مقاله پژوهشی

مقایسه آلرژی زایی گلبرگ ها در دو مرحله تکوینی در گیاه گل طاووسی (Cytisus scoparius L.) درخوکچه هندی

الهام ایزی [*۱ و۲]، ***احمد مجد*** [۲]، ***حمید چشمی*** [۳]

[۱] کارشناسی ارشد، سلولی وتکوینی گیاهی، مرکز تحقیقات طب سنتی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار ، سبزوار، ایران.

[۲] استاد سلولی و تکوینی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشگاه خوارزمی تهران، تهران، ایران.

[۳] مربی گروه بیوشیمی-تغذیه، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران

نشانی نویسنده مسئول: مرکز تحقیقات طب سنتی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران
E-mail: elhamiziy@gmail.com

وصول:۹۲/۱۲/۲۶، اصلاح:۹۳/۲/۲۲، پذیرش:۹۳/۲/۳۱

چکیده

زمینه و هدف: ترکیبات معطر گل ها از آلرژن های مهم استنشاقی می باشند. در این مطالعه مقایسه توان آلرژی زایی گلبرگ ها در دو مرحله تکوینی میان سال و مسن درگیاه گل طاووسی (Cytisus scoparius L.) وتاحدامکان شناخت وابستگی آلرژی زایی با مراحل تکوینی گلبرگ های فوق العاده معطرآن ، هدف پژوهش حاضرمی باشد.

مواد و روش ها: جهت بررسی آلرژی زایی گلبرگ هااز ۱۸ خوکچه هندی نرنژادهارتلی استفاده شد که به طورتصادفی به ۳ گروه ٦ تایی تقسیم شدند. عصاره های بافری گلبرگ ها با غلظت ۱٦٪ تهیه گردیدو تست های تزریق زیر جلدی عصاره ها و بررسی های ماکروسکوپی آن صورت گرفت. به منظور تأیید آلرژن بودن گلبرگ هاIgE به روش الایزا اندازه گیری ودر CBC خون خوکچه هندی درصد ائوزینوفیل ها و درنهایت قند خون ارزیابی و آنالیز داده هاتوسط نرم افزار SPSS۱۶ و آزمون تی مستقل انجام گردید.

یافته ها: در خوکچه هندی تیمار شده با عصاره گلبرگ میانسال ،IgE ، ائوزینوفیل و قند خون در مقایسه با شاهد به طور معنی داری افزایش یافت، در حالی که در خوکچه هندی تیمارشده با عصاره گلبرگ مسن تفاوت معنی داری با شاهد دیده نشد.تنها بررسی قطر ویل های (برجستگی های) ایجادشده درآزمون پوستی افزایش معنی داری($P<۰/۰۰۱$) رادرهردوگروه تیمارشده در مقایسه با کنترل نشان داد. درنیمرخ های الکتروفورزی پروتئین ها، درمحدوده ی باندآلرژن درگلبرگ میان سال حدود ٤ باندپروتئینی مشخص تردرمحدوده ی ۲۷ تا ۸۵ کیلودالتون و در گلبرگ مسن ۳ باندپروتئینی درمحدوده ی ٤٦ تا ۸۵ کیلودالتون مشاهده شد.

نتیجه گیری: این مطالعه نشان داد توان تحریک سیستم ایمنی متعلق به گلبرگ میانسال بیش تر از گلبرگ مسن می باشد.

واژگان کلیدی: *آلرژن، گل طاووسی، ایمونوگلوبولینE، رینیت آلرژیک.*

مقدمه

از بین شایع ترین بیماری های آلرژیک (آسم، رینیت آلرژیک و اگزما) (۱)، رینیت آلرژیک (Allergic Rhinitis) با شیوعی در حدود ۱۹٪ تا ٤٤٪ در بسیاری از

مناطق، شایع ترین بیماری آلرژیک بوده (۲) و این شیوع در طی دهه های اخیر نه تنها در کشورهای صنعتی، بلکه در کشورهای در حال توسعه نیز افزایش چشم گیری داشته است (۳, ٤). در مطالعات کشور ما رینیت آلرژیک شیوع متوسط بین ۱۰ تا ۱۵ درصد را داراست (۱, ۵-۹). در این بیماری فرد به طور متناوب دچار احتقان متناوب بینی، خارش بینی، عطسه، ترشح شفاف از بینی و تحریک ملتحمه چشم می شود (۱۰, ۱۱). رینیت آلرژیک با هزینه بسیار بالایی همراه است و در صورت عدم درمان مناسب دربسیاری از موارد، منجر به بیماری های دیگری نظیر میگرن،سینوزیت مزمن، اوتیت مزمن و کاهش شنوایی، پولیپ و به خصوص آسم می گردد (۱۲, ۱۳).

علت های بسیار زیادی از جمله عوامل آلرژی زا نظیر آلرژن های استنشاقی (١٤)، آلرژن های غذایی (۱۵)، آلرژن های تماسی (١٦)، آلرژن های شغلی (۱۷)، آلرژن های تزریقی (۱۸) و بسیاری از عوامل ناشناخته دیگر در تفاوت های شیوع رینیت آلرژیک در بین کشورها و حتی در نقاط مختلف یک کشور دخیل هستند (۱۹, ۲۰).

