

ارزیابی تأثیر عصاره آبی - الکلی جوز هندی بر پاسخ‌های ایمنی رت

مسعود قربانپور^{۱*}، علی رهنما^۲، حسین نجف‌زاده ورزی^۳، صالح اسماعیل‌زاده^۴، مهدی پورمهدی بروجنی^۵

- ۱- استاد گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
 - ۲- دانش‌آموخته دکترای حرفه‌ای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
 - ۳- استاد گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
 - ۴- دانشیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
 - ۵- دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
- *آدرس مکاتبه: اهواز، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز
 تلفن: ۳۳۳۰۷۳ (۰۶۱۱)، نمابر: ۳۳۶۰۸۰۷ (۰۶۱۱)
 پست الکترونیک: m.ghorbanpoor@scu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۳/۸/۱۷

تاریخ تصویب: ۹۴/۳/۹

چکیده

مقدمه: میریستیکا فراگرانس درختی معطر و همیشه سبز است که در بسیاری از کشورهای گرمسیری کشت می‌شود. جوز هندی که دانه رسیده و خشک شده میریستیکا فراگرانس است، به عنوان یک چاشنی رایج در شیرینی‌ها، غذاها و انواع نوشیدنی‌ها استفاده می‌شود.

هدف: جوز هندی اثرات دارویی متنوعی دارد که در این مطالعه تأثیر آن بر پاسخ‌های ایمنی سنجیده شده است.

روش بررسی: تعداد ۶ گروه (هر گروه ۸ سر) رت طبق روش زیر تیمار شدند:

گروه‌های فرد روزانه به مدت ۱۲ روز به صورت داخل صفاقی (IP)، به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، ۳۰۰ میلی‌گرم عصاره جوز هندی دریافت کردند. گروه‌های زوج به جای عصاره جوز هندی، PBS دریافت کردند. رت‌های گروه ۱ و ۲ در روزهای ۱ و ۶ با تعداد $1/35 \times 10^9$ گلبول قرمز گوسفند (SRBC) به صورت IP ایمن شدند. رت‌های گروه ۳ و ۴ در روز اول با تعداد $1/35 \times 10^9$ از طریق IP حساس شدند و در روز نهم با $2/7 \times 10^7$ SRBC در حجم ۰/۱ میلی‌لیتر از طریق پوست کف پای راست چالش شدند. در روز ۱۳، عیار آنتی‌بادی ضد SRBC، گروه‌های ۱ و ۲ و میزان لیزوزیم و فعالیت مسیر فرعی سیستم کمپلمان در سرم گروه‌های ۵ و ۶ تعیین شد. میزان تورم کف پا در گروه‌های ۳ و ۴ در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از چالش با SRBC اندازه‌گیری شد و محل‌های چالش از نظر نفوذ سلول‌های التهابی بررسی شدند.

نتایج: نتایج نشان داد که عصاره جوز هندی به صورت معنی‌داری باعث افزایش پادتن ضد SRBC شده ($p=0/005$)، نفوذ سلول‌های التهابی را مهار می‌کند ($p<0/001$) ولی بر میزان لیزوزیم و فعالیت مسیر فرعی کمپلمان بی‌اثر است ($p=0/04$).

نتیجه‌گیری: عصاره جوز هندی در رت‌های ویستار، اثر سرکوب‌کنندگی بر ایمنی سلولی و اثر تحریک‌کنندگی بر پاسخ هومورال نسبت به SRBC دارد.

گل‌واژگان: جوز هندی، پاسخ ایمنی، رت



مقدمه

مکانیسم‌های دفاعی موجودات عالی شامل ایمنی ذاتی، که وظیفه محافظت اولیه در برابر عفونت‌ها را به عهده داشته و ایمنی اکتسابی که کندتر تکوین یافته، باعث دفاع بعدی و مؤثرتر در برابر عوامل بیگانه می‌شود، می‌باشند. دو نوع ایمنی اکتسابی یعنی ایمنی هومورال و ایمنی سلولی که توسط سلول‌ها و مولکول‌های مختلف وساطت می‌شوند، به ترتیب جهت دفاع در برابر میکروب‌های خارج سلولی و داخل سلولی طراحی شده‌اند. ایمنی هومورال توسط پروتئین‌هایی موسوم به پادتن که به وسیله لنفوسیت‌های B تولید می‌شود، وساطت می‌شود. پادتن‌ها به داخل جریان خون و مایعات مخاطی ترشح شده و عوامل میکروبی و توکسین‌های حاصل از آنها را خنثی و حذف می‌نمایند. در ایمنی سلولی، لنفوسیت‌های T، آنتی‌ژن‌های تولید شده توسط میکروب‌های داخل سلولی را شناسایی می‌نمایند. التهاب که جزئی از ایمنی ذاتی است، علاوه بر ایجاد دفاع اولیه بر ضدمیکروب‌ها، موجب ارتقاء پاسخ‌های اکتسابی ضدعوامل عفونی نیز می‌شود [۱].

