www.magiran.com

بررسی اثرات زعفران بر سیستم ایمنی ذاتی و هومورال مردان

دکتر سعید کیانبخت[1] ـ علی قضاوی[2] ـ زهرا غفاری[3] ـ معصومه کلانتری[4] ـ مرجان مهری[5]

چکیده :

مقدمه : زعفران ادویه‌ای ارزشمند و غنی از کاروتنوئیدها می‌باشد و در طب سنتی جهت درمان بسیاری از بیماری‌ها به‌کار می‌رود. این پژوهش به منظور بررسی اثرات مصرف زعفران بر سیستم ایمنی ذاتی و هومورال دانشجویان سالم مذکر انجام شد.

روش کار : برای انجام این پژوهش که از نوع تجربی می‌باشد از بین ۱۲۶ دانشجوی مذکر داوطلب، ۴۱ دانشجوی سالم که واجد معیارهای ورود به مطالعه بودند انتخاب شدند و در دو گروه شاهد و مطالعه به مدت ۶ هفته به ترتیب شیر و شیر همراه با زعفران مصرف نمودند و نمونه خون آنها در هفته صفر، سه و شش گرفته شد.

ایمنی ذاتی از طریق سنجش درصد و تعداد مونوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها، ائوزینوفیل‌ها، بازوفیل‌ها، پلاکت‌ها و تعداد کلی گلبول‌های سفید، غلظت CRP و غلظت کمپلمان C_3 و C_4 و ایمنی هومورال از طریق سنجش درصد لنفوسیت‌ها و غلظت IgG ، IgM و IgA ارزیابی شد.

نتایج : ۳ هفته پس از مصرف زعفران، تعداد مونوسیت‌ها و غلظت IgG سرم به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P<0/05$ و $P=0/01$). تعداد کلی گلبول‌های سفید و پلاکت‌ها نیز کاهش معنی‌داری را نشان دادند ($P<0/05$). پس از گذشت ۶ هفته، تعداد مونوسیت‌ها و غلظت IgG نسبت به هفته سوم کاهش معنی‌دار ($P<0/05$ و $P<0/001$) و تعداد پلاکت‌ها افزایش معنی‌داری ($P<0/05$) پیدا کردند.

نتیجه‌گیری : این پژوهش نشان می‌دهد که مصرف زعفران منجر به تقویت سیستم ایمنی ذاتی و هومورال می‌شود و خاصیت ضدالتهابی دارد. اثرات مذکور وابسته به مدت زمان مصرف زعفران می‌باشد.

واژگان کلیدی : زعفران، سیستم ایمنی ذاتی، کمپلمان، سیستم‌ایمنی هومورال، ایمونوگلوبولین‌ها، دانشجویان مذکر.

مقدمه

از زمان‌های قدیم تا به امروز زعفران به عنوان یک ادویه برای عطر دادن و رنگ به غذاها اضافه می‌شود(۱). این ادویه از کلاله‌های خشک‌شدهٔ کروکوس ساتیوس ال.[6] که از تیرهٔ زنبقیان می‌باشد، تهیه می‌گردد(۲و۳).

مجموعه پژوهش‌های انجام شده بر روی ترکیبات شیمیایی زعفران حاکی‌از وجود بیش از ۱۵۰ ترکیب فرار و غیرفرار و ۴۰ تا ۵۰ جزء اصلی در زعفران می‌باشد. به‌طورکلی از نظر داروشناسی، زعفران دارای سه متابولیت فعال عمده به قرار زیر است:

- کروسین‌ها[7] که رنگدانه‌های زعفران هستند و معمولاً کاروتنوئیدهای[8] محلول در آب را شامل می‌شوند.
- پیکروکروسین[9] که طعم تلخ زعفران مربوط به آن است.
- سافرانال[10] که روغنی فرار بوده و عطر و رایحه زعفران مربوط به آن می‌باشد.

علاوه بر این زعفران حاوی پروتئین‌ها، قندها، ویتامین‌ها، اسیدهای آمینه، مواد معدنی، صمغ‌ها و ترکیبات شیمیایی دیگری نیز است(۴). مهم‌ترین ترکیبات موجود در زعفران، کاروتنوئیدها هستند. مطالعات انجام شده بر روی خواص ضدسرطانی زعفران نیز بیشتر بر روی کاروتنوئیدها تمرکز یافته

۱ ـ استادیار گروه فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اراک.
۲ ـ عضو هیأت علمی گروه ایمونولوژی دانشگاه علوم پزشکی اراک.
۳ و ۴ و ۵ ـ دانشجویان پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اراک.

6. Crocus Sativus L.
7. Crocin.
8. Carotenoids.
9. Picrocrocin.
10. Safranal.

www.magiran.com

است(۵و۶و۷).

زعفران دارای خواص ضدسرطانی بر روی طیف وسیعی از تومورها همچون لوسمی‌ها، کارسینومای تخمدان، آدنوکارسینوما، سارکوم عضلات مخطط، پاپیلوما، کارسینومای سلول سنگفرشی و سارکوم بافت نرم می‌باشد(۸).

زعفران در طب سنتی در موارد مختلفی از جمله درمان آمنوره، آترواسکلروز، برونشیت، سردرد، گلودرد، استفراغ و تب و به عنوان ضداسپاسم، خلط‌آور و کمک به هضم غذا و تقویت نیروی جنسی کاربرد دارد(۹و۱۰). از زعفران به عنوان یک سقط کننده جنین و آرام‌بخش نیز استفاده می‌شود(۱۰).

