

ارزیابی آرژی زایی گلبرگ و پرچم در مرحله تکوینی میانسال گیاه گل طاووسی (*cytisus scoparius L.*) در خوکچه هندی

الهام ایزی^{۱،۲}، سید مهدی بهشتی نصر^۳، احمد مجید^۴، محمد محمدزاده^۵

^۱ مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران

^۲ کارشناس ارشد سلولی-تکوینی، گروه زیست شناسی، دانشگاه خوارزمی تهران، تهران، ایران

^۳ مریم فیزیولوژی، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران

^۴ استاد سلولی-تکوینی، گروه زیست شناسی، دانشگاه خوارزمی تهران، تهران ایران

^۵ استادیار فیزیولوژی، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران

نشانی نویسنده مسئول: دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، مرکز تحقیقات سلولی - مولکولی، سید مهدی بهشتی نصر
E-mail: beheshti.m1985@gmail.com

وصول: ۹۱/۵/۱، اصلاح، ۹۱/۷/۱۶، پذیرش: ۹۱/۹/۲۹

چکیده

مقدمه و هدف: گیاه گل طاووسی (*cytisus scoparius L.*) یک گیاه زینتی و فوق العاده معطر است. از آنجایی که گلبرگ و پرچم گیاهان معطر از عوامل مهم آرژی زای گیاهی هستند، هدف از این تحقیق بررسی آرژی زای گلبرگ و پرچم در مرحله تکوینی میانسال گیاه گل طاووسی در خوکچه هندی است.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق تجربی ۹ خوکچه هندی نر نژاد هارتلی به طور تصادفی به ۳ گروه سه‌تایی تقسیم شدند. عصاره‌های گیاهی با غلظت ۱۶ درصد تهیه گردید و به صورت درون صفاقی به خوکچه‌ها تزریق شدند. گروه اول به عنوان کنترل منفي (تزریق بافر فسفات سالین) مد نظر گرفته شد. در گروه دوم عصاره گلبرگ میانسال و در گروه سوم عصاره گلبرگ و پرچم میانسال استفاده شد. تزریق‌های درون صفاقی به مدت ۴ هفته، هر هفته یک بار، و تزریق زیر پوستی در هفته پنجم انجام شد. در نهایت یک هفته پس از آخرین تزریق مستقیماً از قلب حیوانات خون‌گیری شد. تعداد انوزینوفیل، سطح ایمونوگلوبولین E و قند خون در گروه‌های مختلف اندازه‌گیری و آنالیز آماری داده‌ها انجام شد.

یافته‌ها: آزمون پوستی (قطر ویل ایجاد شده) و آزمون‌های سرولوژیکی (میزان ایمونوگلوبولین E، انوزینوفیل و قند خون) در هر دو گروه تیمار شده با گل طاووسی در مقایسه با گروه کنترل به طور معناداری افزایش یافت. در نیم رخ‌های الکتروفورزی پروتئین‌های گلبرگ میانسال حدود ۴ باند پروتئینی (۲ باند پررنگ و ۲ باند کمرنگ) در محدوده ۲۷ تا ۸۵ کیلو دالتون و در پروتئین‌های گلبرگ بهمراه پرچم میانسال حدود ۶ باند پروتئینی مشخص‌تر در محدوده ۱۰ تا ۷۵ کیلو دالتون مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج بدست آمده مشخص گردید که گلبرگ مرحله تکوینی میانسال در گیاه طاووسی دارای خاصیت آرژی زایی بالایی هستند و زمانی این اثر در آنها تشخیص داده شود که به همراه پرچم باشدند.

واژه‌های کلیدی: آرژی زایی، گل طاووسی، ایمونوگلوبولین E، خوکچه هندی.

حيوانات، سم‌های حشرات، شیرابه و اسانس گیاهان می-

مقدمه

توانند در بروز بیماری‌های آرژیک مؤثر باشند (۱).

عوامل محیطی از قبیل مواد غذایی، پر و موی

(زمان گلدهی) پس از تأیید توسط کارشناس علوم گیاهی، جمع آوری شدند.

