

بررسی آلرژی زایی دانه های گرده ابریشم مصری (*Caesalpinia gilliesii*)  
از تیره حبوبات (Leguminosae)

مهرنوش زنگنه ناصری\*

گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

احمد مجد، گلناز تجدد

گروه زیست شناسی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: ۸۷/۱۰/۹

تاریخ دریافت: ۸۶/۱/۱۵

### چکیده

**مقدمه:** ابریشم مصری گیاهی زینتی است که به دلیل داشتن گل‌های زیبا و فراوان و دوره گل دهی طولانی (اردیبهشت تا آبان) به عنوان یک گیاه مناسب در پوشش فضای سبز شهری به کار می‌رود.

**هدف:** با توجه به اینکه تا کنون بررسی های علمی در مورد آلرژی زایی دانه های گرده ابریشم مصری انجام نشده است و گونه های زیادی از گیاهان تیره حبوبات دارای دانه های گرده آلرژی زا هستند، بنابراین بررسی آلرژی زایی دانه های گرده ابریشم مصری که از اهداف پژوهش حاضر است، علاوه بر نتایج علمی می‌تواند نتایج کاربردی در زمینه استفاده مناسب از این گیاه را داشته باشد.

**روش بررسی:** دانه های گرده گل ابریشم مصری در ماه های اردیبهشت و آبان از گل های برداشت شده از گیاهان منطقه مهرشهر کرج بدست آمد. عصاره های گرده ها با غلظت های مختلف ۵٪، ۷٪ و ۹٪ با استفاده از بافر فسفات نمکی تهیه شد. حیوانات مورد آزمایش در هر تجربه ۴ عدد خوکچه هندی نر سه ماهه از نژاد هارتلی بودند. برای بررسی اثرات آلرژی زایی دانه های گرده، آزمون های چشمی، بینی و تزریق زیر پوستی عصاره ها طریق درون صفاقی به آن ها تزریق شد. در پایان هفته سوم خون گیری از حیوانات تحت تیمار انجام شد و قند خون، ائوزینوفیل ها و IgE سرمی اندازه گیری شد.

\*عهده دار مکاتبات: mehrnosh\_zangeneh@yahoo.com

**نتایج:** بررسی های ایمنولوژیکی، افزایش میزان قند خون و ائوزینوفیل ها را نشان داد میزان IgE افزایش معنی داری نداشت. عدم تغییرات معنی دار در IgE نشان می دهد که آلرژی زایی دانه های گرده ابریشم مصری در حدی نیست که توان تحریک شدید سیستم ایمنی را داشته باشد.

**نتیجه گیری:** بنابراین می توان در فضاهای سبز شهری از آن استفاده نمود.

**واژه های کلیدی:** آلرژی، دانه گرده، تیره حبوبات، ابریشم مصری

#### مقدمه

تیره حبوبات سومین تیره بزرگ نهاندانگان و دومین تیره گیاهان گل دار است که در طیف وسیعی از زیستگاه ها یافت می این تیره شامل سه زیر تیره است:

ارغوان *Caesalpinioidea*، پروانه آسا *Papilionoidea* و شب خسب *Mimosoidea*

ابریشم مصری (*Caesalpinia gilliesii*) متعلق به زیر تیره ارغوان می باشد<sup>(۱)</sup>.

ویژگی های مورفولوژیکی: ابریشم مصری درختچه ای راست به ارتفاع حدود ۲ متر با شاخه های جوان، پوشیده از کرک های غده ای پایک دار است. دارای برگ های متناوب و دو بار شانه ای مرکب است. گل آذین خوشه انتهایی است. گل ها نر، ماده و زرد رنگ، با پرچم های بلند و قرمز رنگ هستند. نیام داسی شکل و شکوفا است.<sup>(۱)</sup>

نیام و دانه های ابریشم مصری سمی هستند.<sup>(۲)</sup> از آنجا که کاشت این گیاه در فضای سبز شهری روبه گسترش است، توجه به خواص آلرژی زایی آن مفید و دارای جنبه های کاربردی خواهد بود.

پراکنندگی جغرافیایی: ابریشم مصری به دلیل مقاومت به گرما و نیاز کم به آب در مناطق گرمسیری و معتدل رشد می کند.<sup>(۳)</sup>

این گیاه بومی آرژانتین و اوروگوئه است و در سال های اخیر به ایران وارد شده است

**گرده افشانی:** گل های خانواده *Leguminosea* از نظر اندازه، شکل، رنگ و نوع گرده افشان ها بسیار متفاوتند. شاخص ترین گرده افشان ها در این خانواده زنبورهای عسل هستند.<sup>(۱)</sup> گل ابریشم مصری دارای پرچم های طویلی است که از پوشش گل خارج می شوند و در معرض باد و تماس حشرات قرار می گیرند.