کارهای تحقیقاتی انجام شده روی موش‌ها حاکی از آن است که زعفران علاوه بر خاصیت ضدتوموری، از بین‌برنده رادیکال‌های آزاد، پایین‌آورندهٔ چربی خون، ضدتشنج، ضدالتهاب و تقویت‌کننده حافظه و یادگیری نیز می‌باشد.

این چاشنی غذایی با وجود مصرف گسترده، در موارد بسیار نادری ایجاد آلرژی می‌کند(۱۲و۱۳). آلرژن‌های زعفران در گرده و پرچم آن قرار داشته و وزنی در حدود ۱۵/۵ کیلودالتون دارند ولی مادگی آن فاقد ترکیبات آلرژی‌زاست(۱۴). زعفران سمی و جهش‌زا نیست(۲) و مطالعات انجام شده روی موش‌های سوری مشخص ساخته است که LD_{50}[1] خوراکی آن ۲۰/۷ گرم به ازای هر کیلوگرم می‌باشد(۴). تاکنون دوز مصرفی مشخصی برای زعفران ذکر نشده است و عوارض جانبی نیز برای مصرف آن گزارش نگردیده است. مصرف زعفران به همراه سایر مواد تداخل اثر ندارد(۱۰). تمام این خواص باعث شده است که علاقه زیادی نسبت به بررسی خواص دارویی زعفران ایجاد شود. انواع رادیکال‌های فعال اکسیژن مثل یون سوپراکسید (O_2)، رادیکال‌های هیدروکسیل (OH)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و اکسیژن منفرد ($1O_2$) به‌طور مداوم در طی متابولیسم طبیعی هوازی سلولی ایجاد می‌شوند. اگر این رادیکال‌های فعال اکسیژن حذف نشوند باعث تخریب سلول‌های سالم خواهند شد و درنتیجه سیستم ایمنی و سلامتی فرد را نیز تحت تأثیر قرار خواهند داد.

کاروتنوئیدهای زعفران ممکن است عملکرد سلول‌های ایمنی را از طریق حفاظت آنها در برابر تخریب ناشی از رادیکال‌های آزاد اکسیژن تنظیم نمایند. کاروتنوئیدها این عمل را از طریق تعدیل سیالیت غشای سلول و جلوگیری از آغاز اکسیداسیون اسید آراشیدونیک توسط رادیکال‌های آزاد انجام می‌دهند. آنها برای انجام این عمل باید در جایگاه‌های حیاتی داخل سلول همچون میتوکندری، هسته و غشاهای پلاسمایی حضور داشته باشند(۱۵). کاروتنوئیدها، DNA سلول‌ها را از تخریب اکسیداتیو محافظت می‌کنند و درنتیجه خاصیت ضدسرطانی دارند(۱۶).

تأثیر کاروتنوئیدها همچون بتا ـ کاروتن[2] و لیکوپن[3] بر روی سیستم ایمنی(۱۷)، ما را بر آن داشت تا اثر زعفران را که غنی از کاروتنوئیدهاست بر روی این سیستم بررسی نماییم. این پژوهش در رشته طب گیاهی و شاخه ایمونوفارماکولوژی قرار می‌گیرد.

روش کار

داوطلبین از بین دانشجویان مقیم خوابگاه امام رضا (ع) دانشگاه علوم پزشکی اراک انتخاب شدند و با تهیه غذا برای روزهای جمعه سعی شد تا آنها علاوه بر شرایط سکونت، از نظر تغذیه نیز یکسان شوند. در ابتدا ۱۲۶ نفر دانشجو که دارای معیارهای ورود به مطالعه بودند (اقامت در خوابگاه به مدت ۶ هفته متوالی، استفاده از غذای دانشگاه به مدت ۶ هفته متوالی و استفاده از غذای دانشگاه به مدت ۳ روز قبل از نمونه گیری اولیه) ثبت‌نام شدند. از این تعداد ۴۱ داوطلب که فاقد معیارهای خروج از مطالعه بودند پس از غربالگری جهت آزمون انتخاب گشتند. معیارهای خروج از مطالعه عبارت بودند از: سیگاری بودن، آلرژی‌های غذایی، سرطان، بیماری قلبی ـ عروقی، بیماری‌های التهابی مزمن همچون آرتریت روماتوئید، دیابت و آسم، استفاده از داروهای نسخه‌ای یا داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی به‌طور دائمی، استفاده از مکمل‌های ویتامینی یا معدنی در ۳ ماهه اخیر، مصرف کورتیکواستروئیدها و محرک‌های ایمنی در ۴ هفته اخیر، تجویز واکسن یا یادآور آن و اختلالات روحی ـ روانی.

مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اراک تصویب گشت و از تمام داوطلبین رضایت‌نامه کتبی گرفته شد.

این مطالعه در طی ماه‌های خرداد و تیر ۱۳۸۲ انجام شد.

---

1. Median Lethal Dose.
2. Beta-Carotene.
3. Lycopene.

www.magiran.com

داوطلبین پس از تطابق بین رشته و ترم تحصیلی، سن، وزن و قد به دو گروه مطالعه و شاهد تقسیم شدند (۲۳ نفر گروه مطالعه و ۱۸ نفر گروه شاهد). افراد گروه مطالعه روزانه ۱۰۰ میلی‌گرم زعفران را که به‌خوبی در ۲۰۰ میلی‌لیتر شیر حل شده بود به همراه ویفر به مدت ٦ هفته مصرف کردند. این مقدار زعفران حاوی حدود ۸ میلی‌گرم کاروتنوئید است(۱۸). افراد گروه کنترل، حجم مشابهی شیر را همراه با ویفر میل نمودند. در طول مدت مطالعه از داوطلبین در مورد بیماری یا مصرف دارو شرح حال گرفته شد. نمونه خون به صورت ناشتا در بین ساعت ۷ تا ۹ صبح جمع‌آوری گشت.