به منظور بررسی توان آلرژی زایی گلبرگها و پرچم‌ها، مطالعه آلرژن‌ها و بررسی باندهای پروتئینی آنها نیاز به عصاره بافری می‌باشد. در این پژوهش عصاره بافری ۱۶ درصد از گلبرگها و پرچم‌های مرحله تکوینی میانسال در محلول PBS (با فر فسفات سالین خشندی ۱/۱ مولار و با $\text{pH} = ۷/۲$) (۱۰, ۱۱)، به طریق زیر تهیه گردید: به طور مجزا مقدار ۱ گرم گلبرگ خشک میانسال به همراه ۶ میلی‌لیتر بافر PBS و یک گرم گلبرگ و پرچم میانسال با ۶ میلی‌لیتر بافر PBS مخلوط شدند. مخلوط‌های حاصل به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴°C روی shaker به هم زده شدند. سپس عمل سانتریفیوژ عصاره‌ها در $۸\text{,}۱۳۰۰۰$ به مدت ۵ دقیقه در سانتریفیوژ یخچال‌دار در دمای ۴°C -انجام شد (۱۰). مایع رویی حاصل تا زمان استفاده در دمای ۲۰°C -نگهداری شد (۱۱).

گروه‌بندی حیوانات:

برای این مطالعه تجربی ۹ سر خوکچه‌های هندی نر (نژاد هارتلی)، (تهیه شده از مؤسسه سرم‌سازی رازی مشهد) در محدوده وزنی ۳۵۰ تا ۵۰۰ گرم انتخاب شد. به منظور تطابق با محیط جدید حیوانات به مدت ۱۴ روز در شرایط یکسان محیطی (دمای $۲۲\pm ۲^{\circ}\text{C}$ ، رطوبت ۵۵ ± ۵ درصد و چرخه ۱۲ ساعت روشناختی و ۱۲ ساعت تاریکی) و تغذیه ای قرار گرفتند.

خوکچه‌ها به طور تصادفی به ۳ گروه مساوی تقسیم شدند. گروه اول بدون تیمار (کنترل منفی با تزریق بافر فسفات نمکی)، گروه دوم تحت تیمار با عصاره بافری گلبرگ میانسال و در گروه سوم عصاره بافری گلبرگ و پرچم میانسال استفاده شد. تزریق به مدت ۵ هفته، هر هفته یک بار به میزان ۱۰۰ میکرولیتر عصاره و به طریق درون صفاقی (۱۲) (آخرین بار به طریق زیر پوستی (۱۰) در ناحیه کشاله ران ادامه یافت. در نهایت یک هفته پس از آخرین تزریق مستقیماً از قلب حیوانات

اسانس گیاهان به خصوص ترکیبات معطر گلبرگها شامل ترکیبات غیر پروتئینی (فلاؤنون‌های (۲) و آلکالوئیدها (۳) است که گاهی آلرژی‌زا بوده و در ساختارهای ویژه‌ای به نام سلول‌ها و ساختارهای ترشحی ساخته می‌شوند (۴). ترکیبات آلرژن در پرچم‌ها نیز از پروتئین‌ها و گلیکوپروتئین‌های ویژه گردهای حاضر در حفره میانی بساک بالغ و ترکیبات دیواره‌های بساک (مثل ترکیبات سلول‌های تاپی) منشأ می‌گیرد (۵, ۶).

ترکیبات آلرژن به واسطه مکانیسم‌های ایمونولوژیکی باعث آغاز یک واکنش ازدیاد حساسیت در بدن می‌شوند. یک واکنش ازدیاد حساسیت اشاره به حالتی دارد که در آن بدن نسبت به عوامل خارجی پاسخ ایمونولوژیک بیش از حد نشان می‌دهد (۷). در اکثریت موارد آنتی‌بادی مسؤول واکنش آلرژیک متعلق به ایزوتوپ ایمونوگلوبولین E است که واکنش ازدیاد حساسیت نوع اول می‌باشد (۸). واکنش ازدیاد حساسیت نوع اول یک واکنش ایمنی فوری به آنتی‌زن است (۹) که همراه با آزاد شدن واسطه‌های التهابی از ماستسل‌ها (شامل هیستامینها) می‌باشد و در نهایت موجب تولید واکنش معروف ویل (برجستگی) و فلر (قرمزی) و آنزیوادم (adam و تاول بزرگ، ورم لب‌ها، پلک‌ها، گلو یا زبان) می‌گردد (۷, ۸).

