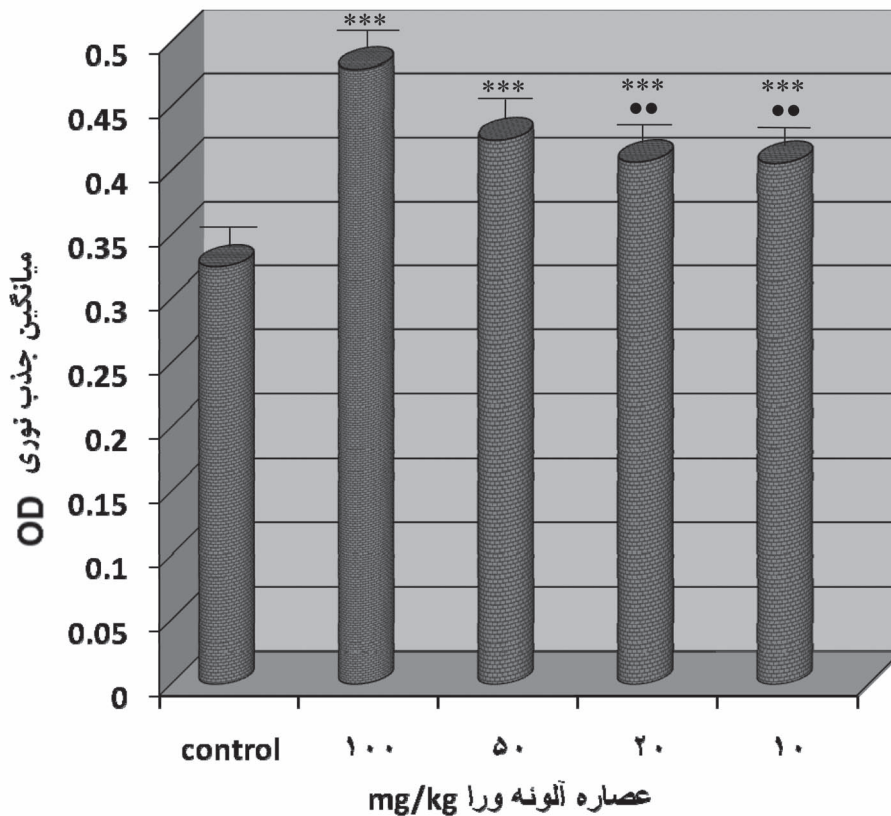
ماکروفاژهای بدست آمده در ۲cc محیط کشت شمارش و حجمی که شامل تعداد  $2 \times 10^5$  ماکروفاژ می‌باشد برای هر موش محاسبه شد. جهت کشت ماکروفاژها از پلیت ۹۶ خانه استریل کشت سلول (از کمپانی Nunc) استفاده شد. برای هر موش ۳ خانه در نظر گرفته شد و در هر خانه تعداد  $2 \times 10^5$  ماکروفاژ کشت داده شد. پلیتها در این مرحله در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد دارای  $CO_2$  ۵٪ قرار داده شد. جهت جدا کردن لنفوسیت‌های همراه ماکروفاژها ۱-۲ 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  $100 \mu$  رسانده و سپس به چاهکها مایتوزن LPS ( $\sigma$ ) اضافه شد و غلظت نهایی آن در هر چاهک به  $10 \text{ mg}/\mu$  رسید. پلیتها مجدداً در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد دارای  $CO_2$  ۵٪ قرار داده شد.

### آزمایش متیل تiazون 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  $100 \mu$  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.



نمودار ۱- بررسی اثر عصاره ابی الوئه ورا بر فعالیت ماکروفاژهای صفاقی در حضور مایتوز  
 \*\*\*: مقایسه غلظت‌های مختلف عصاره با گروه کنترل را نشان می‌دهد و ( $P < 0/001$ ) است.  
 \*\*: مقایسه بین گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد و ( $P < 0/05$ )

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 (۱۴-۱۶).

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 می‌تواند علیه این عفونت فعال کند و یا آنکه چه دوزی مناسب‌تر است، هنوز پاسخ مناسبی داده نشده است. تاکنون مطالعات زیادی در رابطه با گیاه آلوئه ورا بومی ایران انجام نشده و گزارشات 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

معنی دار بوده است ( $P < 0/05$ ) همچنین نتایج مقایسه اثر دوز mg/20 این عصاره با سایر دوزها نیز معنی دار نبوده است ( $P > 0/05$ )

### بحث و نتیجه‌گیری

کاندیدیا یزیس 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 (۱ و ۲).

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 کاندیدیومی و کاندیدیازیس منتشره را

بودند، جهت مقایسه این گروه‌ها با یکدیگر از آزمون ANOVA استفاده گردید. نتایج نشان داد عصاره گیاهی آلوئه ورا در حضور مایتوزن در همه دوزها باعث افزایش 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 مایتوزن (لیوپولی 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 تیزارد در سال ۱۹۹۴ و اینو در سال ۱۹۹۰ و مریام در سال ۱۹۹۶ انجام گردید مطابقت دارد (۲۰).

همچنین در آزمایشات ما، عصاره آلوئه ورا در حضور مایتوزن 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 (۲۱ و ۲۲).

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 دارد و 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.

با استفاده از MTT طراحی گردید.

در سال ۱۹۸۳ آزمایش MTT بعنوان 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 میتوزنها 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 و جمع 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

## References

- 1- Pugh N., Ross SA., Elsholy MA., Pasco DS. Characterisation of Aloeride, a new high- molecular-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-steroidal anti-inflammatory 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. J Clin Microbiol 1988; 26: 429-432.
- 6- Bross J, Talbor GH, Maislin G> Hurwitz S, Strom BL. Risk factors for nosocomial candidemia: a case control study in adults without leukemia. Am J Med 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 by fucalpalh 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 through 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 Cancas 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, Sphillberg 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

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

\*Zohreh Farahnejad<sup>1</sup>, Tooba Ghazanfari<sup>2</sup>, Mahtab Noorifard<sup>3</sup>

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