

بررسی تأثیر عصاره هیدروالکلی سرخارگل بر پارامترهای خون در موش کوچک آزمایشگاهی

مهرداد مدرسی^۱، صدیقه اسدی^۲

۱- گروه فیزیولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد خوراسگان، اصفهان، ایران

۲- گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، اصفهان، ایران

یافته / دوره چهاردهم / شماره ۲ / بهار ۹۱ / ویژه نامه گیاهان دارویی

چکیده

دریافت مقاله: ۹۰/۸/۱۰، پذیرش مقاله: ۹۰/۱۱/۱۸

* مقدمه: سرخارگل با نام علمی *Echinacea purpurea* متعلق به خانواده گل ستاره‌ای‌ها (Asteraceae) دارای اثرات درمانی زیادی است که یکی از مهم‌ترین آنها تقویت سیستم ایمنی می باشد در این مطالعه اثر عصاره هیدروالکلی سرخارگل بر پارامترهای خونی موش‌های کوچک آزمایشگاهی (گونه Balb/C) بررسی شده است.

* مواد و روش‌ها: در این تحقیق ۴۸ موش در ۶ گروه به طور تصادفی تقسیم شدند. گروه کنترل هیچ عصاره‌ای دریافت نکرد. گروه دارونما (placebo) ۵ cc / ۰ نرمال سالین به صورت یک روز در میان و ۴ گروه تیماری به ترتیب عصاره با دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ mg/kg/2day به صورت تزریق درون صفاقی (IP) دریافت کردند. پس از آن از همه موش‌ها به روش خون‌گیری از قلب، نمونه خون گرفته شد. نتایج بدست آمده با نرم‌افزار آماری SPSS در سطح $P < 0.05$ آنالیز گردید.

* یافته‌ها: مطالعه پارامترهای خونی نشان داد که تعداد کل سلول‌های سفید خون هر ۴ گروه تجربی در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌دار دارد ($P < 0.05$). تعداد نوتروفیل‌ها در هر ۴ گروه تجربی در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌دار نشان داده است، اما تفاوت معنی‌داری در مونوسیت‌ها مشاهده نشد. تعداد سلول‌های قرمز خون در گروه‌های ۱ و ۲ در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌دار دارد. در این مطالعه عصاره بر میانگین هموگلوبین، هماتوکریت و شاخص‌های سلول‌های قرمز خون (MCHC، MCV، MCH) هیچ اثر معنی‌داری را از نظر آماری نشان نمی‌دهد.

* بحث و نتیجه‌گیری: یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد عصاره سرخارگل احتمالاً می‌تواند با افزایش در تعداد سلول‌های سفید خون باعث تقویت سیستم ایمنی شده و با افزایش در تعداد سلول‌های قرمز خون بر خون‌سازی موثر باشد.

* واژه‌های کلیدی: سرخارگل، پارامترهای خونی، موش کوچک آزمایشگاهی

آدرس مکاتبه: اصفهان، ارغوانیه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان، دانشکده کشاورزی، گروه فیزیولوژی

پست الکترونیک: mehrdad_modaresi@hotmail.com

مقدمه

قرن بیست و یکم قرن بازگشت به طبیعت و استفاده از مواد گیاهی و طبیعی در درمان نام گذاری شده و این مهم به علت شناخته شدن آثار جانبی و ناخواسته بسیاری از ترکیبات دارویی ساخته شده به دست بشر انجام پذیرفته است. استفاده روز افزون از داروهای طبیعی و گیاهی در اکثر کشورهای جهان و توجه و انجام تصاعدی پژوهش‌های سم شناسی، فارماکولوژی و بالینی در امر شناسایی خواص درمانی گیاهان مختلف، موجب شناخت آثار جدید و بارز درمانی گیاهان و مواد طبیعی شده است.

از دیر باز استفاده از گیاهان دارویی در ایران معمول و اسناد و مدارک معتبر و متعددی در مورد استفاده از گیاهان در درمان بیماری‌ها از ادوار مختلف تاریخ، قبل و بعد از میلاد مسیح موجود است و دانشمندان ایرانی و اسلامی توجه خاص به این موضوع داشته و منابع بسیار معتبر و با ارزشی را در این زمینه از خود به یادگار نهاده‌اند (۱۱).

