ORIGINAL ARTICLE

Anti-inflammatory Effect of Ethanolic Extract of Euphorbia myrsinites in Lipopolysaccharide-induced Septic Shock in Mice

Somayyeh Ahmadi Afshar[1],
Yaser.Jafari Khataylou[2]

[1] PhD Candidate in Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Urmia, Urmia, Iran
[2.] Assistant Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran

(Received August 21, 2019 ; Accepted December 29, 2019)

Abstract

Background and purpose: Many herbs including *Euphorbia* have immunomodulatory properties. The aim of this study was to evaluate the immunomodulatory effects of the ethanolic extract of *E.myrsinites*.

Materials and methods: In this experimental study, 40 Swiss albino male mice were randomly divided into 4 groups. Group A included healthy mice, group B was induced by lipopolysaccharide (LPS), group C received the ethanolic extract of *E.myrsinites* 7 days before LPS induction. Group D received the plant extract at the same time with LPS induction. Then, blood samples were collected (2 and 6 h after LPS induction) and IL-4, IL-10, TNF-α, and IFN-γ and nitric oxide production were evaluated.

Results: Two hours after LPS induction, the levels of IL-4 and IL-10 in groups C and D increased significantly and IFN-γ level decreased significantly compared to those in group B (P=0.0425). But, six hours after LPS induction, TNF-α level significantly increased in group B compared to that in groups C and D (P=0.0473), but IL-4 and IL-10 levels increased significantly in groups C and D compared to those in group B (P=0.0411). The levels of nitric oxide, 2 and 6 hours after LPS induction, significantly decreased in groups C and D compared to those in group B (P=0.0421).

Conclusion: *E.myrsinites* ethanolic extract has immunomodulatory effects and could be used as an effective drug in inflammatory diseases such as septic shock through reduced production of pro-inflammatory cytokines.

Keywords: *Euphorbia myrsinitis*, pro-inflammatory/anti-inflammatory cytokines, LPS, mice, nitric oxide

J Mazandaran Univ Med Sci 2020; 29 (181): 12-25 (Persian).

*** Corresponding Author: Yaser.Jafari Khataylou-** Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran
(E-mail: y.jafari@tabrizu.ac.ir)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-10]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و نهم شماره 181 بهمن سال 1398 (25-12)

اثر ضد التهابی عصاره اتانولی گیاه فرفیون (*Myrsinites euphorbia*) در شوک سپتیک القاء شده با لیپوپلی ساکارید در موش های سوری

سمیه احمدی افشار[1]

یاسر جعفری خطایلو[2]

چکیده

سابقه و هدف: بسیاری از گیاهان دارای خواص ایمونومدولاتوری هستند که از این میان می‌توان جنس Euphorbia را به عنوان یک گیاه تعدیل کننده سیستم ایمنی نام برد. هدف از این مطالعه ارزیابی اثرات ضد التهابی عصاره اتانولی گیاه فرفیون (*E.myrsinites*) بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه ی تجربی، 40 موش نژاد Swiss albino به 4 گروه مساوی تقسیم شدند. گروه A (گروه کنترل)، گروه B (تحت تجویز با لیپوپلی ساکارید باکتریایی یا LPS) و گروه C (دریافت عصاره اتانولی گیاه E.Myrsinite، قبل از تجویز LPS) گروه D (دریافت عصاره اتانولی گیاه مورد نظر همراه با تجویز LPS). در نهایت از موش‌ها خونگیری شد (2 و 6 ساعت پس از تجویز LPS) و به بررسی سایتوکاین‌های IFN-γ و TNF-α، IL-4 و IL-10 و نیتریک اکساید پرداخته شد.

یافته‌ها: 2 ساعت بعد از تجویز LPS، میزان IL-4 و IL-10 در گروه C و D نسبت به گروه B افزایش معنی‌دار و میزان IFN-γ در این گروه‌ها کاهش معنی‌دار داشت (P=0/0425)، اما 6 ساعت بعد از تجویز LPS، میزان TNF-α در گروه B نسبت به گروه C و D افزایش معنی‌دار داشت (P=0/0473) ولی در ارتباط با میزان IL-4 و IL-10 نتیجه عکس بود. سطح نیتریک اکساید، 2 و 6 ساعت پس از تجویز LPS، در موش‌های گروه C و D نسبت به گروه B کاهش معنی‌دار داشت (P=0/0421).

استنتاج: عصاره اتانولی گیاه *E.myrsinites* دارای اثرات تعدیل‌کننده سیستم ایمنی است و از طریق کاهش تولید سایتوکاین‌های پیش التهابی می‌تواند به عنوان داروی موثر در درمان بیماری‌های التهابی چون شوک سپتیک استفاده شود.

واژه های کلیدی: *گیاه فرفیون*، سایتوکاین‌های پیش التهابی/ ضد التهابی، لیپو پلی ساکارید، موش، نیتریک اکساید.

مقدمه

لیپوپلی ساکارید باکتریایی (Lipopolysaccharides: LPS)، یک اندوتوکسین ضدالتهابی است که در پوشش بیرونی همه باکتری‌های گرم منفی وجود دارد. هنگامی که باکتری‌های گرم منفی به بدن راه یافته و در میزبان تکثیر می‌شوند، LPS آن‌ها به داخل گردش خون آزاد شده و در خون توسط انواع مختلفی از سلول‌های در گردش تشخیص داده می‌شود که این امر موجب القاء سیتوکاین‌های پیش التهابی

مولف مسئول: یاسر جعفری خطایلو- تبریز: دانشگاه تبریز، دانشکده دامپزشکی E-mail: y.jafari@tabrizu.ac.ir

1. دانشجوی دکتری ایمونولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

2. استادیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

تاریخ دریافت : 1398/5/30 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات :1398/6/3 تاریخ تصویب : 1398/10/8

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-10]

