Pejouhesh dar Pezeshki (i.e., Research in Medicine) **Original Article**

The Quarterly Journal of School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences 2022; Vol. 46; No. 4

The Effect of Ethanolic Extract of Mentha Pulegium on the Expression of Pro- Inflammatory Mediators in Peripheral Blood Monocytes

Asadollah Mohammadi[1], Akram Ebrahimifar[2], Kaveh Rahimi[1*], Kambiz Hassanzadeh[1], Ismail Izadpanah[1], Abbas Ahmadi[1]

1. Cellular and Molecular Research Center, Health Development Research Institute, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran
2. Department of Physiology and Pharmacology, School of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran.

Received: February 13, 2022; Accepted: June 18, 2022

Abstract

Background and Aim: Inflammation is the immune system's primary response to harmful stimuli. The aim of this study was to evaluate the effect of ethanolic extract of mentha pulegium on the expression of pro- inflammatory mediators of iNOS and NF-κB in mononuclear cells isolated from human peripheral blood activated with lipopolysaccharide.

Methods: In this experimental study, mononuclear cells of 12 individuals with no history of specific disease were used. In the first group: PBS buffer was added to the culture media. Group 2: Lipopolysaccharide was used to stimulate inflammation at a concentration of 10 ng/ ml (19). Group 3: After stimulation with lipopolysaccharide, a concentration of 10 µg/ml ethanolic extract of mentha pulegium was used in the culture medium. Group 4: After stimulation with lipopolysaccharide, a concentration of 30 µg / ml ethanolic extract of mentha pulegium was used. Group 5: After stimulation with lipopolysaccharide, a concentration of 60 µg / ml ethanolic extract of mentha pulegium was used. Then, the expression of iNOS and NF-KB pro- inflammatory mediators in different groups wasmeasured. Data analysis was performed using SPSS software with one-way ANOVA analysis and Tukey supplementary test.

Results: The results of the present study showedthat the expression of NF-κB gene in the second group (1.09 ± 0.14) significantly increased compared to the first group (P<0.05). Moreover, NF-κB gene expression was significantly lower in the third group (0.48 ± 0.09), the fourth group (0.54 ± 0.13), and the fifth group (0.66 ± 0.24) compared to the second group (P<0.05).In addition,, iNOS gene expression in the second group (1.14 ± 0.22) showed a significant increase compared to the first group (P<0.05). The expression of iNOS gene in the third group (0.35 ± 0.24) and the fourth group (0.29 ± 0.07) was not significantly different from the second group (P<0.05).

Conclusion: The results of the present study indicated that the Ethanolic extract of mentha pulegium has anti- inflammatory effects and can be effective in altering the expression of pro- inflammatory mediators iNOS and NF-κB in mononuclear cells isolated from human peripheral blood activated with lipopolysaccharide.

Keywords: Ethanolic extract of mentha pulegium; iNOS; NF-kB; Lipopolysaccharide; Peripheral blood mononuclear cells

Please cite this article as: Mohammadi A, Ebrahimifar A, Rahimi K, Hassanzadeh K, Izadpanah I, Ahmadi A. The Effect of Ethanolic Extract of Mentha Pulegium on the Expression of Pro- Inflammatory Mediators in Peripheral Blood Monocytes. 2022;46(4):72-80.

[*]**Corresponding Author:** Kaveh Rahimi; Email: kaveh_rahimi66a@yahoo.com

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2024-12-04]

پژوهش در پزشکی
مقاله پژوهشی
فصلنامه علمی- پژوهشی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی شهید بهشتی
دوره ۴۶، شماره ۴، سال ۱۴۰۱ شمسی، صفحات ۷۲ تا ۸۰

بررسی اثر عصاره اتانولی پونه کوهی بر بیان واسطه‌های پیش التهابی در سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی

اسداله محمدی[1]، اکرم ابراهیمی‌فر[2]، کاوه رحیمی[1*]، کامبیز حسن‌زاده[1]، اسماعیل ایزدپناه[1]، عباس احمدی[1]

۱- مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، پژوهشکده توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران.
۲- گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۲۸

خلاصه

سابقه و هدف: التهاب پاسخ اولیه سیستم ایمنی بدن به محرک‌های آسیب‌رسان است. هدف از انجام این مطالعه بررسی اثر عصاره اتانولی پونه کوهی بر بیان ژن واسطه‌های پیش‌التهابی iNOS و NF- kB در سلول‌های تک هسته‌ای جدا شده از خون محیطی انسان فعال شده با لیپوپلی ساکارید است.