جوز هندی (Nutmeg) با نام علمی میستریکا فرگرنس (*Myristica fragrans*) درختی شبیه نارنج است که در مناطقی همچون شرق هند و شرق اندونزی می‌روید. دانه و پوسته میوه آن مصارف گوناگونی دارد، اما در مناطق مذکور بیشتر به عنوان چاشنی غذا استفاده می‌شود. عصاره آبی- اتانولی دانه‌های جوز هندی محتوی ترکیبات آلکالوئیدی، ترکیبات نیتروژنی هتروسیکل و روغن‌های فرار چون ترپنوئیدها، مشتقات فینیل‌پروپان و فنول می‌باشد. جوز هندی ضداضطراب [۲]، ضدتشنج [۳]، ضدتشکیل لخته [۴]، ضد درد [۴]، ضدتجمع پلاکت [۵]، ضدفارچ [۶]، تقویت‌کننده قوای جنسی [۷]، ضدالتهاب [۸-۱۴]، آنتی‌اکسیدان [۱۷-۱۵]، محافظت‌کننده از اشعه [۱۸]، لاغر کننده [۱۹]، مؤثر بر دیابت [۱۹]، ضدمیکروب [۲۰، ۱۵]، ضدگرزا [۲۱]، ضدپوسیدگی دندان [۲۲]، ضدانگل [۲۳] و مفید در درمان روماتیسم مفصلی [۲۴، ۲۵] گزارش شده است.

بهاراتان (Bharathan) و همکاران در سال ۲۰۱۳ [۲۶] در مطالعه‌ای به بررسی تأثیر عصاره آبی جوز هندی بر پاسخ

هومورال و سلولی رت‌های آلبینو به گلبول قرمز گوسفند (SRBC) پرداخته و نتیجه‌گیری نموده‌اند که این عصاره باعث تقویت پاسخ سلولی و هومورال نسبت به SRBC می‌شود. چکر (Checker) و همکاران در سال ۲۰۰۸ [۲۷] به بررسی اثرات ایمونومودولاتوری لیگنین‌های مشتق از جوز هندی بر سلول‌های طحالی موش پرداخته و گزارش نموده‌اند که اجزای فوق باعث مهار قابل توجه تکثیر لنفوسیت‌های T طحالی در پاسخ به کانکاوآنالین A و نیز کاهش معنی‌دار اینترلوکین‌های ۲ و ۴ و انترفرون گاما تولیدی توسط سلول‌های طحالی موش مواجه شده با کانکاوآنالین A می‌شوند.

از آنجا که التهاب باعث تقویت ایمنی اکتسابی می‌شود و چون در مطالعه قبلی [۲۵]، در رت مقادیر ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی (آبی- اتانولی) جوز هندی خاصیت ضدالتهابی داشت، در این مطالعه اثر این میزان از عصاره فوق بر پاسخ هومورال و سلولی به گلبول قرمز گوسفند و نیز میزان لیزوزیم سرم و فعالیت کمپلمان در رت مورد سنجش قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

دانه خشک شده جوز هندی از فروشگاه‌های گیاهان دارویی واقع در سطح شهر اهواز تهیه شد و توسط آسیاب الکتریکی به پودر یکنواخت و نرمی تبدیل شد. برای استخراج مواد مؤثره موجود در جوز هندی و تهیه عصاره از روش هضمی استفاده شد. در این روش پودر دانه جوز هندی تهیه شده، با نسبت ۱ به ۵ با اتانول ۸۰ درجه مخلوط شد. سوسپانسیون به دست آمده به مدت ۷۲ ساعت در دمای آزمایشگاه نگهداری شد و با استفاده از صافی و دستگاه پمپ خلأ بخش مایع مخلوط جدا شد و محلول حاصل به دستگاه تقطیر در خلأ با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد جهت تغلیظ عصاره منتقل شد. سپس عصاره در یک شیشه ساعت در انکوباتور با دمای ۴۰ درجه برای تغلیظ بیشتر عصاره قرار داده شد.



اندازه‌گیری شد. در روز ۱۳ رت‌های این گروه‌ها، با کلروفرم آسان‌کشی شده و پاهای چپ و راست آنها جدا و به ظروف حاوی بافر فرمالین ۱۰ درصد منتقل شد. پس از طی مراحل لازم برای تهیه مقطع و رنگ‌آمیزی مطابق روش استاندارد هماتوکسیلین-ائوزین، مقاطع تهیه شده با استفاده از میکروسکوپ نوری از نظر نفوذ سلول‌های التهابی در محل چالش بررسی شدند.

از رت‌های گروه ۵ و ۶ در روز سیزدهم خونگیری شد و میزان لیزوزیم سرم آنها به روش لیز باکتری گرم مثبت حساس به لیزوزیم میکروکوکوس لیزودیکتیکوس مطابق روش آناد (Annand) و همکاران [۲۸] با کمی تغییرات اندازه‌گیری شد. برای این کار، به هریک از چاهک‌های میکروپلیت تخت که محتوی ۱۰ میکرولیتر سرم یا غلظت‌های مختلف لیزوزیم تخم‌مرغ (سیگما) به عنوان شاهد بود، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون ۷۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر باکتری اضافه شد و در زمان‌های صفر و نیم ساعت دانسیته نوری حفرات، در طول موج ۵۴۰ نانومتر خوانده شد. میزان کاهش دانسیته نوری هر نمونه ثبت و با رسم منحنی استاندارد میزان لیزوزیم بر حسب میکروگرم در میلی‌لیتر محاسبه شد. جهت دقت بیشتر میزان لیزوزیم هر نمونه دو بار اندازه‌گیری و متوسط دو بار اندازه‌گیری مبنای بررسی اختلاف دو گروه قرار گرفت.