سرخارگل گیاهی با نام علمی *Echinaceae purpurea* و نام عمومی *Echinaceae* است. این گیاه به خانواده *Asteraceae* یا *Compositae* تعلق دارد و منشاء آن شمال آمریکا گزارش شده است.

قسمت‌های مختلف گیاه از جمله ریشه و بخش‌های هوایی آن دارای خواص درمانی زیادی است برخی از این فواید عبارتند از تسریع در بهبود زخم‌ها، نابودی باکتری‌ها و ویروس‌ها، درمان سرماخوردگی و مسمومیت‌های خونی، بیماری‌های برونشیتی و سینوزیت، درمان مارگزیدگی (۲،۳). عصاره سرخارگل از داروهای تقویت کننده سیستم دفاعی بدن می‌باشد و در طب سنتی کشور آمریکا، سرخارگل معمولاً به تنهایی یا به همراه سایر گیاهان برای تقویت سیستم ایمنی به بازار عرضه می‌شود لیکن دوز درمانی آن بخوبی مشخص نشده است (۴-۶).

تحقیقات جدید نشان دهنده این مطلب است که تأثیر سرخارگل در تقویت سیستم دفاعی بدن مربوط به ترکیبات پلی‌ساکاریدی گیاه مانند اکیناسن^۱ و اکیناکوزید^۲ و ترکیبات آلکیل آمیدی آن می‌باشد (۶). در تحقیقات انجام شده مشخص گردیده است که مصرف خوراکی سرخارگل در جوجه‌های گوشتی و خوک‌ها و اضافه کردن پلی‌ساکاریدهای خالص شده آن به محیط کشت سلول‌های ایمنی، باعث افزایش معنی‌دار در تعداد سلول‌های ایمنی و افزایش فاگوسیتوز در این سلول‌ها گردیده است (۷،۸).

در این تحقیق اثر تزریق درون صفاقی عصاره هیدروالکلی قسمت‌های هوایی سرخارگل در دوزهای مختلف با استفاده از موش‌های آزمایشگاهی نژاد سوری مورد بررسی قرار گرفته است. مزیت روش تزریق درون صفاقی نسبت به روش خوراکی حصول اطمینان از وارد شدن دوز مشخص عصاره به بدن حیوان است. این تحقیق با هدف تعیین اثر عصاره سرخارگل بر روی تعداد گلبول‌های قرمز و سفید خون، غلظت هموگلوبین و شاخص‌های گلبول‌های قرمز (MCV، MCH، MCHC) و در عین حال تعیین موثرترین دوز عصاره در ایجاد تغییرات احتمالی انجام پذیرفته است.

مواد و روش‌ها

حیوانات تجربی

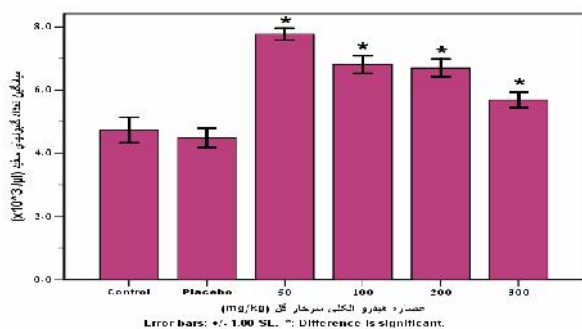
در این تحقیق از موش‌های کوچک آزمایشگاهی نژاد سوری و گونه Balb/C در محدوده وزنی 30 ± 5 گرم، تهیه شده از دانشکده داروسازی دانشگاه اصفهان استفاده گردید. ۵۰ عدد موش به لانه حیوانات دانشگاه پیام نور اصفهان منتقل گردید و در قفس‌های جداگانه قرار داده شد. نمونه‌های مورد نظر به مدت ۴۰ روز جهت بلوغ کامل و رسیدن به وزن مورد نظر در شرایط آزمایشگاهی تحت مراقبت قرار گرفتند. در طی این مدت و