وابسته به NF-κB مانند TNF-α، IL-1، پروستاگلاندین‌ها و اکسید نیتریک می‌شود(3-1) و این سیتوکاین‌ها و کموکاین‌ها پاسخ میزبان به عفونت باکتریایی را تقویت می‌کنند(5،4). با این حال آزادسازی بیش از حد سیتوکاین‌ها می‌تواند عواقب زیان‌آوری را برای بدن داشته باشد. به عنوان مثال، شوک سپتیک ناشی از LPS باعث تولید ذرات فعال اکسیژن(ROS) و اختلال عملکرد چندین ارگان می‌شود(2) که اختلال عملکرد در میوکارد قلب علت اصلی مرگ و میر این موارد است(6). TNF-α اولین سیتوکاین تولید شده در مقادیر زیاد، در پاسخ به LPS می‌باشد و علت اصلی بسیاری از اثرات LPS نیز تولید همین سایتوکاین است(۸،۷). مطالعات اخیر نشان داده است که در طی شوک سپتیک و آسیب‌های مرتبط با آن، مقدار زیادی از سیتوکاین‌ها به ویژه TNF-α، IL-1β، IFN-γ، MCP1 و Cox-2 تولید می‌شود(6). از جمله مولکول‌های واسط موثر دیگر تولید نیتریک اکساید توسط نیتریک اکساید سنتتاز است که در شرایط پاتولوژیک از جمله اندوتوکسمی ایجاد می‌شودو باعث عوارض مختلف از جمله نقص گردش خون، کاهش فشارخون و شوک سپتیک می‌شود(7). با وجود پیشرفت‌های قابل توجه در درمان ضد میکروبی، مرگ و میر در سپسیس ناشی از LPS همچنان در حدود 40 درصد است که منعکس‌کننده گزینه‌های محدود درمان می‌باشد(8). امروزه مطالعات مختلفی در مورد درمان شوک سپتیک صورت گرفته است(10،9). تعدیل پاسخ‌های ایمنی از طریق تحریک یا مهار کردن سیستم ایمنی به بهبود وضعیت بیماری کمک می‌کند و داروهایی که باعث تحریک یا مهار سیستم ایمنی در مدل‌های تجربی بیماری‌ها می‌شوند مواد تعدیل‌گر سیستم ایمنی یا ایمونومدولاتور نامیده می‌شوند، از سویی این مواد می‌توانند مکانیسم‌های دفاعی میزبان را در زمان نقص سیستم ایمنی بهبود بخشند. این مواد شامل میوه‌ها، سبزیجات خام، جلبک‌ها و غیره هستند که خیلی بهتر از درمان‌های معمول شیمیایی عمل می‌کنند(2،1). مطالعات مختلف نشان می‌دهد که محصولات طبیعی مانند گیاهان نقش مهمی در سلامتی انسان در پیشگیری و درمان شرایط التهابی دارند. از این جمله، محصولات حاصل از ترپنوئیدها (Terpenoids) هستند که در گیاهان، حشرات، میکروب‌ها و ارگانیسم‌های دریایی وجود دارند. این محصولات نقش‌های مختلفی از جمله اثرات ضدمیکروبی، ضد التهابی و حتی ضدتوموری دارند و مشخص شده است که عملکرد ترپنوئیدها و بسیاری از عصاره‌های گیاهی از طریق تاثیری است که در فعال‌سازی فاکتور نسخه‌برداری موثر در التهاب یا همان فاکتور نسخه‌برداری هسته‌ای کاپا B (NF-κB) دارند. NF-κB نقش مهمی در تنظیم پاسخ‌های التهابی و ایمنی دارد و نتایج حاصل از تحقیقات مختلف نشان می‌دهد که محصولات حاصل از گیاهان از طریق همین فاکتور نسخه‌برداری و مهار فعال‌سازی آن می‌توانند در خیلی از بیماری‌ها نقش درمانی خود را ایفا کنند(3).

محصولات گیاهی از طریق القاء فعال‌سازی نوتروفیل، چسبندگی و مهاجرت آن هم می‌توانند نقش‌های ضد التهابی خود را ایفا کنند(4). از طرفی بسیاری از گیاهان از طریق تاثیرات آنتی‌اکسیدانی چه در درون‌تنی و چه در برون تنی نقش‌های ایمونومدولاتوری خود را نشان می‌دهند(5). از طرف دیگر برخی از محصولات گیاهی چه در درون‌تنی و چه در برون‌تنی از طریق تاثیراتی که در پروفایل سایتوکاینی بدن دارند می‌توانند اثرات درمانی خود را اعمال کنند(10،9). امروزه تعدیل پاسخ‌های ایمنی توسط مواد بیواکتیو که منجر به بهبود وضعیت بسیاری از بیماری‌ها می‌شود از موضوعات جدید تحقیقی بسیاری از دانشمندان می‌باشد و در این راستا بسیاری از محققین به طور گسترده از محصولات گیاهی که دارای خواص تعدیل‌کننده سیستم ایمنی می‌باشند استفاده می‌کنند(13-11). از میان گیاهان تعدیل‌کننده سیستم ایمنی جنس Euphorbia (که شامل بیش از 91 گونه است) وجود دارند که عصاره حاصل از این گیاه دارای فعالیت‌های بیولوژیکی

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-10]

و بیواکتیوی می‌باشد(14). با توجه به غلظت بالای ترکیبات ترپنوئید (terpenoid) در گیاهان خانواده *Euphorbiaceae* ممکن است برخی از گونه‌ها دارای خواص دارویی باشند که می‌توانند برای اهداف درمانی مورد بهره‌برداری قرار گیرند(9،15). گونه *Euphorbia myrsinitis* (فرفیون) از این جنس، گیاه کوچکی است که در گذشته توسط بومیان مناطق شمالی و مرکزی ایران به عنوان گیاه دارویی استفاده می‌شده است(10) و محصولات حاصل از عصاره این گیاه فعالیت‌های ضد التهابی، بیواکتیوی و تعدیل‌کنندگی سیستم ایمنی را دارا می‌باشد. این گیاه و عصاره حاصل از آن در خیلی از حالت‌های التهابی و عفونی چه در دورن‌تنی و چه در برون‌تنی می‌تواند اثرات ضد التهابی و درمانی داشته باشد(3،16،17،18) و این اثرات را از طریق کاهش تولید نیتریک اکساید(19) وکاهش بیان مولکول‌های چسبان بین سلولی و کاهش فعالیت فاکتور نسخه‌برداری NF-κB (20) انجام می‌دهد. از دیگر فعالیت‌های ضدالتهابی جنس *Euphorbia* تاثیراتی است که در پروفایل سایتوکاین‌ها دارد و می‌تواند باعث افزایش سایتوکاین‌های ضدالتهابی مثل IL-4 و IL-5 و کاهش سایتوکاین‌های پیش‌التهابی مثل IFN-γ و TNF-α در سرم موش‌های مبتلا به شوک سپتیک تحت تجویز با عصاره اتانولی این گیاه شود(21). از حالت‌های التهابی که می‌توان اثرات ایمونومدولاتوری عصاره گیاه را در آن بررسی کرد، التهاب ایجاد شده توسط تجویز لیپوپلی ساکارید (LPS) به موش‌های آزمایشگاهی می‌باشد. تحقیقات نشان می‌دهد تجویز LPS به صورت داخل صفاقی در موش‌ها باعث افزایش سایتوکاین‌های پیش‌التهابی و کاهش سایتوکاین‌های ضد التهابی می‌شود(22). لذا هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثرات ایمونومدولاتوری عصاره گیاه مورد نظر از طریق بررسی میزان سایتوکاین‌های التهابی و ضدالتهابی و میزان تولید نیتریک اکساید در سرم خون موش‌های تحت تجویز با LPS، می‌باشد.

مواد و روش ها

عصاره گیری از گیاه

در این مطالعه ی تجربی *Euphorbia myrsinites* از اطراف شهر مراغه در ایران جمع‌آوری شد و در هرباریوم دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تبریز تأیید شد (Voucher Number #8512). بخش هوایی *E. myrsinites* به خوبی شسته شده و در سایه خشک شد. برای عصاره‌گیری از اتانول 96 درجه استفاده شد. 25 گرم خوشه خشک شده *E. myrsinites* در 250 میلی‌لیتر اتانول غوطه ور شده و در دمای اتاق به مدت 24 ساعت باقی ماند. عصاره از طریق کاغذ فیلتر Whatman No. 1 فیلتر گردید و در نهایت حلال به طور کامل از طریق تبخیر در خلاء حذف شد(23).