خونگیری در بدو ورود به مطالعه، هفته سوم و هفته ششم صورت گرفت. علاوه بر این فشار خون و درجه حرارت بدن داوطلبین نیز کنترل گردید.

جهت انجام مطالعه، از کلاله‌های زعفران خراسان که یک ماه بیشتر از تاریخ بسته‌بندی آن نگذشته بود استفاده شد و آزمون‌های خلوص جهت اطمینان از کیفیت زعفران، روی آن انجام گردید. این آزمون‌ها به شرح زیر بودند(۱۹):

۱ ـ پودر زعفران به‌طور جداگانه به آب، متانول، اتانول، اتر، کلروفرم، بنزن و گزیلن اضافه شد.

۲ ـ پودر زعفران به اسیدسولفوریک اضافه گردید.

۳ ـ مقداری از پودر زعفران در بین یک کاغذ صافی قرار داده شد و تحت فشار قرار گرفت.

مقدار ۵ میلی‌لیتر خون سیاهرگی از هر داوطلب گرفته شد و به یک لوله آزمایش فاقد ماده ضدانعقاد منتقل گردید. پس از آن به‌مدت یک ساعت در درجه حرارت آزمایشگاه قرار گرفت تا کاملاً لخته شده، سرم آن جدا شود. لوله‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در درجه حرارت آزمایشگاه و دور 9000×g سانتریفوژ گردید. سرم به‌دست آمده سریعاً مورد آزمایش قرار گرفت و یا در میکروتیوب‌های ۰/۵ میلی‌لیتری در دمای ۲۰°C- جهت آزمایش‌های بعدی نگهداری شد. جهت آزمون شمارش کامل سلول‌های خون نیز ۲ میلی‌لیتر خون در ویال‌های EDTA[1] جمع‌آوری شد(۲۰).

غلظت کمپلمان C_3 و C_4 و IgG ، IgM و IgA سرم به کمک روش‌های انتشار ایمنی‌شعاعی‌منفرد[2] به وسیله کیت‌های تهیه شده از شرکت بیوژن مشهد اندازه‌گیری شد. برای کاهش خطا تمام حلقه‌های رسوبی توسط یک نفر خوانده شد(۲۱و۲۲).

تعداد و درصد سلول‌های دخیل در ایمنی ذاتی همچون گلبول‌های سفید، پلاکت‌ها، مونوسیت، نوتروفیل، بازوفیل و ائوزینوفیل و درصد لنفوسیت‌ها توسط شمارشگر H_1 محاسبه شد و جهت اطمینان بیشتر نمونه‌ها با شمارشگر هایسل[3] نیز مورد بررسی قرار گرفتند(۲۱).

جهت بررسی عفونت یا التهاب احتمالی در داوطلبین علاوه بر گرفتن شرح حال مداوم، آزمون پروتئین واکنشی C[4] نیز انجام شد. این سنجش از طریق تیتراسیون CRP سرم به کمک آزمون آگلوتیناسیون لاتکس صورت گرفت. کیت مربوطه از شرکت امگا انگلیس تهیه شد(۲۰و۲۲).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS صورت گرفت. توزیع نرمال داده‌ها توسط آزمون کلموگروف ـ اسمیرنوف[5] بررسی شد. اختلاف مقایسه‌ای بین داده‌های گروه مطالعه و شاهد در هفته‌های ۳ ، ۳ و ٦ در صورتی که توزیع نرمال بود به کمک آزمون T برای نمونه‌های مستقل[6] و در صورتی که توزیع نرمال نبود به کمک آزمون مان ـ ویتنی U[7] بررسی شد. اختلاف داخل گروهی نیز در صورت نرمال بودن توزیع آنها به کمک تحلیل واریانس یکطرفه[8] و در صورت نرمال نبودن توسط آزمون کروسکال ـ والیس[9] بررسی گردید(۲۳). از نظر آماری، داده‌های با $P<0/05$ معنی‌دار محسوب شد.

نتایج

٤نفر از داوطلبین به‌علت سرماخوردگی و گلودرد و غلظت CRP بیش از ٦ میلی‌گرم در دسی‌لیتر از مطالعه خارج شدند و ۳۷ نفر باقیمانده شامل ۲۲ نفر گروه مطالعه و ۱۵ نفر گروه شاهد بودند.

در آزمون خلوص، زعفران در اتانول، متانول، اتر، کلروفرم و

1. Ethylene diamine tetra-acetic acid.
2. Single Radial Immunodiffusion (SRID).
3. Hycel.
4. C-Reactive Protein (CRP).
5. Kolmogrov-Smirnov.
6. Independent samples t-test.
7. Mann-Whitney U-test.
8. One-way ANOVA.
9. Kruskal-Wallis.

www.magiran.com

آب حل شد و رنگ زرد ایجاد نمود ولی در بنزن و گزیلن حل نشده و رنگی ایجاد نکرد. زعفران در اسید سولفوریک ابتدا رنگ آبی و پس از گذشت حدود یک دقیقه رنگ قرمز ارغوانی ایجاد نمود. پس از فشار دادن زعفران در بین کاغذهای صافی هیچ‌گونه رنگ روغنی بر روی کاغذ باقی نماند.