1. Echinacein
2. Echinacoside

یافته‌ها

نتایج حاصل از اثر عصاره سرخارگل بر فاکتورهای خونی موش سوری ماده بالغ به قرار زیر است :

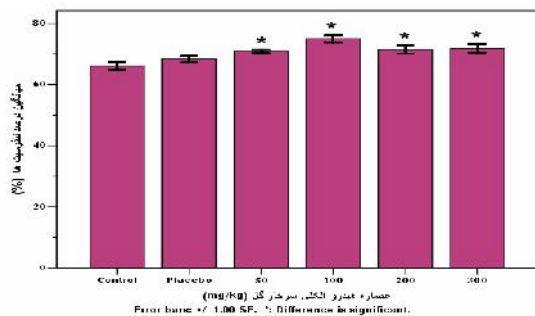
بررسی میانگین تعداد گلبول‌های سفید در گروه‌های کنترل و تجربی و مقایسه آن در سطح ($P < 0.05$) مشخص نمود بین میانگین گروه‌های تجربی ۱-۴ با گروه کنترل افزایش معنی‌دار وجود دارد (نمودار ۱).



نمودار ۱- نتایج حاصل از بررسی تعداد گلبول سفید تحت تاثیر

تزریق عصاره هیدروالکلی سرخارگل

در بررسی میانگین درصد لنفوسیت‌ها در گروه کنترل و گروه‌های تجربی و مقایسه آن، بین میانگین هر ۴ گروه تجربی (تیمار با دوزهای تجربی ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ mg/kg) و گروه کنترل افزایش معنی‌دار ($p < 0.05$) وجود دارد (نمودار ۲).



نمودار ۲- نتایج حاصل از بررسی تعداد لنفوسیت‌ها تحت تاثیر

تزریق عصاره هیدروالکلی سرخارگل

همچنین در طول دوران تزریق، نمونه‌ها از غذا و آب یکسان، دمای ثابت ۲۸-۳۲ درجه سانتیگراد و پررود نور طبیعی بهره گرفتند.

تقسیم بندی نمونه‌های تجربی

ده روز قبل از شروع تزریقات نمونه‌ها به طور تصادفی به ۶ گروه تقسیم‌بندی شدند. هر یک از گروه‌ها در قفس‌های جداگانه قرار گرفتند. در هر قفس تعداد هشت موش کوچک آزمایشگاهی (مجموعاً ۴۸ عدد) از نژاد سوری قرار داده شدند به طوری که متوسط وزن هر گروه 30 ± 5 گرم بود.

گروه‌های مورد آزمایش

گروه کنترل: به منظور دستیابی به مقدار پایه پارامترهای خونی، این گروه در شرایط مشابه با گروه‌های تیمار ولی بدون انجام تزریق در مدت زمان آزمایش نگهداری شد.

گروه دارونما: به منظور ایجاد اطمینان از عدم تاثیر تزریقات در نتیجه آزمایش و مقایسه آن با گروه کنترل، روزانه به این گروه به میزان ۰/۵ سی سی نرمال سالین تزریق شد. گروه‌های تیماری ۱-۴ هر کدام شامل هشت موش سوری که روزانه به میزان ۰/۵ سی سی از عصاره هیدروالکلی سرخارگل به ترتیب با دوز ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ mg/kg/2day به مدت ۲۰ روز و به صورت یک روز در میان به آنها تزریق شد (۱۰ تزریق). به منظور بررسی فاکتورهای خونی و شمارش گلبول‌ها و پلاکت‌ها، پس از پایان دوره، خون‌گیری از قلب انجام پذیرفته و به آرامی درون لوله‌های خون‌گیری حاوی EDTA (ماده ضد انعقاد) منتقل شد.

آزمون‌های آماری

در این تحقیق مقایسه میانگین داده‌های حاصل از نتیجه آزمایش با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون دانکن در سطح اطمینان بیش از ۹۵٪ ($P < 0.05$) و با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS انجام شد.