حیوانات مورد آزمایش

جمعیت مورد مطالعه، شامل موش‌های نر نژاد swiss albino با وزن 30-25 گرم بود که از مرکز نگهداری و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز خریداری شده و به‌طور تصادفی در 4 گروه تقسیم شدند (هر گروه شامل 10 سر موش). گروه A شامل 10 عدد موش سالم بود که فقط نرمال سالین به آن‌ها تجویز شد. گروه B شامل 10 عدد موش‌هایی بود که تحت تجویز LPS (Sigma,Germany) با دوز 0/75 میلی‌گرم به ازای هر حیوان به صورت داخل صفاقی قرار گرفتند(22). گروه C شامل 10عدد موش‌هایی بود که از 7 روز قبل از تجویز LPS هر 24 ساعت عصاره اتانولی گیاه *Euphorbia myrsinites* با دوز 5 میلی‌گرم به ازای هر حیوان(24) به صورت داخل صفاقی به آن‌ها تجویز شد. گروه D شامل 10 عدد موش‌هایی بود که عصاره اتانولی گیاه مورد نظر را همراه با تجویز LPS به تعداد چهار دوز هر 2 ساعت دریافت کردند. هر گروه از موش‌ها در قفس‌های مجزا و تمیز در اتاقی با دمای ثابت 25 درجه سانتی‌گراد و سیکل 12 ساعته روشنایی، تاریکی نگهداری می شدند و به مقدار کافی به آب و

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-10]

غذا دسترسی داشتند. مطالعات انجام گرفته بر روی موش‌ها تحت تایید کمیته اخلاق دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز می‌باشد (کد D/R-110-2016).

خون گیری از موش ها

خون‌گیری از ورید دمی موش‌های مقید شده با استفاده از سرنگ انسولینی 2 و 6 ساعت بعد از تجویز LPS انجام شد و میزان سایتوکاین‌های TNF-α، IFN-γ ، IL-4، IL-10 موجود در نمونه‌های سرم خون موش‌ها با استفاده ازکیت تجربی الایزا (Bender Med Co., Austria)، اندازه گیری شد.

سنجش سایتوکاین ها در سرم

سنجش هر یک ازسایتوکاین‌های TNF-α، IFN-γ، IL-4، IL-10 به صورت جداگانه و به شیوه الایزای ساندویچی صورت گرفت که به دلیل مشابهت فرآیند کار به صورت یکجا توضیح داده می‌شود. قبل از آغاز کار، لازم بود که برخی از محلول‌ها به شرح زیر تهیه شود:

الف) بافر شست و شو (20X): قبل از شروع کار با استفاده از آب دیونیزه محلول 1X آن تهیه شد.

ب) بافر سنجش (Assay buffer): استوک آن همانند بافر قبلی به صورت 20X بوده که با استفاده از آب دیونیزه محلول 1X آن تهیه شد.

ج) پادتن ثانویه کنژوگه با بیوتین که قبل از مصرف به نسبت 1 به 100 با Assay buffer رقیق می گردد.

د) کنژوگه استرپ آویدین به آنزیم پراکسیداز ترب کوهی (HRP) که همانند مرحله (ج) آماده می‌شود.

1- برای هر نمونه دو خانه در نظر گرفته شد و یک جفت خانه به عنوان شاهد Blank و هفت جفت خانه نیز برای نمونه استاندارد در نظر گرفته شد. در ابتدا چاهک‌های پلیت دو بار با بافر شست و شو و هر بار با حجم تقریبی 400µl، شسته شدند. قبل از برگرداندن و تخلیه پلیت‌ها به مدت 10 تا 15 ثانیه فرصت داده شد و سپس با دستمال کاغذی آب اضافی پلیت گرفته شد.

2- رقت‌های استاندارد در ارتباط با سنجش هر یک از سایتوکین‌ها، در چاهک‌های در نظر گرفته تهیه شد. بدین منظور به کلیه هفت جفت چاهک در نظر گرفته شده 225 µl از رقیق‌کننده نمونه (sample diluents) افزوده شد. از محلول استوک استاندارد سایتوکین مد نظر، 225 µl به هر یک چاهک‌های اول افزوده شده و خوب با محتوی چاهک چندین بار مخلوط شد. سپس 225 µl از این مخلوط به چاهک دوم افزوده و کار به همین صورت ادامه یافت تا در نهایت از چاهک هفتم 225 µl از مخلوط به دور ریخته شد.

3- نمونه‌های مورد آزمایش (مایع رویی کشت سلول‌های طحالی)، به میزان 50µl به چاهک‌های مورد نظر افزوده شد. به دنبال آن به هر کدام از این چاهک‌ها بافر رقیق‌کننده به میزان 50µl اضافه شد و با نمونه مورد آزمایش مخلوط گردید. به چاهک‌های مربوط به بلانک 100µl بافر رقیق‌کننده اضافه شد.

4- در مرحله بعد به همه چاهک‌ها 50µl از پادتن ثانویه کنژوگه با بیوتین (1x) اضافه شد، سپس سطح پلیت‌ها پوشانیده شد و به مدت 2 ساعت در حرارت اتاق انکوبه گردیدند.

5- پس از طی این مدت پلیت‌ها سه بار همانند مرحله اول با بافر شستشو شسته شدند.

6- به کلیه چاهک‌ها 100µl از محلول استرپ آویدین HRP (X1) اضافه شد و پس از پوشانیدن سطح پلیت‌ها به مدت یک ساعت دیگر در حرارت اتاق انکوبه شدند.

7- همانند مرحله اول پلیت‌ها سه بار شسته شده و بلافاصله به آن‌ها 100µl از سوبسترای آنزیم HRP (تترا متیل بنزیدین، TMB) افزوده شد. بار دیگر سطح پلیت‌ها پوشیده شد و به حدود ده دقیقه در حرارت اتاق انکوبه شدند. شدت رنگ ایجاد شده در طول موج 620nm توسط الایزا نگار ارزیابی شده و به محض این‌که استاندارد شماره 1، جذب نوری در حد 0/9 الی 0/95 را نشان داد، ادامه واکنش توسط افزودن 100µl از

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-10]

محلول 1مولار اسید فسفریک متوقف شد و بلافاصله پلیت‌ها توسط دستگاه الایزا نگار و با طول موج 450nm خوانده شد.

8- متوسط OD به‌دست آمده محاسبه و منحنی استاندارد بر روی کاغذ لگاریتمی رسم شد. به کمک منحنی استاندارد ترسیم شده مقدار هر یک از سایتوکین‌های موجود در نمونه تعیین و به صورت pg/ml تعیین گردید. ملاک مورد نظر جهت اطمینان صحت کار عدم اختلاف بیش از 20 درصد هر یک از نمونه‌های مضاعف با میانگین محاسبه شده می‌باشد. لازم به ذکر است از آن‌جایی‌که در مرحله سوم نمونه مورد آزمایش به نسبت یک به دو رقیق شده است، غلظت نهایی سایتوکین‌ها با دو برابر کردن اعداد به‌دست آمده از روی منحنی استاندارد مشخص می‌شود.