براساس تحقیقات Marcela، ۱۳۳ واریته پروانه شب پره از ۷ گونه مختلف ناقل گرده های ابریشم مصری هستند.<sup>(۴)</sup>



شکل ۱ - درختچه ابریشم مصری و گل آذین آن

آلرژی زایی دانه های گرده: آلرژی های گرده ای در گروه واکنش های ازدیاد حساسیت نوع اول هستند. تحقیقات نشان داده است که سطح IgE در آلرژی نسبت به گرده ها به طور چشمگیری افزایش می یابد.<sup>(۵)</sup> یک عامل آلرژی زایی گرده ها پروتئین های گرده ای است که در سیتوپلاسم و پوشش گرده جای دارند. عامل دیگر، مواد معدنی کسب شده از محیط است که به عنوان کوفاکتور در فعال کردن پروتئین های آلرژی زایی گرده ای عمل می کنند.

بر هم کنش دانه های گرده با آلاینده های هوا منجر به آزاد شدن آنتروسل های آلرژیک از دانه های گرده می شود. این ذرات بیشتر از خود گرده ها وارد مجاری تنفسی می شوند.<sup>(۶)</sup> از سال ۱۳۷۱ تا کنون در ایران توسط مجد و همکاران تحقیقات متعددی در مورد آلرژی زایی دانه های گرده گونه های مختلفی از گیاهان از جمله، برخی از گیاهان پارک ها، نعنا، سرو، چنار و داودی انجام شده است. نتایج این تحقیقات نشان می دهد که ترکیبات گرده های مورد آزمایش ساختار پروتئینی دارند و آلودگی جوی در تشدید آلرژی زایی آنها نقش اساسی دارد. برخی از گیاهان خانواده Leguminosea به شرح زیر، آلرژی زا گزارش شده اند:<sup>(۷)</sup>

*Albizia julibrissin*(Durazz.) , *Acacia*(L.) , *Bauhinia*(L.) , *Cassia*(L.) , *Cercis*(L.) , *Cytisus*(L.) , *Erythrina*(L.) , *Gleditsia*(L.) , *Lathyrus*(L.) , *Mimosa*(L.) , *Robinia*(L.) .

در این پژوهش گرده های ابریشم مصری (*Caesalpinia gilliesii* (Wallich ex Hook.) که یکی از گیاهان این

خانواده است، از نظر توان آلرژی زایی مورد بررسی قرار گرفته است.

## مواد و روش ها

### مطالعات میکروسکوپی

به منظور بررسی ساختار دانه های گرده ابریشم مصری، دانه های گرده از گل های برداشت شده از گیاه فراهم شدند. سپس ویژگی های مورفولوژیکی دانه های گرده به وسیله میکروسکوپ های نوری و الکترونی نگاره (SEM) بررسی شدند.

### مطالعات آلرژی زایی

به منظور بررسی آلرژی زایی دانه های گرده، در اوایل و اواخر دوره گل دهی (اردیبهشت و آبان) دانه های گرده نارس و بالغ از گل های برداشت شده از گیاه تهیه شدند. عصاره های گرده ها با غلظت های مختلف ۵٪، ۷٪ و ۹٪ با استفاده از محلول بافر فسفات نمکی تهیه شدند. به منظور بررسی پروتئین های دانه های گرده نارس و بالغ، الکتروفورز عصاره های گرده ها به روش SDS-PAGE انجام شد.

آزمون های سنجش آلرژی با استفاده از عصاره گرده بالغ بر روی ۱۶ عدد خوکچه هندی نر سه ماهه از نژاد هارتلی (Hartley) که از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند، انجام شد.

تزریق زیر پوستی عصاره های گرده ای در ناحیه شکم حیوانات مورد آزمایش انجام شد و واکنش های پوستی بررسی شدند. آزمون های تحریکی به صورت چکاندن عصاره های گرده ای در بینی و چشم حیوانات انجام شد و واکنش آن ها بررسی شد.

پس از حساس سازی حیوانات مورد آزمایش، به منظور ایمن سازی آن ها هر یک از عصاره های گرده ای در سه تکرار، هر هفته یک بار به طریق درون صفاقی تزریق شد. ۸ تا ۱۰ ساعت پس از آخرین تزریق، از قلب هر یک از خوکچه ها ۲ میلی لیتر خون گرفته شد. نمونه های خون به مرکز تحقیقاتی علوم آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی ایران برده شدند و میزان قند خون و اتوزینوفیل ها محاسبه شد.