روش کار: این مطالعه آزمایشگاهی بر روی نمونه خون ۱۲ فرد سالم انجام شد. در گروه اول: بافر PBS به محیط‌های کشت اضافه شد. گروه دوم: لیپو پلی ساکارید برای تحریک التهاب با غلظت ۱۰ ng/ml استفاده شد. گروه سوم: پس از تحریک با لیپوپلی ساکارید، غلظت ۱۰ µg/ml عصاره اتانولی پونه کوهی در محیط کشت استفاده شد. گروه چهارم: پس از تحریک با لیپوپلی ساکارید، غلظت ۳۰ µg/ml عصاره اتانولی پونه کوهی استفاده شد. گروه پنجم: پس از تحریک با لیپو پلی ساکارید، غلظت ۶۰ µg/ml عصاره اتانولی پونه کوهی استفاده شد. در پایان میزان بیان ژن واسطه‌های پیش‌التهابی iNOS و NF- KB در گروه‌های مختلف تعیین شد. خواهد شد. تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS آنالیز one way ANOVA و تست تکمیلی توکی انجام شد.

یافته‌ها: نتایج داده‌های مطالعه حاضر نشان داد که بیان ژن NF- kB در گروه دوم (۰/۱۴ ± ۱/۰۹) در مقایسه با گروه اول به طور معناداری افزایش نشان داد (P<۰/۰۵). بیان ژن NF- kB در گروه سوم (۰/۰۹ ± ۰/۴۸)، گروه چهارم (۰/۱۳ ± ۰/۵۴) و گروه پنجم (۰/۲۴ ± ۰/۶۶) در مقایسه با گروه دوم به طور معناداری کمتر بود (P< ۰/۰۵). در این مطالعه بیان ژن iNOS در گروه دوم (۰/۲۲ ± ۱/۱۴) در مقایسه با گروه اول به طور معناداری افزایش نشان داد (P<۰/۰۵). بیان ژن iNOS در گروه سوم (۰/۲۴ ± ۰/۳۵) و گروه چهارم (۰/۰۷ ± ۰/۲۹) در مقایسه با گروه دوم اختلاف معناداری نداشت (P<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: به نظر می رسد که عصاره اتانولی پونه کوهی دارای اثرات ضد التهابی است و می‌تواند در تغییر بیان ژن واسطه‌های پیش‌التهابی iNOS و NF- kB در سلول‌های تک هسته‌ای جدا شده از خون محیطی انسان فعال شده با لیپوپلی ساکارید موثر باشد.

واژگان کلیدی: عصاره اتانولی پونه کوهی؛ iNOS؛ NF- kB؛ لیپوپلی ساکارید؛ سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی

به این مقاله، به صورت زیر استناد کنید:

Mohammadi A, Ebrahimifar A, Rahimi K, Hassanzadeh K, Izadpanah I, Ahmadi A. The Effect of Ethanolic Extract of Mentha Pulegium on the Expression of Pro-Inflammatory Mediators in Peripheral Blood Monocytes. 2022;46(4):72-80.

[*] **نویسنده مسئول مکاتبات:** کاوه رحیمی؛ آدرس پست الکترونیکی: kaveh_rahimi66a@yahoo.com

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2024-12-04]

CC BY NC

مقدمه

التهاب حاد پاسخ ابتدایی بدن به محرک‌های آسیبرسان است (۱). ماکروفاژهای فعال تحریک شده توسط اندوتوکسین‌ها، مانند لیپوپلی ساکارید (LPS)، سیتوکین‌های پیش التهابی ایجاد می‌کنند. مهار تولید سیتوکین‌ها و بیان واسطه‌های ضدالتهابی به عنوان مکانیسم کلیدی برای کنترل پاسخ التهابی عمل می‌کند. در حال حاضر انجام پژوهش‌هایی در زمینه بررسی اثرات مولکول‌های ضدالتهابی بر علیه واسطه‌های فعال التهابی از جمله نیتریک اکساید (NO) و سیتوکین‌های پیش‌التهابی از جمله IL-6، فاکتور نکروزدهنده تومور TNF-α و پروستاگلاندین E2 به عنوان یک پتانسیل درمانی بر علیه اختلالات التهابی ارزش زیادی پیدا کرده است (۳-۱). بنابراین شناسایی و به کارگیری مواد موثری که بیان این میانجیگرهای التهابی را سرکوب می‌کنند به عنوان درمان‌های بالقوه برای درمان بیماری‌های التهابی علاقه محققان را به خود جذب کرده است (۳). محرک‌های التهابی که سبب فسفریله شدن مسیرهای انتقال پیام داخل سلولی p38 mitogen-activated protein kinases (MAPKs)، extracellular signal-regulated kinase (ERK)-1/2 و c-Jun NH2-terminal kinase (JNK) می‌شوند، سبب بیان ژن‌های پیش‌التهابی می‌شوند (۷-۴). یکی از مهم‌ترین اجزا مسیر سیگنالینگ MAPK و تولید واسطه‌های پیش‌التهابی فاکتور هسته‌ای کاپا B (NF- KB) است. در سلول‌های غیر فعال NF- KB به I kappa B در سیتوزول متصل می‌شود. در پاسخ به محرک‌هایی نظیر لیپوپلی ساکارید، I kappa B فسفریله می‌شود. در نتیجه دایمرهای آزاد NF- KB سبب تغییر در بیان COX-2، iNOS و سایتوکاین‌های IL-1 و IL-6 می‌شود (۵). پروستاگلاندین E2 یک لیپید بیواکتیو است که در التهاب نقش دارد. تولید پروستاگلاندین بستگی به فعالیت پروستاگلاندین سنتاز G/H دارد که به طور واضح به عنوان COX شناخته می‌شوند (۶).