در بروز رینیت آلرژیک، آلرژن ها ی استنشاقی نسبت به سایر آلرژن ها اهمیت بیش تری دارند (۲۱, ۲۲)، که خود به دو بخش تقسیم می گردند. آلرژن های فضای بسته (indoor) شامل هیره یا مایت، سوسک، حیوانات خانگی، آلا ینده ها ی هوا ی منزل شامل دود سیگار، بو ی رنگ، شو ینده ها و کپک ها و قارچ ها (۲۳) و آلرژ ن های فضا ی باز(out door) که شامل گرده های درختان، علف ها، چمن و گیاهان هرز و خودرو،گل های معطر، آلودگی ها ی هوائی و گرد وخاک می باشند (٢٤). در افراد حساس تماس با این آلرژن ها منجر به پاسخ‌های آلرژیک حد واسط می‌شود (۲۰, ۲۵-۲۸)،که یک فرآیند دو مرحله‌ای است: در مرحله اول تماس،سیستم ایمنی تحریک شده و IgE اختصاصی علیه آنها را تولید می‌کند که به گیرنده های خود بر روی سطح ماست‌سل‌ها و بازوفیل‌ها در بافت‌های اپی‌تلیال متصل می‌شوند که این مواد نشانه‌های فعال‌سازی را برای سلول‌های B فراهم کرده و سبب تکثیر آنها می‌شود که این سلول‌ها نیز به نوبه خود سبب تحریک سنتز IgE می‌شوند (۲۹). در مرحله دوم تماس، آلرژن‌ها به IgE های اختصاصی بر روی سطح ماست‌سل‌ها و بازوفیل‌ها اتصال متقابل ایجاد کرده و باعث دگرانولاسیون آنها می شوند. پیامد این فرآیند آزاد شدن واسطه های التهابی از ماست سل ها(شامل هیستامین ها) می باشد. و در نهایت موجب تولید واکنش معروف ویل (برجستگی) و فلر (قرمزی) و آنژیوادم (ادم و تاول بزرگ، ورم لب ها، پلک ها، گلو یا زبان) و نیزاثرات کلینیکی هم چون عطسه و آبریزش می‌گردد (۳۰, ۳۱).

از آلرژن های استنشاقی هرمنطقه که نقش مهمی در تشخیص و درمان بیماران آلرژیک می تواند ایفاء کند، آلرژن های گیاهی (ترکیبات فرار گیاهی حساسیت زا) هستند. آلرژن های گیاهی در گیاهان معطر به وفور یافت می شود. اسانس این گیاهان به خصوص ترکیبات معطر گلبرگ هایشان شامل ترکیبات غیر پروتئینی (فلاونوئیدها (۳۲) و آلکالوئیدها (۳۳)) است که گاهاً آلرژی زا بوده و در ساختارهای ویژه ای به نام سلول ها و ساختارهای ترشحی ساخته می شوند (٣٤).

گیاه گل طاووسی با نام علمی cytisus scoparius .L بسیار معطر و با شواهدی آلرژی‌زاست. در تحقیقات قبلی آلرژی‌زائی شدید دانه‌های گرده (۳۵) و گلبرگ‌ها ی بسیار معطر آن به ویژه در مرحله تکوینی میانسال (٣٦) به اثبات رسیده است، اما مشخص نشده که آیا گلبرگ ها در اواخر دوره گلدهی که مسن محسوب می شوند آلرژی زا هستند یا خیر؛ ونیز به چه میزان آلرژی زایی شان با گلبرگ های اوایل دوره گلدهی گیاه (مرحله میانسالی) متفاوت است. از این رو با توجه به شیوع روز افزون رینیت آلرژیک و حساسیت به گرده و گل های گیاهان معطر، عوارض و علائم مهم و آزاردهنده آن، هزینه های سنگین بهداشتی و کاهش قابل توجه کیفیت زندگی ناشی

از این بیماری، مطالعه حاضر با هدف مقایسه توان آلرژی زایی گلبرگها دردو مرحله تکوینی میانسال ومسن درگیاه گل طاووسی درصدد است تاحدامکان نسبت به وابستگی آلرژی زایی بامراحل تکوینی گلبرگهای فوق العاده معطرآن شناخت پیدا کند تا از این طریق بتواند در جهت شناخت آلرژ ن های گیاهی شایع در هر منطقه و نیز بازه زمانی دارای بیش ترین و یا کم ترین حساسیت این آلرژن ها به جهت پیشگیری و درمان صحیح رینیت آلرژیک ناشی از آ نها به طرق مختلف (دوری از آلرژن، ایمونوتراپی و غیره) گام بردارد.

مواد و روش ها

به منظور بررسی های تشریحی و ارزیابی آلرژی زایی گل های گیاه گل‌طاووسی در دو مرحله تکوینی میان سال و مسن، گلها در دوره گلدهی (اردیبهشت و خرداد ۱۳۹۰) از محوطهٔ دانشگاه حکیم سبزواری (با هوای تقریباً پاک) جمع‌آوری شدند. این گیاه توسط کارشناس علوم گیاهی شناسایی و تأیید شد. گلبرگ های دو مرحله تکوینی میان سال ومسن جداسازی و پس از تثبیت با فیکساتور فرمالدئید-اسیداستیک-اتانول(FAA) و اعمال روش های سلول- بافت شناسی،از نمونه های قالب گیری شده در پارافین، برش هایی به ضخامت ۸ تا۱۰ میکرومتر تهیه و پس از رنگ آمیزی با هماتوکسیلین-ائوزین،به وسیله میکروسکوپ نوری زایس مطالعه وعکس برداری شدند.

برای تهیه عصاره های بافری گلبرگ های مسن و میان سال با غلظت ۱۶٪ از محلول PBS (بافر فسفات سالین خنثی ۰/۱ مولار و با PH = ۷/۲) استفاده شد (۳۵, ۳۷). بدین ترتیب که یک گرم گلبرگ مسن و میان سال جداگانه پودر گردیده به همراه ٦ میلی‌لیتر بافرPBS مخلوط شدند. مخلوط های حاصل به مدت ۲٤ ساعت در دمای c° ٤ روی شیکر هم زده شدند. سپس عمل سانتریفیوژ عصاره هادر 13000 g به مدت ٤٥ دقیقه در سانتریفیوژ یخچال‌دار در دمای c° 4- انجام شد (۳۵). مایع رویی حاصل تا زمان استفاده در دمای C° ۲۰- نگهداری شد (۳۷).