انجام آزمایشات ایمونولوژیک بر روی نمونه‌های سرم مشخص نمود که اختلاف معنی‌داری بین غلظت C_3 و C_4 (جدول ۱)، درصد و تعداد سلول‌های ایمنی ذاتی (جدول ۲)، غلظت IgG، IgM و IgA (جدول ۳) و تعداد لنفوسیت‌های گروه مطالعه و شاهد (جدول ۲) در بدو ورود به مطالعه (هفته صفر) وجود نداشت ($P> ۰/۰۵$). همچنین بین گروه‌ها از نظر میانگین سن، قد، وزن و نمایه توده بدن[1] تفاوتی دیده نشد (جدول ٤). نمایه توده بدن از طریق تقسیم وزن برحسب کیلوگرم بر مجذور قد برحسب متر به دست آمد.

جدول ۱ ـ میانگین و خطای استاندارد میانگین غلظت کمپلمان C_3 و C_4 سرم قبل و بعد از مصرف شیر (گروه شاهد) و شیر محتوی زعفران (گروه مطالعه) به مدت ۶ هفته برحسب میلی‌گرم در دسی‌لیتر.

کمپلمان سرم	هفته صفر		هفته سوم		هفته ششم	
	گروه شاهد	گروه مطالعه	گروه شاهد	گروه مطالعه	گروه شاهد	گروه مطالعه
C_3	۸۴/۹ ± ۴/۳	۶۷/۶ ± ۴/۲۵	۷۳/۱ ± ۴/۸	۷۷/۵ ± ۶/۹	۷۰/۷ ± ۷/۷	۷۰/۵ ± ۶/۶
C_4	۱۴/۹ ± ۱/۸	۱۴/۳ ± ۱/۸	۹/۵ ± ۲/۲	۸/۸ ± ۱/۹	۱۷/۹ ± ۲/۲	۱۷/۳ ± ۱*

* تفاوت معنی‌دار نسبت به سطح اولیه ($P< ۰/۰۵$)

جدول ۲ ـ میانگین و خطای استاندارد میانگین و تعداد و درصد سلول‌های ایمنی ذاتی قبل و بعد از مصرف شیر (گروه شاهد) و شیر محتوی زعفران (گروه مطالعه) به مدت ۶ هفته.

سلول ایمنی	هفته صفر		هفته سوم		هفته ششم	
	گروه شاهد	گروه مطالعه	گروه شاهد	گروه مطالعه	گروه شاهد	گروه مطالعه
گلبول‌های سفید	۷/۰۷۰ ± ۰/۶	۶/۶۳۲ ± ۰/۳۲	۶/۲۰۴ ± ۰/۴۱	۵/۶۹۷ ± ۰/۱۹۹*	۶/۰۷۶ ± ۰/۳۰۲	۵/۸۷۲ ± ۰/۲۵۱
پلاکت	۲۹۶/۹۳۳ ± ۲۶/۵۸۸	۲۹۹/۳ ± ۱۶/۲۹۳	۲۶۹/۸۰۰ ± ۱۱/۵۷۱	۳۴۸/۵۷۱ ± ۱۲/۰۷۸*	۲۹۲/۳۵۷ ± ۱۶/۷۵۱	۳۰۲/۲۷۳ ± ۱۶/۶۳۱*
نوتروفیل	۵۳/۷ ± ۲/۳	۵۵/۹ ± ۲/۱	۵۲/۲ ± ۲/۶	۵۲ ± ۱/۹	۵۴/۸ ± ۱/۸	۵۴/۷ ± ۲
ائوزینوفیل	۳/۲ ± ۰/۵	۳/۲ ± ۰/۴	۳/۳ ± ۰/۴	۳/۱ ± ۰/۴	۳/۵ ± ۰/۴	۳/۱ ± ۰/۴
مونوسیت	۶/۳ ± ۰/۴	۶/۷ ± ۰/۴	۶/۳ ± ۰/۲	۷/۳ ± ۰/۳**	۵/۷ ± ۰/۴	۵/۷ ± ۰/۲*
بازوفیل	۰/۵۵ ± ۰/۰۴	۰/۵۶ ± ۰/۰۴	۰/۴۵ ± ۰/۰۲	۰/۴۵ ± ۰/۰۳	۰/۵۷ ± ۰/۰۶	۰/۵۹ ± ۰/۰۳
لنفوسیت	۳۳/۹ ± ۲	۳۱/۹ ± ۱/۷	۳۶/۳ ± ۲/۴	۳۵ ± ۱/۶	۳۴/۳ ± ۱/۹	۳۳/۹ ± ۱/۷

* تفاوت معنی‌دار نسبت به سطح اولیه ($P< ۰/۰۵$)

** تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه شاهد ($P< ۰/۰۵$)

1. Body Mass Index (BMI).

www.magiran.com

پس از گذشت ۳ هفته از شروع مطالعه درصد مونوسیت‌های افراد گروه مطالعه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P< ۰/۰۵$) درحالی که مصرف زعفران در این مدت باعث کاهش معنی‌دار پلاکت‌ها و تعداد کلی گلبول‌های سفید شد ($P< ۰/۰۵$، جدول ۲). مصرف زعفران پس از ۳ هفته درصد نوتروفیل‌ها و ائوزینوفیل‌ها را کاهش داد ولی این کاهش معنی‌دار نبود ($P> ۰/۰۵$، جدول ۲). در طی این مدت مصرف زعفران تأثیر معنی‌داری روی غلظت C_3 و C_4 سرم نداشت ($P> ۰/۰۵$، جدول ۱). همچنین در مدت ۳ هفته اول مطالعه غلظت IgG سرم افراد گروه مطالعه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P = ۰/۰۰۱$) درحالی که غلظت IgM و IgA کاهش یافت اما این کاهش معنی‌دار نبود ($P> ۰/۰۵$، جدول ۳). در این مدت درصد لنفوسیت‌های گروه مطالعه نیز افزایش یافت که معنی‌دار نبود ($P> ۰/۰۵$) درحالی که تعداد کلی گلبول‌های سفید آنها به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد ($P< ۰/۰۵$، جدول ۲).