گیاه پونه کوهی از خانواده لابیاسه است (۸). پونه‌کوهی با نام علمی Mentha pulegiunm (منتا پالجیوم یا پنی رویال pennyroyal) در مناطق اروپا، شمال آفریقا و در آسیای میانه و نزدیک به شرق وجود دارد (۷، ۸). همچنین پونه کوهی در مناطقی از ایران می‌روید (۹). قسمت‌های بالایی گیاه پونه کوهی به طور سنتی به عنوان ضد عفونی‌کننده در درمان سرماخوردگی، سینوزیت، وبا، مسمومیت غذایی، برونشیت و سل توصیه شده است (۱۰، ۱۱). برخی خواص فارماکولوژیکی پونه کوهی نظیر کمک به زایمان طبیعی در موش صحرایی، اثرات سایتوتوکسیک بر علیه رده‌های سلولی در انسان و خواص آنتی‌اکسیدانی به اثبات رسیده است (۱۲-۸). مؤثرترین‌های فنولی که مشتقات آن در گیاه پونه کوهی (۱۴) به مقادیر زیادی موجود است، دارای اثرات ضد التهابی، آنتی باکتریال، آنتی اکسیدانی و ضد دردی فوق العاده ای هستند (۱۵). مؤثرترپن‌ها توانسته‌اند از طریق کاهش سنتز واسطه‌های التهابی مثل پروستانوییدها سبب تسریع در بهبود زخم معده در موش صحرایی گردند (۱۶). ترکیبات موجود در پونه کوهی توانسته است به واسطه کاهش سطح IL-1β و PGE2[1] و همچنین کاهش بیان mRNA مربوط به IL-1β و COX-2[2] و نیز افزایش در میزان IL-10 و بیان mRNA مربوط به آن، التهاب القا شده در ناحیه لگن موش را کاهش دهد (۱۷). با توجه به اینکه تاکنون مطالعات مولکولی در زمینه اثرات ضد التهابی عصاره پونه کوهی انجام نشده است، هدف از این مطالعه بررسی اثرات ضدالتهابی عصاره اتانولی پونه کوهی از طریق بررسی بیان ژن واسطه‌های پیش التهابی iNOS و NF- KB در سلول‌های تک هسته‌ای جدا شده از خون محیطی انسان فعال شده با لیپوپلی ساکارید است. مطالعه حاضر در مرکز تحقیقات علوم سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران در فاصله زمانی مهر ماه تا اسفند ماه سال ۱۳۹۹ انجام شد.

روش کار

مطالعه:

این مطالعه آزمایشگاهی در مرکز تحقیقات علوم سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران انجام شد.

[1] .Prostaglandin E2 (PGE2)
[2] .Cyclo Oxygenase2 (COX2)

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2024-12-04]

عصاره‌گیری:

گیاه خشک پونه کوهی با استفاده از آسیاب پودر شد. سپس توسط دستگاه سوکسله و با استفاده از اتانول ۷۰ درصد به عنوان حلال، استخراج عصاره انجام شد. حلال موجود در عصاره به دست آمده با استفاده از روتاری اواپورایتور شد و در نهایت عصاره به دست آمده توسط انجماد خشک به صورت پودر تبدیل شد و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد.

نمونه‌گیری:

افراد سالم مورد مطالعه (n= ۱۲) به صورت آگاهانه و با رضایت کامل وارد مطالعه شدند. با درنظر گرفتن توان آزمون ۹۰ درصد و سطح اطمینان ۹۵ درصد، حجم نمونه با استفاده از رابطه آماری محاسبه برابر ۱۲ نفر بود. خون‌گیری از افراد توسط کارشناس آزمایشگاه در مرکز تحقیقات علوم سلولی و مولکولی دانشکده پزشکی انجام شد. برای هر نمونه خون یک کد ثبت شد. پروتکل این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کردستان (IR.MUK.REC.1397.340) تایید شد.