۷ روز پس از آخرین تزریق عصاره گرده، آخرین خون گیری از خوکچه های هندی انجام شد. از هر حیوان، ۴ میلی لیتر خون گرفته شد و برای سنجش ایمونوگلوبولین E (IgE) به روش ELISA از آن استفاده شد. تجزیه و تحلیل نتایج و ارزشیابی صحت آن ها با روش های آماری از جمله محاسبه میانگین نتایج و نرم افزار ANOVA انجام گرفت و معنی دار بودن اثر تیمارها در بیشترین سطح احتمال بررسی شد.

## نتایج و بحث

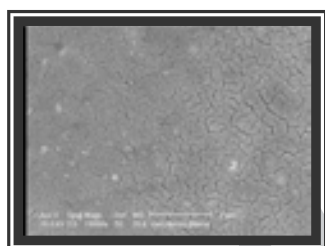
بررسی ساختار دانه های گرده: دانه های گرده به وسیله میکروسکوپ های نوری و الکترونی بررسی شدند و اثر سه شیار و سه منفذ بر روی آن ها تشخیص داده شد. آراستار اگزین از نوع مشبک بود (شکل ۲).

بررسی پروتئین های دانه های گرده: پس از الکتروفورز عصاره های گرده های نارس و بالغ، باند های پروتئینی مورد مقایسه قرار گرفتند.

در هر دو نوع عصاره ۳ باند تشخیص داده شد باند عمده در ناحیه ۸۳ کیلودالتون بود. تفاوت آشکاری در تعداد باندها، شدت و تراکم رنگ مشاهده نشد (شکل ۳)

نتایج آزمون های پوستی: تزریق زیر پوستی عصاره های گرده ای با غلظت های مختلف به خوکیچه های هندی با یک پاسخ مثبت به صورت ایجاد برجستگی در محل تزریق (ویل) و پس از مدتی بروز یک هاله قرمز رنگ (فلر) در اطراف آن بود (شکل ۴). در خوکیچه های شاهد با تزریق بافر فسفات نمکی، ویل و فلر بسیار جزئی مشاهده شد. نمودار ۱، تغییرات قطر فلر را در غلظت های متفاوت عصاره گرده نشان می دهد. میانگین این تغییرات در  $P < 0/05$  معنی دار است.

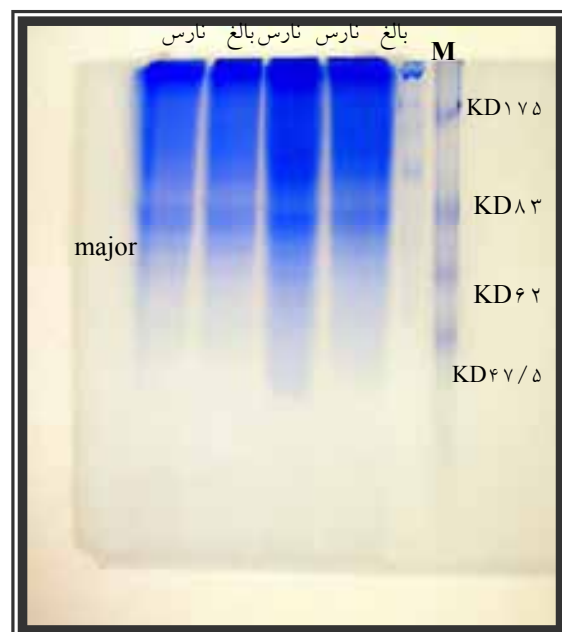
در آزمون خراشی (prick test) با ایجاد خراش در پوست جانور و ورود عصاره گرده به درون پوست نیز همین نتایج به دست می آید.



شکل ۲- دانه گرده و آراستار اگزین



شکل ۴- آزمون زیر پوستی (فلر ایجاد شده در ناحیه شکم)



شکل ۳- عصاره گرده های نارس و بالغ الکتروفورز شده

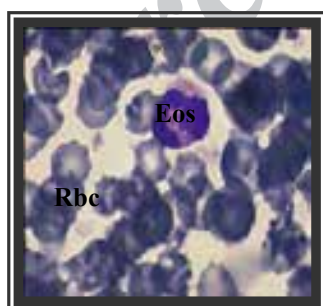
نتایج آزمون هایی تحریکی : چکاندن عصاره گرده در چشم و بینی خوکچه های هندی سبب بروز آبریزش از چشم و التهاب و خارش بینی و عطسه شد. چکاندن بافر فسفات نمکی در چشم و بینی خوکچه های شاهد با علامت مشخصی همراه نبود.

