مجله علمي دانشگاه علوم پزشكي كردستان/ دوره دوازدهم/ بهار ۱۳۸۶/ ۱۷-۱۰

بررسي تأثير ايمنومدولاتوري غلظت‌هاي مختلف عصاره پلي ساكاريدي قارچ گانودرما لوسيدوم بر عملكرد ماكروفاژهاي صفاقي موش BALB/c

شهرزاد زماني تقي زاده رابع[۱]، دكتر احمد زواران حسيني[۲]، زهير محمد حسن[۲]، سميه شاهرخي[۳]، محمد شفيع مجددي[۴]

۱- دانش آموخته كارشناسي ارشد ايمني شناسي، دانشكده علوم پزشكي، دانشگاه تربيت مدرس (مؤلف مسئول) zamani_imnl@yahoo.com

۲- استاد گروه ايمني شناسي، دانشكده علوم پزشكي، دانشگاه تربيت مدرس

۳- دانشجوي PhD، گروه ايمني شناسي، دانشكده علوم پزشكي، دانشگاه تربيت مدرس

۴- دانش آموخته‌كارشناس ارشد ايمني شناسي، دانشكده علوم پزشكي، دانشگاه تربيت مدرس

چكيده

زمينه و هدف: قارچ گانودرما لوسيدوم (Ganoderma lucidum) به عنوان يك ايمونومدولاتور طبيعي مطرح شده است. هنوز بطور دقيق مشخص نشده است كه چه تركيبي از اين عصاره مسئول اثرات ايمونومدولاتوري آن مي‌باشد ولي به نظر مي‌رسد كه گيرنده ۳ كمپلمان (CR3) سطح سلولهاي مجري سيستم ايمني به عنوان پذيرنده بتا گلوكانها (β-glucan) كه تركيب اصلي اين عصاره را تشكيل مي‌دهد، عمل مي‌نمايد. از آنجايي كه فعاليت آنزيم گلوكز-۶-فسفات دهيدروژناز (G6PD) در تنظيم عملكردهاي ماكروفاژها از جمله توليد نيتريك اكسايد نقش مهمي ايفا مي‌كند، ما تأثير اين عصاره را بر viability، فعاليت آنزيم G6PD و توليد نيتريك اكسايد (NO) در ماكروفاژهاي صفاقي موش BALB/c تيمار شده بررسي كرديم.

روش بررسي: ابتدا ماكروفاژهاي صفاقي موش BALB/c جدا شده و با غلظتهاي (0.001,0.01,0.1, 1,10,100 µg/ml) از عصاره پلي ساكاريدي قارچ گانودرما لوسيدوم (GL-PS) تيمار شدند و درصد زنده بودن ماكروفاژها بعد از ۲۴ ساعت انكوباسيون با استفاده از تست MTT بررسي شد و دوز مؤثر 0.1 µg/ml تعيين گرديد. براي تعيين فعاليت ويژه آنزيم گلوكز-۶-فسفات دهيدروژناز (G6PD) ماكروفاژها به مدت ۲۴ ساعت با دوز 0.1 µg/ml از GI-PS انكوبه شدند سپس ماكروفاژها را توسط سونيكاسيون ليز كرده و فعاليت ويژه آنزيم G6PD با سنجش تغيير جذب NADPH در طول موج 339 nm و تعيين غلظت پروتئين با روش برادفورد در عصاره رويي سلولي بدست آمد. همچنين بعد از ۱۸ساعت انكوباسيون، ميزان توليد نيتريك اكسايد (NO) با استفاده از روش رنگ سنجي گريس سنجيده شد.

يافته‌ها: بر طبق نتايج حاصله دوز ۱/۰ ميكروگرم در ميلي‌ليتر از عصاره پلي‌ساكاريدي گانودرما لوسيدوم در مقايسه با ساير دوزها، بيشترين تأثير را روي درصد زنده بودن (ضريب تحريك) ماكروفاژهاي صفاقي داشت ($p<۰/۰۵$). همچنين مشخص شد كه دوز ۰/۱ ميكروگرم در ميلي‌ليتر GL-PS منجر به افزايش توليد NO و افزايش فعاليت ويژه آنزيم G6PD مي‌شود ($p<۰/۰۵$).