به علت تشابه علائم بالینی و آنافیلاکسی در انسان و خوکچه هندی، در این تحقیق از خوکچه هندی نر بعنوان بهترین مدل حیوانی استفاده شد (۸, ۳۸, ۳۹).

آزمون های سنجش آلرژی با استفاده از عصاره های گلبرگ میان سال و مسن بر ر و ی ۱۸ عدد خوکچه هندی نر سه ماهه از نژاد هارتلی (Hartley) در محدوده وزنی ۳۵۰ تا ۵۰۰ گرم که از موسسه سرم سازی رازی مشهد خریداری شدند، انجام شد. به منظور تطابق با محیط جدید حیوانات به مدت ١٤ روز در شرایط یکسان محیطی (دمای C° ۲±۲۲، رطوبت ۵±۵۵٪ و چرخه ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) و تغذیه ای قرار گرفتند. حیوانات مورد آزمایش به طور تصادفی به ۳ گروه مساوی شامل گروه اول بدون تیمار (کنترل منفی با تزریق بافر فسفات نمکی)، گروه دوم تحت تیمار با عصاره بافری گلبرگ میان سال و در گروه سوم عصاره بافری گلبرگ مسن استفاده شد. به حیوانات مورد آزمایش ۵ تزریق به مدت ۵ هفته، در هر هفته ۱ نوبت تزریق به طریق درون صفاقی (۳۵) و هفته آخر یک تزریق به طریق زیرپوستی (٤٠)صورت گرفت. یک ساعت پس از تزریق ادم موضعی (ویل) و هاله قرمز رنگ اطراف آن به صورت فلر در محل تزریق ظاهر شد (٤١). سنجش فلر و ادم (ویل) بر حسب میلی متر صورت می گیرد و معیار آلرژی زایی محسوب می شود (٤١). برای انجام آزمون های سرولوژیکی یک هفته پس از آخرین تزریق خون مستقیماً از قلب خوکچه هندی شاهد و تحت تیمار گرفته شد (علت خون گیری از قلب خوکچه هندی نامشخص بودن سیاهرگهای سطحی در این حیوان است) (٤٢). سطح ایمونوگلوبولین E (IgE) با روش ELISA، تعداد ائوزینوفیلها با استفاده از دستگاه CBC، و بر حسب IU/ml و قند خون بر حسب Mg/dl اندازه گیری و بین

گروه های مختلف مقایسه شد (۴۳).

هم چنین به منظور بررسی پروتئین های گلبرگ های میان سال و مسن،الکتروفورز عصاره ها به روش SDS-PAGE در سیستم ناپیوسته انجام شد (۴۳).

برای تجزیه و تحلیل اطلاعات از نرم‌افزار SPSS۱۶ و آنالیز یک عاملی ANOVA استفاده گردید. جهت نمایش اختلاف بین داده ها، با استفاده از آزمون تی- مستقل هر یک از کمیت های با کنترل مربوطه مقایسه گردید. P <۰/۰۵ به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

یافته ها

بررسی‌های میکروسکوپی پژوهش حاضر از ساختارهای ترشحی در گلبرگ‌های مراحل نموئی میان سال و مسن، الگوی مشابهی را به صورت یاخته های هرمی ترشحی بشره ای وکرک های ساده تک یاخته ای راست درنواحی رأسی خود نشان داد. احتمالاً عطر و بوی زیاد این گلبرگ ها بواسطه ی ترشح اسانس از همین نواحی می باشد(شکل یک).

در آزمون پوستی مقایسه ویل های تشکیل شده افزایش معنی دار(p< ۰/۰۰۱) هم در گروه های تیمار شده نسبت به گروه کنترل، و هم بین دو گروه تیماری را نشان داد به طوری که اندازه قطر ویل از ۰/۳۳ ± ۶/۳۷ میلی‌متر در گروه کنترل به ۰/۲۶ ± ۱۲/۶۳ میلی متر در گروه تیمار شده با عصاره گلبرگ مسن ؛ و ۰/۴۰ ± ۱۹/۸۴ میلی‌متر در گروه تیمار شده با عصاره گلبرگ میان سال رسید (نمودار۱).

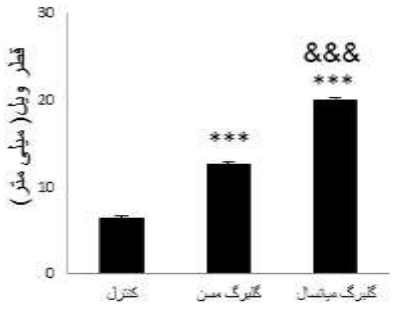
بررسی میزان آنتی بادی IgE در سرم خون حیوان نشان می دهد که مقدار این ماده در اثر تزریق عصاره گلبرگ ها در مقایسه با میزان آن در اثر تزریق بافر فسفات نمکی مقداری افزایش یافته، که بین گلبرگ مسن(۱/۰۸Iu/ml ± ۲/۴۲) و بافر (۰/۲۱ Iu/ml ±۰/۵۸۳) این افزایش معنی دار نیست(p= ۰/۱۷۲) ولی بین گلبرگ میانسال (۰/۹۶Iu/ml ± ۴/۰۸) و بافر معنی دار و در سطح p< ۰/۰۵ است. از طرفی بین گلبرگ میان سال و گلبرگ مسن اختلاف معنی داری وجود ندارد(نمودار۲).