1. Placebo

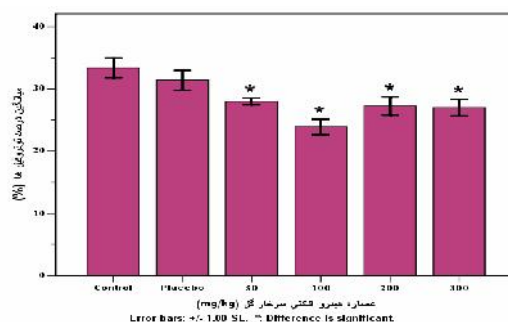
بررسی میانگین درصد هماتوکریت، میانگین حجم سلولی (MCV)، میانگین هموگلوبین سلول (MCH)، میانگین غلظت هموگلوبین سلولی (MCHC)، در سطح ($P < 0.05$) با استفاده از آزمون دانکن مشخص نمود که هیچ تغییر معنی داری در گروه‌های تجربی و گروه کنترل وجود ندارد.

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این تحقیق که در نمودار ۱ نشان داده شده حاکی از آن است که میانگین تعداد گلبول‌های سفید در تمام گروه‌های تیماری بیشتر از گروه کنترل می‌باشد و تفاوت میانگین‌ها از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$). پلی‌ساکاریدها با اندازه کاملاً بزرگ و قابلیت محلول بودن در مایعات بدن دارای خاصیت پادگنی هستند (۹). با توجه به زیاد بودن وزن مولکولی پلی‌ساکاریدهای سرخارگل و قابلیت انحلال آنها در آب این پلی‌ساکاریدها همراه آلکامیدهای سرخارگل دارای خاصیت محرک سیستم ایمنی می‌باشد. اجزای سرخارگل تعداد سلول‌های سفید در گردش را زیاد و تولید سیتوکین‌ها شامل اینترفرون، فاکتور نکروز کننده تومور (TNF) و اینترلوکین ۱، ۲، ۶ و ۱۰ را تحریک می‌کند (۲). گیاه سرخارگل به عنوان ماده‌محرک سیستم ایمنی شناخته شده است. سرخارگل با افزایش تولید آنتی بادی IgM و IgG ایمنی همورال را تقویت می‌کند و از طرفی با تحریک ماکروفاژها تولید سیتوکین‌ها را افزایش می‌دهد، بخصوص مقادیر اینترفرون گاما را می‌افزاید. به علاوه سرخارگل تکثیر لنفوسیت‌های T را تقویت می‌نماید و در نتیجه ایمنی سلولی را افزایش می‌دهد (۸).

در مطالعه بر روی موش پلی‌ساکاریدهای خالص شده ناشی از کشت سلولی گیاه سرخارگل که به سلول‌های ایمنی در محیط کشت اضافه شدند و یا به طور صفاقی به موش تزریق شدند اثرات تحریک سیستم ایمنی را نشان می‌دهند. این

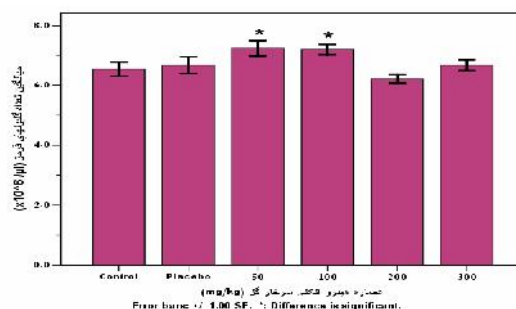
مقایسه میانگین درصد نوتروفیل‌ها بین گروه‌های تجربی و کنترل در سطح ($P < 0.05$) حاکی از آن است که میانگین درصد نوتروفیل‌ها در گروه‌های تجربی ۴-۱ با گروه کنترل دارای کاهش معنی‌دار می‌باشد. (نمودار ۳)



نمودار ۳: نتایج حاصل از بررسی تعداد نوتروفیل‌ها تحت

تأثیر تزریق عصاره هیدروالکلی سرخارگل

بررسی میانگین درصد مونوسیت‌ها در گروه کنترل و گروه‌های تجربی مشخص نمود که میانگین گروه‌های تجربی به گروه کنترل دارای این تفاوت معنی‌دار نمی‌باشد. پس از بررسی و شمارش تعداد گلبول‌های قرمز و مقایسه میانگین تعداد گلبول‌ها در گروه‌های تجربی و گروه کنترل با استفاده از آزمون دانکن در سطح اطمینان بالاتر از ۹۵٪ ($p < 0.05$) نتایج نشان داد که میانگین تعداد گلبول‌ها در گروه تجربی ۱ و ۲ با گروه کنترل دارای افزایش معنی‌دار می‌باشد (نمودار ۴).