نتيجه‌گيري: قارچ گانودرما لوسيدوم، به عنوان يك قارچ دارويي، در كشورهاي آسياي شرقي بويژه در چين بطور گسترده‌اي جهت افزايش كيفيت زندگي و طول عمر مصرف مي‌شود. ما بعد از انجام اين تحقيق نتيجه گرفتيم كه عصاره GL-PS اثر ايمونومدولاتوري بر فعاليت ماكروفاژها دارد. بنابر اين مي‌توان از عصاره پلي ساكاريدي اين قارچ به عنوان يك عامل تقويت‌كننده سيستم فاگوسيتي در برابر عوامل عفوني و پاتوژنهايي چون انگل ليشمانيا استفاده كرد كه توليد نيتريك اكسايد توسط ماكروفاژها در برابر آنها نقش مهمي در دفاع عليه آنها دارد.

کلید واژه‌ها: عصاره پلي ساكاريدي گانودرما لوسيدوم، آنزيم گلوكز-۶- فسفات دهيدروژناز، نيتريك اكسايد، تست MTT
وصول مقاله: ۸۴/۱۱/۲۹ اصلاح نهايي: ۸۵/۷/۲۹ پذيرش مقاله: ۸۵/۹/۳۰

مقدمه

قارچ گانودرما لوسيدوم (GL-PS) جزو بازيديوميست ها بوده و متعلق به زير گونه گانودرماتاسه گونه آفيلوفورالها است (۱). عصاره آبي پلي ساكاريدي آن بطور وسيعي در كشورهاي آسياي شرقي به ويژه چين در طب سنتي براي پيشگيري از بيماريهاي مختلف از جمله فشار خون بالا، برونشيت، آرتريت، نفريت، زخم معده، بيماري تومورژنيك و اسكلرودرما استفاده مي‌شود (۷-۱). گانودرما لوسيدوم اثراتي چون فيبروتيك، كاهش كلسترول و كاهش قند خون نيز دارد (۱۰-۸). اپي توپ كربوهيدراتي اصلي كه مسئول فعاليت ضد توموري آن است و نيز گيرنده سطح سلولي براي آن هنوز كاملا مشخص نشده است، با اين حال، نشان داده شده است كه گيرنده CR3 (گيرنده كمپلمان ۳) از طريق زنجيره‌هاي جانبي نامشخصي به β- گلوكان پلي ساكاريدها متصل مي‌شود (۱۱). بنظر مي‌رسد كه گانودرما لوسيدوم بسيار بي‌خطر باشد زيرا تجويز خوراكي عصاره آن هيچ اثر سمي نشان نداده است (۱۲,۱۳). ماكروفاژها سلولهاي ايمني هستند كه در دفاع عليه عوامل عفوني مختلف نقش مهمي ايفا مي‌كنند. مكانيسم‌هاي ميكربكشي ماكروفاژها عمدتاً شامل توليد راديكال‌هاي فعال اكسيژن و توليد نيتريك اكسايد[1] (NO) مي‌باشد ولي بررسي‌هاي مختلف نشان داده‌اند كه توليد نيتريك اكسايد مهمترين مكانيسم ليشمانيا كشي ماكروفاژهاي آلوده مي‌باشد (۱۴,۱۵). مسير متابوليكي پنتوز فسفات كه در اكثر سلولها وجود دارد، مهمترين منبع توليدكننده NADPH در داخل سلولها مي‌باشد. NADPH توليد شده كوآنزيم فعاليت بسياري از آنزيمهاي مهم از جمله كمپلكس آنزيمي نيتريك اكسايد سنتاز[2] (NOS) در داخل ماكروفاژها است (۱۶,۱۷). آنزيم گلوكز-۶-فسفات دهيدروژناز[3] (G6PD) آنزيم محدودكننده سرعت و مهمترين آنزيم اين مسير متابوليكي بوده و در مطالعات پژوهشي مختلف نشان داده شده كه مهار اين آنزيم منجر به كاهش شديد ميزان NADPH داخل سلولي و نيز كاهش ميزان توليد نيتريك اكسايد مي‌شود (۱۸,۱۹). همچنين در بررسي‌هاي قبلي مشخص شده كه در افرادي كه دچار نقص در آنزيم G6PD مي‌باشند ميزان ابتلا به عفونتهاي مختلف از جمله توكسوپلاسما، ريكتزيا و هليكوباكترپيلوري و نيز شدت بيماري حاصله افزايش مي‌يابد (۲۲-۲۰). در اين مطالعه اثر ايمنومدولاتوري عصاره پلي ساكاريدي قارچ گانودرما لوسيدوم بر درصد زنده بودن،

1. nitric oxide
2. nitric oxide synthase
3. glucose-6-phosphate dehydrogenase

فعاليت ويژه آنزيم G6PD و توليد نيتريك اكسايد توسط ماكروفاژهاي موش BALB/c بررسي شد.