### نتایج آزمون های خونی :

سنجش قند خون : در اثر تزریق عصاره های گرده ای میزان قند خون افزایش یافت. نمودار ۲ ، تغییرات میزان قند خون را در غلظت های متفاوت عصاره گرده نشان می دهد. میانگین این تغییرات در  $P < 0/05$  معنی دار است. در خوکچه های شاهد که به آن ها بافر فسفات نمکی تزریق شد، قند خون تغییر نکرد.

سنجش ائوزینوفیل خون : در اثر تزریق عصاره های گرده ای میزان ائوزینوفیل خون افزایش یافت. نمودار ۳ ، تغییرات ائوزینوفیل را در غلظت های متفاوت عصاره گرده نشان می دهد. میانگین این تغییرات در  $P < 0/05$  معنی دار است. در خوکچه های شاهد میزان ائوزینوفیل تغییر نمی کند. شکل ۵، خون گیری از قلب خوکچه هندی و شکل ۶، گسترش خون حیوان تیمار شده با عصاره گرده را نشان می دهد. وجود ائوزینوفیل، بروز حساسیت ائوزینوفیلی را تأیید می کند.

سنجش IgE به روش ELISA : میزان IgE سرمی در خون خوکچه های تیمار شده با غلظت های متفاوت عصاره گرده ای نسبت به خوکچه های شاهد تفاوت معنی داری نشان نداد . نمودار ۴ ، تغییرات IgE سرمی رادر غلظت های متفاوت عصاره گرده نشان می دهد.

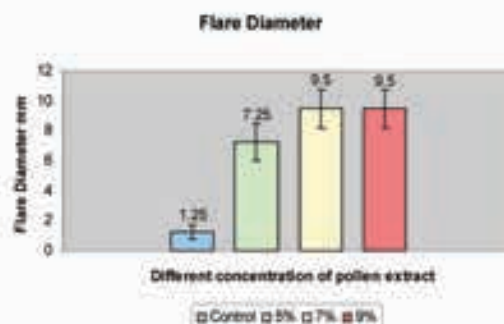
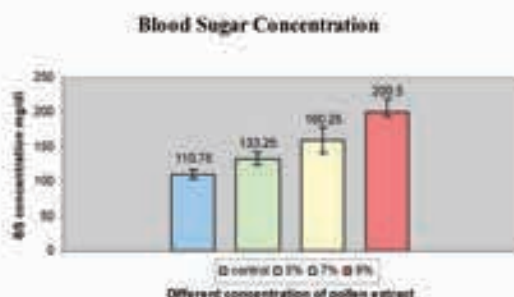


شکل ۶ - گسترش خون حیوان تحت تیمار عصاره گرده ای



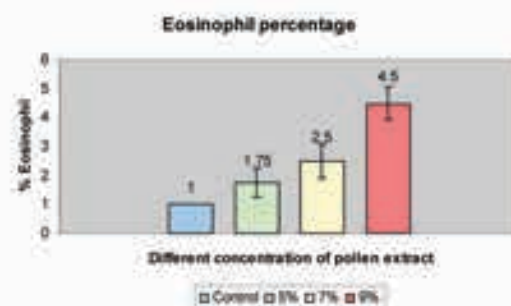
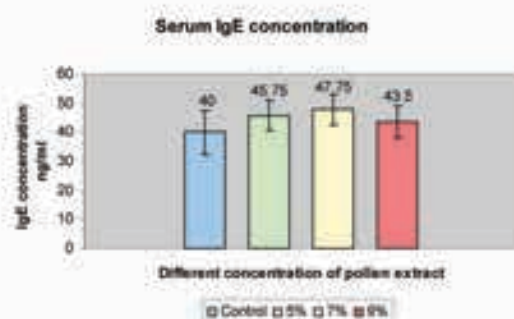
شکل ۵ - خون گیری از قلب خوکچه هندی





نمودار ۲- تغییرات قند خون بر اساس غلظت های متفاوت عصاره گرده

نمودار ۱- تغییرات قطر فلر بر اساس غلظت های متفاوت عصاره گرده



نمودار ۴- تغییرات IgE سرمی بر اساس غلظت های متفاوت

نمودار ۳- تغییرات ائوزینوفیل بر اساس غلظت های متفاوت عصاره گرده

### نتیجه گیری

تفسیر نتایج الکتروفورز پروتئین های گرده ها: باندهای پروتئینی حاصل از الکتروفورز گرده های نارس و بالغ، تفاوت آشکاری از نظر تعداد، شدت و تراکم رنگ نشان ندادند. بنا بر این می توان تصور کرد که توان آلرژی زایی گرده های نارس و بالغ همسان است. به همین دلیل آزمون های سنجش آلرژی تنها با استفاده از عصاره گرده بالغ انجام گرفت.