کشت سلول های خونی:

با استفاده از فایکول سلول های تک‌هسته‌ای خون محیطی افراد شرکت‌کننده در مطالعه جداسازی شد. بعد از جداسازی سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی ارزیابی زنده بودن انجام گرفت. پس از شمارش سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی و محاسبه درصد سلول‌های زنده، سلول ها (با تعداد یکسان) در محیط کشت RPMI کشت داده شد (۱۳). لنفوسیت‌های کشت داده شده هر فرد در ۵ چاهک به صورت تریپلیکت (۱۵ چاهک) برای پنج تیمار متفاوت در چهار گروه ایجاد شد: در گروه اول: بافر PBS به محیط‌های کشت اضافه شد (۱۴). گروه دوم: لیپو پلی‌ساکارید برای تحریک التهاب با غلظت 10 ng / ml استفاده شد (۱۹). گروه سوم: پس از تحریک با لیپوپلی ساکارید ng / ml ۱۰ غلظت µg / ml ۱۰ عصاره اتانولی پونه کوهی استفاده شد. گروه چهارم: پس از تحریک با لیپوپلی ساکارید ng / ml ۱۰ غلظت µg / ml ۳۰ عصاره اتانولی پونه کوهی استفاده شد. گروه پنجم: پس از تحریک با لیپوپلی ساکارید ng / ml ۱۰ غلظت µg/ml ۶۰ عصاره اتانولی پونه کوهی استفاده شد.

استخراج RNA:

۲۴ ساعت بعد از تیمار سلول‌ها با دوزهای مختلف عصاره اتانولی پونه کوهی سلول‌ها جمع‌آوری شد و استخراج RNA با استفاده از ترایزول (TRIzol™ Reagent GSA_VA - Fisher Scientific) انجام شد.

سنتز cDNA:

برای انجام سنتز cDNA از RNA استخراج شده، از کیت cDNA Synthesis (RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit - Thermo Fisher) استفاده شد. برای این منظورحجمی از RNA استخراج شده که حاوی ۳۰۰۰ نانوگرم RNA بود در میکروتیوب RNase free با یک میکرولیتر پرایمر Random hexamer مخلوط شد و با آب تیمار شده با DEPC به حجم ۱۰ میکرولیتر رسانده شد. ادامه مراحل سنتز cDNA طبق دستورالعمل کیت انجام شد.

بررسی بیان ژن با استفاده از Real-time PCR:

بررسی بیان ژن‌های iNOS و NF- KB و GAPDH با استفاده از Real- time PCR به منظور ارزیابی فراوانی نسبی هر گونه mRNA با استفاده از مستر میکس سایبر گرین با سه تکرار ارزیابی شد (۱۴). برای انجام Real- time PCR از کیت (wizePure qPCR (SYBER- کره جنوبی) با حجم نهایی واکنش ۲۰ µl طبق دستورالعمل کیت استفاده شد مرحله تکثیر شامل یک مرحله واسرشت شدن ابتدایی دردمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه، باز شدن رشته الگو در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ثانیه، اتصال پرایمر به الگو و تکثیر قطعه مورد نظر در دمای ۶۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و در پایان یک مرحله انتهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج دقیقه بود. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- پرایمرهای استفاده شده برای بررسی بیان ژن

GAPDH F	GGAGTCCACTGGCGTCTTC
GAPDH R	TTGCTGATGATCTGGAGGGTCTT
NF- kB F	GGAGCACAGATACCACCAAGAC
NF- kB R	CTCAGCCTCATAGAAGCCATCC
iNOS F	CCGAGTCAGAGTCACCATCCT
iNOS R	CCAACAGCAGCCGTT

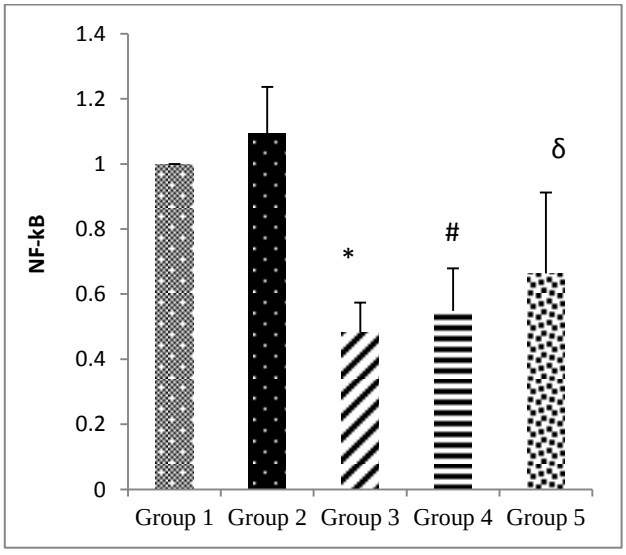
[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2024-12-04]

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها:

برای بررسی و تحلیل داده های مطالعه از نرم‌افزار SPSS استفاده خواهد شد. در بررسی داده‌ها از آنالیز one way ANOVA و نست تکمیلی توکی استفاده شد. سطح معناداری $P < ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