گیاه گل طاووسی یک گیاه زیستی و بسیار معطر است که آلرژی‌زایی دانه‌های گرده آن به اثبات رسیده است (۱۰)، اما آلرژی‌زایی گلبرگ و پرچم آن تاکنون مورد بررسی قرار نگرفته است. با توجه به کشت روزافزون آن در پارک‌ها، حاشیه بزرگراه‌ها و حتی بیمارستان‌ها، هدف از مطالعه حاضر بررسی آلرژی‌زایی گلبرگ و پرچم در مرحله تکوینی میانسال گیاه گل طاووسی در خوکچه هندی است.

مواد و روش‌ها

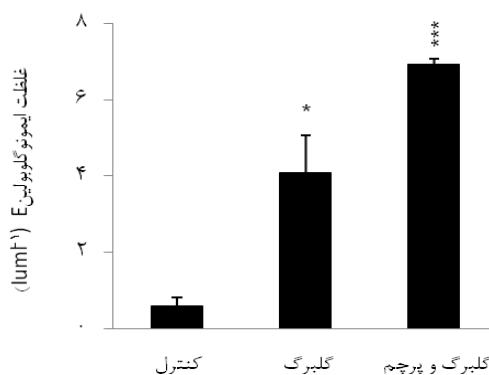
بخش‌های زایشی گیاه طاووسی جهت بررسی‌های تشریحی و عصاره‌گیری در ماههای اردیبهشت و خرداد

اثبات رساند. بررسی‌های میکروسکوپی نیز بساک‌های بالغ را در پرچم میان‌سال نشان داد. همچنین مشخص شد که بساک‌ها هنوز نشکفته‌اند و حاوی دانه‌های گرده بالغ هستند.

بررسی ویل‌های تشکیل شده در آزمون پوسیتی علی‌رغم افزایش معنادار ($P < 0.001$) در هر دو گروه تیمار شده نسبت به گروه کنترل، بین دو گروه تیماری اختلاف معناداری را نشان نداد به‌طوری که اندازه قطر ویل از $19/84 \pm 0/40$ میلی‌متر در گروه کنترل به $19/37 \pm 0/33$ میلی‌متر در گروه تیمار شده با عصاره گلبرگ؛ و $20/97 \pm 0/44$ میلی‌متر در گروه تیمار شده با عصاره گلبرگ و پرچم رسید (نمودار ۱).

نتایج حاصل از آزمون‌های سرولوژیکی:

میانگین مقدار IgE در خون گروه تیمار شده با عصاره گلبرگ $0/08 \pm 0/96$ Iu/ml و در گروه تیمار شده با عصاره گلبرگ و پرچم $0/583 \pm 0/21$ Iu/ml به‌طور معناداری افزایش یافت که این افزایش در گروه سوم $P < 0.001$ بود. از طرفی مقایسه میزان IgE در دو گروه تحت تیمار افزایش معنادار گروه تیمار شده با گلبرگ و



نمودار ۲: بررسی میزان ایمونوگلوبولین E (IgE) به روش ELISA در هر دو گروه تیمار شده نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری افزایش یافت. داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار میانگین نشان داده شده‌اند. * نشان دهنده $P < 0.05$ ، *** نشان دهنده $P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل می‌باشد. در گروه کنترل و گروه‌های تحت تیمار $n = 3$ است.

خونگیری شده و تعداد اوزینوفیلها، با استفاده از دستگاه CBC، سطح ایمونوگلوبولین E (IgE) با روش ELISA و بر حسب IU/ml و قند خون بر حسب Mg/dl اندازه گیری و بین گروه‌های مختلف مقایسه شد (۱۳).

از روش الکتروفورز SDS-PAGE در سیستم ناپیوسته برای مشخص شدن باندهای پروتئینی بر اساس وزن مولکولی استفاده شد. به این منظور مقدار ۲۰ میکرو لیتر از عصاره‌های هر دو گروه به‌کار برده شد.