بررسی میانگین میزان ائوزینوفیل ها نشان داد که میزان آن ها در اثر تزریق گلبرگ میان سال (۰/۴۶ ±۹/۲ درصد) در مقایسه با میزان آن ها در اثر تزریق بافر فسفات نمکی (۰/۲۹ ± ۲/۹ درصد) تفاوت معنی داری را p< ۰/۰۰۱ نشان می دهد ، در صورتی که در اثر تزریق گلبرگ مسن(۰/۵۸ ± ۴/۵۳ درصد) این تفاوت معنی دار نمی باشد. به علاوه اختلاف معنی دار در میزان ائوزینوفیل ها در اثر تزریق گلبرگ میان سال در مقایسه با گلبرگ مسن p< ۰/۰۱ مشاهده می شود (نمودار۳).

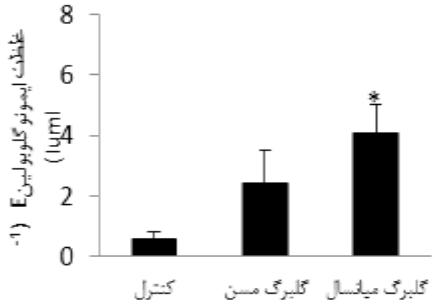
سنجش قند خون نشان داد که در اثر تزریق عصاره های گلبرگ مسن و میان سال میزان قند خون افزایش یافت،به صورتی که غلظت قند خون در اثر تزریق عصاره گلبرگ میان سال ۶/۴۸ ± ۲۰۳/۶۶ میلی گرم در دسی لیتر (۱-mgdl) و در گروه عصاره گلبرگ مسن ۱- mgdl۱۵۹±۵۵/۶ می باشد که این افزایش تغییرات نسبت به گروه کنترل(۱- ۴/۴mgdl ± ۱۴۱) تنها در گلبرگ میانسال معنی دار(p< ۰/۰۱) است. به علاوه اختلاف معنی دار در میزان قندخون در اثر تزریق گلبرگ میان سال در مقایسه با گلبرگ مسن درسطح p<۰/۰۱ مشاهده می شود (نمودار۴).

درنیمرخ های الکتروفورزی پروتئین ها، درگلبرگ میان سال حدود ۴ باندپروتئینی مشخص تر درمحدوده ی ۲۷ تا ۸۵ کیلودالتون (۲ باند پررنگ ۲۷، ۴۶ و۲ باند کمرنگ۵۴ و ۸۵ کیلودالتون) و در گلبرگ مسن ۳ باندپروتئینی با وزن های مولکولی ۵۴،۴۶ و ۸۵ کیلودالتون مشاهده شد. تفاوت‌ها در بین نیم‌رخ‌های الکتروفورزی پروتئین‌ها شامل یک تفاوت وابسته به پهنای باند (غلظت پروتئین) و نیز یک تفاوت وابسته به تعداد باندها است (شکل۲).

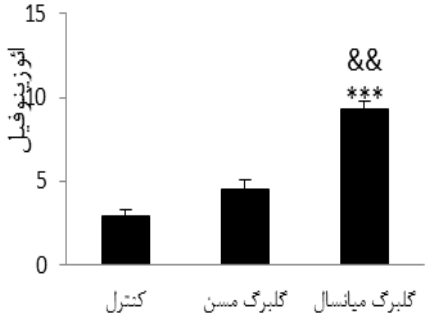
بحث و نتیجه گیری



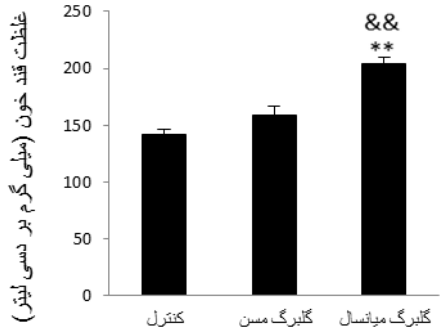
نمودار ۱. آزمون پوستی (قطر ویل) در عصاره های بافری گلبرگ میان سال و گلبرگ مسن در گیاه طاووسی. قطر ویل در هر دو گروه تیمار شده نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری افزایش یافت. داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار میانگین نشان داده شده اند. *** نشان دهنده P < ۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه کنترل می باشد. &&& نشان دهنده P< ۰/۰۰۱ در مقایسه با گلبرگ مسن می باشد. در گروه کنترل و گروه های تحت تیمار n برابر ٦ است.



نمودار ۲. بررسی میزان ایمونوگلوبولینE (IgE) به روش ELIZA در عصاره های بافری گلبرگ میان سال و گلبرگ مسن در گیاه طاووسی. میزان IgE در گروه تیمار شده با گلبرگ میان سال نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری افزایش یافت. داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار میانگین نشان داده شده اند. * نشان دهنده P< ۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل می باشد. در گروه کنترل و گروه های تحت تیمار n برابر ٦ است.