فعالیت مسیر فرعی کمپلمان سرم رت‌های گروه‌های ۵ و ۶ مطابق روش ډمی (Demey) و همکاران [۲۹] با کمی تغییرات اندازه‌گیری شد. برای این کار سرم در پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای تخت رقیق‌سازی شد و ۵۰ میکرولیتر از سرم رقیق شده با ۵۰ میکرولیتر سوسپانسیون ۰/۵ درصد گلبول قرمز خرگوش مجاور شد. پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند و طی این مدت هر ۳۰ دقیقه یک بار بر روی شیکر قرار داده شدند. پس از ۲ ساعت انکوباسیون عکس آخرین رقتی از سرم که باعث لیز کامل گلبول‌های قرمز شده بود به عنوان عیار ثبت شد.

جهت محاسبات آماری از آزمون T برای بررسی اثر عصاره جوز هندی بر پاسخ‌های هومورال، از آنالیز کوواریانس و آنالیز واریانس با اندازه‌گیری تکراری برای بررسی اثر عصاره جوز

تعداد ۴۸ سر رت نر نژاد ویستار با سن ۶ تا ۸ هفته خریداری شد و آب و غذای استاندارد به میزان کافی در دسترس آنها قرار داده شد. نگهداری حیوانات در فضای بسته آزمایشگاه صورت گرفت. رت‌ها پس از یک هفته نگهداری به ۶ گروه ۸ تایی تقسیم شدند: گروه‌های ۱، ۳ و ۵ روزانه به مدت ۱۲ روز به صورت داخل صفاقی، ۳۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن عصاره جوزهندی دریافت کردند. گروه‌های ۲، ۴ و ۶ به جای عصاره جوز هندی، به همان روش PBS دریافت کردند [۲۵].

رت‌های گروه ۱ و ۲ در روزهای ۱ و ۶ با تعداد SRBC $1 \times 10^9 / 35$ در حجم ۰/۵ میلی‌لیتر به صورت IP ایمن شدند و عیار پادتن ضد SRBC، آنها با آزمایش هم‌آگلوتیناسیون (HA) مورد سنجش قرار گرفت. برای این کار، رت‌های این دو گروه در روز ۱۳ بیهوش شدند، مقدار ۲-۳ میلی‌لیتر خون از قلب آنها جمع‌آوری شد. سرم خون‌ها، جدا و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شد. جهت سنجش عیار پادتن ضد SRBC، ابتدا کمپلمان سرم با قرار دادن نیم ساعته سرم‌ها در دمای ۵۶ درجه سانتی‌گراد غیرفعال شد. سرم‌ها در میکروپلیت با بافر فسفات از ۱:۲ تا ۱:۱۰۲۴ رقیق شدند. در هر حفره به ۵۰ میکرولیتر سرم رقیق شده، ۵۰ میکرولیتر نیز سوسپانسیون گلبول قرمز نیم درصد گوسفند اضافه شد. پلیت ۵ دقیقه بر روی شیکر قرار گرفت و سپس ۶۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه قرارداد شد. عکس رقت آخرین حفره‌ای که باعث جمع شدن حداقل ۵۰ درصد گلبول‌ها شده بود به عنوان عیار ثبت شد. جهت محاسبه دقیق‌تر، آزمایش فوق با رقت‌های متوالی ۱:۳ و ۱:۵ نیز انجام گرفت. میانگین عیار HA به دست آمده از رقت‌های ۱:۲، ۱:۳ و ۱:۵ محاسبه و عیار دقیق پادتن ضد SRBC به دست آمد.

رت‌های گروه ۳ و ۴ در روز اول با SRBC $1 \times 10^9 / 35$ در حجم ۰/۵ میلی‌لیتر از طریق IP حساس شده و در روز نهم، تعداد SRBC $1 \times 10^7 / 27$ در حجم ۰/۱ میلی‌لیتر به کف پای راست و همزمان ۰/۱ میلی‌لیتر نیز سرم فیزیولوژی به کف پای چپ آنها تزریق شد و التهاب ناشی از آن (افزایش ضخامت پد کف پا) بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت به وسیله کولیس ورنیه



افزایش ضخامت پوست کمتری داشت (جدول شماره ۱)، که آنالیز کوواریانس نشان داد که این اختلاف صرفاً در ۴۸ ساعت بعد از چالش با گلبول قرمز معنی دار ($p < 0/05$) می باشد.