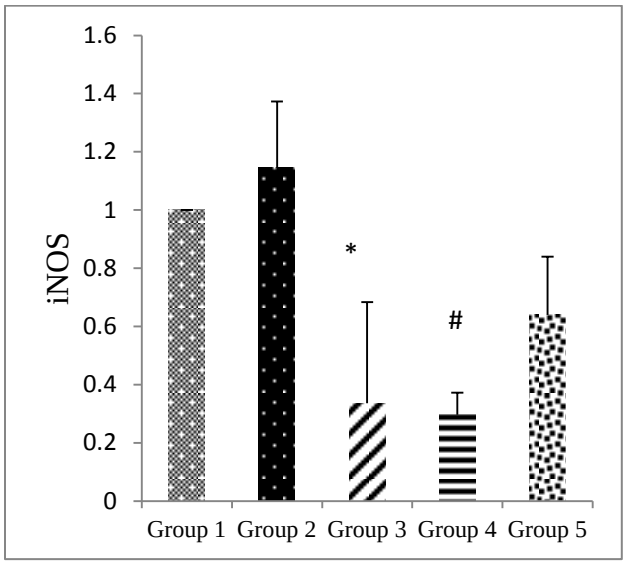
نتایج داده‌های مطالعه حاضر نشان داد که بیان ژن NF- kB در گروه دوم (۰/۱۴ ± ۱/۰۹) در مقایسه با گروه اول به طور معناداری افزایش نشان داد ($P < ۰/۰۵$). بیان ژن NF- kB در گروه سوم (۰/۰۹ ± ۰/۴۸) در مقایسه با گروه دوم تفاوت معناداری نشان داد ($P < ۰/۰۵$). بیان ژن NF- kB در گروه چهارم (۰/۱۳ ± ۰/۵۴) در مقایسه با گروه دوم که این اختلاف از نظر آماری معنادار بود ($P < ۰/۰۵$). همچنین بیان ژن NF- kB در گروه پنجم (۰/۲۴ ± ۰/۶۶) در مقایسه با گروه دوم به طور معناداری کمتر بود ($P < ۰/۰۵$) (نمودار ۱).



نمودار ۱- بیان ژن NF- KB در گروه‌های مورد مطالعه

گروه اول: بافر PBS به محیط‌های کشت اضافه شد. گروه دوم: لیپو پلی ساکارید برای تحریک التهاب با غلظت 10 ng / ml استفاده شد. گروه سوم: پس از تحریک با لیپوپلی ساکارید، غلظت ۱۰ µg / ml عصاره اتانولی پونه کوهی استفاده شد. گروه چهارم: تحریک با لیپوپلی ساکارید، ۳۰ µg / ml عصاره اتانولی پونه کوهی استفاده شد. گروه پنجم: پس از تحریک با لیپوپلی ساکارید، غلظت ۶۰ µg / ml عصاره اتانولی پونه استفاده شد. سطح معناداری $P < ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

در این مطالعه بیان ژن iNOS در گروه دوم (۰/۲۲ ± ۱/۱۴) در مقایسه با گروه اول به طور معناداری افزایش نشان داد ($P < ۰/۰۵$). بیان ژن iNOS در گروه سوم (۰/۲۴ ± ۰/۳۵) در مقایسه با گروه دوم تفاوت معناداری داشت ($P < ۰/۰۵$). بیان ژن iNOS در گروه چهارم (۰/۰۷ ± ۰/۲۹) در مقایسه با گروه دوم اختلاف از نظر آماری معنادار بود و کاهش نشان داد ($P < ۰/۰۵$). با این حال بیان ژن iNOS در گروه پنجم (۰/۶۳ ± ۰/۲) در مقایسه با گروه دوم اختلاف معناداری نداشت ($P < ۰/۰۵$) (نمودار ۲).



نمودار ۲- بیان ژن iNOS در گروه‌های مورد مطالعه

گروه اول: بافر PBS به محیط‌های کشت اضافه شد. گروه دوم: لیپو پلی‌ساکارید برای تحریک التهاب با غلظت ۱۰ng/ml استفاده شد. گروه سوم: پس از تحریک با لیپوپلی ساکارید، غلظت ۱۰ µg / ml عصاره اتانولی پونه کوهی استفاده شد. گروه چهارم: تحریک با لیپوپلی ساکارید، ۳۰ µg / ml عصاره اتانولی پونه کوهی استفاده شد. گروه پنجم: پس از تحریک با لیپوپلی ساکارید، غلظت ۶۰ µg / ml عصاره اتانولی پونه استفاده شد. سطح معناداری $P < ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عصاره انانولی پونه کوهی سبب کاهش بیان واسطه های پیش التهابی در التهاب ناشی از لیپوپلی ساکارید در کشت سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی می‌شود.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2024-12-04]

نتایج مطالعات علمی نیز نشان می‌دهند که پونه، دارای اثرات ضد التهاب است (۱۵). در سال‌های اخیر مطالعات مختلف در رابطه با اثرات ضدالتهابی گیاهان دارویی گسترش یافته است. گزارش شده است که روغن سیاه دانه در کاهش التهاب ناشی از لیپوپلی ساکارید می‌تواند مؤثر باشد (۱۶). فلاونوئیدها که از اجزا گیاهان مختلف از جمله هستند، می‌توانند سطوح mRNA مربوط به COX2 و iNOS را از طریق مسدود کردن فعالیت NF- kB کاهش دهند (۱۷).