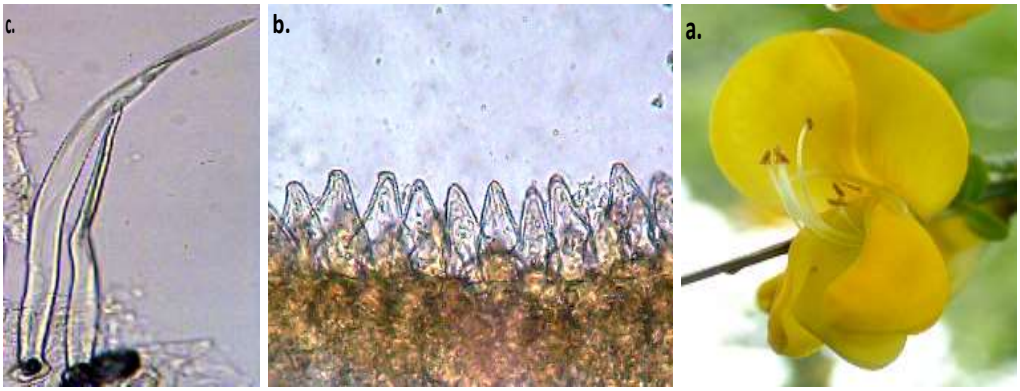


نمودار ۳. سنجش ائوزینوفیل با دستگاه CBC در حیوانات دریافت کننده‌ی عصاره های بافری گلبرگ میان سال و گلبرگ مسن گیاه طاووسی. درصد ائوزینوفیل در گروه تیمار شده با گلبرگ میان سال نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری افزایش یافت. داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار میانگین نشان داده شده اند. *** نشان دهنده P< ۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه کنترل می باشد. && نشان دهنده P< ۰/۰۱ در مقایسه با گلبرگ مسن می باشد در گروه کنترل و گروه های تحت تیمار n برابر ٦ است.

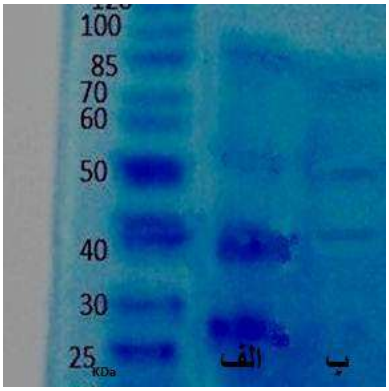


نمودار ٤. تغییرات میزان قند خون در حیوانات دریافت کننده‌ی عصاره های بافری گلبرگ میان سال و گلبرگ مسن گیاه طاووسی. میزان قند خون در گروه تیمار شده با گلبرگ میان سال نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری افزایش یافت. داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار میانگین نشان داده شده اند. ** نشان دهنده P< ۰/۰۱ در مقایسه با گروه کنترل می باشد. && نشان دهنده P< ۰/۰۱ در مقایسه با گلبرگ مسن می باشد در گروه کنترل و گروه های تحت تیمار n برابر ٦ است.

مطالعه حاضر به بررسی مقایسه توان آلرژی زایی گلبرگ ها دردو مرحله تکوینی میان سال ومسن درگیاه گل طاووسی پرداخته است. همان طور که آزمایش ها و یافته های مطالعه نشان می دهد گلبرگ ها در هر دو مرحله تکوینی آلرژی زا هستند و احتمالاً بعضی از ترکیبات موجود در ساختارهای ترشحی گلبرگ ها که شامل یاخته های هرمی ترشحی بشره ای و نیز کرک های ساده تک یاخته ای راست می باشند،خواص آلرژی زایی دارند و در بدن تولید IgE می کنند.هم چنین باعث افزایش مقدار ائوزینوفیل ها و نیز میزان قند خون می شوندکه در نتیجه باعث بروز علائم آلرژیک در افرادی که به گل طاووسی حساس می باشند،می گردند. طبق گزارشات ساندراراجان در ۲۰۰٦، فابریکانت و فرانسورس در ۲۰۰۱، و وینک و همکاران در ۱۹۸۲و۱۹۹۱،اسانس های معطر مترشحه از ساختارهای ترشحی گلبرگ ها در گل طاووسی،آلکالوئیدهای کوئینولیزیدین هستند که شامل آلکالوئیدهای سیتیزین، اسپارتئین، ایزواسپارتئین و اسکوپارین گلیکوزید می‌باشد (٤٤-٤٧). آلرژی زایی شدید گلبرگ ها در گل طاووسی به واسطه ی ترشح همین آلکالوئیدها از ساختارهای ترشحی آن می باشد. آلکالوئید اسپارتئین از طریق مسدود کردن کانال پتاسیمی ماست سل ها موجب ازدیاد کلسیم داخل سلولی شده، و در نهایت افزایش کلسیم داخل سلولی موجب افزایش آزادسازی هیستامین می گردد (٤٨).



شکل۱:ساختارهای ترشحی گل طاووسی. a. چشم انداز ظاهری گل طاووسی. b. یاخته های هرمی ترشحی بشره ای. c. کرک های ساده تک یاخته ای راست در مناطق رأسی گلبرگ.



شکل ۲: نمایی از نیم رخ الکتروفورزی پروتئین های گلبرگ ها و پرچم ها در دو مرحله تکوینی میان سال گل طاووسی. الف: نتایج الکتروفورز عصاره گلبرگ میان سال ب: نتایج الکتروفورز عصاره گلبرگ مسن.

بررسی نتایج آماری در مورد تغییرات قطر ویل نشان داد که دوگروه تحت تیمار نسبت به بافر افزایش معناداری را نشان می دهند.این نتایج در تأیید آلرژی زایی گلبرگ ها در هر دو مرحله تکوینی قابل ذکر می باشد. این افزایش نشان دهنده ی حساسیت تیپ I (واکنش‌هایی که ۳۰ تا ٦۰ دقیقه پس از ورود آلرژن به بدن بروز می‌کنند) است. سولیوان و همکاران (٤۹) نیز افزایش قطر ویل را نشان دهنده واکنش های آلرژیک دانسته اند.