در پایان هفته ششم آزمایشات نشان داد که تعداد مونوسیت‌ها نسبت به هفته سوم کاهش معنی‌داری پیدا کرده است ($P< ۰/۰۱$) درحالی که تعداد پلاکت‌ها افزایش معنی‌داری پیدا نموده بود ($P< ۰/۰۵$، جدول ۲). مصرف زعفران پس از ۶ هفته تأثیر معنی‌داری روی درصد نوتروفیل‌ها، ائوزینوفیل‌ها، بازوفیل‌ها و تعدادکلی گلبول‌های سفید (جدول ۲) و غلظت C_3 و C_4 (جدول ۱) نداشت ($P> ۰/۰۵$). همچنین غلظت IgG در پایان هفته ششم نسبت به هفته سوم کاهش معنی‌داری پیدا کرده بود ($P< ۰/۰۰۱$، جدول ۳) ولی غلظت IgM و IgA (جدول ۳) و درصد لنفوسیت‌ها (جدول ۲) تفاوت معنی‌داری با سطح اولیه و گروه شاهد نداشت ($P> ۰/۰۵$).

جدول ۳ ـ میانگین و خطای استاندارد میانگین غلظت ایمونوگلوبولین‌های سرم قبل و بعد از مصرف شیر (گروه شاهد) و شیر محتوی زعفران (گروه مطالعه) به مدت ۶ هفته برحسب میلی‌گرم در دسی‌لیتر.

ایمونوگلوبولین سرم	هفته صفر		هفته سوم		هفته ششم	
	گروه شاهد	گروه مطالعه	گروه شاهد	گروه مطالعه	گروه شاهد	گروه مطالعه
IgG	۱۶۰۸/۷ ± ۱۲۸/۲	۱۶۶۲/۴ ± ۶۹/۱	۱۵۷۸/۱ ± ۱۲۳/۳	۲۰۶۵/۵ ± ۷/۹۳*	۱۱۵۶/۳ ± ۷۲**	۱۲۵۸/۶ ± ۷۱*
IgM	۱۷۷/۲ ± ۱۷/۹	۱۸۴/۳ ± ۱۹/۱	۱۳۳/۱ ± ۱۴/۲	۱۱۵/۹ ± ۹/۱	۱۷۰/۳ ± ۲۶/۶	۱۷۹/۷ ± ۲۲/۷
IgA	۲۵۵/۹ ± ۱۴	۳۴۴/۴ ± ۳۰/۷	۲۹۱/۱ ± ۱۶/۴	۳۱۳۱/۱ ± ۲۷	۲۷۴/۱ ± ۲۲/۱	۳۲۳/۸ ± ۲۹/۸

* تفاوت معنی‌دار نسبت به سطح اولیه ($P< ۰/۰۵$)

** تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه شاهد ($P< ۰/۰۵$)

جدول ۴ ـ میانگین و خطای استاندارد میانگین شاخص‌های سن (سال)، وزن (کیلوگرم)، قد (متر) و نمایهٔ توده بدن (کیلوگرم بر مترمربع) در افراد تحت مطالعه.

شاخص	گروه شاهد	گروه مطالعه
سن	۲۱/۱ ± ۰/۵	۲۲/۵ ± ۰/۶
وزن	۶۷ ± ۲/۸	۶۵/۹ ± ۱/۸
قد	۱۷۶ ± ۱/۳	۱۷۴ ± ۱/۳
نمایهٔ تودهٔ بدن	۲۱/۳ ± ۰/۵	۲۱/۷ ± ۰/۶

www.magiran.com

بحث

افزایش درصد مونوسیت‌ها ۳ هفته پس از مصرف زعفران و کاهش درصد آن پس از گذشت ٦ هفته از مصرف زعفران نشان می‌دهد که اثرات زعفران وابسته به مدت زمان مصرف آن است. افزایش تعداد مونوسیت‌ها ۳ هفته پس از مصرف زعفران ممکن است به دلایل زیر باشد :

۱ ـ تحریک تولید مونوسیت‌ها در مغز استخوان در اثر افزایش تولید سایتوکاین‌های خونساز توسط زعفران.

۲ ـ افزایش نیمه‌عمر مونوسیت‌ها به‌علت جذب کاروتنوئیدهای زعفران و درنتیجه حفاظت آنها در برابر مرگ ناشی از تجمع رادیکال‌های آزاد در اندامک‌های حیاتی.

۳ ـ کاهش مهاجرت مونوسیت‌ها از خون محیطی به داخل بافت‌ها به علت تخفیف التهاب و آماس احتمالی در بافت‌ها توسط خاصیت ضدالتهابی زعفران.

فتوحی و همکارانش با بررسی غلظت کاروتنوئیدهای داخل پلاسما، مونوسیت‌ها و لنفوسیت‌ها به این نتیجه رسیدند که مکانیسم جذب کاروتنوئیدهای پلاسما توسط مونوسیت‌ها و لنفوسیت‌ها از نوع انتخابی می‌باشد و انتشار غیرفعال در آن نقش کمتری ایفا می‌کند. این مکانیسم جذب انتخابی، ممکن است مربوط به ترکیب غشای سلول، میزان فعالیت آن یا پروتئین‌های اتصالی ویژه سلول باشد(۲۴). GM-CSF[1]، M-CSF[2] و IL-3[3] از جمله سایتوکاین‌هایی هستند که در تبدیل رده میلوئید به مونوسیت در مغز استخوان نقش دارند(۲۵).