درخصوص تأثیر عصاره جوز هندی بر ایمنی ذاتی نتایج حاصل از رت‌های گروه‌های ۵ و ۶ نشان داد که گروه دریافت‌کننده عصاره جوز هندی (گروه ۵) با میانگین عیار $426/7$ واحد کمپلمان در میلی‌لیتر سرم از گروه شاهد (گروه ۶) با میانگین $373/3$ واحد از نظر ظاهری اختلاف دارند که با توجه به اینکه توزیع مشاهدات نرمال نبود، آزمون **Mann Whitney** نشان داد که اختلافی بین ۲ گروه وجود ندارد ($p > 0/05$).

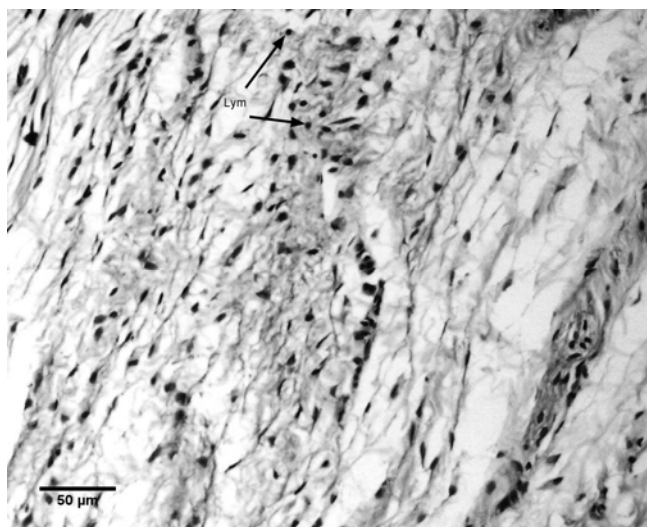
اگر چه سرم‌های گروه دریافت‌کننده عصاره جوز هندی (گروه ۵) از نظر ظاهری باکتری میکروکوک را بیشتر لیز نموده بودند و از گروه شاهد (گروه ۶) با میانگین $152/32$ از نظر ظاهری اختلاف داشتند، آزمون **T** برای دو نمونه مستقل نشان داد که این اختلاف با $p = 0/4$ معنی دار نمی باشد (جدول شماره ۲).

هندی بر پاسخ‌های سلولی، از آزمون **T** برای دو نمونه مستقل برای بررسی اثر عصاره بر میزان لیزوزیم سرم و از آزمون من ویتنی (**Mann Whitney**) برای بررسی اثر عصاره بر مسیر فرعی کمپلمان و نرم‌افزار **SPSS** استفاده شد.

نتایج

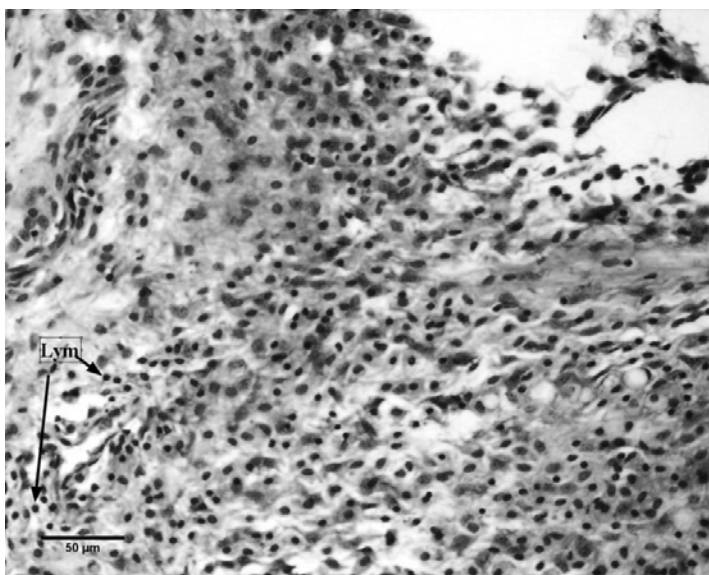
اندازه‌گیری عیار آنتی‌بادی ضد **SRBC** در رت‌های گروه‌های ۱ و ۲ نشان داد که میانگین \pm خطای استاندارد عیار پادتن ضد **SRBC** در دو گروه به ترتیب $16/49 \pm 149/33$ و $16/32 \pm 65/2$ می باشد. آزمون **T** نشان داد که گروه ۱ (دریافت‌کننده عصاره جوز هندی) به طور معنی‌داری عیار ضد **SRBC** بالاتری داشته است ($p = 0/005$).

بررسی میزان نفوذ سلول‌های التهابی محل تزریق زیر جلدی **SRBC** رت‌های گروه‌های ۳ و ۴ نشان داد که گروه دریافت‌کننده عصاره جوز هندی نفوذ سلول‌های التهابی کمتری را نشان داده‌اند (شکل‌های شماره ۱ و ۲) که آنالیز واریانس با اندازه‌گیری تکراری نشان داد این اختلاف معنی‌دار است ($p < 0/001$). همچنین، گروه دریافت‌کننده عصاره جوز هندی



شکل شماره ۱- مقطعی از کف پای راست رت دریافت‌کننده عصاره جوز هندی چالش شده با **SRBC** به روش زیر جلدی، در لابلای عناصر تشکیل‌دهنده بافت پیوندی، تعداد اندکی سلول‌های التهابی تک هسته‌ای در محل تزریق مشاهده می شود (رنگ آمیزی **H & E**)