نمودار ۴- نتایج حاصل از بررسی تعداد گلبول‌های قرمز تحت

تأثیر تزریق عصاره هیدروالکلی سرخارگل

اثرات شامل افزایش فاگوسیتوز، کموتاکسی، انفجار اکسیداتیو نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها است (۵،۸). در موش‌هایی که به علت درمان با سیکلوفسفامید یا سیکلوسپورین دچار سرکوب ایمنی شدند مصرف پلی‌ساکاریدهای خالص شده سرخارگل باعث افزایش عملکرد سیستم ایمنی شده است (۱۰). این مطالعات بیانگر این نکته هستند که سرخارگل فعالیت‌های ایمنی را در حیوانات سالم یا دچار ضعف ایمنی تحریک می‌کند. لازم به ذکر است که مصرف طولانی مدت و یا استفاده از غلظت‌های بالای سرخارگل موجب سرکوب ایمنی می‌شود (۳). تحقیقات ثابت کرده است در انسان فقط دوز پایین از سرخارگل می‌تواند فاگوسیتوز را بالا ببرد و دوز بالا تعداد گلبول‌های سفید و فعالیت فاگوسیتوز را کاهش می‌دهد (۱۱). در مطالعه بومر^۱ و همکاران در سال ۲۰۰۸ کاهش تعداد نوتروفیل‌ها در جوجه‌های گوشتی نیز به زیاد از حد بودن آلکامیدها در عصاره الکی نسبت داده شده است (۷). در این مطالعه میانگین تعداد لنفوسیت‌ها در هر ۴ گروه تجربی در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد.

نتیجه بدست آمده از تحقیق حاضر با مطالعه بومر و همکاران در سال ۲۰۰۸ همخوانی دارد. آنها در تحقیق خود بر روی جوجه‌های گوشتی و خوک‌های چاق، نشان دادند که اضافه کردن عصاره سرخارگل به جیره غذایی باعث افزایش معنی‌دار در تعداد لنفوسیت‌ها می‌گردد (۷). بررسی دیگری در سال ۲۰۰۴ توسط میشیما^۲ و همکاران در این زمینه صورت گرفت و مشخص نمود که عصاره سرخارگل به میزان ۴۰٪ تعداد لنفوسیت‌ها را افزایش داده است. این تحقیق نشان داد که کاربرد سرخارگل سلول‌های $CD4^+$ ، T کمک کننده را در خون وریدی افزایش می‌دهد. این مطالعه نشان داد که کاربرد سرخارگل سلول‌های $CD8^+$ ، سلول‌های T بازدارنده و T کشنده را در خون محیطی افزایش می‌دهد (۱۲). با توجه به

تحقیقات انجام شده و نیز مکانیسم خون‌سازی افزایش تعداد لنفوسیت‌ها تحت تأثیر سرخارگل، احتمالاً عصاره با تأثیر بر سلول‌های مادر خون‌ساز چندزلفیتی در مغز استخوان، تکثیر این سلول‌ها را افزایش داده است. تقسیم این سلول‌ها منجر به تولید سلول بنیادی لنفویید (LSC) که در نهایت لنفوسیت‌های B و T را می‌سازند شده است (۱۳). عصاره سرخارگل باعث افزایش در میزان تولید اینترلوکین ۱، ۲ و ۶ می‌گردد این افزایش توسط مونوسیت‌های فعال شده یا ماکروفاژها، فیبروبلاست‌ها و سلول‌های آندوتلیال صورت می‌گیرد. این ترکیب که سیتوکینی با فعالیت گسترده است، برای تیموسیت‌ها خاصیت میتوزنی داشته و آن را عامل فعال کننده لنفوسیت گویند. از طرفی $IL-1$ محرک کمکی برای تمایز و تکثیر لنفوسیت‌های B است (۹).