روش بررسي

۱- جداسازي ماكروفاژهاي صفاقي موش BALB/c

موشهاي BALB/c ماده (۸-۹ هفته‌اي) براي جداسازي ماكروفاژهاي صفاقي مورد استفاده قرار گرفتند. در ابتدا به صفاق موش RPMI تزريق شد و سپس مايع صفاقي موش تحت شرايط استريل آسپيره شد. سوسپانسيون سلولي آسپيره شده را دوبار با PBS شستشو داده و بعد از سانتريفوژ سلولها با دور ۳۰۰g به مدت ۱۰دقيقه، مايع رويي را دور ريخته و توده سلولي ته لوله در ۱ سي سي RPMI حاوي FCS، ۱۰% به حالت سوسپانسيون درآورده شد سپس ماكروفاژها شمارش شده و به تعداد 1×10^6 رسيده، درصد زنده بودن آنها تعيين شده و در تستهاي مختلف مورد استفاده قرار گرفتند. تمامي تستها به صورت سه تايي (n=3) انجام شده و حداقل سه بار تكرار شدند.

۲- تست MTT

در اوايل دهه ۱۹۸۰موسمان به توضيح اين روش پرداخت (۲۳). در هر چاهك ميكروپليت ۹۶ خانه‌اي ۱۰۰ ميكروليتر از سوسپانسيون سلولي بدست آمده از صفاق موش اضافه شده و ماكروفاژها در گروه‌هاي مجزا با غلظتهاي مختلف (0.001,0.01,0.1,1,10,100 µg/ml) از عصاره پلي ساكاريدي قارچ گانودرما لوسيدوم (GL-PS) تيمار شدند. سپس ميكروپليت به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتيگراد و CO2 ۵% قرار گرفت. بعد از اين مدت درصد زنده بودن (ضريب تحريك) ماكروفاژها توسط تست MTT تعيين شد. محلول حاوي MTT[4] با غلظت ۵ ميلي‌گرم در ميلي‌ليتر تهيه شد و ۲۵ ميكروليتر از آن به هر چاهك اضافه شد. بعد از ۴ ساعت انكوباسيون در ۳۷ درجه سانتيگراد ۱۰۰ ميكروليتر دي متيل سولفوكسايد (DMSO) به تمام چاهك‌ها اضافه شد و كاملا مخلوط شد تا تمام بلورهاي آبي تشكيل شده حل شوند سپس جذب نوري گروه‌هاي تست (ماكروفاژهاي تيمار شده) و كنترل (ماكروفاژهاي تيمار نشده) توسط دستگاه Multiscan MS ELISA reader در طول موج ۵۷۰ نانومتر قرائت شد و به صورت ضريب تحريك گزارش گرديد. اندكس تحريك[5] براي گروه تيمار شده با مواد فعال كننده و درصد سايتوتوكسيسيتي براي گروه تيمار شده از فرمولهاي زير محاسبه شد:

$$SI = \frac{\text{جذب سلولهاي تحريك شده}}{\text{جذب سلولهاي تحريك نشده (گروه كنترل)}}$$

۳- سنجش غلظت نيتريك اكسايد (NO)

براي انجام اين تست ماكروفاژها با غلظت مؤثر 0.1 µg/ml از عصاره پلي ساكاريدي قارچ گانودرما لوسيدوم (GL-PS) تيمار شدند. از ماكروفاژهاي تيمار شده با SNAP[6] (تقويت‌كننده مسير توليد نيتريك

4. 4,5-tetrazolium-2-yl)-2,5diphenil tetrazolium bromide
5. Stimulation Index
6. S-Nitroso-Asethyl-Penicillamide

اکساید) + IFN-γ و LPS[7] + IFN-γ[8] به عنوان کنترل مثبت استفاده شد زیرا نشان داده شده است که این مواد تولید NO توسط ماکروفاژها را تحریک می‌کنند. از ماکروفاژهای تیمار شده با NMMA[9] نیز به عنوان کنترل منفي استفاده شد زیرا این ماده مهارکننده تولید NO می‌باشد. میزان تجمع NO2 به عنوان شاخص میزان تولید NO در مایع رویي سلولهاي کشت داده شده، توسط روش رنگ سنجي گریس[10] و استفاده از منحني استاندارد نیتریت سدیم تعیین شد. ۵۰ میکرولیتر از مایع رویي ماکروفاژهاي کشت داده شده با ۵۰ میکرولیتر از محلول حاوي [نفتیل] اتیلن آمید دي هیدروکلراید (۱/۰ mg/ml)، سولفانیل آمید (۱ mg/ml)، اسید فسفوریک ۵% و آب مقطر به مدت ۱۰ دقیقه در دماي اتاق انکوبه شد سپس جذب نمونه‌ها در۵۴۰ نانومتر قرائت گردید.