با توجه به نتایج قبلی خودمان در مورد آلرژی زایی مرحله میان سالی گیاه(۳٦) ونتایج این مطالعه می توان بیان نمود که گلبرگ مرحله تکوینی میان سال سبب افزایش معنی دار IgE در سرم و آلرژی زایی شدید نسبت به گروه کنترل و هم چنین گروه تحت تیمار با گلبرگ مسن می شود، که مطابق با گزارش ها داویس در ۲۰۰۵، فیشر در ۲۰۰۵ و رادائوسر در ۲۰۰٦ که افزایش معنی دار ایمنوگلوبولینE را دلیلی بر آلرژن بودن می دانند، می باشد (۵۰-۵۲). این مساله با افزایش معنی دار ائوزینوفیل ها و قندخون، به دلیل گلوکز مورد نیاز جهت شروع آبشاری از فرآیند های آنزیمی و متابولیسمی به واسطه ی ایجاد آلرژی، نیز تایید شد؛ در این راستا مجد و زنگنه ناصری با مطالعه روی گیاه ابریشم مصری مشاهده کردند که در هنگام بروز آلرژی میزان قند خون افزایش می یابد (٤۳). هم چنین چلبیان و همکاران نشان دادند که تزریق عصاره بافری گیاه ارغوان موجب آلرزی زایی شده که با افزایش میزان ائوزینوفیل های خون همراه است (۵۳). در صورتی که تزریق گلبرگ مسن افزایش خیلی اندک و بدون سطح معنی داری نتایج سرولوژیکی را به همراه داشت. به نظر می رسد تفاوت های موجود در سطح

پاسخ پوستی با پاسخ های سرولوژیکی احتمالاً ناشی از تکرار عرضه محرک های آلرژی زا به حیوان می باشد.

در نیمرخ های الکتروفورزی پروتئین ها، بیش ترین وکم ترین باندهای پروتئینی درمحدوده ی باند آلرژن(٥٤) به ترتیب درگلبرگ میان سال (حدود ٤ باند پروتئینی مشخص تر در محدوده ی ٢٧ تا ٨٥ کیلو دالتون) وگلبرگ مسن (٣ باند پروتئینی درمحدوده ی ٤٦ تا ٨٥ کیلو دالتون) مشاهده شد. پس عصاره‌ها همگی اثر آلرژی زایی دارند ولی از آن جایی که تفاوت در تعداد و پهنای باندها دیده می‌شود، آلرژی‌زایی بیش تر در گلبرگ میان سال دیده می‌شود. کم ترین باندهای پروتئینی و متعاقب آن کم ترین اثر آلرژی‌زایی در گلبرگ مرحله مسن قابل مشاهده است. آن چه که از نتایج بر می‌آید این است که گلبرگ‌ها زمانی اثر آلرژی زایی شان کم تر می‌شود که در مرحله مسن باشند که احتمالی بر کاهش ترشح اسانس های معطر از ساختار ترشحی گلبرگ های مسن دارد.این نتایج، با گزارش های سینگ در ١٩٩٣، رضانژاد ـ مجد در ١٣٨٣ و چهرگانی و همکاران در ٢٠٠٣ هم سویی دارد (١٩, ٤٠, ٥٥).

در پایان و با جمع بندی یافته ها می توان نتیجه گرفت که بالاترین توان تحریک شدید سیستم ایمنی متعلق به گلبرگ میان سال و کم ترین توان تحریک سیستم ایمنی مربوط به گلبرگ مسن می باشد. این نتایج همگی موید اهمیت قابل توجه گل های معطر در بروز علا ئم رینیت آلرژیک می باشد.

References

1. Ghaffari J. Prevalence of Aeroallergens in Asthmatic, Allergicrhinitis, Eczema and Chronic Urticaria in Iran. J Mazandaran Univ Med Sci (JMUMS), 2012. 22(87): 139-51. [Persian]
2. Edizer DT, Canakcioglu S. Epidemiologic Features of House Dust Mite and Pollen Sensitizations in Patients with Allergic Rhinitis in Istanbul (1993-2006). Istanbul Medical Journal. 2013; 14(1): 29-34.
3. Bouayad Z, Aichane A, Afif A, Benouhoud N, Trombati N, Chan-Yeung M, Ait-Khaled N. Prevalence and trend of self-reported asthma and other allergic disease symptoms in Morocco: ISAAC phase I and III. Int J Tuberc Lung Dis. 2006. 10(4): 371-7.
4. Ellwood P, Asher MI, Beasley R, Clayton TO, Stewart AW; ISAAC Steering Committee. The International study of asthma and allergies in childhood (ISAAC): phase three rationale and methods research methods. Int J Tuberc Lung Dis. 2005; 9(1): 10-6.
5. Gharagosloo M , Khalili S , Hallaj Mofrad M , Karimi B , Honartnand M , Jafari H et al . Asthma, Allergic Rhinitis And Atopic Eczema In Schoolchildren Kashan (1998 -1999). Tehran Univ Med J. 2003; 61 (1) :24-30. [Persian]
6. Hassanzadeh J, Mohammadbeigi A, Mousavizadeh A, Akbari M. Asthma prevalence in Iranian guidance school children, a descriptive meta-analysis. J Res Med Sci.2012; 17(3): 293-7.
7. Abbasi Ranjbar Z. Prevalence of Allergic Rhinitis Among Children in Rasht . 2005; 14 (53) :56-62. [Persian]
8. Ayatollahi SMT, Ghaem H . Prevalence of Atopic diseases (Allergic rhinitis, Urticaria, Eczema) and its correlations in primary school children, Shiraz, Iran . J Gorgan Uni Med Sci. 2004; 6 (1) :29-34. [Persian]
9. Mortazavi Moghaddam SG, Hosseini BM. Assessment of quality of life of asthmatic patients. J Birjand Univ Med. 2003; 15(10): 20-4.[Persian]
10. Ghasempour M, Mohammadzadeh I, Garakani S. Palatal arch diameters of patients with allergic rhinitis. Iran J Allergy Asthma Immunol. 2009; 8(1): 63-4.
11. Kliegman R, Behrman RE, Stanton B, Geme J, Schor N. Nelson textbook of pediatrics. 19th ed. 2012: Elsevier/Saunders.
12. Nash DB, Sullivan SD, Mackowiak J. Optimizing quality of care and cost effectiveness in treating allergic rhinitis in a managed care setting. Am J Manag care. 2000. 6(1 Suppl): S3-15; quiz S19-20.
13. Reed SD, Lee TA, McCrory DC. The economic burden of allergic rhinitis: a critical evaluation of the literature. Pharmacoeconomics. 2004; 22(6): 345-61.
14. Rudeschko O, Machnik A, Dorfelt H, Kaatz HH, Schlott B, Kinne RW. A novel inhalation allergen present in the working environment of beekeepers. Allergy. 2004; 59(3):332-7.
15. Sicherer SH, Sampson HA. Food allergy. J Allergy Clin Immunol. 2010; 125(2Suppl2):S116-25.