تعداد نوتروفیل‌ها در گروه‌های تجربی ۴-۱ نسبت به گروه‌های کنترل کاهش یافته است، نتیجه بدست آمده از تحقیق حاضر با نتایج آزمایش انجام شده توسط انیل^۳ و همکاران در سال ۲۰۰۲ همخوانی دارد. آنها نشان دادند که اضافه نمودن عصاره ریشه سرخارگل استاندارد شده با اکیناکوزید ۴٪ در اسب‌های تندرست می‌تواند فاگوسیتوز نوتروفیل‌ها را افزایش داده و باعث تحریک مهاجرت نوتروفیل‌ها از چرخش محیطی خون به بافت‌ها شود (۱۴).

پلی‌ساکاریدهای خالص شده از سرخارگل فعالیت ماکروفاژها را تحریک کرده و باعث افزایش فعالیت فاگوسیت‌ها در موش آزمایشگاهی شده است (۵،۸). آلن^۴ در سال ۲۰۰۳ تحریک فاگوسیتوز را در جوجه‌های تیمار شده با قسمت‌های ریشه سرخارگل بیان نموده است (۱۵). بور^۵ و همکاران گزارش کردند که فاگوسیتوز در موش بعد از تیمار با عصاره الکی بالا می‌رود (۱۶).

1. Bohmer
2. Mishima
3. O-Nill
4. Allen
5. Baur

۵۰ و ۱۰۰) mg/kg باعث افزایش میانگین گلبول‌های قرمز می‌شود. این مطالعه نشان داد که تزریق درون صفاقی عصاره هیدروالکلی سرخارگل در موش سوری بر پارامترهای خونی موثر است و اثر تحریک‌کنندگی سیستم ایمنی را مورد تأکید قرار می‌دهد. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که اثرات عصاره سرخارگل وابسته به دوز عمل می‌کند.

تشکر و قدردانی :

بدین وسیله از کلیه عزیزانی که در دانشگاه پیام نور مرکز اصفهان در انجام این طرح ما را یاری نموده‌اند تشکر و قدردانی می‌گردد.

بومر و همکاران نیز نشان دادند که میزان فاگوسیتوز در جوجه‌های گوشتی و خوک‌های پرواری با جیره غذایی مکمل شده با سرخارگل افزایش معنی‌دار دارد و در نتیجه از تعداد نوتروفیل‌ها در خون کاسته می‌شود (۷). پروتئین C واکنش‌پذیر (CRP) نوعی پروتئین سرمی است که به میزان زیاد در جریان حالت‌های آماسی در انسان و بسیاری از حیوانات تولید می‌شود. یکی از وظایف این پروتئین تشویق و تقویت بیگانه‌خواری لوکوسیت‌های خون در برابر عوامل بیماری‌زا است (۹). تزریق وریدی سرخارگل باعث افزایش پروتئین واکنشی C می‌شود. بنابراین دلیل احتمالی کاهش نوتروفیل‌ها در هر ۴ گروه تجربی نسبت به گروه کنترل افزایش پروتئین C واکنش‌پذیر است که باعث افزایش فاگوسیتوز در بافت‌ها نیز می‌شود.

در این تحقیق میانگین تعداد گلبول‌های قرمز در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌دار یافته است و در سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نمی‌شود. نتیجه به دست آمده در زمینه تعداد گلبول‌های قرمز در این مطالعه مطابق با نتایج به دست آمده از تحقیق انیل و همکاران در سال ۲۰۰۲ است. آنها در مطالعه بر روی اسب‌های تندرست نشان دادند که استفاده از عصاره اکیناسه، تعداد گلبول‌های قرمز را افزایش می‌دهد (۱۴). اما داده‌های نصیر^۱ و همکاران تفاوت معنی‌داری را در تعداد اریتروسیت‌ها، Hb و هماتوکریت نشان نمی‌دهد (۱۲). با تأثیر عصاره بر سلول‌های مادر خون‌ساز چندکاره در مغز استخوان، تکثیر این سلول‌ها افزایش یافته است. تقسیم این سلول‌ها منجر به تولید واحد تشکیل‌دهنده کلنی اریتروسیت (CFU-E) شده که نهایتاً گلبول‌های قرمز را می‌سازند.