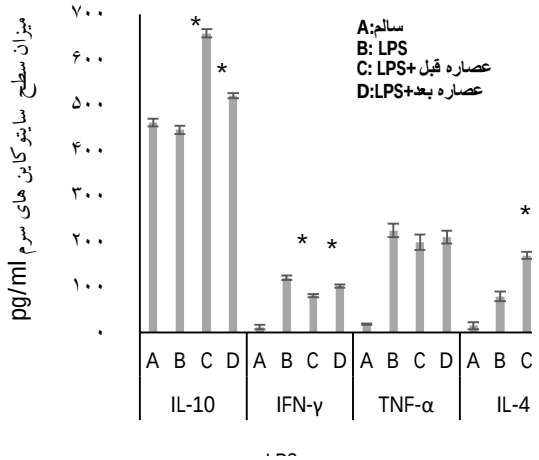
اندازه گیری نیتریک اکساید

سطح اکسید نیتریک توسط معرف Greiss با استفاده از پروتکل که در ابتدا توسط گریس توصیف شده بود، برآورد شد(25). به طور خلاصه می‌توان گفت که ماکروفاژهای صفاقی جمع‌آوری گردیده و به پلیت‌های 96 خانه‌ای در غلظت 5×10^6 cells/ml با LPS (1µg/ml ex-vivo) اضافه شد. این پلیت‌ها در دمای 37 درجه سانتیگراد و CO2 5 درصد به مدت 48 ساعت انکوبه شدند. پس از انکوباسیون، تولید نیتریت توسط سلول‌ها با معرف گریس تعیین شد. غلظت نیتریت در هر نمونه با نمودار استاندارد غلظت شناخته شده (در µM) نیتریت سدیم (NaNO2) اندازه‌گیری شد(24). جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از روش آنالیز واریانس یک طرفه One-way Analysis of variance Scheffe test (ANOVA) نرم‌افزار SPSS ویراست 19 استفاده شد. تمام بررسی‌ها مقدار ($P<0/05$) به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد. تمام داده‌ها به‌صورت میانگین ± SEM بیان شده است.

یافته ها

تغیرات سطح هر یک از سایتوکاین‌ها 2 ساعت بعد از تجویز LPS

ارزیابی سطح IFN-γ در سرم خون گرفته شده در 2 ساعت پس از تجویز LPS نشان داد که میزان سطح این سایتوکاین در موش‌های گروه B نسبت به موش‌های گروه C و D افزایش داشته که این تغییرات معنی‌دار بوده است (P=0/0432). در ارتباط با *TNF-α* نیز نتیجه به همین ترتیب بوده ولی تغییرات معنی‌دار نبوده است. ارزیابی سطح IL-4 در سرم خون گرفته شده بعد از 2 ساعت نشان داد که میزان سطح سایتوکاین IL-4 در موش‌های گروه تحت درمان نسبت به گروه B افزایش معنی‌دار داشته (P=0/0471) و در گروه C نسبت به گروه D این افزایش به طور معنی‌دار بیش‌تر بوده است(P =0/0411). ارزیابی سطح IL-10 نیز نشان داد که میزان سطح این سایتوکاین در موش‌های گروه تحت درمان نسبت به گروه B افزایش معنی‌دار داشته (P=0/0422) و در گروه C نسبت به گروه D این افزایش به طور معنی‌دار بیش‌تر بوده است (P=0/0451) (نمودارشماره 1).



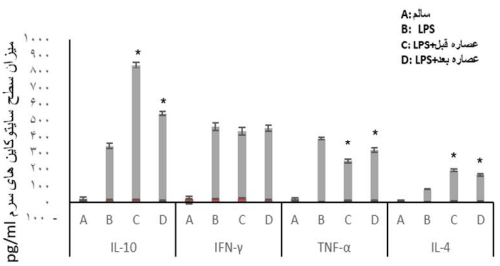
نمودار شماره 1: میزان سطح سایتوکاین ها در سرم خون موش ها 2 ساعت پس از تجویز LPS

(* :نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار در سطح ($P<0/05$) با گروه B)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-10]

تغییرات سطح هر یک از سایتوکاین ها 6 ساعت بعد از تجویز LPS

ارزیابی سطح TNF-α در سرم خون گرفته شده از موش‌ها بعد از 6 ساعت از تجویز LPS نشان داد که میزان این سایتوکاین در موش‌های گروه C و D نسبت به گروه B به صورت معنی‌داری کاهش داشته است (P=0/0481) که این کاهش در گروه C نسبت به گروه D به‌طور معنی‌داری کم‌تر بوده است (P =0/0473). نتایج ما در ارتباط با IL-4 و IL-10 نشان داد که میزان سطح این دو سایتوکاین در موش‌های گروه C و D نسبت به گروه B به‌طور معنی‌داری افزایش داشته است (P =0/0406) که این افزایش در گروه C نسبت به گروه D بیش‌تر بوده است (P =0/0433). نتایج ما در ارتباط با IFN-γ تغییرات معنی‌داری را نشان نداد (نمودار شماره 2).



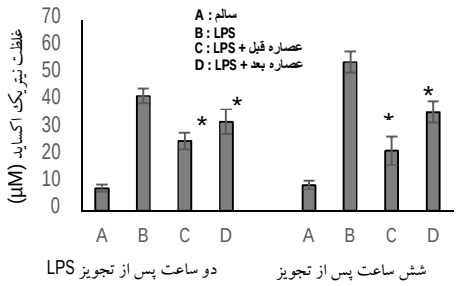
شش ساعت بعد از تجویز LPS

نمودارشماره 2: میزان سطح سایتوکاین ها در سرم خون موش ها 6 ساعت پس از تجویز LPS

(* :نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار در سطح (P <0/05) با گروه B)

میزان تولید نیتریک اکساید در 2 و 6 ساعت پس از تجویز LPS

ارزیابی سطح نیتریک اکساید 2 ساعت پس از تجویز LPS نشان داد که میزان آن در موش‌های گروه C و D نسبت به گروه B کاهش داشته است که این کاهش در ارتباط با گروه C به طور معنی‌داری کم‌تر بوده است (P=0/0401) (نمودار شماره 3). ارزیابی سطح نیتریک اکساید 6 ساعت پس از تجویز LPS نشان داد که میزان آن در موش های گروه C و D نسبت به گروه B به طور معنی داری کاهش داشته است (P=0/0441) که این کاهش حتی در ارتباط با گروه C نسبت به گروه D بیش تر بوده است(P=0/0491) (نمودار شماره 3).