16. Kimber I, Basketter DA, Butler M, Gamer A, Garrigue JL, Gerberick GF, Newsome C, Steiling W, Vohr HW. Classification of contact allergens according to potency: proposals. Food Chem Toxicol .۲۰۰۳ ;41(12):1799-809.
17. Reinisch F, Harrison RJ. Cussler S, Athanasoulis M, Balmes J, Blanc P,Cone J. reports of work-related asthma in California, 1993-1996. Am J Ind Med. 2001. 39(1): 72-83.
18. Pichler WJ. Delayed drug hypersensitivity reactions. Ann Intern Med. 2003. 139(8): 683-93.
19. 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;16(4): 10-7.
20. Stark PC, Celedon JC, Chew GL, Ryan LM, Burge HA, Muilenberg ML, Gold DR. Fungal levels in the home and allergic rhinitis by 5 years of age. Environ Health perspect. 2005; 113(10): 1405-9.
21. Kashef S, Kashef MA, Eghtedari F. Prevalence of aeroallergens in allergic rhinitis in Shiraz. Iranian Journal of Allergy, Asthma and Immunology. 2003. 2(4):185-8.
22. Fereidouni M, Hossini RF, Azad FJ, Assarezadegan MA, Varasteh A. Skin prick test reactivity to common aeroallergens among allergic rhinitis patients in Iran. Allergol Immunopathol. 2009; 37(2): 73-9.
23. Platts-Mills TA, Vervloet D, Thomas WR, Aalberse RC, Chapman MD. Indoor allergens and asthma: report of the Third International Workshop. J Allergy Clin Immunol. 1997; 100(6 Pt 1): S2-24.
24. Burge HA, Rogers CA. Outdoor allergens. Environ Health Perspect. 2000; 108(Suppl 4):653-9.
25. Moghtaderi M, Aleyasin S, Amin R, Kashef S. Skin test reactivity to fungal aeroallergens in asthmatic children in southern Iran. Iran J Pediatr. 2010; 20(2):242-3.
26. Corsico R, Cinti B, Feliziani V, Teresa Gallesio M, Liccardi G, Loreti A, Lugo G , Marcucci F, Marcer G, Meriggi A, et all. Prevalence of sensitization to Alternaria in allergic patients in Italy. Annals of Allergy, Asthma & Immunology. 1998; 80(1): 71-6.
27. Mari A, Schneider P, Wally V , Breitenbach M ,Simon-Nobbe B. Sensitization to fungi: epidemiology, comparative skin tests, and IgE reactivity of fungal extracts. Clin Exp Allergy. 2003; 33(10): 1429-38.
28. Nabavi M, Ghorbani R, Bemanian MH, Rezaie M, Nabavi M. Prevalence of mold allergy in patients with allergic rhinitis referred to Semnan clinic of allergy. Koomesh. 2009; 11(1): 27-32.
29. Wedemeyer J, Tsai M, Galli SJ. Roles of mast cells and basophils in innate and acquired immunity. Current opinion in immunology. 2000; 12(6): 624-31.
30. Marc D, Olson K. Hypersensitivity Reactions and Methods of Detection. NeuroScience, Inc. 2009: 1-4.
31. Yamasaki S, Saito T. Regulation of mastcell activation through Fcepsilon RI . chem Immunol Allergy. 2005; 87:22-31.
32. 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. J Ethnopharmacol. 2000; 73(3): 471-8.
33. Greinwald R, Lurz G, Witte L, Czygan FC. A survey of alkaloids in Spartium junceum L.(Genisteae-Fabaceae). Zeitschrift fÃ¼r Naturforschung Section C. Journal of Biosciences. 1990; 45(11-12): 1085-9.
34. Chalabian F. Plant morphology and anatomy. 2007, Aiej.[Persian]
35. Rezanezhad F, Majd A. Air pollution effect on allergenicity of Pollen grains in spartium flower. Journal of Science Tarbiat moallem University, 2007. 4(7): 973 - 82.
36. Iziy E, Beheshti Nasr S, Majd A, Mohammadzadeh M. Study of allergenicity of petal and stamen in middle-aged ontogenical stage of Cytisus scoparius L. in guinea pig. J Sabzevar Univ Med Sci. 2013; 20(2): 176-83.
37. Prakashkumar R, Mathew PM, Ravindran P. Studies on the allergenicity of nine tropical pollen allergens. Grana. 1998; 37(3): 185-8.
38. Miyauchi H, Horio T. A new animal model for contact dermatitis: the hairless guinea pig. J Dermatol. 1992; 19(3):140-5.
39. Moon KC, Wester RC, Maibach HI. Diseased skin models in the hairless guinea pig: in vivo percutaneous absorption. Dermatology. 1990; 180(1): 8-12.
40. Chehregani A, Majd A, Moin M, Gholami M, Shariatzadeh MA, Nassiri H. Increasing allergy potency of Zinnia pollen grains in polluted areas. Ecotoxicology and environmental safety. 2004; 58(2): 267-72.
41. Woodfolk JA. Allergy and dermatophytes. Clin Microbiol Rev. 2005. 18(1): 30-43.
42. Bahramzade dai M, Bayat M. Ghafarifar F, Roodbar Mohammadi SH, Entezari Sarkarizi M. Comparison of allergenicity of fungi Trichophyton rubrum and Microsporum canis in guinea pigs and Tri r 4 gene specific primer design. Journal of Microbial Biotech , Islamic Azad University. 2011; 2(7): 9-16.[Persian]
43. Zanganeh Naseri M, Majd A. Study of anatomical structure of vegetative and reproductive organs, development of pollen grains and pollen allergenicity of Caesalpinia giliesii. Journal of Sciences, Islamic Azad University. 2009; 19(74/1): 75-82.[Persian]
44. Fabricant DS, Farnsworth NR. The value of plants used in traditional medicine for drug discovery.