شکل شماره ۲- مقطعی از کف پای راست رت دریافت کننده PBS چالش شده با SRBC به روش زیر جلدی. التهاب غیرچرکی همراه با نفوذ قابل توجه سلول‌های التهابی تک‌هسته‌ای خصوصاً لنفوسیت‌ها در محل تزریق مشاهده می‌شود (رنگ آمیزی H & E)

جدول شماره ۱- تعداد سلول‌های التهابی و ضخامت پوست ناشی از تزریق زیر جلدی SRBC در رت‌های ایمن شده با این گلبول متعاقب دریافت عصاره جوز هندی (۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۱۲ روز) و گروه شاهد (دریافت کننده PBS به جای عصاره جوز هندی)

| گروه آزمایش | میانگین | تعداد سلول‌های التهابی | ضخامت پوست در زمان‌های مختلف (میلی‌متر) | | |
|----------------|------------------|------------------------|---|---------|---------|
| | | | ۲۴ ساعت | ۴۸ ساعت | ۷۲ ساعت |
| گروه ۳ (تیمار) | میانگین پای راست | ۲۷/۱۷ | ۴/۹۸ | ۴/۹۲ | ۴/۸۶ |
| | میانگین پای چپ | ۹ | ۴/۸۸ | ۴/۸۸ | ۴/۸۵ |
| گروه ۴ (شاهد) | میانگین پای راست | ۱۹۹/۳ | ۴/۸۷ | ۴/۹ | ۴/۷۴ |
| | میانگین پای چپ | ۱۲/۶۷ | ۴/۷ | ۴/۴ | ۴/۶ |

جدول شماره ۲- میزان لیزوزیم و کمپلمان سرم رت‌های دریافت کننده عصاره جوز هندی (۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۱۲ روز) و رت‌های شاهد دریافت کننده PBS به جای عصاره جوز هندی) یک روز پس از قطع دریافت عصاره یا PBS

| گروه آزمایش | میانگین و خطای استاندارد | |
|----------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | کمپلمان (واحد در میلی‌لیتر) | لیزوزیم (واحد در میلی‌لیتر) |
| گروه ۵ (تیمار) | $426/7 \pm 67/5$ | $128/06 \pm 21/24$ |
| گروه ۶ (شاهد) | $373/3 \pm 53/3$ | $152/32 \pm 16/09$ |



بحث

Macelignan بر روی سایتوکاین‌های مربوط به TH_2 (اینترلوکین ۴) اثر مهاری داشته اما روی سایتوکاین‌های ناشی از TH_1 (اینترفرون گاما) تأثیر مهاری نداشته است [۱۲]. با استناد به مطالعه‌های بالا می‌توان نتیجه‌گیری نمود که جوز هندی باید بر روی پاسخ هومورال مربوط به آنتی‌ژن‌های وابسته به تیموس اثر مهاری نداشته باشد. از طرف دیگر درخصوص پاسخ هومورال به آنتی‌ژن‌های غیروابسته به تیموس نیز اثر کمکی TH موردنیاز نمی‌باشد، بنابراین پاسخ هومورال نباید تحت تأثیر قرار گیرد. از آنجا که در مطالعه حاضر از گلوبول قرمز گوسفند که مجموعه‌ای از آنتی‌ژن‌های وابسته به تیموس (پروتئینی) و غیر وابسته به تیموس (غیر پروتئینی) می‌باشد، استفاده شد، شاید عدم اثر مهاری جوز هندی بر تولید آنتی SRBC مربوط به این مهم باشد که از یک آنتی‌ژن پروتئینی صرف استفاده نشده است.

مولر (Mueller) و همکارانش در سال ۲۰۱۰ با بررسی اثر ضدالتهابی چندین عصاره گیاهی از جمله جوز هندی نشان داده‌اند که جوز هندی باعث کاهش قابل توجه ترشح سایتوکاین‌های فاکتور نکروز توموری آلفا، اینترلوکین ۶ و اینترلوکین ۱۰ از ماکروفاژهای تحریک شده با LPS می‌شود [۱۴] که با استناد به تحقیق یاد شده می‌توان نتیجه‌گیری کرد که شاید در مطالعه حاضر عصاره جوز هندی با کاهش اینترلوکین ۱۰ اثر تقویت‌کنندگی بر پاسخ‌های ایمنی هومورال گذاشته باشد.

جین (Jin) و همکارانش در سال ۲۰۰۵ به بررسی اثر ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی Macelignan بر رده سلولی هیپوکامپی موش و سلول‌های میکروگلیایی رت پرداخته و به این نتیجه رسیده‌اند که این ترکیب اثر سرکوب‌کنندگی قابل توجه بر تولید فاکتور نکروز توموری آلفا و اینترلوکین ۶ در سلول‌های یادشده متعاقب تحریک با LPS دارد [۳۰].