کاهش معنی‌دار مونوسیت‌ها پس از گذشت ٦ هفته از مصرف زعفران نسبت به سطح اولیه، ممکن است ناشی از پس‌خوراند منفی روی تنظیم سیستم ایمنی به علت تولید سایتوکاین‌های مهاری همچون TGF-β[4] باشد.

کاهش تعداد پلاکت‌ها و گلبول‌های سفید و درصد نوتروفیل‌ها که جزء فاکتورهای التهابی هستند(۲۷و۲۶) بعد از هفته سوم، احتمالاً بیانگر اثر ضدالتهابی زعفران می‌باشد. افزایش تعداد و درصد این سلول‌ها پس از ٦ هفته بیانگر این است که اثر زعفران وابسته به مدت زمان مصرف آن می‌باشد. احتمالاً زعفران تعدادی از این اعمال خود را از طریق تحریک ترشح سایتوکاین از سلول‌های T کمکی انجام می‌دهد.

تحقیقات رینک[5] و همکارانش در سال ۱۹۹۸ نشان داد که مصرف کاروتنوئیدها در بالغین باعث‌کاهش ترشح سایتوکاین‌های پیش‌التهابی همچون TNF-α[6] می‌شود. سایتوکاین‌های پیش‌التهابی با اثر روی هپاتوسیت‌ها باعث ساخت و ترشح فاکتورهای التهابی همچون CRP می‌شوند(۲۸). ارلینگر[7] و همکارانش نیز در سال ۲۰۰۱ اثبات کردند که بتا ـ کاروتن باعث کاهش شاخص‌های التهابی همچون CRP و تعداد گلبول‌های سفید می‌شود(۲۹).

از نظر بالینی خواص ضدالتهابی زعفران جهت درمان تب و بیماری‌های التهابی مانند آتروواسکلروز حائز اهمیت است. افزایش مونوسیت‌ها نیز علاوه بر تقویت پاسخ‌های ایمنی ذاتی باعث تقویت پاسخ ایمنی اکتسابی (نقش عرضه آنتی‌ژن مونوسیت‌ها به سلول‌های T کمکی) و پاسخ ایمنی هومورال (از طریق ترشح سایتوکاین توسط سلول‌های T کمکی) می‌شود.

شاخص‌های ایمونولوژیک ۲ نفر از ۲۲ نفر گروه مطالعه (۹/۵ درصد جامعه مورد مطالعه) پس از مصرف زعفران هیچ نوع تغییری نشان ندادند. این افراد احتمالاً در دسته پاسخ‌دهنده ضعیف[8] قرار می‌گیرند. بورل[9] و همکارانش نیز افراد جامعه را نسبت به جذب و متابولیسم بتا ـ کاروتن به دو دسته پاسخ‌دهنده ضعیف و پاسخ‌دهنده قوی[10] طبقه‌بندی کردند. افراد پاسخ‌دهنده ضعیف ممکن است در جذب متابولیسم کاروتنوئیدها و سایر ترکیبات موجود در زعفران دچار مشکل باشند(۳۰).

افزایش غلظت IgG سرم ۳ هفته پس از مصرف زعفران و کاهش غلظت آن پس از گذشت ٦ هفته مشخص می‌سازد که اثرات زعفران وابسته به مدت زمان مصرف است. این تغییرات ممکن است ناشی از ترشح سایتوکاین‌های تحریکی طی ۳ هفته اول و ترشح سایتوکاین‌های مهاری طی ۳ هفته دوم پس از مصرف زعفران توسط سلول‌های T کمکی باشد. زعفران در ۳ هفته اول باعث تکثیر سلول‌های B تولیدکننده IgG یا تغییر کلاس

1. Granulocyte-Monocyte Colony-Stimulationg Factor.
2. Monocyte Colony-Stimulating Factor.1
3. Interleukin-3.
4. Transforming Growth Factor-beta.
5. Rink.
6. Tumor Necrosis Factor-alpha.
7. Erlinger.
8. Low responder.
9. Borel.
10. High responder.

www.magiran.com

سلول‌های B به سمت تولید IgG می‌شود.

افزایش درصد لنفوسیت‌ها در طی ۳ هفته اول نیز حدس ما را پیرامون تکثیر سلول‌های B تولیدکننده IgG تقویت می‌کند. واتزل[1] و همکارانش ثابت کردند که یک رژیم غذایی محتوی کاروتنوئید کم، باعث تحریک تکثیر لنفوسیت‌ها در بالغین می‌شود(۳۱).

کیم[2] و همکارانش نیز نشان دادند که مصرف لوتئین (یک کاروتنوئید) باعث افزایش تعداد سلول‌های B در خون محیطی گربه‌ها می‌شود(۳۲).

چو[3] و همکارانش نشان دادند که مصرف بتا ـ کاروتن بدون هیچ تحریک آنتی‌ژنی باعث افزایش IgG در سگ‌ها می‌شود درحالی که بر روی IgM بی‌تأثیر است(۳۳).

جیونوچی[4] و همکارانش نیز ثابت کردند که بتا ـ کاروتن باعث افزایش ترشح آنتی‌بادی در برابر آنتی‌ژن‌های وابسته به تیموس در موش‌ها می‌شود(۳۴).

باتوجه به اینکه تنها حدود ۸ میلی‌گرم کاروتنوئید در ۱۰۰ میلی‌گرم زعفران وجود دارد، این تأثیرات چشمگیر ممکن است علاوه بر کاروتنوئیدها مربوط به سایر ترکیبات موجود در زعفران باشد یا اینکه کاروتنوئیدهای زعفران در مقایسه با سایر منابع حاوی کاروتنوئید، بهتر جذب می‌شوند.