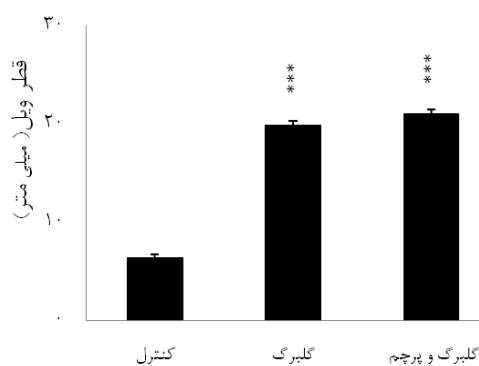
طی این روش ژل پلی اکریل آمید ۱۲ درصد تهیه گردید (۱۴). رنگ کوماسی بلو R-25 ۰/۲ درصد نیز برای رنگ آمیزی ژل استفاده گردید (۱۰).

روش تجزیه و تحلیل اطلاعات:

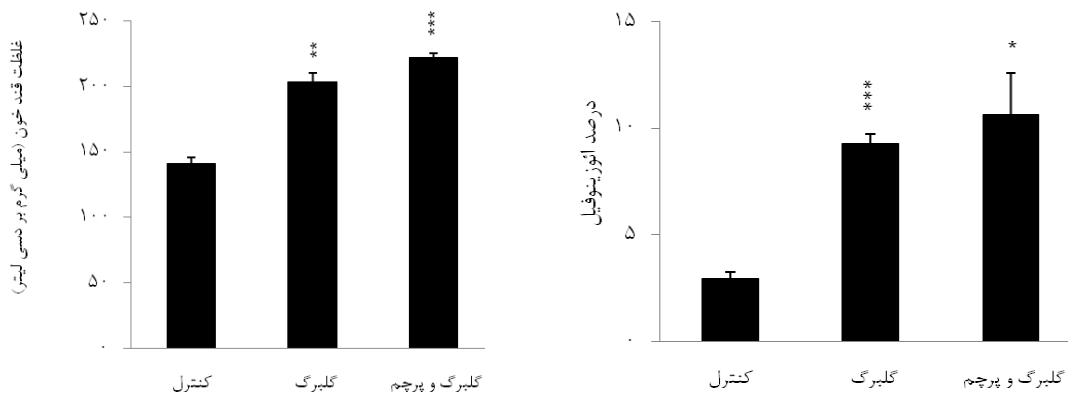
تجزیه و تحلیل اطلاعات با استفاده از نرم‌افزار Statistica انجام شد برای مقایسه گروه‌های مختلف از آزمون t -غیر زوجها استفاده شد. به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

بررسی‌های تشریحی و تکوینی گلبرگ‌ها در مرحله میان‌سال، وجود ساختارهای ترشحی را در آنها به



نمودار ۱: آزمون پوسیتی (قطر ویل). قطر ویل در هر دو گروه تیمار شده نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری افزایش یافت. داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار میانگین نشان داده شده‌اند. *** نشان دهنده $P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل می‌باشد. در گروه کنترل و گروه‌های تحت تیمار $n = 3$ است.



نمودار ۲: تغییرات میزان قند خون. میزان قند خون در هر دو گروه تیمار شده نسبت به گروه کنترل به طور معناداری افزایش یافت. داده‌ها به صورت میانگین±انحراف معیار میانگین نشان داده شده‌اند. $*P < 0.01$, $**P < 0.001$, $***P < 0.0001$ در مقایسه با گروه کنترل می‌باشد. در گروه کنترل و گروه‌های تحت تیمار $n=11$ برابر ۳ است.

باندهای مشترک بین دو گروه تراکم باند (که نشان‌دهنده غلظت یا مقدار هر پروتئین است) در گلبرگ و پرچم بیشتر بود.

بحث

در بررسی میکروسکوپی مشاهده شده گلبرگ‌های گیاه طاووسی دارای ساختارهای ترشحی می‌باشند. به احتمال قوی ترکیبات موجود در این ساختارها خواص آرژی‌زایی داشته و باعث بروز علائم آلرژیک در افراد حساس به گل طاووسی می‌گردند. مطالعات مشابه شامل فابریکانت و فرانسورس در سال ۲۰۰۱، و وینک و همکاران در سال‌های ۱۹۸۲ و ۱۹۹۱ نشان دادند که انسان‌های معطر مترشحه از ساختارهای ترشحی گلبرگ‌ها در گل طاووسی، آلkalولئیدهای کوئینولیزیدین هستند که شامل آلkalولئیدهای سیتیزین، اسپارتین، ایزواسپارتین و اسکوپارین گلیکوزید می‌باشد (۱۵-۱۷).