پاسخ التهابی با فعال‌سازی هماهنگ مسیرهای سیگنالینگ مختلف مشخص می‌شود که بیان هر دو واسطه پیش و ضدالتهابی را در سلول های خون تنظیم می‌کند. در حال حاضر، بیشتر دانش ما از سیگنال‌دهی در التهاب از مطالعه اعضای خانواده گیرنده IL-1 و TNF و گیرنده‌های Toll (TLRs) که متعلق به خانواده IL- 1R هستند، به دست آمده است (۱۸).

IL-1 و TNFα نشان‌دهنده سیتوکین‌های پیش‌التهابی الگویی هستند که به سرعت در اثر آسیب بافتی یا عفونت آزاد می‌شوند. TLRها الگوهای مولکولی میکروبی را تشخیص می‌دهند، از این رو اصطلاح گیرنده تشخیص الگو (PRR) نامیده می‌شود TLRها نشان‌دهنده یک سیستم شناسایی غیرخودی رمزگذاری شده با خط مولد هستند که برای تحریک التهاب طراحی شده‌اند. بااین حال، برخی پیشنهادها وجود دارد که لیگاندهای درون‌زا ممکن است TLRs را در طول آسیب بافتی و برخی از حالات بیماری ایجاد کنند، که ممکن است در غیاب عفونت سبب تحریک التهاب شود. این گیرنده‌ها از مکانیسم های انتقال سیگنال مشابهی استفاده می‌کنند که شامل فعال‌سازی IκB کیناز (IKK) و NF- kB است (۲۱-۱۹). در مطالعه حاضر در سلول‌های تحت درمان باLPS، بیان NF- kB در مقایسه با کنترل افزایش یافت، در حالی که عصاره اتانولی پونه کوهی در دوزهای ۱۰، ۳۰ و ۶۰ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر سبب کاهش NF- kB در مقایسه با کنترل تحت درمان با LPS شد.

NO یک واسطه بیولوژیکی است و در ماکروفاژهای تحریک شده با LPS نقش دارد (۲۲). در این مطالعه، اثر دوزهای مختلف عصاره اتانولی پونه کوهی بر تولید iNOS در سلول‌های خون محیطی تیمار شده با LPS برآورد شد. لیپوپلی ساکارید سبب افزایش تولید iNOS شد با این حال تیمار ۲۴ ساعته با عصاره پونه کوهی در دوزهای ۱۰ و ۳۰ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر توانست به طور معناداری سبب کاهش بیان iNOS شود. فلاونوییدها، جلوی فعالیت گیرنده- N متیل-D- آسپارتات را گرفته و کلسیم داخل سلولی را کاهش می‌دهند. نتیجه این رویداد کاهش فعالیت آنزیم سنتزکننده نیتریک اکساید و فسفولیپاز A2 وابسته به کلسیم است که با کاهش NO و سطح پروستاگلاندین‌ها اثرات ضد التهابی می‌تواند بروز کند (۲۳).

NF- kB بیان iNOS را به روشی وابسته به زمان و غلظت تنظیم می‌کند. تحت شرایط التهابی بالا ناشی از ترکیباتی نظیر لیپوپلی ساکارید، NF- kB فعال می‌شود و به سرعت به هسته منتقل می‌شود، که منجر به افزایش اتصال به پروموتر iNOS و در نتیجه افزایش بیان iNOS می‌شود (۱۳). تصور می‌شود ترکیبات حاوی فلاونویدها به واسطه کاهش بیان NF- kB و در نتیجه از طریق کاهش بیان iNOS بتوانند اثرات ضد التهابی از خود بروز دهند. در بررسی اثرات ضد التهابی پونه کوهی، سیلوا و همکاران (۲۰۱۲) اثرات ضد التهابی ترکیبات خانواده گیاه پونه را مورد ارزیابی قرار دادند. مدل‌های تجربی این مطالعه ادم ناشی از عوامل فلوژیستیک (نکروز ناشی از التهاب) و ضایعات معده ناشی از اسید استیک بوده است. در مدل ایجاد ادم در ناحیه لگن با استفاده از دکستران یا هیستامین، کارواکول که ماده مؤثره گیاه پونه است در دوز ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به واسطه کاهش سطح IL-1β و PGE2 و همچنین کاهش بیان mRNA مربوط به IL-1β و COX-2 و نیز افزایش در میزان IL-10 و بیان mRNAی مربوط به آن، التهاب القا شده در ناحیه لگن موش را کاهش دهد. کارواکول (در دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) پس از ۱۴ روز درمان، میزان بهبودی زخم معده ناشی از اسید استیک را افزایش داد. نتایج این مطالعه پیشنهاد کرده است که کارواکول در سنتز واسطه‌های التهابی مانند پروستانوئید دخالت دارد و در نتیجه می‌تواند سبب بهبود زخم معده به