یکی از مکانیسم‌های بالقوه کاروتنوئیدها در تعدیل پاسخ‌های ایمنی، کاهش تخریب اکسیداتیو DNA می‌باشد(۳۵). باتوجه به اینکه چو و همکارانش نشان دادند که بتا ـ کاروتن توسط اندامک‌های لنفوسیت‌های خون محیطی جذب می‌شوند، درنتیجه این سلول‌ها از تخریب اکسیداتیو در امان مانده و نیمه عمر بیشتری پیدا می‌کنند(۳۶). به‌هرحال با این مطالعه نمی‌توان مکانیسمی را که طی آن زعفران باعث تحریک تولید IgG می‌شود، به‌طور قطعی بیان نمود. آنچه مسلم می‌باشد این است که نباید نقش سلول‌های T کمکی را در این پدیده نادیده گرفت. شاید مطالعات آینده در مورد تأثیر زعفران بر الگوی سایتوکاینی مترشحه از سلول‌های T کمکی پرده از این راز بردارد. IL-4[5]، IL-5[6]، IL-6[7]، IL-13[8]، INF-γ[9] از جمله سایتوکاین‌هایی هستند که باعث تغییر کلاس سلول‌های B جهت تولید IgG می‌شوند(۳۷).

هرچند طی این ۶ هفته IgA سرمی گروه مطالعه افزایش نیافت، باید خاطرنشان کرد که بخش عمده IgA بدن را IgA ترشحی تشکیل می‌دهد که در سطوح مخاطی دستگاه گوارش و دستگاه تنفس قرار دارد و در این مطالعه مورد سنجش قرار نگرفت. به هرحال جیونوچی و همکارانش حدس می‌زنند که رژیم غذایی حاوی کاروتنوئید باعث افزایش تولید IgA ترشحی در سطوح مخاطی می‌شود(۳۸).

از نظر بالینی افزایش سطح IgG در اثر مصرف زعفران جهت افزایش پاسخ آنتی‌بادی در برابر واکسیناسیون رایج افراد حائز اهمیت است. از طرف دیگر زعفران ممکن است در تقویت پاسخ‌های ایمنی ثانویه (IgG) در مقابل پاتوژن‌ها و سلول‌های سرطانی نیز مؤثر باشد. پاسخ‌های ایمنی ثانویه در افراد مسن (بالاتر از ۶۵ سال) به موازات از دست رفتن سلول‌های T خاطره کاهش می‌یابد. به دنبال کاهش پاسخ‌های ایمنی ثانویه، عفونت‌ها، سرطان و بیماری‌های اتوایمیون در افراد مسن افزایش می‌یابد(۳۹).

زعفران با تقویت پاسخ‌های ایمنی ثانویه ممکن است نقش بالقوه‌ای در بهبود پاسخ آنتی‌بادی‌های اختصاصی در شرایط تضعیف دستگاه ایمنی ازجمله در سالمندان داشته باشد.

به‌طور خلاصه این پژوهش برای اولین بار نشان داد که مصرف زعفران در یک مدت زمان خاص باعث افزایش درصد مونوسیت‌ها و تولید IgG در مردان جوان می‌شود.

تقدیر و تشکر

در پایان مراتب سپاس و قدردانی خود را از آقای دکتر یعقوبی (معاون آموزشی ـ پژوهشی دانشگاه)، اعضای محترم شورای پژوهشی دانشگاه و دانشکده و آقای دکتر دلاور (مدیر پژوهشی دانشگاه) که در مراحل تأیید طرح و تأمین بودجه آن همکاری نمودند، دانشجویان داوطلب شرکت در طرح، آقای فتحی (مدیر آزمایشگاه تحقیقات)، پرسنل محترم آزمایشگاه مرکزی دانشگاه و همه کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نموده‌اند، ابراز می‌داریم.

1. Watzl.
2. Kim.
3. Chew.
4. Jyonouchi.
5. Interleukin-4.
6. Interleukin-5.
7. Interleukin-6.
8. Interleukin-13.
9. Interferon-gamma.

www.magiran.com

منابع

1. Rios J.L., Recio M.C., Giner R.M., et al., An updated review of saffron and its acctive compounds. Phytother., 1996; 10(3): 189-93.Res.
2. Abdullaev F.J., Caballerro-Ortega H., Rivoron-Negrete L., et al., Invitro evaluation of the chemopreventive potential of saffron. Rev. Invest. Clin. 2002; 54(5): 430-36.
3. Reynolds J.E.F., Martindale, the extra pharmacopoeia, London, Royal Pharmaceutical Society, 1996; 31th ed., p. 1002.
4. Abdullaev F.J., Cancer chemopreventive and tumorcidal properties of saffron (crocus sativus L.). EBM, 2002; 227: 20-25.
5. Nair S.C., Pannikar B., Panikkar K.R., Antitumor activity of saffron (crocus sativus L.). Cancer Lett., 1991; 57(2): 109-14.
6. Molnar J., Szabo D., Pusztai R., et al., Membrane associated antitumor effects of crocine, gisenoside and cannabinoid derivatives. Anticancer Res., 2000; 20(2A): 861-67.
7. Tarantilis P.A., Inhibition of growth and induction of differentiation of promyelocutic leukemia (HL-60) by carotenoids from crocus sativus L. Anticancer Res., 1994;14(5A): 1913-18.
8. Deng Y., Gvo Z.G., Zeng Z.L., et al., Studies on the pharmacological effects of saffron (crocus sativus L.)- a review [Abstract]. Zhongguo zhong yao za zhi, 2002; 27(8): 265-68.