اسپارتین از طریق مسدود کردن کانال پتاسیمی ماست سل‌ها موجب ازدیاد کلسیم داخل سلولی شده و در نهایت افزایش کلسیم داخل سلولی موجب افزایش آزادسازی هیستامین می‌گردد (۱۸). بنابراین به نظر می‌رسد خاصیت آرژی‌زایی مشاهده شده در گلبرگ گیاه طاووسی

نمودار ۳: سنجش اوزینوفیل با دستگاه CBC. درصد اوزینوفیل در هر دو گروه تیمار شده نسبت به گروه کنترل به طور معناداری افزایش یافت. داده‌ها به صورت میانگین±انحراف معیار میانگین نشان داده شده‌اند. $*P < 0.05$, $**P < 0.01$, $***P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل می‌باشد. در گروه کنترل و گروه‌های تحت تیمار $n=11$ برابر ۳ است.

پرچم را نسبت به گروه تیمار شده با گلبرگ نشان داد (نمودار ۲).

میزان اوزینوفیل در خون حیوانات گروه کنترل 0.29 ± 0.02 درصد می‌باشد که این مقدار در اثر تزریق عصاره گلبرگ و عصاره گلبرگ به همراه پرچم به ترتیب 0.46 ± 0.02 و 0.96 ± 0.01 درصد به طور معناداری افزایش یافت (نمودار ۳).

غلظت قند خون نیز در اثر تزریق عصاره گلبرگ $48 \pm 48/66 \pm 203$ میلی گرم در دسی لیتر (mgdl-1) و در گروه عصاره گلبرگ و پرچم $51 \pm 3/51 \pm 222$ mgdl-1 باشد که نسبت به گروه کنترل $(44/66 \pm 4/141)$ در به طور معناداری افزایش یافته است، که این افزایش در گروه سوم $P < 0.001$ بود (نمودار ۴).

نیم رخ الکتروفورزی عصاره‌های بافری نشان داد که باندهای پروتئینی محلول در گلبرگ و پرچم، حدود ۶ باند پرنگ در محدوده ۱۰ تا ۷۵ کیلو Dalton (کیلو Dalton) باشد در محدوده ۱۰ تا ۱۲ کیلو Dalton (۱۲، ۲۰، ۲۷، ۴۶، ۵۴، ۷۵) در گلبرگ حدود ۴ باند در محدوده ۲۷ تا ۸۵ کیلو Dalton (۲۷، ۴۶، ۵۴، ۲۷ کیلو Dalton) است (شکل ۱). این نتایج بیانگر افزایش تعداد باندهای پروتئینی در گلبرگ و پرچم نسبت به گلبرگ می‌باشد. همچنین در

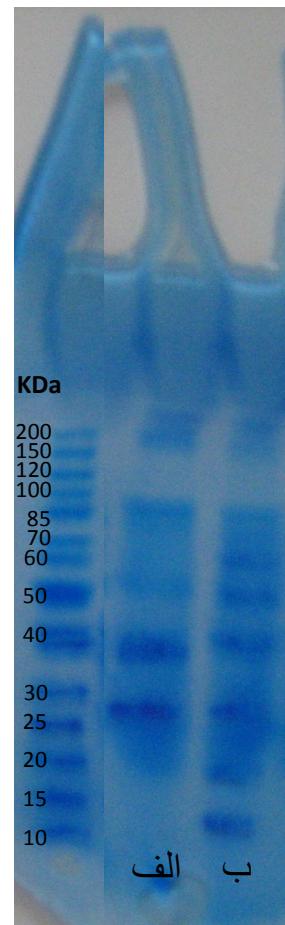
نیز تأییدکننده این موضوع می‌باشد.