نمودار شماره 3: ارزیابی سطح نیتریک اکساید دو و شش ساعت پس از تجویز LPS

(* :نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار در سطح (P <0/05) با گروه B)

بحث

در سال‌های اخیر، افزایش محبوبیت طب مکمل و جایگزین، باعث شده است که تحقیقات علمی در ارزیابی و درک فعالیت‌های دارویی و مکانیسم‌های داروهای گیاهی افزایش یابد. در این مطالعه ما برای اولین بار به بررسی اثرات گیاه *Euphorbia myrsinites* به عنوان تعدیل‌کننده پاسخ سایتوکاین‌های پیش التهابی و ضد التهابی در موش آزمایشگاهی مبتلا به شوک سپتیک القا شده توسط LPS پرداختیم. نتایج به دست آمده نشان داد تجویز عصاره الکلی گیاه *E.myrsinites* می‌تواند باعث افزایش معنی‌دار سایتوکاین‌های ضد التهابی IL-4 و IL-10 و کاهش معنی‌دار سایتوکاین‌های پیش التهابی TNF-α و IFN-γ در گروه‌های تحت درمان با عصاره اتانولی گیاه شود و از طرف دیگر در همین گروه‌ها میزان تولید نیتریک اکساید به‌طور معنی‌دار کاهش یافت (P=0/0421).

مطالعات مختلف نشان می‌دهد که محصولات طبیعی مانند گیاهان نقش مهمی در پیشگیری و درمان شرایط التهابی دارند. از جمله این محصولات ترپنوئیدها (Terpenoids) هستند که در گیاهان، حشرات، میکروب‌ها

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-10]

و ارگانیسم‌های دریایی وجود دارند و نقش‌های مختلفی از جمله اثرات ضد میکروبی، ضد التهابی و حتی ضد توموری دارند. مشخص شده است که عملکرد ترپنوئیدها و بسیاری از عصاره‌های گیاهی از طریق تاثیری است که در فعال‌سازی فاکتور نسخه‌برداری موثر در التهاب یا همان فاکتور نسخه‌برداری هسته‌ای کاپا B (NF-κB) دارند. NF-κB نقش مهمی در تنظیم پاسخ‌های التهابی و ایمنی دارد.

در مطالعه‌ای که توسط Heras و همکاران در سال 2009 انجام شد مشخص گردید که محصولات حاصل از گیاهان از طریق همین فاکتور نسخه‌برداری و مهار فعال‌سازی آن می‌توانند در بسیاری از بیماری‌ها نقش درمانی خود را ایفا کنند(3). یکی از دلایل اثرات ضدالتهابی گیاه *Euphorbia* کاهش فعالیت فاکتور نسخه‌برداری NF-κB است(20) که جزء حیاتی در تنظیم پاسخ‌های التهابی می‌باشد(25).

Garipelli و همکاران نشان دادند که *Euphorbia thymifolia* دارای عملکرد ضد التهابی است(26) که این کار را از طریق کاهش تنظیم بیان ژن پیش التهابی، القاء بیان ژن آنتی‌اکسیدان و تعدیل فعال‌سازی MAPK و NF-κB اعمال می‌کند، در این آزمایش علاوه بر *E.thymifolia* گیاه دیگری به نام *Cleome rutidosperma* نیز بررسی شد که مکانیسمی مشابه با *E.thymifolia* به عنوان یک گیاه ضد التهابی نشان داد و این دو گیاه مطابق با نتایج مطالعه حاضر، مانع تولید IFN-γ TNF-α و IL-6 و از طرفی باعث افزایش میزان IL-4 در حالت وابسته به دوز شدند. از دیگر نتایج مشاهده شده این دو گیاه کاهش بیان IL-1 mRNA و کموکاین CCL2 به صورت وابسته به دوز بود(27). کاهش بیان مولکول‌های چسبان بین سلولی از دلایل دیگر اثرات ضد التهابی گیاهان *Euphorbia* می‌باشد. این مولکول‌های چسبندگی مانند E-selectin، ICAM-1 و VCAM-1 می‌توانند توسط چندین نوع از سیتوکین‌های پیش التهابی، از جمله TNF-α، IL-1 و IFN-γ ایجاد شوند و ماکروفاژهای فعال شده با LPS باعث تولید سطح بالایی از TNF-α، IFN-γ و IL-6 می‌شوند. بنابراین، ماکروفاژهای فعال شده با LPS می‌توانند باعث تحریک تولید محصولات CAM شوند(28،29). اما در مطالعه ما استفاده از عصاره الکلی *E.myrsinites* باعث کاهش یافتن میزان سطح TNF-α و IFN-γ در سرم موش‌ها شد پس به‌صورت غیرمستقیم می‌تواند در تولید محصولات CAM نیز موثر باشد. از طرف دیگر خیلی از مطالعات نشان می‌دهند که محصولات گیاهی چه در درون‌تنی و چه در برون‌تنی از طریق تاثیراتی که در پروفایل سایتوکاین‌های بدن دارند می‌توانند اثرات درمانی خود را ایفا کنند. سیتوکاین‌ها تنظیم‌کننده پاسخ‌های میزبان به عفونت، واکنش‌های ایمنی، التهاب و تروما هستند و بعضی از سیتوکین‌ها باعث بدترشدن بیماری (سایتوکاین پیش التهابی) می‌شوند، در حالی که برخی دیگر (سایتوکاین ضد التهابی) برای کاهش التهاب و تسکین عمل می‌کنند. IL-1 و TNF-α سیتوکاین‌های پیش التهابی هستند و زمانی که به انسان تزریق می‌شوند باعث تب، التهاب، تخریب بافت و بعضی موارد شوک و حتی مرگ را باعث می‌شوند(30).

ایجاد شوک توسط LPS، به دلیل تاثیر این اندوتوکسین بر روی سایتوکاین‌های التهابی مانند TNF-α و IFN-γ می‌باشدکه از بین این دوسایتوکاین به خصوص TNF-α در دوزهای بالا می‌تواند باعث شوک سپتیک شود(31،32). تحقیقات نشان می‌دهد که تجویز LPS به صورت داخل صفاقی در موش‌ها باعث افزایش سایتوکاین‌های پیش التهابی و کاهش سایتوکاین‌های ضد التهابی می‌شود(33-36) که در راستای نتایج مطالعه حاضر است. در مطالعه‌ای که در سال 2010 توسط Mei Fen Shih و همکاران انجام شد معلوم گردید که استفاده از محصولات گیاه *Euphorbia hirta* در محیط کشت سلولی تحت تاثیر LPS می‌تواند باعث مهار تولیدات نیتریک اکساید، TNF-α، IL-6 و پروستاگلندین E_2 در محیط کشت

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-10]

شود که شرایط بهتری را برای رشد سلول‌ها در محیط کشت فراهم می‌نمود(37) که مطابق با داده‌های مطالعه حاضر می‌باشد.