۴- تعیین فعالیت آنزیم G6PD

براي سنجش فعالیت ویژه آنزیم G6PD (فعالیت ویژه برحسب U/mg) ماکروفاژهاي صفاقي موش را به تعداد 5×10^5 سلول در هر چاهك میکروپلیت ۹۶ خانه‌اي ریخته و به مدت ۲۴ ساعت با غلظت مؤثر 0.1 μg/ml از عصاره پلي ساکاریدي قارچ گانودرما لوسیدوم تیمار شدند. سپس میکروپلیت به مدت ۲۴ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد و CO2، ۵% قرار گرفت. بعد از این مدت ماکروفاژها از ته پلیت جدا شده و فعالیت آنزیم G6PD در عصاره سلولي ماکروفاژهاي لیز شده تعیین شد. بدین منظور، ماکروفاژهاي صفاقي جدا شده از ته هر چاهك سانتریفوژ شده (۲۰۰ g به مدت ۱۰ دقیقه در ۴ درجه سانتیگراد) سپس در PBS به حالت سوسپانسیون درآمده و براي لیز شدن تحت سونیکاسیون (6 times, 10-s burst with 1-min intervals) قرار داده شدند. عصاره سلولي قبل از سنجش به مدت ۲۰ دقیقه با دور۱۲۰۰۰g با دماي ۴ درجه سانتیگراد سانتریفوژ شده و تا زمان سنجش، روي یخ نگهداري شد. ۲۰۰ میکرو لیتر از عصاره سلولي با ۷۵/۰ میلي‌لیتر از بافر تریس- اسید کلریدریک ۵ مولار حاوي MgCl2 ۳ میلي مولار (pH ۷/۸)، ۲۵ میکرولیتر از گلوکز-۶- فسفات ۷/۴ میکرومولار و NADPH ۸/۷ میکرومولار مخلوط شده و افزایش جذب NADPH بعد از ۵ دقیقه انکوباسیون در۳۷ درجه سانتیگراد در طول موج ۳۳۹ نانومتر قرائت شد. همچنین غلظت پروتئین سلولي در۵۰ میکرولیتر از عصاره سلولي ماکروفاژها به روش برادفورد تعیین شد و فعالیت ویژه آنزیم بدست آمد (۲۴). نتایج حاصل از تستها با استفاده از نرم افزار SPSS و آنالیز آماري ANOVA مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

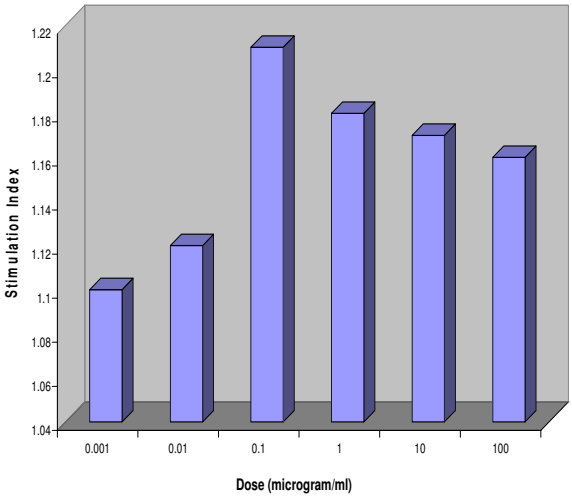
یافته‌ها

۱- نتایج حاصل از انجام تست MTT

همانطور که در جدول ۱ مشخص شده است، نتایج حاصل از انجام تست MTT بر روي ماکروفاژهایي