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2024-12-04]

واسطه کاهش التهاب شود (۲۴). گزارش شده است که اسانس پونه کوهی در حامل‌های لیپیدی نانوساختاری دارای خواص ضد باکتریایی است و سبب تسریع فعالیت ترمیم زخم های عفونی با پیشگیری از رشد باکتری‌ها می‌شود. کاهش طول مدت فاز التهابی و افزایش تکثیر فیبروبلاست ها، بیوسنتز کلاژن و همچنین بازسازی پوستی به ترتیب با تنظیم بیان mRNA ژن‌های IL-10، TGF-β و b-FGF مشاهده شده است (۲۵). ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند quercetin موجب مهار فعالیت NF- kB ناشی از تحریک توسط لیپوپلی ساکارید می‌شود (۲۶, ۲۷) که مکانیسم پیشنهادی احتمالی آن کاهش فسفوریلاسیون Iκβα و Iκββ است (۲۸). قابل ذکر است دوزهای کمتر عصاره پونه کوهی دارای اثرات ضد التهابی بیشتری بودند. با این اختلاف اثرات مشاهده شده بین دوزهای مختلف عصاره مذکور از نظر آماری معنادار نبود.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی پونه کوهی توانست سبب کاهش بیان واسطه‌های پیش‌التهابی NF- kB و iNOS در سلول‌های تک هسته‌ای جدا شده از خون محیطی انسان فعال شده با لیپوپلی ساکارید شود. پیشنهاد می‌شود با توجه به پتانسیل بالای اثرات ضد التهابی عصاره پونه کوهی، مطالعات کامل‌تری در رابطه با ثرات این ترکیب بر روی سیستم ایمنی و به ویژه اثر آن در رابطه با تعادل لنفوسیتی بررسی شود.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله برای تامین مالی این مطالعه (به شماره: ۱۳۹۷/۳۴۰) تشکر و قدردانی می‌شود.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه در دانشگاه علوم پزشکی کردستان بررسی و با کد اخلاق IR.MUK.REC.1397.340 ثبت شده است.

منابع مالی

تامین مالی این مطالعه (به شماره: ۱۳۹۷/۳۴۰) توسط دانشگاه علوم پزشکی کردستان است.

تعارض منافع

نویسندگان، تعارض منافعی را گزارش نکرده‌اند.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2024-12-04]

References

1. Giorgi VS, Peracoli MT, Peracoli JC, Witkin SS, Bannwart-Castro CF. Silibinin modulates the NF-κb pathway and pro-inflammatory cytokine production by mononuclear cells from preeclamptic women. J Reprod Immunol. 2012;95(1-2):67-72.

2. Gualdoni GA, Kovarik JJ, Hofer J, Dose F, Pignitter M, Doberer D, et al. Resveratrol enhances TNF-α production in human monocytes upon bacterial stimulation. Biochim Biophys Acta. 2014;1840(1):95-105.

3. Han YJ, Kwon YG, Chung HT, Lee SK, Simmons RL, Billiar TR, et al. Antioxidant enzymes suppress nitric oxide production through the inhibition of NF-kappa B activation: role of H(2)O(2) and nitric oxide in inducible nitric oxide synthase expression in macrophages. Nitric Oxide. 2001;5(5):504-13.

4. Moens U, Kostenko S, Sveinbjørnsson B. The Role of Mitogen-Activated Protein Kinase-Activated Protein Kinases (MAPKAPKs) in Inflammation. Genes (Basel). 2013;4(2):101-33.

5. Beamer E, Corrêa SAL. The p38MAPK-MK2 Signaling Axis as a Critical Link Between Inflammation and Synaptic Transmission. Frontiers in Cell and Developmental Biology. 2021;9.

6. Yang Y, Kim SC, Yu T, Yi Y-S, Rhee MH, Sung G-H, et al. Functional Roles of p38 Mitogen-Activated Protein Kinase in Macrophage-Mediated Inflammatory Responses. Mediators of Inflammation. 2014:352371:2014.

7. Ajizian SJ, English BK, Meals EA. Specific inhibitors of p38 and extracellular signal-regulated kinase mitogen-activated protein kinase pathways block inducible nitric oxide synthase and tumor necrosis factor accumulation in murine macrophages stimulated with lipopolysaccharide and interferon-gamma. J Infect Dis. 1999;179(4):939-44.

8. Chalchat J-C, Gorunovic MS, Maksimovic ZA, Petrovic SD. Essential Oil of Wild Growing Mentha pulegium L. from Yugoslavia. Journal of Essential Oil Research. 2000;12(5):598-600.