در آزمون پوستی، در مقایسه‌ی گروه کنترل با گروه‌های تحت تیمار، افزایش قطر ویل و فلر مشاهده شد. این افزایش نشان‌دهنده حساسیت تیپ I (واکنش‌هایی که ۳۰ تا ۶۰ دقیقه پس از ورود آلرژن به بدن بروز می‌کنند) است. سولیوان و همکاران نیز افزایش قطر ویل را نشان دهنده واکنش‌های آлерژیک دانسته‌اند.^(۱۹)

مجد و زنگنه ناصری با مطالعه روی گیاه ابریشم مصری مشاهده کردند که در هنگام بروز آлерژی میزان قند خون افزایش می‌یابد^(۲۰). نتایج ما نیز نشان داد که در آزمونهای سرولوژیکی میزان قند خون گروه‌های تحت تیمار به‌طور معناداری نسبت به گروه کنترل افزایش یافت که به‌نظر می‌رسد به دلیل گلوکز مورد نیاز جهت شروع آبشاری از فرآیندهای آنزیمی و متابولیسمی به‌واسطه ایجاد آлерژی است.

در صد اوزینوفیل و IgE نیز در گروه‌های تحت تیمار تغییرات معناداری را نشان دادند که این نتیجه در تأیید آлерژی‌زایی گلبرگ‌ها و پرچم‌ها قابل ذکر می‌باشد و با گزارشات داویس در ۲۰۰۵، فیشر در ۲۰۰۵ و رادائوسر در ۲۰۰۶ که افزایش معنی دار ایمنوگلوبولین E را دلیلی بر آلرژن بودن می‌دانند، مطابقت می‌کند^(۲۱-۲۲). هم‌چنین چلبیان و همکاران نشان دادند که تزریق عصاره بافری گیاه ارغوان موجب آлерژی‌زایی شده که با افزایش میزان اوزینوفیل‌های خون همراه است^(۲۳).

با توجه به افزایش یکسان قطر ویل و فلر در هر دو گروه تحت تیمار نسبت به گروه کنترل می‌توان گفت که میزان آлерژی‌زایی در هر دو گروه مشابه هم است. اما بر خلاف آن نتایج آزمایشات سرولوژیک نشان می‌دهد که اثرات آлерژی‌زایی گلبرگ و پرچم بیشتر است. به‌نظر می‌رسد تفاوت‌های موجود در سطح پاسخ پوستی با پاسخ‌های سرولوژیکی، احتمالاً ناشی از تکرار عرضه محرك‌های آлерژی‌زا به حیوان می‌باشد.



شکل ۱. نمایی از نیم رخ الکتروفورزی پروتئین‌های گلبرگ‌ها و پرچم‌ها در دو مرحله تکوینی میان سال گل طاووسی. الف: نتایج الکتروفورز عصاره گلبرگ میانسال. ب: نتایج الکتروفورز عصاره گلبرگ و پرچم میانسال.

احتمالاً به‌علت ترشح آلکالوئیدهای کوئینولیزیدین می‌باشد که موجب تولید IgE و در نهایت بروز علائم آлерژیک می‌شود.

بررسی باندهای پروتئینی در هر دو عصاره بافری، نشانگر رؤیت پروتئین‌های بین ناحیه ۴۶ و ۵۵ کیلوdalton بود که برطبق تحقیقات گذشته (رضانژاد و مجد) بر روی همین گیاه، باند آلرژن در همین ناحیه مشاهده شده بود^(۲۴). از طرفی تفاوت آشکاری در تعداد و شدت رنگ‌پذیری باندهای پروتئینی در بین عصاره‌ها وجود دارد، به‌طوری که در عصاره گلبرگ و پرچم میانسال این باندها متراکم‌تر، پرنگ‌تر و بیشتر و در عصاره گلبرگ میانسال کمرنگ‌تر بودند. نتایج پوستی و سرولوژیکی به‌دست آمده

در پایان و با جمع‌بندی نتایج می‌توان نتیجه گرفت که گیاه گل طاووسی در مرحله تکوینی میانسال به شدت آلرژی‌زا بوده و این آلرژی‌زا علاوه بر گلبرگ، شامل پرچم‌ها نیز می‌شود.