اینترلوکین ۵ سایتوکاینی است که برای تولید آنتی‌بادی ضروری می‌باشد و چون در هیچ مطالعه‌ای تأثیر مهاری جوز هندی بر تولید اینترلوکین ۵ اثبات نشده است، می‌توان انتظار داشت که جوز هندی بر تولید آنتی‌بادی تأثیر مهاری نداشته باشد. از دیگر سایتوکاین‌های مهم در تولید آنتی‌بادی،

جوز هندی که در جنوب شرقی آسیا به عنوان چاشنی و ادویه مورد استفاده قرار می‌گیرد، دارای طیف وسیعی از اثرات دارویی از جمله خاصیت ضدالتهابی است [۴]. با توجه به اینکه التهاب پیش‌زمینه ایمنی اختصاصی است، انتظار می‌رفت که جوز هندی خاصیت تضعیف‌کنندگی ایمنی نیز داشته باشد که این مهم در مطالعه حاضر مورد تحقیق قرار گرفت. بر خلاف آنچه که تصور می‌شد عصاره جوز هندی نه تنها بر روی پاسخ هومورال (تولید آنتی SRBC در پاسخ به حساس‌سازی به SRBC) تأثیر مهاری نداشت بلکه بررسی‌های آماری نشان داد که موش‌های دریافت‌کننده عصاره جوز هندی (موش‌های گروه ۱) در مقایسه با موش‌های شاهد (دریافت‌کننده PBS به جای عصاره جوز هندی) پاسخ قوی‌تری به آنتی‌ژن مورد استفاده (SRBC) نشان داده‌اند. این یافته با مطالعه باهاراتان و همکاران در سال ۲۰۱۳ [۲۶] هم‌خوانی دارد. بررسی‌ها نشان داد تاکنون تنها در یک مطالعه [۲۷] تأثیر جوز هندی بر پاسخ هومورال مورد توجه قرار گرفته است و برخی از محققین نیز به نتایجی رسیده‌اند که آن نتایج تا حدودی تأییدکننده نتایج حاصل از مطالعه حاضر بر روی تأثیر جوز هندی بر پاسخ هومورال می‌باشند.

کانگ (Kang) و همکارانش در سال ۲۰۱۲ در مطالعه‌ای به بررسی اثر Malabaricone C (از مشتقات جوز هندی) بر روی ماکروفاژهای موشی مواجه شده با لیپوپلی‌ساکارید باکتری پرداخته و به این نتیجه رسیده‌اند که این ماده، تولید اکسید نیتریک، پروستاگلاندین E_2 ، اینترلوکین ۶ و اینترفرون گاما توسط ماکروفاژ را کاهش داده و این کاهش وابسته به دوز Malabaricone C می‌باشد و نتیجه‌گیری نموده‌اند که احتمالاً اثرات ضدالتهابی این ماده ناشی از مکانیسم‌های فوق می‌باشد [۱۳].

شین (Shin) و همکاران در سال ۲۰۱۳ نیز به بررسی تأثیر Macelignan (از مشتقات جوز هندی) بر روی التهاب ریوی ناشی از آلرژی در موش پرداخته و نتیجه‌گیری کرده‌اند که این ماده اثرات ضدالتهابی بر روی آلرژی‌های با واسطه TH_2 داشته و ممکن است بتوان از آن در درمان یا پیشگیری از آسم (آلرژی) استفاده نمود. جالب اینکه در مطالعه ایشان همین



تراوش سلول‌های التهابی نیز مطالعات متعددی [۳۰، ۲۵، ۱۴، ۱۳، ۱۲، ۴] تأییدکننده یافته مطالعه حاضر می‌باشند. مولر و همکاران در سال ۲۰۱۰، گزارش کرده‌اند که عصاره جوز هندی با مهار تولید سایتوکاین‌های پیش‌التهابی (اینترلوکین ۶ و فاکتور نکروز توموری آلفا) و آنزیم‌های نیتریک اکساید سنتتاز و سیکلوآکسیژناز اثر ضدالتهابی دارد [۱۴].

در مطالعه حاضر مشاهده شد که عصاره جوز هندی تأثیر معنی‌داری بر میزان لیزوزیم و فعالیت مسیر فرعی کمپلمان ندارد که باز در این خصوص مطالعه گزارش شده‌ای یافت نشد اما با توجه به اینکه مطالعه گزارش شده‌ای در خصوص تأثیر مثبت یا منفی جوز هندی یا مشتقات آن بر پروتئین‌سازی مشاهده نشد، به نظر می‌رسد نتایج این قسمت از مطالعه نیز قابل انتظار باشد که البته لازم است در مطالعه‌های تکمیلی صحت آن مورد تأیید قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

در مجموع می‌توان نتیجه‌گیری نمود که عصاره جوز هندی بر پاسخ ایمنی هومورال رت به SRBC اثر تحریکی و بر پاسخ ایمنی سلولی این حیوان به گلبول فوق اثر سرکوب‌کنندگی دارد، اما بر شاخص‌های مورد ارزیابی قرار گرفته از ایمنی غیر اختصاصی (میزان لیزوزیم و فعالیت مسیر فرعی کمپلمان سرم) تأثیر معنی‌داری ندارد و بنابراین احتمالاً می‌توان از جوز هندی برای تضعیف پاسخ ایمنی سلولی در بیماری‌های خود ایمن با واسطه ایمنی سلولی بهره جست.