Sheikh Fayaz در سال 2013 نشان داد که استفاده از عصاره الکلی گیاه *Euphorbia hirta* در موش‌های مبتلا به التهاب زانوی القاء شده با LPS می‌تواند باعث کاهش میزان سطح سایتوکاین TNF-α در مایع مفصلی و نوتروفیل‌ها در موش‌های درمان شده با عصاره گیاه شود که این امر باعث کاهش عوارض بیماری در آن‌ها شد(38) که تا حدودی با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. در مطالعه‌ای که بر روی لنفوسیت‌های محیطی افراد سالم در سال 2011 انجام شد، مشاهده گردید که انکوباسیون لنفوسیت ها به مدت 4 ساعت با عصاره لاتکس گیاه *Euphorbia tirucalli* باعث تاثیرات مثبت در پروفایل سایتوکاینی محیط کشت به‌خصوص سایتوکاین‌های TNF-α، IFN-γ، IL-4 و IL-10 می‌شود که مطابق با مشاهدات ما بود(39). در مطالعه‌ای که تاثیرات احتمالی بعضی از گونه‌های *Euphorbia* را در محیط‌های کشت سلولی بررسی می‌کرد، مشخص شد که عصاره اینترجیحا معادل گیاهان می‌تواند باعث افزایش پروفایل سایتوکاین TH_2 مثل IL-4 و IL-5 و کاهش سایتوکاین‌های TH_1 مثل IFN-γ شود که این یافته‌ها مطابق با مشاهدات ما بود(40). البته در سال 2014 Sheikh Fayaz و همکاران نشان دادند که استفاده از عصاره الکلی گیاه *Euphorbia hirta* در موش‌های مبتلا به آرتریت القاء شده توسط اجوانت می‌توانند باعث کاهش سطح سرمی سایتوکاین‌های پیش التهابی مثل TNF-α، IFN-γ و IL-2 و افزایش سطح سرمی سایتوکاین‌های ضد التهابی مثل IL-4 و IL-5 شود(41) که در راستای نتایج مطالعه حاضر می‌باشد. از سویی در مطالعه‌ای دیگر که آن هم توسط Sheikh Fayaz و همکاران در سال 2012 انجام گرفت معلوم شد که استفاده از عصاره الکلی *Euphorbia hirta* در مدل تجربی در موش‌ها می‌تواند باعث مهار ایمنی سلولار و سایتوکاین‌های TH_1 مثل IL-2، TNF-α و IFN-γ شود و از طرف دیگر پاسخ‌های ازدیاد حساسیت تاخیری را هم در این موش‌ها کاهش دهد(42) در همین راستا در مطالعه‌ای مشابه در سال 2012 Sheikh Fayaz و همکاران نشان دادند که استفاده از عصاره گیاه *Euphorbia hirta* در موش‌های مبتلا به آرتریت القاء شده توسط اجوانت باعث تعدیل سایتوکاین‌های TH_1 مثل IL-1β، IL-2، TNF-α و IFN-γ (مطابق با مطالعه حاضر) می‌شود و از طرف دیگر عصاره این گیاه می‌تواند تولید نیتریک اکساید را در ماکروفاژهای تحت تاثیر با LPS در محیط کشت را نیز کاهش دهد(43).

البته گیاهان از جنس *Euphorbia* می‌توانند پارامترهای مولکولی و سلولی سیستم ایمنی بدن را تغییر دهند(15،3) که از دلایل ایجاد این اثرات ضد التهابی کاهش تولید نیتریک اکساید(NO) (19) و افزایش سایتوکاین‌های ضدالتهابی مثل IL-4 و IL-5 و کاهش سایتوکاین‌های پیش التهابی مثل IFN-γ و TNF-α در سرم موش‌های تحت تجویز با عصاره‌ی اتانول این گیاه است(21) که در راستای داده‌های حاصله از مطالعه حاضر می‌باشد.

Bethânia و همکاران در سال 2011 در مقاله خود پیشنهاد کردند که اقدامات درمانی مربوط به *E. tirucalli* می‌تواند منجر به تغییرات پاسخ ایمنی توسط گیاه شود، در این مطالعه، اثرات برون تنی لاتکس خام *E.tirucalli* در تولید سیتوکاین‌های نوع 1 مثل IFN-γ و TNF-α و سیتوکاین‌های نوع 2 مثل IL-4 و IL-10 با استفاده از جمعیت های لکوسیت انسانی مورد بررسی قرار گرفت، که افزایش درصد سلول‌های IL-10 در نتایج این مطالعه مشاهده شد که مطابق با نتایج مطالعه ما می‌باشد(39).

Hong و همکاران در سال 2002 اثر گیاه *Polygala tenuifolia* را بر روی IL-4، TNF-α و IFN-γ موش مورد آزمایش قرار دادند و نتیجه مشاهده شده افزایش در سطح میزان سایتوکاین IL-4 و کاهش میزان سایتوکاین‌های، IFN-γ و TNF-α بود(45) از طرف

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-10]

دیگر Piuvezam و همکاران در سال 2010 اثر گیاه *Cissampelos sympodialis* را با دوز 6/25 میکروگرم به ازای میلی‌لیتر روی سایتوکاین IL-10 و با دوز 12/5 میکروگرم به ازای میلی‌لیتر روی سایتوکاین IL-4 و IFN-γ در موش مورد بررسی قرار دادند که نتیجه آن افزایش درمیزان سطح IL-10 و IL-4 و کاهش در میزان IFN-γ بود(46)، که مشابه با نتایج ما می‌باشد. همین‌طور Wilasrusmee و همکاران در سال 2002به بررسی اثر عصاره متانولی میوه و دانه گیاه *Silybum marianum* بر روی سایتوکاین IL-10 وIL-4 پرداختند و متوجه شدند که این گیاه باعث افزایش میزان سطح هر دو سایتوکاین شد(47).

Hodge و همکاران در سال 2002 بر روی اثر عصاره له‌شده سیر (*Allium sativum*) روی سایتوکاین‌های مختلف انسان مطالعه کردند و در نتیجه آن افزایش در میزان سطح سایتوکاین IL-10 و کاهش در میزان IFN-γ و TNF-α مشاهده گردید و پیشنهاد دادند با توجه به پتانسیل سیر برای کاهش سیتوکین‌های ضدالتهابی IL-1، TNF و IL-8 و تحریک ترشح IL-10 (آنتاگونیست سیتوکین‌های ضد التهابی)، می‌توان از این عصاره در بیماری‌های التهابی مختلف به عنوان یک داروی موثر استفاده کرد(48).

مطالعات مختلف نشان‌دهنده کاهش میزان سطح IFN-γ، TNF-α و میزان تولید نیتریک اکساید در اثر استفاده از عصاره گیاهان مختلفی چون عصاره آبی دانه گیاه *Acanthopanax senticosus* (48)، عصاره آبی گل گیاه *Acer nikoense* (49)، عصاره آبی ریشه گیاه *Dichroa febrifuga* (50) عصاره آبی پوست گیاه *Uncaria tomentosa* (51) عصاره اتانولی (80 درصد) گیاه *Tinospora cordifolia* (52)، عصاره متانول (70 درصد) ریشه گیاه *Scutellaria baicalensis* (53) در موش بوده است که در راستای نتایج مطالعه حاضر می‌باشد.