7. lipopolysaccharide
8. interferon-γ
9. N-Methyl-L-Arginine
10. Griess method

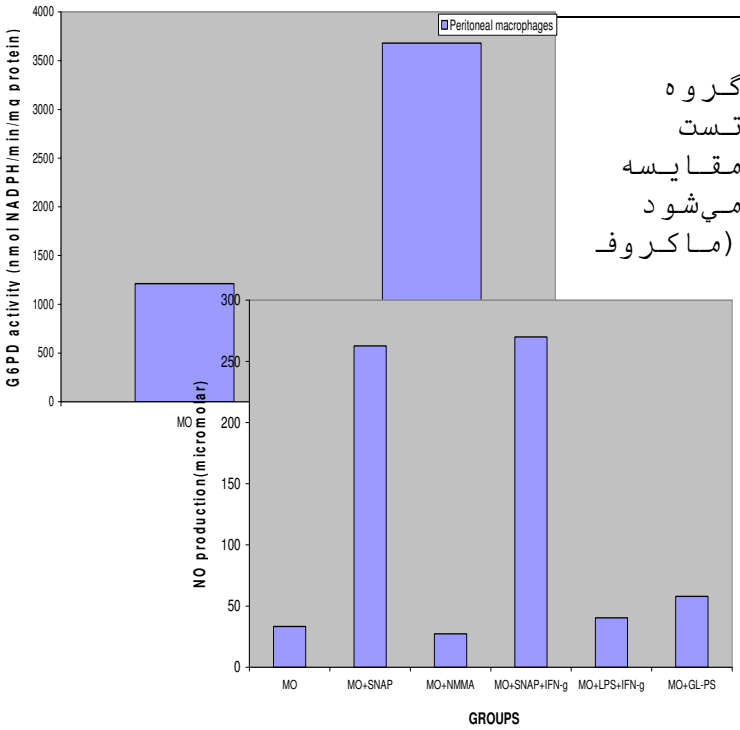
که با غلظتهاي مختلف (0.001, 0.01, 0.1, 1, 10, 100 µg/ml) ازعصاره پلي ساکاريدي قارچ گانودرما لوسيدوم (GL-PS) تيمار شدند نشان داد که تمام اين دوزها درصد زنده بودن (ضريب تحريک) ماکروفاژها را افزايش معنيداري داده اند. (p<۰/۰۵). ولي دوز 0.1 µg/ml عصاره پلي ساکاريدي قارچ گانودرما لوسيدوم (GL-PS) بيشترين تأثير را داشت (p<۰/۰۵) (نمودار ۱).



نمودار ۱: نتايج حاصل از انجام تست MTT بر ماکروفاژهاي صفاقي موش BALB/c بعد از ۲۴ ساعت تيمار با دوز 0.1 µg/ml از GL-PS

۲- نتايج حاصل از سنجش غلظت نيتريک اکسايد (NO)

نتايج حاصل از سنجش ميزان نيتريک اکسايد توليد شده توسط ماکروفاژهاي تيمار شده با دوز 0.1µg/ml عصاره پليساکاريدي قارچ گانودرما لوسيدوم (GL-PS) بعد از ۱۸ساعت که در جدول ۱ آمده است، نشان داد که تيمار ماکروفاژها با اين عصاره ميزان توليد نيتريک اکسايد توسط ماکروفاژها را بطور قابل توجهي نسبت به گروه کنترل که در آناليز آماري با گروه تست مقايسه ميشود (ماکروفاژهاي تيمار نشده به تنهايي) افزايش ميدهد (p<۰/۰۵) (نمودار۲).



نمودار ۲: ميزان توليد نيتريت (بر حسب ميکرومولار) توسط ماکروفاژها بعد از ۱۸ ساعت انکوباسيون با تيمار ماکروفاژها با دوز 0.1 µg/ml از GL-PS

MO، ماکروفاژ؛ MO+SNAP، ماکروفاژ+SNAP؛ MO+NMMA، ماکروفاژ+NMMA؛ MO+SNAP+IFN-g، ماکروفاژ+SNAP+ IFN-γ؛ MO+LPS+IFN-g، ماکروفاژ+ LPS+ IFN-γ؛ MO+GL-PS، ماکروفاژ + دوز 0.1 µg/ml از GL-PS.

۳- نتايج حاصل از تعيين فعاليت آنزيم G6PD

سنجش فعاليت آنزيم G6PD در عصاره حاصل از ليز ماکروفاژهاي تيمار شده با دوز 0.1 µg/ml عصاره پلي ساکاريدي قارچ گانودرما لوسيدوم نشان داد که استفاده از اين عصاره افزايش معنيداري در فعاليت آنزيم G6PD در ماکروفاژها تيمار شده نسبت

به گروه کنترل ایجاد کرده است ($p<۰/۰۵$) (نمودار ۳).

نمودار ۳: فعالیت آنزیم G6PD (فعالیت ویژه) در ماکروفاژهاي صفاقي موش BALB/c تیمار شده با دوز 0.1 µg/ml از GL-PS. MO، ماکروفاژ؛ MO+GL-PS، ماکروفاژ+ دوز 0.1 µg/ml از GL-PS