تشکر و قدردانی

نویسندگان وظیفه می‌دانند از دانشگاه شهید چمران اهواز به سبب تأمین هزینه این تحقیق تشکر نمایند.

اینترفرون گاما است که در برخی مطالعات [۱۲] عدم تأثیر Macelignan (مشتقی از جوز هندی) بر تولید این سایتوکاین و در برخی مطالعه‌ها [۱۳] اثر مهاري Malabaricone C بر این سایتوکاین گزارش شده است.

در مطالعه حاضر برخلاف بررسی باهاراتان و همکاران در سال ۲۰۱۳ [۲۶] مشاهده شد که عصاره جوز هندی اثر مهاري قابل توجهی بر پاسخ ایمنی سلولی (ازدیاد حساسیت جلدی تأخیری و نفوذ سلول‌های التهابی) موش می‌گذارد. در چندین مطالعه مختلف که در ادامه به آنها اشاره شده، تأثیر جوز هندی یا مشتقات آن بر سایتوکاین‌های مؤثر در ایمنی سلولی بررسی شده است که با استناد به آن مطالعه‌ها می‌توان نتایج به دست آمده از این بخش از مطالعه را توجیه نمود.

از جمله سایتوکاین‌های کلیدی در پاسخ سلولی اینترفرون گاما است که چنانچه قبلاً اشاره شد در برخی مطالعات به تأثیر مهاري و در برخی مطالعه‌ها به اثر تحریکی جوز هندی یا مشتقات آن بر تولید این سایتوکاین اشاره شده است. با توجه به اینکه اینترفرون گاما سایتوکاینی است که به طور عمده توسط TH₁ تولید و ترشح می‌شود و از آنجا که آنتی‌ژن‌های تحریک کننده ایمنی سلولی به طور عمده ساختاری پروتئینی داشته و جهت پاسخ ایمنی نیاز به کمک TH دارند، هر گونه عاملی که کاهش سایتوکاین‌های مربوط به TH را ایجاد نماید، ممکن است بر پاسخ ایمنی سلولی اثر مهاري داشته باشد. با توجه به اینکه در مطالعه‌های متعدد [۳۰، ۱۹، ۱۸، ۱۴، ۱۲، ۱۱، ۱۰، ۹] تأثیر مهاري جوز هندی یا فرآورده‌های آن بر سایتوکاین‌های مشتق از TH₁ و TH₂ به اثبات رسیده است ممکن است بتوان نتایج حاصل از این بخش از مطالعه را بدین نحو توجیه نمود که عصاره جوز هندی با تأثیر مهاري بر سلول‌های TH اثر تضعیف‌کنندگی بر ازدیاد حساسیت جلدی تأخیری گذاشته است. درخصوص تأثیر مهاري جوز هندی بر

منابع

1. Abbas AK and Lichtman AH. Basic Immunology: Functions and Disorders of the

Immune System, 3rd ed. Sanders. China. 2011, pp: 1 - 22.



