اثرات آنتی‌اکسیدانی و تعدیل‌کنندگی ایمنی عصاره برگ زیتون بر میزان سرمی سایتوکاین‌های مرتبط با سلول‌های Th17

زینب شاکرمی[1]، نوروز دلیرژ[2]، علی شیخیان[3]، کبری چهاری[4]، مسعود علیرضایی*[5]

۱- کارشناس مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران.

۲- استادیار بخش ایمنی‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

۳- استادیار بخش ایمنی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران.

۴- کارشناس دانشکده دامپزشکی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران.

۵- دانشیار بخش بیوشیمی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران.

یافته / دوره هفدهم / شماره ۳ / پاییز ۹۴ / مسلسل ۶۵

چکیده

دریافت مقاله: ۹۴/۶/۲۹ پذیرش مقاله: ۹۴/۸/۳۰

مقدمه: زیتون دارای اثر محافظتی اثبات شده در برابر بیماری‌های التهابی مزمن است؛ اما هنوز مشخص نیست که این خصوصیت زیتون ناشی از اثر آنتی‌اکسیدانی یا توانایی آن در تعدیل سیستم ایمنی است. هدف از این مطالعه، بررسی توانایی عصاره برگ زیتون بر سطح سرمی تعدادی از سایتوکاین‌های مرتبط با سلول‌های **Th17** (به عنوان میانجی‌های مهم التهابی) و نیز اثر آنتی اکسیدانی آن بر برخی از متغیرهای مربوطه در مغز موش صحرایی بود.

مواد و روش‌ها: تعداد ۴۰ رأس موش صحرایی نر به پنج گروه مساوی تقسیم شدند. به گروه اول شبه دارو، به گروه دوم ویتامین **C** با دوز **mg/kg** ۱۰ و به سایر گروه‌ها عصاره برگ زیتون حاوی اولئوروپئین با دوزهای ۵، ۱۰ و ۱۵ (**mg/kg**) به مدت ده روز به صورت دهانی به وسیله گاواژ تجویز شد. در پایان دوره، خونگیری از قلب حیوانات انجام شد و میزان اینترلوکین‌های ۱۷، ۲۳ و **TGFβ** در سرم آن‌ها به روش الایزا اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز (**GPX**)، سوپراکسید دیسموتاز (**SOD**)، کاتالاز (**CAT**) و غلظت مواد واکنش دهنده با اسید تیوباربیتوریک (به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپید یا **TBARS**) در نیم‌کره راست مغز ارزیابی شد.

یافته‌ها: میزان **TBARS** در گروه کنترل نسبت به گروه‌های دیگر افزایش معنی‌داری را نشان داد ($P<0/05$). فعالیت آنزیم‌های **GPX** و **SOD** در گروهی که اولئوروپئین با دوز **mg/kg** ۱۵ به آن‌ها تجویز شده بود نسبت به گروه کنترل و آن‌هایی که اولئوروپئین را با دوز کمتر دریافت کرده بودند افزایش آماری معنی‌داری را نشان داد ($P<0/05$). اگرچه در میزان **IL-17** و **IL-23** تفاوت آماری معنی‌داری بین گروه‌ها وجود نداشت، ولی **TGFβ** در گروه‌هایی که دوزهای مختلف اولئوروپئین را دریافت کرده بودند نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P<0/05$).

بحث و نتیجه‌گیری: عصاره برگ زیتون حاوی اولئوروپئین، دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی معنی‌داری بر شاخص‌های اکسیداتیو در مغز موش صحرایی بود، ولی اثر قابل توجهی بر میزان سایتوکاین‌های مرتبط با سلول‌های **Th17** (بجز **TGFβ**) نداشت؛ بنابراین اثر محافظتی آن در برابر بیماری‌های التهابی احتمالاً ناشی از خواص آنتی‌اکسیدانی آن است نه تعدیل سایتوکاین‌های مرتبط با سلول‌های **Th17**.

واژه‌های کلیدی: زیتون، اولئوروپئین، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، **Th17**.

*آدرس مکاتبه نویسنده مسئول: خرم آباد، دانشگاه لرستان، دانشکده دامپزشکی، بخش بیوشیمی.

پست الکترونیک: alirezaei_m54@yahoo.com

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-01]

مقدمه

اخیراً نشان داده شده است که استرس اکسیداتیو در مغز با بیماری‌های نورودژنراتیو مرتبط است (۱). از طرف دیگر مطالعات قبلی نشان داده‌اند که میوه و روغن زیتون و ترکیبات فعالی که در قسمت‌های مختلفی از این درخت وجود دارند، می‌توانند باعث تعدیل سیستم ایمنی و کاهش حدت بیماری‌هایی شوند که سیستم ایمنی نقش مهمی در بروز آنها دارد. از جمله این بیماری‌ها می‌توان به بیماری‌های نورودژنراتیو مزمن و بیماری‌های خودایمن اشاره کرد (۲،۳). مکانیسم‌های ایمونوپاتولوژیک متفاوتی در بروز بیماری‌های خودایمن نقش دارند (۴). این مکانیسم‌ها وابسته به وجود سلول‌های اجرایی متفاوتی هستند. بسیاری از بیماری‌های خودایمن در انسان توسط سیستم ایمنی سلولی اکتسابی ایجاد می‌شوند (۵). سلول اصلی هدایت کننده این پاسخ‌ها، سلول CD4+T است. پاسخ ایمنی اکتسابی به واسطه سلول‌های CD4+T به شدت ناهمگون است که علت آن وجود زیر مجموعه‌هایی از این سلول‌هاست که الگوهای سایتوکاینی متفاوتی را تولید می‌کنند. ابتدا در انسان و موش دو نوع سلول اجرایی Th1 و Th2 شناسایی شد (۶).