بحث

گانودرما لوسیدوم نوعي قارچ است که بطور وسیعي به عنوان یک قارچ دارویي، در کشورهاي شرقي مختلف بویژه در چین بطور گسترده‌اي جهت افزایش کیفیت زندگي و طول عمر مصرف مي‌شود. بررسي‌هاي متعددي نشان داده‌اند که میسیلیومهاي کشت داده شده و اسپورهاي گانودرما لوسیدوم در درمان هپاتوپاتي و نئوپلازي بسیار مؤثر است. یکي از دلایلي که این قارچ مورد توجه دانشمندان قرار گرفته این است که پلي‌ساکاریدهاي آن اثرات ضد توموري دارند (۲۶, ۲۵). شواهد متعددي نشان داده‌اند که β-D- گلوکان بدست آمده از این قارچ دارویي مي‌تواند پاسخهاي بیولوژیکي را از طریق اتصال به گیرنده غشایي نوع ۳ کمپلمان (CR3، اینتگرین aMb2 یا CD11b/CD18) روي سلولهاي ایمني کارگزار القا کند. کشف گیرنده اختصاصي که این ترکیبات از طریق آنها اثرات خود را اعمال مي‌کنند دیدگاههاي جدیدي را براي تحقیقات آتي گشوده است (۲۸, ۲۷). ماکروفاژها سلولهاي ایمني هستند که در دفاع علیه عوامل عفوني مختلف نقش مهمي ایفا مي‌کنند. مکانیسم‌هاي میکربکشي ماکروفاژها عمدتا شامل تولید رادیکالهاي فعال اکسیژن و تولید نیتریک اکساید (NO)مي‌باشد. مسیر متابولیکي پنتوز فسفات که در اکثر سلولها وجود دارد مهمترین منبع تولیدکننده NADPH خارج میتوکندریایي در داخل سلولها محسوب مي‌شود. NADPH تولید شده کوآنزیم فعالیت بسیاري از آنزیمهاي مهم از جمله کمپلکس آنزیمي نیتریک اکساید سنتاز (NOS) در داخل ماکروفاژها است. آنزیم گلوکز-۶- فسفات دهیدروژناز(G6PD) آنزیم محدودکننده سرعت و مهمترین آنزیم این مسیر متابولیکي بوده و در بررسي‌هاي مختلف نشان داده شده که مهار این آنزیم منجر به کاهش شدید میزان NADPH داخل سلولي شده وافزایش فعالیت آنزیم G6PD منجر به افزایش تولید NADPH در سلولها مي‌شود (۱۹-۱۶). در این تحقیق تلاش بر این بوده تا اثر افزایش فعالیت مسیر پنتوز فسفات (میزان تولید NADPH) به ویژه آنزیم گلوکز-۶- فسفات دهیدروژناز را که آنزیم کنترل‌کننده این مسیر متابولیکي مي‌باشد، در تولید نیتریک اکساید توسط ماکروفاژها بررسي نماید. در بررسي‌هاي قبلي، تأثیر نقص G6PD در افزایش استعداد ابتلا و نیز افزایش شدت بیماریهاي عفوني مختلف از جمله ریکتزیاها (۲۹)، پنوموني ناشي از آسینتوباکتر (۳۰)، عفونت توکسوپلاسما (۳۱) و عفونت هلیکوباکتر پیلوري (۳۲) در بیماران به اثبات رسیده است. همچنین ثابت شده است که لکوسیت‌هاي این افراد داراي اختلال در فرایند کشتن عوامل عفوني بوده و میزان تولید رادیکالهاي فعال اکسیژن

و نيتروژن در آنها كمتر از سطح طبيعي مي‌باشد (۳۶-۳۳). ما در اين تحقيق بعد از تيمار ماكروفاژها، اثر اين عصاره را توسط تست MTT، ميزان توليد نيتريك اكسايد و ميزان فعاليت آنزيم G6PD مورد بررسي قرار داديم. در اين بررسي اثر تحريكي غلظتهاي مختلف GL-PS (0.001,0.01,0.1, 1,10,100 µg/ml) را بر ماكروفاژها كه جزو سلولهاي كارگزار سيستم ايمني هستند توسط تستMTT در in vitro بررسي كرديم. همانطور كه نتايج حاصل از انجام تست MTT نشان دادند، تمام غلظتهاي استفاده شده از GL-PS تا حد قابل توجهي سبب افزايش درصد زنده بودن و فعاليت (ضريب تحريك) ماكروفاژهاي صفاقي موش BALB/c مي‌شوند و غلظت 0.1 µg/ml از GL-PS (دوز مؤثر) بيشترين اثر را دارد. با بررسي غلظت 0.1 µg/ml ازGL-PS بر ماكروفاژهاي تيمار شده مشخص شد كه اين دوز سبب افزايش توليد NADPH، افزايش فعاليت آنزيم G6PD و افزايش توليد نيتريك اكسايد در ماكروفاژهاي صفاقي مي‌شوند. بنابراين با توجه به اينكه NADPH توليد شده، كوآنزيم مهم آنزيم‌هاي توليدكننده راديكالهاي فعال اكسيژن و نيتروژن از جمله سوپراكسايد و نيتريك اكسايد درماكروفاژها مي‌باشد كه در دفاع ماكروفاژهاي آلوده عليه پاتوژنها نقش مهمي ايفا مي‌كنند با افزايش فعاليت آنزيم G6PD و در نتيجه افزايش ميزان NADPH و افزايش توليد نيتريك اكسايد، دفاع ماكروفاژها عليه پاتوژنها افزايش مي‌يابد.