2. Leiter E, Hitchcock G, Godwin S, Johnson M, Sedgwick W, Jones W, McCall S and Ceremuga TA. Evaluation of the anxiolytic properties of Myristicin, a component of nutmeg, in the male Sprague-Dawley rat. *AANA J.* 2011; 79: 109 - 14.
3. Wahab A, Haq RU, Ahmed A, Khan RA and Raza M. Anticonvulsant activities of nutmeg oil of *Myristica fragrans*. *Phytother. Res.* 2008; 23: 153 - 8.
4. Olajide OA, Ajayi FF, Ekhelar AI, Awe SO, Makinde JM and Alada ARA. Biological effects of *Myristica fragrans* (nutmeg) extract. *Phytother. Res.* 1999; 13: 344 - 5.
5. Piaru SP, Mahmud R, Abdul Majid AMS and Nassar ZDM. Antioxidant and antiangiogenic activities of the essential oils of *Myristica fragrans* and *Morinda citrifolia*. *Asian Pac. J. Trop. Med.* 2012; 5: 294 - 8.
6. Pooja V, Goyal SH, Sandashwani AB and Srivastava AK. Activity of *Myristica fragrans* and its effect against filamentous and non- filamentous fungus. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* 2012; 4: 17 - 20.
7. Sonavane GS, Sarveiya VP, Kasture VS and Kasture SB. Anxiogenic activity of *Myristica fragrans* seeds. *Pharmacol. Biochem. Beh.* 2002; 71: 247 - 52.
8. Shamra M and Kumar M. Radioprotection of Swiss albino mice by *Myristica fragrans* Houtt. *J. Radiat. Res.* 2007; 48: 135 - 41.
9. Cao GU, Yang XW, Xu W and Li F. New inhibitors of nitric oxide production from the seeds of *Myristica fragrans*. *Food Chem. Toxicol.* 2013; 62: 167 - 71.
10. Chatterjee S, Niaz Z, Gautam S, Adhikari S, Variyar PS and Sharma A. Antioxidant activity of some phenolic constituents from green pepper (*Piper nigrum* L.) and fresh nutmeg mace (*Myristica fragrans*). *Food Chem.* 2007; 101: 515 - 23.
11. Jungbauer A and Medjakovic S. Anti-inflammatory properties of culinary herbs and spices that ameliorate the effects of metabolic syndrome. *Maturitas.* 2012; 71: 227 - 39.
12. Shin K, Chung HC, Kim DU, Hwang JK and Lee SH. Macelignan attenuated allergic lung inflammation and airway hyper-responsiveness in murine experimental asthma. *Life Sci.* 2013; 92: 1093 - 99.
13. Kang J, Tae N, Min BS, Choe J and Lee JH. Malabaricone C suppresses lipopolysaccharide-induced inflammatory responses via inhibiting ROS-mediated Akt/IKK/NF- κ B signaling in murine macrophages. *Int. Immunopharmacol.* 2012; 14: 302 - 10.
14. Mueller M, Hobiger S and Jungbauer A. Anti-inflammatory activity of extracts from fruits, herbs and spices. *Food Chem.* 2010; 122: 987 - 96.
15. Gupta AD, Bansal VK, Babu V and Maithil N. Chemistry, antioxidant and antimicrobial potential of nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt). *J. Genet. Eng. Biotechnol.* 2013; 11: 25 - 31.
16. Calliste CA, Kozłowski D, Duroux JL, Champavier Y, Chulia AJ and Trouillas P. A new antioxidant from wild nutmeg. *Food Chem.* 2010; 118: 489 - 96.
17. Hou JP, Wu H, Wang Y and Weng XC. Isolation of some compounds from nutmeg and their antioxidant activities. *Czech J. Food Sci.* 2012; 30: 164 - 70.
18. Shamra M and Kumar M. Radioprotection of swiss albino mice by *Myristica fragrans* Houtt. *J. Radiat. Res.* 2007; 48: 135 - 41.
19. Nguyen PH, Le TVT, Kang HW, Chae J, Kim SK, Kwon KI, Seo DB, Lee SJ and Oh WK. AMP-activated protein kinase (AMPK) activators from *Myristica fragrans* (nutmeg) and their anti-obesity effect. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2010; 20: 4128 - 31.
20. Pal M, Srivastava M, Soni DK, Kumar A and Tewari SK. Composition and anti-microbial activity of essential oil of *Myristica fragrans* from Andaman Nicobar Island. *Int. J. Pharm. Life Sci.* 2011; 2: 1115 - 17.



21. Al-Rawi SS, Ibrahim AH, Ab Rahman NNN, Ben Namac MM, Abdul Majid AMS and Ab Kadir MO. The effect of supercritical fluid extraction parameters on the nutmeg oil extraction and its cytotoxic and antiangiogenic properties. *Procedia Food Sci.* 2011; 1: 1946 - 52.
22. Chung JY, Choo JH, Lee MH and Hwang Jk. Anticariogenic activity of macelignan isolated from *Myristica fragrans* (nutmeg) against *Streptococcus mutans*. *Phytomedicine.* 2006; 13: 261 - 6.
23. Pillai S, Mahmud R, Lee WC and Perumal SH. Anti-parasitic activity of *Myristica fragrans* Houtt essential oil against *Toxoplasma gondii* parasite. *APCBEE Procedia.* 2012; 2: 92 - 6.
24. Adams M, Berset C, Kessler M and Hamburger M. Medicinal herbs for the treatment of rheumatic disorders, A survey of European herbals from the 16th and 17th century. *J. Ethnopharmacol.* 2009; 121: 343 - 59.
25. Najafzadeh H, Esmailzadeh S, Ghorbanpoor M, Farajzadeh A and Asadirad A. Comparing the effect of *Myristica fragrans* and flunixin on adjuvant-induced arthritis in rat. *Zahedan J. Res. Med. Sci.* 2014; 16: 33 - 6.
26. Bharathan D, Bhat BP, Prajna PS, Jayadev K and Basava K. Immunomodulatory effect of seed extracts of *Myristica fragrans* Houtt on Albino rats. *Agric. Sci. Res. J.* 2013; 3: 324 - 32.
27. Checker R, Chatterjee S, Sharma D, Gupta S, Variyar P, Sharma A and Poduval TB. Immunomodulatory and radioprotective effects of lignans derived from fresh nutmeg mace (*Myristica fragrans*) in mammalian splenocytes. *Int. Immunopharmacol.* 2008; 8: 661 - 9.
28. Anand P, Rajkumar D, Felix AJW and Balasubramanian T. Effect of oral administration of antioxidant taurine on haematological parameters in Wistar rats. *Pak. J. Biol. Sci.* 2010; 13: 785 - 93.
29. Demey F, Pandey VS, Baelmans R, Agbede_G and Verhulst A. The effect of storage at low temperature on the haemolytic complement activity of chicken serum. *Vet. Res. Commun.* 1993; 17: 37 - 40.
30. Jin DQ, Lim CS, Hwang JK, Ha I and Han JS. Anti-oxidant and anti-inflammatory activities of macelignan in murine hippocampal cell line and primary culture of rat microglial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2005; 331: 1264 - 69.