۹. زرگری ع.، گیاهان دارویی، جلد چهارم، تهران، دانشگاه تهران، ۳۷۰، ص ۵۷۴ ـ ۵۷۸.

10. Dyle R.M., Nursing herbal medicine handbook, Springhouse corporation, Pennsylvania, 2001; 377-78.
11. Hosseinzadeh H., Younesi H.M., Antinociceptive and anti-inflammatory effects of crocus sativus L. stigma and petal extracts in mice. BMC pharmacol., 2002; 2(1): 7-15.
12. Lucas C.D., Hallagan J.B., Taylor S.L., The role of natural color additives in food allergy. Adv. Food Nutr. Res., 2001; 43: 195-216.
13. Moneret-Vautrin D.A., Food allergy and IgE sensitization caused by spices. Allergy Immunol., 2002; 34(4): 235-40.
14. Feo F., Martinez A., Occupational allergy in saffron workers. Allergy, 1997; 52(6): 633-41.
15. Chew B.P., Antitixidant vitamins affect food animal immunity and health. J. Nutr. 1995; 125: 18045-85.
16. Riso P., Pinder A., Santagelo A., et al., Does tomato consumption effectively increase the resistance off lymphocyte DNA to oxidative damage? Am. J. Clin. Nutr., 1991; 69(4): 712-18.
17. Nieman D.C., Pederson B.K., Nutrition and exercise immunology. Florida, CRC Press, 2000; 119-20.
18. Verma S.K., Bordia A., Antioxidant property of saffron in man. Ind. J. Med. Sci., 1998; 52(5): 205-7.
19. Miller L.E., Ludke H.R., Peacock J.E., et al., Manual of laboratory immunology, Philadelphia, Lea and Febiger, 2nd ed., 1990; 98-117.

۲۰ ـ میلر ال. ای.، راهنمای عملی ایمونولوژی آزمایشگاهی، مترجمین: علی‌محمدیان م.ح. و محمودزاده‌نیک‌نام ح.، انتشارات نگاره، ۱۳۷۴، ص ۲۲۰ ـ ۴۱.

21. Rischbach F., A manual of laboratory and diagnostic tests, Philadelphia, Lippincott, 2000; 619-20.
22. Rose N.R., Macario E.C., Folds J.D., et al., Manual of clinical laboratory immunology, Washington, Asm Press, D.C., 1997; 134-46, 181-86.
23. Puri B.K., Statistics in practice, London, Arnold, 1996; 46-86.
24. Fotouhi N., Meydani M., Santos M.S., et al., Carotenoid and tocopherol concentrations in plasma, peripheral blood mononuclear cells, and red blood cells after long-term β-carotenes suplementation in men. Am. J. Clin. Nutr., 1996; 63: 553-58.
25. Rich R.R., Fleisher T.A., Shearer W.T., Clinical immunology, principles and practice, London, Mosby, 2001; 2-3.
26. Uthaisangsook S., Day N.K., Bahna S.L., et al., Innate immunity and its role against infections. An Allergy Asthma Immunol., 2002; 88: 253-64.
27. Parslow T.G., Stites D.P., Terr A.J., et al., Medical Immunology, NewYork, McGraw-Hill, 2001; 189-203.
28. Rink L., Cakman J., Krichner H., Althered cytokine production in the elderly. Mech. Aging Dev., 1998; 102: 199-209.
29. Erlinger T.P., Guallar E., Miller E.R., et al., Relationship between systemic markers of inflammation and serum beta-carotene levels. Arch. Intern. Med., 2001; 161(5): 1903-8.
30. Chew B.P., Park J.S., Dietary β-carotene is taken up by blood plasma and leukocytes in dogs. J. Nutr., 2002; 130: 1749-56.

www.magiran.com

31. Watzl B., Bub A., Brandstaffer B.R., et al., Modulation of human T-Lymphocyte functions by the consumption of carotenoid-rich vegetables. Br. J. Nutr., 1999; 82: 383-89.
32. Kim H.W., Chew B.P., Wong T.S., et al., Modulation of humoral and cell-mediated immune responses by ,.lohtaponummI .lonummI .teV .stac ni nietul yrateid 2000b; 73: 331-41.
33. Chew B.P., Park J.S., Wong T.S., et al., Dietary β-carotene stimulates cell-mediated and humoral immune response in dogs. J. Nutr., 2000; 130: 1910-13.
34. Jyonouchi H., Aharg L., Gross M., et al., Immuno-modulationg actions of carotenoids: enhancement of in vivo and invitro antibody production to T-dependent antigens. Nutr. Cancer, 1994; 21: 47-58.
35. Watzl B., Bub A., Blockhauns M., et al., Prolonged tomato juice consumtion has no effect on cell mediated immunity of well-nurished elderly men and women. J. Nutr., 2000; 130: 1719-23.
36. Chew B.P., Park J.S., Wong T.S., et al., Dietary β-carotene is taken up by blood plasma and leukocytes in dogs. J. Nutr., 2001; 130: 1749-56.
37. Roitt I.M., Delves P.J., Roitt's essential immunology, 10th ed., London, Blackwelll Sciences, 2001; 190.
38. Jyonouchi H., Sun S., Gross M., Effect of carotenoids of vitroimmunoglobulin production by human peripheral blood mononuclear cells: A staxanthin, a caratenoid with vitamin A activity, enhances in vitro immunoglobulin production in response to a T-dependent stimulant and antigen. Nutr. Cancer, 1995; 23: 171-83.
39. Jyonouchi H., Sun S., Tomita Y., et al., Astaxanthin, a carotenoid withous vitamin A activity augments antibody responses in cultures including T-helper cell clontes and suboptimal doses of antigen. J. Nutr., 1995; 125: 2483-92.