نتيجه‌گيري

اين تحقيق نشان داد كه عصاره GL-PS خصوصيات ايمنومدولاتوري قوي دارد و توليد نيتريك اكسايد و در نتيجه فعاليت ميكربكشي ماكروفاژها را تحريك مي‌كند. اين يافته با بسياري از اثرات درماني آن تطابق دارد. در اغلب بررسي‌ها، گزارش شده است كه GL-PS مي‌تواند پاسخ ايمني محافظتي قوي را در مقابل پيشرفت بيماري القا كند. تحقيقات بيشتري براي بررسي تأثير GL-PS بر الگوي توليد سايتوكاين، زير گروه‌هاي لنفوسيتي و انتقال سيگنال داخل سلولي لازم است تا مكانيسم دقيق عملكرد اين قارچ دارويي مشخص شود. تحقيق ما نشان مي‌دهد كه استفاده از اين قارچ دارويي مي‌تواند براي پروفيلاكسي و درمان بيماري در بيماران مبتلا به نقص سيستم ايمني بسيار مفيد باشد.

References

1. Yang FC, Ke YF, Kuo SS. Effect of fatty acids on the mycelial growth and polysaccharide formation by ganoderma lucidum in shake flask cultures. Enzyme Microbe Technol 2000; 27: 295-301.

2. Su CY, Shiao MS, Wang CT (2000). Potentiation of ganodermic acid S on prostaglandin E1-induced cyclic AMP elevation in human platelets. Thromb Res 2000; 99: 135-145.

3. El-Mekkawy S, Meselhy MR, Nakamura N, Tezuka Y, Hattori M, Kakiuchi N and et al. Anti HIV 1 and anti HIV 1 protease substances from ganoderma lucidum. Phytochemistry 1998; 49: 1651-1657.
4. Arisawa M, Fujica A, Saga M, Fukumura H, Hayashi T, Shimizu M and et al. Three new lanostanoids from ganoderma lucidum. J Nat Prod 1986; 49: 621-625.
5. Weis AL. Therapeutic effects of substances occurring in higher basidiomycetes mushrooms: a modern perspective. Crit Rev Immunol 1999; 19: 65-96.
6. Kim YS, Eo SK, Oh KW, Lee CK, Han SS. Antiherpetic activity of acidic protein bound polysaccharide isolated from ganoderma lucidum alone and in combinations with interferons. J Ethnopharmacol 2000; 72: 451-458.
7. Yen GC, Wu JY. Antioxidant and radical scavenging properties of extracts from ganoderma tsugae. Food Chem 1999; 65: 375-379.
8. Park EJ, Ko G, Kim J, Sohn DH. Antifibrotic effects of a polysaccharide extracted from ganoderma lucidum, glycyrrhizin, and pentoxifylline rats with cirrhosis induced by biliary obstruction. Biol Pharm Bull 1997; 20: 417-20.
9. Berger A, Rein D, Kratky E, Monnard I, Hajjaj H, Meirim I, et al. Cholesterol-lowering properties of ganoderma lucidum in vitro, exvivo, and in hamsters and minipigs. Lipids in Health and Disease 2004; 3: 1-12.
10. Hui-na Z, Zhi-bin L. Hypoglycemic effect of ganoderma lucidum polysaccharides. Acta Pharmacol Sin 2004; 25: 191-195.
11. Yuan Yuan W, Kay Hooi K, Shui Tein Ch, Chun-Cheng L, Chi-Huey W, Chun-Hung L. Studies on the immuno-modulating and antitumor activities of ganoderma lucidum (Reishi) polysaccharides: functional and proteomic analyses of a fucose-containing glycoprotein fraction responsible for the activities. Bioorg Medi Chem 2002; 10: 1057-1062.
12. Eo SK, Kim YS, Lee CK, Han SS. Antiherpetic activities of various protein bound polysaccharide isolated from ganoderma lucidum. J Ethnopharmacol 1999; 68:175-181.
13. Eo SK, Kim YS, Lee CK, Han SS. Antiviral activities of various water and methanol soluble substances isolated from ganoderma lucidum. J Ethnopharmacol 1999; 68: 129-136.
14. Nathan CF, Gabay J. Antimicrobicidal mechanisms of macrophages. Mononuclear Phagocytes 1992; 12: 256-267.
15. Assreuy J, Cunha FQ, Epperlein M, Noronha-Dutra A, Odonnell C. Production of nitric oxide and superoxide by activated macrophages and killing of leishmania major. Eur J Immunol 1994; 24: 627-676.
۱۶. كاكس م و نلسون د. اصول بيوشيمي لنينجر. دكتر رضا محمدي، جلد دوم، انتشارات آييژ، ۱۳۸۲، صفحات: ۶۶۹-۶۷۲.
17. Cheng M, Ho H (2000). Cellular glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) status modulates the effect of nitric oxide (NO) on human macrophages. FEBS Letter 2000; 475: 257-262.
18. Padgett DA. Loria RM. Endocrine regulation of murine macrophage function: effects of dehydroepiandrosterone, androsterone, and androstenetriol. Journal of neuroimmunology 1998; 84(1): 61-68.
19. Walker DL, Reid JM, Svingen PA, Rios R, Covey JM, Alley MC. Murine pharmacokinetics of 6-aminonicotinamide a novel biochemical modulating agent. Biochemical and Pharmacological Journal 1999; 58: 1057-1066.
20. Tabbara KF, Sharara NA, Al-Momen AK (2001). Toxoplasmasis in a group of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficient patients. Saudi Med J 2001; 22: 330-332.
21. Walker DH, Hawkins HK, Hudson P. Fulminant Rocky mountain spotted fever. Its pathologic characteristics associated with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. Arch Pathol Lab Med 1983; 107: 121-125.
22. Keenam JI, Peterson RA, Hampton MB. NADPH oxidase involvement in the pathology of helicobacter pylori infection. J Free Rad Bio Med 2004; 25: 5-9.