به نظر می‌رسد عصاره سرخارگل در غلظت‌های متفاوت مورد آزمایش mg/kg ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ از طریق افزایش میانگین تعداد لنفوسیت‌ها و میزان فاگوسیتوز نوتروفیل‌ها، باعث تقویت و تحریک سیستم ایمنی می‌شود که البته این تأثیر در غلظت‌های پایین‌تر بیشتر است. علاوه بر این غلظت‌های پایین

1.Nasir

References

1. Afshar Mazandaran, N., Probiotic Applied in poultry and livestock feed. First Edition. Publications Nourbakhsh, Tehran, 2001; 270-273 (In Persian)
2. American Society of Health-system Pharmacists. Herbal to AHFS DL., Bethesda, Maryland, USA, 2009; 31-32.
3. O Hara, M. Kiefer, D. Farrel, K. Kemper, K. 1998. A review of 12 Commonly used medicinal herbs. Arch. Fam. Med. 2001;7:523-35.
4. Bauer, R. and p. Remiger. TLC and HPLC analysis of alkylamides in Echinacea drugs. *Planta Medica*; 1989. 55:367-371
5. Luetting B, et al.. Macrophage activation by the polysaccharide arabinogalactan isolated from plant cell cultures of *Echinacea purpurea*. *J. Natl. Cancer Inst.* 1989; 81:669-675
6. Wagner, H. Herbal immunostimulants for the prophylaxis and therapy of colds and influenza. *Eur. J. Herb. Med.* 1997;3:22-30.
7. Barbara M. Bohmer, Salisch H, Paulicks Brigitte R, Roth F.X., *Echinacea purpurea* as a potential immunostimulatory feed additive in laying hens and fattening pigs by intermittent application. *Livestock Science.* 2008; 07:013
8. Stimple M, Proksch A, Wagner H, and Lohmann –Matthes M-L. Macrophage activation and induction of macrophage cytotoxicity by purified polysaccharide fractions from the plant *Echinacea purpurea*. *Infect. Immun.* 1984; 46:845-849.
9. Tajbakhsh, H., Immunology stem, Tehran: Tehran University Press, 1995. Page 53-30,69 (In Persian)
10. Steinmuller C, et al. polysaccharides isolated from plant cell cultures of *Echinacea purpurea* enhance the resistance of immunosuppressed mice against systemic infections with *Candida albicans* and *Listeria monocytogenes*. *Int. J. Immunopharmacol.* 1993. 15:605-614
11. Fleming T. PDR for Herbal Medicines, 4th Edition, Thomson, Medical Economics Company Inc, 1998. 11: 2-9.
12. Mishima S, et al. Antioxidant and immuno-enhancing effects of *Echinacea purpurea*. *Biol. Pharm. Bull.* 2004 Jul;27(7):1004-9.
13. Gayton, , Human physiology, (translation: Farokh Shadan), Volume I, Tehran: Publication Chehr, . 2002. Page 637 (In Persian)
14. O Neill W, Mckee S, Clarke AF. Immunologic and hematinic consequences of feeding a standardized *Echinacea* extract to healthy horses. *Equine Veterinary Journal*, 2002; 34:222-227.
15. Allen, P.C., Dietary supplementation with *Echinacea* and development of immunity to challenge infection with coccidian. *Parasitol. Res.* 2003; 91:74-78.
16. Bauer, R., Jurcic, K., Puhlmann, J., Wagner, H., 1988. Immunologische in-vivo-und in-vitro-Untersuchungen mit *Echinacea* Extrakten. *Arzneim-Forsch. /Drug Res.* 2003; 38(1):276-281.