مطالعه حاضر اولین آزمایش بالینی تاثیر عصاره اتانولی *E. mirsinites* در کنترل شوک ناشی از LPS می باشد. در مجموع به نظر می‌رسد که درمان با عصاره *E. myrsinites* دارای تاثیرات مثبتی می‌باشد به طوری که این موش‌ها سطح پایین‌تری از TNF-α، IFN-γ و سطح بالاتری از IL-4، IL-10 نسبت به موارد درمان نشده با این گیاه نشان دادند و از طرف دیگر میزان تولید نیتریک اکساید در موش‌های تحت درمان با عصاره اتانولی گیاه نسبت به موش‌های درمان نشده به طور معنی‌داری پایین تر بوده است ($P < 0/05$) از این رو به نظر می‌رسد عصاره اتانولی *E. mirsinites* می‌تواند به عنوان یک استراتژی مفید در درمان شوک ناشی از LPS در نظر گرفته شود.

سپاسگزاری

این مطالعه با حمایت دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز انجام شد. نویسندگان مقاله مراتب تشکر خود را از خانم دکتر فائزه رحیمی اعلام می نمایند.

References

1. Mukherjee PK, Nema NK, Bhadra S, Mukherjee D, Braga FC, Matsabisa MG. immunomodulatory leads from medicinal plants. Indian Journal of Traditional Knowledge 2014; 13(2): 235-256.
2. Shukla S, Bajpai VK, Kim M. Plants as potential sources of natural immunomodulators. Reviews in Environmental Science and Bio/Technology 2014; 13(1): 17-33.
3. de las Heras B, Hortelano S. Molecular basis of the anti-inflammatory effects of terpenoids. Inflamm Allergy Drug Targets 2009; 8(1): 28-39.
4. Pereira-da-Silva G, Caroline Carvalho F, Cristina Roque-Barreira M. Neutrophil Activation Induced by Plant Lectins: Modulation of

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-10]

Inflammatory Processes. Inflammation & Allergy-Drug Targets 2012; 11(6): 433-441.

5. Yoshida T, Amakura Y, Yoshimura M. structural features and biological properties of ellagitannins in some plant families of the order myrtales. Int J Mol Sci 2010; 11(1): 79-106.
6. .Kilbourn RG, Griffith OW. Overproduction of nitric oxide in cytokine-mediated and septic shock. J Natl Cancer Inst 1992; 84(11): 827-831.
7. Gold JA, Parsey M, Hoshino Y, Hoshino S, Nolan A, Yee H, et al. CD40 contributes to lethality in acute sepsis: in vivo role for CD40 in innate immunity. Infect Immun 2003; 71(6): 3521-3528.
8. Kuo PL, Cho CY, Hsu YL, Lin TC, Lin CC. Putranjivain A from Euphorbia jolkini inhibits proliferation of human breast adenocarcinoma MCF-7 cells via blocking cell cycle progression and inducing apoptosis. Toxicol Appl Pharmacol 2006; 213(1): 37-45.
9. Lage H, Duarte N, Coburger C, Hilgeroth A, Ferreira MJU. Antitumor activity of terpenoids against classical and atypical multidrug resistant cancer cells. Phytomedicine 2010; 17(6): 441-448.
10. Aynehchi Y, Mojtabaii M, Yazdizadeh K. Chemical examination of Euphorbia myrsinitis linn. Journal of Pharmaceutical Sciences 1972; 61(2): 292-293.
11. Upadhyay SN, Plant products as immune response modulators. Proceeding of the international Ayurveda Conference-97. Sanjay Gandhi, Post Graduate Institute of Medical Sciences, Lucknow 1997: 10.
12. Arshad Ahmed S, Nazim S, Siraj S, Siddik PM, AbWahid C. Euphorbia Neriifolia Linn: A phytopharmacological review. International Research Journal of Pharmacy 2011; 2(2): 41-48.
13. Sen T, Samanta SK. Medicinal plants, human health and biodiversity: a broad review. Adv Biochem Eng Biotechnol 2015; 147: 59-110.
14. Oksüz S, Gürek F, Gil RR, Pengsuparp T, Pezzuto JM, Cordell GA. Four diterpene esters from Euphorbia myrsinites. Phytochemistry 1995; 38(6): 1457-1462.
15. Pusztai R, Ferreira MJ, Duarte N, Engi H, Molnar J .Macrocyclic lathyrane diterpenes as antitumor promoters. Anticancer Res 2007; 27(1A): 201-205.
16. Jassbi AR. Chemistry and biological activity of secondary metabolites in Euphorbia from Iran. Phytochemistry 2006; 67(18): 1977-1984.
17. Somani SJ, Modi KP, Majumdar AS, Sadarani BN. Phytochemicals and Their Potential Usefulness in Inflammatory Bowel Disease. Phytotherapy Research 2015; 29(3): 339-350.
18. Fernandez-Arche A, Saenz MT, Arroyo M, de la Puerta R, Garcia MD. Topical anti-inflammatory effect of tirucallol, a triterpene isolated from Euphorbia lactea latex. Phytomedicine 2010; 17(2): 146-148.
19. Lee JW, Lee C, Jin Q, Jang H, Lee D, Lee HJ, et al. Diterpenoids from the Roots of Euphorbia fischeriana with Inhibitory Effects on Nitric Oxide Production. J Nat Prod 2016; 79(1): 126-131.
20. Ashour M, Ebada S. Plant natural products as potential modulators of the transcription factor NF-κB. Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology 2012; 6: 10-12.
21. Ramesh KV, Padmavathi K. Assessment of Immunomodulatory Activity of Euphorbia hirta L. Indian J Pharm Sci 2010; 72(5): 621-625.
22. Carrillo-Vico A, Lardone PJ, Naji L, Fernández-Santos JM, Martín-Lacave I, Guerrero JM, et

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-10]

al. Beneficial pleiotropic actions of melatonin in an experimental model of septic shock in mice: regulation of pro-/anti-inflammatory cytokine network, protection against oxidative damage and anti-apoptotic effects. J Pineal Res 2005; 39(4): 400-408.