تقدیر و تشکر

بدین‌وسیله از استاد فرزانه جناب آفای دکتر احمد مجید و همکاری گروه زیست‌شناسی دانشگاه حکیم سبزواری تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

مطالعات پیشین تأییدکننده آلرژی‌زا می‌گردد پرچم در گیاه کرچک (۲۴)، گل آهاری (۱۲) و گل طاووسی (۱۰) می‌باشد گرچه تحقیقات نشان داده اند که پرچم‌ها در مرحله میانسالی دارای گرده رسیده نبوده و حاوی میکروسپور می‌باشند (۱)، ولی از آنجایی نتایج نشان داد که همراهی گلبرگ‌ها با پرچم‌ها احتمالاً اثرات سینزیتی بر یکدیگر داشته و موجب تشدید اثر آلرژی‌زا می‌شود، بنابراین به‌نظر می‌رسد آلرژی‌زا می‌باشد. در پرچم، علاوه بر ترکیبات دیواره‌های بساک می‌تواند ناشی از ترکیبات آلرژن میکروسپور موجود در حفره میانی بساک بالغ نیز باشد.

References

1. Majd A, Rezanezhad F, Moein M, Aminzadeh M, Shariatzadeh SMA. Air pollution effects on microsporogenesis, pollen development and pollen soluble in *Spartium junceum* L.(Fabaceae). PAJOUHESH-VA-SAZANDEGI. 2004;61:10-7.
2. Yesilada E, Tsuchiya K, Takaishi Y, Kawazoe K. Isolation and characterization of free radical scavenging flavonoid glycosides from the flowers of *Spartium junceum* by activity-guided fractionation. Journal of ethnopharmacology. 2000;73(3):471-8.
3. Greinwald R, Lurz G, Witte L, Czygan FC. A survey of alkaloids in *Spartium junceum* L.(Genisteae-Fabaceae). Zeitschrift für Naturforschung C A journal of biosciences. 1990;45(11-12):1085-9.
4. Chalabian F. Plant morphology and anatomy. Aieej 2007.
5. Garcia-Casado G, Sanchez-Monge R, Chrispeels MJ, Armentia A, Salcedo G, Gomez L. Role of complex asparagine-linked glycans in the allergenicity of plant glycoproteins. Glycobiology. 1996;6(4):471-7.
6. Sampedro J, Cosgrove DJ. The expansin superfamily. Genome biology. 2005;6(12):242.
7. Marc D, Da KOP. Hypersensitivity Reactions and Methods of Detection. Neuroscience, Inc. 2009:1-4.
8. Yamasaki S, Saito T. Regulation of mastcell activation through Fcepsilon RI. Chem Immunol Allergy. 2005;87:22-31.
9. Sicherer SH, Leung DYM. Advances in allergic skin disease, anaphylaxis, and hypersensitivity reactions to foods, drugs, and insects in 2008. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2009;123(2):319-27.
10. Rezanezhad F, Majd A. Air pollution effect on allergenicity of Pollen grains in spartium flower. Journal of Science Tarbiat moalleem University. 2007;4(7):973 - 82.
11. Prakashkumar R, Mathew PM, Ravindran P. Studies on the allergenicity of nine tropical pollen allergens. Grana. 1998;37:185-8.
12. Chehregani A, Majde A, Moin M, Gholami M, Ali Shariatzadeh M, Nassiri H. Increasing allergy potency of Zinnia pollen grains in polluted areas. Ecotoxicology and environmental safety. 2004;58(2):267-72.
13. Zanganeh Naseri M, Majd A. Study of anatomical structure of vegetative and reproductive organs, development of pollen grains and pollen allergenicity of *Caesalpinia gillesii*. Journal of Sciences, Islamic Azad University. 2009;19(74/1):75-82.
14. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature. 1970;227(5259):680-5.
15. Fabricant DS, Farnsworth NR. The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. Environmental Health Perspectives. 2001;109(Suppl 1):69-75.
16. Wink M, Hartmann T, Witte L, Rheinheimer J. Interrelationship between quinolizidine alkaloid producing legumes and infesting insects: exploitation of the alkaloid-containing phloem sap of *Cytisus scoparius* by the broom aphid *Aphis cytisorum*. Z Naturforsch. 1982;37:1081-6.