Environmental Health Perspectives. 2001; 109(Suppl 1): 69-75.
45. Sundararajan R, Haja NA, Venkatesan K, Mukherjee K, Saha BP, Bandyopadhyay A, Mukherjee PK. Cytisus scoparius link-A natural antioxidant. BMC complement Altern Med. 2006. 6(1): 8.
46. Wink M, 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.
47. Wink M, Witte L. Storage of quinolizidine alkaloids in Macrosiphum albifrons and Aphis genistae (Homoptera: Aphididae). Entomol. Gen. 1991; 15: 237-54.
48. Eleno N, Botana L, Espinosa J. K-Channel Blocking Drugs Induce Histamine Release and Ca Uptake in Isolated Mast Cells. Int Arch Allergy Immunol. 1990; 92: 162-7.
49. Sullivan TJ. Antigen-specific desensitization of patients allergic to penicillin. J Allergy Clin Immunol. 1982; 69(6): 500-8.
50. 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.
51. Fischer R, McGhee JR, Vu HL, Atkinson TP, Jackson RJ, Tome D, Boyaka PN. Oral and nasal sensitization promote distinct immune responses and lung reactivity in a mouse model of peanut allergy. Am J Pathol. 2005; 167(6): 1621-30.
52. Radauer C, Willerroider M. Fuchs H. Hoffmann-Sommergruber K. Thalhamer J, Ferreira F, Scheiner O. Breiteneder H. Cross reactive and species specific-immunoglobulin E epitopesepitopes of plant profilins: an experimental and structural based analysis. Clin Exp Allergy. 2006; 36(7): 920-9.
53. Chalabian F, Mansouri M, Sharifnia F. The study of ultrastracture features, allergenicity and influence of air pollution on allergenicity of mature pollens in cercis siliquastrun. Biology Journal. 2009; 4(1): 2-8.[Persian]
54. Amjad L, Amjad A, Fallahian F, Saadatmand S. Comparative study of allergenicity of mature and immature pollen grains of Achillea wilhelmsii. Arak University of Medical Sciences Journal. 2008;11(2):1-9.[Persian]
55. 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.

Comparison of petals allergenicity in two ontogenetic stages of Cytisus scoparius L. in guinea pig

Elham Iziy .,
MSc of Cellular & Developmental , Traditional and Complementary Medicine Research Center, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran.
Professor of Cellular & Developmental, Department of Biology, Faculty of Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran.

Ahmad Majd .,
Professor of Cellular & Developmental, Department of Biology, Faculty of Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran.

Hamid Cheshomi .,
Instructor of Department of Biochemistry and Nutrition , Cellular and Molecular Research Center, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran.

Received:17/03/2014**, Revised:**20/05/2014**, Accepted:**21/05//2014

Corresponding author:
Elham Iziy, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran.
E-mail: elhamiziy@gmail.com

Abstract

Background: Flowers aromatic compounds are the major inhaled allergens. The aim of this research was the comparison of petals allergenicity of in two ontogenetic stages, middle-aged and older of Cytisus scoparius; and Identifying dependence of allergenicity with developmental stages of extremely aromatic petals.

Materials & Methods: In order to evaluate the petals allergenicity, 18 Hartley guinea pigs were randomly selected and divided into three equal groups. 16% petals buffered extracts were prepared and then subcutaneous injection of extracts and also macroscopic examinations was performed. In order to confirm the petals allergenicity, immunoglobulin E (IgE) levels was measured using ELISA method, and the number of eosinophils and finally blood glucose in guinea pig blood samples was evaluated. Data were analyzed in SPSS16 software using independent t-test.

Results: In guinea pigs treated with middle-aged petal extract, IgE, eosinophil count and also blood glucose significantly increased in comparison to control group, whereas in guinea pigs treated with older petal extract, there was no significant difference between the treatment and control groups. Only, the diameter of wheals in skin test significantly increased in both treatment groups compared to control group ($p<0.001$). In the electrophoretic profiles, in the area of allergen band, about 4 more specific protein bands ranged 27-85 kDa in the middle-aged petals; and 3 bands ranged 46-85 kDa in older petals was observed.

Conclusion: This study showed that the potency of immune system stimulation of middle-aged petals is more than older petals.

Keywords: *Allergen, Cytisus scoparius L, IgE, Allergic rhinitis*