تفسیر آلرژی زایی دانه های گرده: برای سنجش آلرژی زایی دانه های گرده ابریشم مصری از آزمون های مختلفی استفاده کردیم.

نتایج آماری نشان داد که با تزریق زیر پوستی عصاره گرده ای با غلظت های متفاوت قطر فلر افزایش می یابد. این یک پاسخ مثبت آلرژیک است. این مشاهدات با نتایج تحقیقات مجدد- رضائزاد، ۱۳۸۲ در مورد برخی از گیاهان کاشته شده در پارک ها هم سویی دارد.<sup>(۸)</sup>

بررسی نتایج آماری در مورد تغییرات غلظت قند خون بر اساس غلظت های متفاوت عصاره های گرده ای افزایش قند خون را به عنوان یک پاسخ مثبت آلرژیک نشان می دهد. این نتایج با تحقیقات مجد-تجدد، ۱۳۷۷ در مورد دو گونه از خانواده نعنا هم سویی دارد.<sup>(۹)</sup>

بررسی نتایج آماری در مورد میزان ائوزینوفیل خون، بر اساس غلظت های متفاوت عصاره گرده ای افزایش میزان ائوزینوفیل را نشان می دهد. این افزایش نشان دهنده واکنش آلرژیک می باشد.<sup>(۱۰)</sup> این نتایج با تحقیقات مجد-چهرگانی، ۱۳۸۲ در مورد برخی از گیاهان کاشته شده در پارک ها، هم سویی دارند.<sup>(۱۱)</sup>

در تحقیقات انجام شده در بررسی آلرژی زایی، میزان IgE سرمی به عنوان مهم ترین شاخص وجود آلرژی مورد سنجش قرار گرفته است.<sup>(۱۲)</sup> با توجه به نتایج آماری حاصل از این تحقیق و بررسی نمودارها به نظر می رسد که حتی عصاره ۹٪ گرده های ابریشم مصری نیز برای تحریک سیستم ایمنی و تولید بیشتر IgE کافی نمی باشد. میزان کم IgE سرمی حیوانات مورد آزمایش در این پژوهش، عدم بروز حساسیت شدید را در آن ها توجیه می کند. این نتایج با تحقیقات چلبیان-محمدی، ۱۳۸۵ در مورد گیاه گل ابری، هم سویی دارد.<sup>(۱۳)</sup>

عدم تغییرات معنی دار در IgE سرمی نشان می دهد که آلرژی زایی دانه های گرده ابریشم مصری در حدی نیست که توان تحریک شدید سیستم ایمنی را داشته باشد و می توان از این گیاه در پوشش فضای سبز شهری استفاده نمود.

#### References :

1. Ghahraman, A., *Chormophyts of Iran*, Tehran university, Iran (2004) .
2. Johnson, A., Johnson, S., *Garden Plants Poisonous to People*, Prime Fact, 359 (2006).
3. Jones, W., Duffield, M.R., *Recommended Plants for Homes of Allergic People in Southern Arizona* , Health Science Center, USA (2001).
4. Marcela, M., Alician, S., Andrea, C., *Biological Journal of the Linnean Society*, **88**, 579 (2006).
5. Farid Hosseini, R., *Allergy Plants and Pollens* , Astane Ghodse Razavi, Mashhad (1991).
6. Chehregani, A., Majd, A., Moin, M., *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **1**, 118 (2004).
7. Robinson, M. L ., *Allergenic Plants in Southern Nevada* , The university of Nevada Reno, Nevada (2005).
8. Rezanejad, F., *Turk. J. Bot.*, **32**, 35 (2008).
9. Tajadod, G., *The Collection of Article Proceeding of the First National Congress of Biotechnology* , **3**, 1348 (1998).
10. Brozmanova, M., Calkovsky, V., *Physiol .Res.*, **55**, 577(2006).
11. Chehregani, A., Majd, A., Moin, M., Gholami, M. and Nassiri, M., *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **58**, 267 (2004).
12. Fischer, R., MC Ghee, J., *Am. J. Pathol.*, **167**, 1621 (2005).
13. Mohamadi, M., *Biology Journal of Islamic Azad University Garmsar Branch* , **1**, 6 (2006).