23. Mosmann T. Rapid colometric assay for cellular growth and survival: application to proliferation cytotoxicity assay. J Immunol Methods 1983; 65: 55-63.
24. Titez M. Textbook of clinical biochemistry. 3rd ed. Philadelphia press. Saunders W.B. Comp. 1999. p. 93-99.
25. Yang FC, Ke YF, Kuo SS. Effect of fatty acids on the mycelial growth and polysaccharide formation by ganoderma lucidum in shake flask cultures. Enzyme Microb Technol 2000; 27: 295-301.
26. Su CY, Shiao MS, Wang CT. Potentiation of ganodermic acid S on prostaglandin E1-induced cyclic AMP elevation in human platelets. Thromb Res 2000; 99: 135-145.
27. Miyazaki T, Nishijima M (1981). Structural examination of a water soluble, anti-tumor polysaccharide ganoderma lucidum. Chem and Pharm Bul 1981; 29: 3611-3616.
28. Wang SY, Hsu M L, Hsu HC, Tzeng CH, Lee SS, Shiao MS, and et al (1997). The anti-tumor effect of ganoderma lucidum is mediated by cytokines released from activated macrophages and T lymphocytes. Int J of Cancer 1997; 70: 699-705.
29. Walker DH, Hawkins HK, Hudson P. Fulminant Rocky mountain spotted fever. Its pathologic characteristics associated with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. Arch Pathol Lab Med 1983; 107: 121-125.
30. Yang CH, Chen KJ, Wang CK. Community-acquired acinetobacter pneumonia: A case report. J Infect 1997; 35: 316-318.
31. Tabbara KF, Sharara NA, Al-Momen AK. Toxoplasmosis in a group of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficient patients. Saudi Med J 2001; 22: 330-332.
32. Keenam JI, Peterson RA, Hampton MB. NADPH oxidase involvement in the pathology of helicobacter pylori infection. J Free Rad Bio Med 2004; 25: 5-9.
33. Abu-Osba YK, Mallouh AA, Hann RW. Incidence and causes of sepsis in glucose-6-phosphate dehydrogenas deficiency in newborn infants. J Pediatr 1989; 114: 748-752.
34. Heltzer ML, Sullivan KE. Unusual infections in a mother and son with G6PD and a defective oxidative burst. J Allergy Clin Immunol 2000; 115: 85-91.
35. Clark M, Root RK. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and indection: a study of hospitalized patients in Iran. Yale J biol Med 1979; 52: 169-179.
36. Vives Corrons JL, Pujades MA, Cardellach F, Rozman C, Carreras A. Severe glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency associated with chronic hemolytic anemia, granulocyte dysfunction and increased susceptibility to infections: description of a new molecular variant (G6PD Barcelona). Blood 1982; 59: 428-434.