9. Shirazi FH, Ahmadi N, KAMALINEZHAD M. Evaluation of northern Iran Mentha pulegium L. cytotoxicity. 2004.

10. Mahboubi M, Haghi G. Antimicrobial activity and chemical composition of Mentha pulegium L. essential oil. Journal of ethnopharmacology. 2008;119(2):325-7.

11. Mahmodi R, Tajik H, Farshid A, Ehsani A, Zaree P, Moradi M. Phytochemical properties of Mentha longifolia L. essential oil and its antimicrobial effects on Staphylococcus Aureus. Armaghane Danesh Bimonthly Journal. 2011;16(5):400-12.

12. Nascimento GG, Locatelli J, Freitas PC, Silva GL. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. Brazilian journal of microbiology. 2000;31(4):247-56.

13. Arias-Salvatierra D, Silbergeld EK, Acosta-Saavedra LC, Calderon-Aranda ES. Role of nitric oxide produced by iNOS through NF-κB pathway in migration of cerebellar granule neurons induced by Lipopolysaccharide. Cell Signal. 2011;23(2):425-35.

14. Nair MP, Mahajan S, Reynolds JL, Aalinkeel R, Nair H, Schwartz SA, et al. The flavonoid quercetin inhibits proinflammatory cytokine (tumor necrosis factor alpha) gene expression in normal peripheral blood mononuclear cells via modulation of the NF-kappa beta system. Clin Vaccine Immunol. 2006;13(3):319-28.

15. Shah AJ, Bhulani NN, Khan SH, Ur Rehman N, Gilani AH. Calcium channel blocking activity of Mentha longifolia L. explains its medicinal use in diarrhoea and gut spasm. Phytother Res. 2010;24(9):1392-7.

16. Maghsoudi H. Investigation of the Anti-inflammatory Properties of Iranian Nigella sativa L in Reducing the Expression of Pre-Inflammatory Cytokines of TNF-α and IL-18 in Human. 2018.

17. García-Mediavilla V, Crespo I, Collado PS, Esteller A, Sánchez-Campos S, Tuñón MJ, et al. The anti-inflammatory flavones quercetin and kaempferol cause inhibition of inducible nitric oxide synthase, cyclooxygenase-2 and reactive C-protein, and down-regulation of the nuclear factor kappaB pathway in Chang Liver cells. Eur J Pharmacol. 2007;557(2-3):221-9.

18. Karin M, Lawrence T, Nizet V. Innate immunity gone awry: linking microbial infections to chronic inflammation and cancer. Cell. 2006;124(4):823-35.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2024-12-04]

19. Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. Cell. 2006;124(4):783-801.

20. Ghosh S, Karin M. Missing pieces in the NF-κB puzzle. cell. 2002;109(2):S81-S96.

21. Kaisho T, Takeda K, Tsujimura T, Kawai T, Nomura F, Terada N, et al. IκB kinase α is essential for mature B cell development and function. The Journal of experimental medicine. 2001;193(4):417-26.

22. Kim SL, Choi HS, Ko YC, Yun BS, Lee DS. 5-Hydroxymaltol Derived from Beetroot Juice through Lactobacillus Fermentation Suppresses Inflammatory Effect and Oxidant Stress via Regulating NF-kB, MAPKs Pathway and NRF/۲HO-1 Expression. Antioxidants (Basel). 2021;10(8).

23. Kim HP, Son KH, Chang HW, Kang SS. Anti-inflammatory Plant Flavonoids and Cellular Action Mechanisms. Journal of Pharmacological Sciences. 2004;96(3):229-45.

24. Bonfim RR, Paiva-Souza IO, Moraes JP ,Pereira DS, Santos CA, Santana DG, et al. Isopropoxy-carvacrol, a derivative obtained from carvacrol, reduces acute inflammation and nociception in rodents. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2014;115(3):237-43.

25. Khezri K, Farahpour MR, Mounesi Rad S. Efficacy of Mentha pulegium essential oil encapsulated into nanostructured lipid carriers as an in vitro antibacterial and infected wound healing agent. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. 2020;589:124414.

26. Cho S-Y, Park S-J ,Kwon M-J, Jeong T-S, Bok S-H, Choi W-Y, et al. Quercetin suppresses proinflammatory cytokines production through MAP kinases and NF-κB pathway in lipopolysaccharide-stimulated macrophage. Molecular and cellular biochemistry. 2003;243(1):153-60.

27. Wadsworth TL, Koop DR. Effects of the wine polyphenolics quercetin and resveratrol on pro-inflammatory cytokine expression in RAW 264.7 macrophages. Biochemical pharmacology. 1999;57(8):941-9.

28. Nair MP, Mahajan S, Reynolds JL, Aalinkeel R, Nair H, Schwartz SA, et al. The flavonoid quercetin inhibits proinflammatory cytokine (tumor necrosis factor alpha) gene expression in normal peripheral blood mononuclear cells via modulation of the NF-kappa beta system. Clin Vaccine Immunol. 2006;13(3):319-28.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2024-12-04]