17. Wink M, Witte L. Storage of quinolizidine alkaloids in Macrosiphum albifrons and Aphis genistae (Homoptera: Aphididae). *Entomol Gen.* 1991;15:237-54.
18. Eleno N, Botana L, Espinosa J. K-Channel Blocking Drugs Induce Histamine Release and Ca Uptake in Isolated Mast Cells. *International Archives of Allergy and Immunology.* 1990;92(2):162-7.
19. Sullivan TJ. Antigen-specific desensitization of patients allergic to penicillin. *The Journal of allergy and clinical immunology.* 1982;69(6):500-8.
20. Davies JM, Bright ML, Rolland JM, O'Hehir RE. Bahia grass pollen specific ige is common in seasonal rhinitis patients but has limited cross-reactivity with Ryegrass. *Allergy.* 2005;60(2):251-5.
21. Fischer R, mcghee JR, Vu HL, Atkinson TP, Jackson RJ, , Tom D, et al. Oral and nasal sensitization promote distinct immune responses and lung reactivity in a mouse model of peanut allergy. *The American journal of pathology.* 2005;167(6):1621-30.
22. Radauer C, Willerroider M, Fuchs H, Hoffmann-Sommergruber K, Thalhamer J, Ferreira F ,et al. Cross reactive and species specific-immunoglobulin E epitopesepitopes of plant profilins: an experimental and structural based analysis. *Clinical & Experimental Allergy.* 2006;36(7):920-9.
23. Chalabian F, Mansouri M, Sharifnia F. The study of ultrastructure features, allergenicity and influence of air pollution on allergenicity of mature pollens in cercis siliquastrun. *Biology journal.* 2009;4(1):2.
24. Singh AB, Malik P, Parkash D, Gangal SV. Identification of specific ige binding proteins in Castor bean (*Ricinus communis*) pollen obtained from different source materials. *Grana.* 1993;32(6):376-80.

Study of allergenicity of petal and stamen in middle-aged ontogenical stage of *Cytisus scoparius* L. in guinea pig

Iziy E., MSc

Cellular and Molecular Biology Research Center, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran.

MSc of cellular and developmental ,Department of Biology, Kharazmi University , Tehran, Iran.

Beheshti Nasr SM., MSc

Instructor of Physiology, Cellular and Molecular Biology Research Center, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran.

Majd A., Ph.D

Professor of cellular and developmental, Department of biology, Kharazmi University , Tehran, Iran.

Mohammad-Zadeh. M ., Ph.D

Assistant Professor in Physiology, Cellular and Molecular Biology Research Center, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran.

Received: 2012/07/22, Revised:2012/09/06, Accepted: 2012/11/19

Corresponding author:

Seyed Mehdi Beheshti Nasr.
Cellular and Molecular Biology
Research Center, Sabzevar
University of Medical Sciences,
Sabzevar, Iran.
E-mail:Beheshti..m1985@gmail.com

Abstract

Background: *Cytisus scoparius* is an ornamental and highly aromatic plant. The petals and stamens in aromatic plants are important allergenic agents. The aim of this study is examination study of allergenicity of petal and stamen in middle-aged ontogenical stage of *Cytisus scoparius* L. in guinea pig.

Methodology: In this experimental study, 9 guinea pigs from harts stirps were randomly selected and divided into three equal groups. Plant extracts were prepared with 16% concentration and injected intraperitoneally to guinea pigs. The first group was considered as negative control (injected with phosphate buffered saline). The second and the third groups received petal extract and petal + stamen extract respectively. In addition intraperitoneal injections within 4 weeks, once per week, subcutaneous injection was performed in the fifth week. Finally, a week after the last injection was taken blood sampling directly from the heart of animals, and the number of eosinophils, immunoglobulin E and blood sugar levels were measured in experimental groups and analyzed data.

Results: Skin test (Created wheal diameter) and serological tests (levels of immunoglobulin E, eosinophils, and blood glucose) in both groups treated with *Cytisus scoparius* L. significantly increased compared to controls. Electrophoretic profiles was observed about 4 protein bands (2 light protein bands and 2 pale protein bands) in the range of 27 to 85 kD in the middle-aged petal and about 6 more specific protein bands in the range of 10 to 75 kD in middle-aged petal with stamen proteins.

Conclusion: The results showed that petal of ontogenical stage of middle-aged in *Cytisus scoparius* have allergenicity property and this effect is exacerbated when they are together with stamens.

Keywords: Allergenicity, *Cytisus scoparius* , IgE, guinea pig.