23. Jayashankar B, Mishra KP, Ganju L, Singh SB. Supercritical extract of Seabuckthorn Leaves (SCE200ET) inhibited endotoxemia by reducing inflammatory cytokines and nitric oxide synthase 2 expression. International Immunopharmacology 2014; 20(1): 89-94.
24. Granger DL, Taintor RR, Boockvar KS, Hibbs jr JB. Measurement of nitrate and nitrite in biological samples using nitrate reductase and Griess reaction. Methods in Enzymology 1996; 268: 142-151.
25. Natoli G, De Santa F. Shaping alternative NF-κB-dependent gene expression programs: New clues to specificity. Cell Death Differ. 2006 13: 693-696.
26. Garipelli N, Runja C, Potnuri N, Pigili RK. Anti-inflammatory and anti-oxidant activities of ethanolic extract of Euphorbia thymifolia linn whole plant. Int J Pharm Pharm Sci 2012; 4(3): 516-519.
27. Ding HY, Wu PS, Wu MJ. Cleome rutidosperma and Euphorbia thymifolia Suppress Inflammatory Response via Upregulation of Phase II Enzymes and Modulation of NF-κB and JNK Activation in LPS-Stimulated BV2 Microglia. Int J Mol Sci 2016; 17(9): 1420.
28. Shih MF, Cheng YD, Shen CR, Cherng JY. A molecular pharmacology study into the anti-inflammatory actions of Euphorbia hirta L. on the LPS-induced RAW 264.7 cells through selective iNOS protein inhibition. J Nat Med 2010; 64(3): 330-335.
29. Cherng JY, Lio CC, Shen CR, Lin HH, Shih MF. Beneficial effects of Chlorella-11 peptide on blocking the LPS-induced macrophage activation and alleviating the thermal injury- induced inflammation in rats. Int J Immunopathol Pharmacol 2010; 23(3): 811-820.
30. Dinarello CA. Proinflammatory cytokines. Chest 2000; 118(2): 503-508.
31. Fransen L, Müller R, Marmenout A, Tavernier J, Van der Heyden J, Kawashima E, et al. Molecular cloning of mouse tumour necrosis factor cDNA and its eukaryotic expression. Nucleic Acids Res 1985; 13(12): 4417-4429.
32. Kriegler M, Perez C, DeFay K, Albert I, Lu SD. A novel form of TNF/cachectin is a cell surface cytotoxic transmembrane protein: ramifications for the complex physiology of TNF. Cell 1988; 53(1): 45-53.
33. Yan SS, Li Y, Wang Y, Shen SS, Gu Y, Wang HB, et al. 17-Acetoxyjolkinolide B irreversibly inhibits IkappaB kinase and induces apoptosis of tumor cells. Mol Cancer Ther 2008; 7(6): 1523-1532.
34. Amirghofran Z, Bahmani M, Azadmehr A, Javidnia K. Induction of apoptosis in leukemia cell lines by Linum persicum and Euphorbia cheiradenia. J Cancer Res Clin Oncol 2006; 132(7): 427-432.
35. Yang CM, Cheng HY, Lin TC, Chiang LC, Lin CC. Euphorbia thymifolia suppresses herpes simplex virus-2 infection by directly inactivating virus infectivity. Clin Exp Pharmacol Physiol 2005; 32(5-6): 346-349.
36. Lage H, Duarte N, Coburger C, Hilgeroth A, Ferreira MJU. Antitumor activity of terpenoids against classical and atypical multidrug resistant cancer cells. Phytomedicine 2010; 17(6): 441-448.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-10]

37. Shih MF, Cheng YD, Shen CR, Cherng JY. A molecular pharmacology study into the anti-inflammatory actions of Euphorbia hirta L. on the LPS-induced RAW 264.7 cells through selective iNOS protein inhibition. J Nat Med 2010; 64(3): 330-335.
38. Ahmad SF, Bani S, sultan P, ali SA,Bakheet SA, Attia S, et al. TNF-α inhibitory effect of Euphorbia hirta in rats. Pharmaceutical Biology 2013; 51(4): 411-417.
39. Avelar BAD, Lelis FJN, Avelar RS, Weber M, Souza-Fagundes EM, Lopes MTP, et al. The crude latex of Euphorbia tirucalli modulates the cytokine response of leukocytes, especially CD4+ T lymphocytes. Rev Bras Farmacogn 2011; 21(4): 662-667.
40. Ghafourian Boroujerdnia M, Khosravi N, Malek-Hosseini S, Amirghofran Z. Augmentation of lymphocytes activation and T cell modulation by the extracts from some Euphorbia species. Pharm Biol 2014; 52(11): 1471-1477.
41. Ahmad SF, Attia SM, Bakheet SA, Ashour A, Zoheir KMA, Abd-Allah ARA. Anti-inflammatory effect of Euphorbia hirta in an adjuvant-induced arthritic murine model. Immunological Investigations 2014; 43(3): 197-211.
42. Ahmad SF, Khan B, Bani S, Kaul A, Sultan P, Ali SA, et al. Immunosuppressive effects of Euphorbia hirta in experimental Animals. Inflammopharmacol 2013; 21(2): 161-168.
43. Ahmad SF, Sultan P, Ashour AE, Khan TH, Attia SM, Bakheet SA, et al. Modulation of Th_1 Cytokines and Inflammatory Mediators by Euphorbia Hirta in Animal Model of Adjuvant-induced Arthritis. Inflammopharmacol 2013; 21(5): 365-375.
44. Hong T, Jin GB, Yoshino G, Miura M, Maeda Y, Cho S, et al. Protective effects of Polygalae root in experimental TNBS-induced colitis in mice. J Ethnopharmacol 2002; 79(3): 341-346.
45. Piuvezam MR, Pecanha LMT, Alexander J, Thomas G. Cissampelos sympodialis Eichl. leaf extract increases the production of IL-10 by concanavalin- A-treated BALB/c spleen cells. J Ethnopharmacol 1999; 67(1): 93-101.
46. Wilasrusmee C, Kittur S, Shah G, Siddiqui J, Bruch D, Wilasrusmee S, et al. Immunostimulatory Effect of Silybum Marianum (Milk Thistle) Extract. Med Sci Monit 2002; 8(11): BR439-BR443.
47. Hodge G, Hodge S, Han P. Allium sativum (garlic) suppresses leukocyte inflammatory cytokine production in vitro: potential therapeutic use in the treatment of inflammatory bowel disease. Cytometry 2002; 48: 209-215.
48. Yi JM, Hong SH, Kim JH, Kim HK, Song HJ, Kim HM. Effect of Acanthopanax senticosus stem on mast cell dependent anaphylaxis. J Ethnopharmacol 2002; 79(3): 347-352.
49. Fujiki H, Suganuma M, Kurusu M, Okabe S, Imayoshi Y, Taniguchi S, et al. New TNF-α Releasing Inhibitors As Cancer Preventive Agents From Traditional Herbal Medicine And Combination Cancer Prevention Study With EGCG And Sulindac or Tamoxifen. Mutat Res 2003; 523-524: 119-125.
50. Kim YH, Ko WS, Ha MS, Lee CH, Choi BT, Kang HS, et al. The production of nitric oxide and tnf-alpha in peritoneal macrophages is inhibited by dichroa febrifuga lour. J Ethnopharmacol 2000; 69(1): 35-43.
51. Kim YO, Leem K, Park J, Lee P, Ahn DK, Lee BC, et al. Cytoprotective Effect of Scutellaria Baicalensis In CA1 Hippocampal Neurons of Rats After Global Cerebral Ischemia. J Ethnopharmacol 2001; 77(2-3): 183-188.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-10]

52. Dhuley JN. Effect of Some Indian Herbs on Macrophage Functions In Ochratoxin A Treated Mice. J Ethnopharmacol 1997; 58(1): 15-20.
53. Sandoval M, Okuhama NN, Zhang XJ, Condezo LA, Lao J, Angeles FM, et al. Anti-inflammatory and antioxidant activities of cat's claw (Uncaria tomentosa and Uncaria guianensis) are independent of their alkaloid content. Phytomedicine 2002; 9(4): 325-337.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-10]