اخیراً دسته سومی از این سلول‌ها در موش و انسان کشف شده است که بر اساس تولید IL-17 و IL-22، Th17 نامگذاری شده‌اند (۷). سایتوکاین IL-6 به همراه TGFβ به عنوان القا کننده سلول Th17 و RORγt شناخته شده‌اند. همچنین IL-1β نقش مهمی در مراحل اولیه تمایز Th17 دارد (۷). سایتوکاین IL-23 برای تمایز سلول‌های پیشساز به Th17 ضرورت ندارد، اما نقش مهمی در تقویت یا پایدارسازی Th17 دارد (۶). مشخصه اصلی این سلول‌ها، تولید سایتوکاینی به نام IL-17 است. سایتوکاین IL-17 مهم‌ترین سایتوکاین پیش التهابی تولید شده توسط Th17 است که باعث القا سایتوکاین‌های پیش‌التهابی مختلفی می‌شود؛ بنابراین، IL-17 نقش مهمی در پاسخ‌های التهابی ایفا می‌کند (۸). این سلول‌ها نقش مهمی در دفاع علیه میکروارگانیسم‌ها و بیماری‌های التهابی دارند از جمله این بیماری‌ها می‌توان به انسفالیت خودایمن تجربی و آرتریت القاء شده توسط کلاژن اشاره کرد که هر دو مورد از مدل‌های بارز بیماری‌های انسانی در مدل حیوانی موش صحرایی هستند (۹). اینترلوکین ۲۳ عضو خانواده IL-12 است و همانند IL-12، عملکرد IL-23 ایجاد پل ارتباطی بین ایمنی ذاتی و اکتسابی است (۱۰). عملکرد اصلی آن تحریک سلول‌های دندریتی برای عرضه آنتی‌ژن و تقویت و پایدارسازی سلول‌های Th17 و القاء مستقیم ترشح IL-17 و IL-22 از سلول‌های مختلف است (۱۱). اینترلوکین ۲۳ نقش انکارناپذیری در ایمونوپاتولوژی به واسطه Th17 دارد. کشف IL-23 و ویژگی‌های زیستی آن منجر به بینش‌های جدید در ایمنی‌شناسی و راهکارهای درمانی جدید بر پایه خنثی‌سازی IL-23 و IL-17 برای درمان پسوریاز، مولتیپل اسکلروز، آرتریت روماتوئید و اسپوندیلیت انکیلوزان گردیده است (۱۲).

برگ زیتون حاوی ترکیبات فنلی، ترپنی و ترکیبات محلول در چربی، کربوهیدرات‌ها، پروتئین، مواد معدنی و غیره است. برگ‌های زیتون بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و قدرت گیرندگی رادیکال‌های آزاد را در بین بخش‌های مختلف درخت زیتون دارند. مشخص شده است که میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن تقریباً دو برابر چای سبز و چهار برابر ویتامین C است. اولئوروپئین مهم‌ترین ترکیب فنلی برگ زیتون است. یکی از ترکیبات مهم حاصل از هیدرولیز اولئوروپئین، هیدروکسی تیروزول است که ظرفیت جذب رادیکال اکسیژن در آن ده برابر چای سبز است و یک ماده با ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی قوی است. این ترکیب به ندرت در طبیعت به صورت آزاد یافت می‌شود (۲).

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-01]

مهم‌ترین ترکیبات فنلی زیتون، اولئوروپئین است که دارای خواص فارماکولوژیک متعددی است. تاکنون دیده شده است که این ترکیب دارای خاصیت آنتی‌آکسیدانی، ضد التهابی، آنتی‌آتروژنیک، ضد میکروبی و ضد ویروسی است (۲،۱۳،۱۴)؛ بنابراین با توجه به نقش استرس اکسیداتیو در بیماری‌های نورودژنراتیو (۱) و همچنین اثرات آنتی‌اکسیدانی اثبات شده اولئوروپئین در بافت‌های متفاوت موش‌های صحرایی (۲،۱۴،۱۵)، تصمیم گرفته شد اثرات عصاره برگ زیتون به همراه یک آنتی‌اکسیدان شناخته شده (ویتامین C) بر تولید اینترلوکین ۱۷، ۲۳ و TGFβ در سرم همراه با خواص آنتی‌اکسیدانی آن به‌وسیله ارزیابی فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز (GPX)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و میزان مواد واکنش دهنده با اسید تیوباربیتوریک (TBARS، به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپید) در نیمکره راست مغز موش‌های صحرایی نر مورد مطالعه قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

عصاره‌گیری و تعیین درصد خلوص اولئوروپئین

اولئوروپئین استفاده شده در این مطالعه از برگ‌های زیتون (Olea europaea) باغ تیپ ۵۷ حضرت ابوالفضل (ع) خرم‌آباد خالص گردید. به طور خلاصه برگ‌های خشک شده زیتون پودر شده و به وسیله چرخش مکانیکی به مدت ۱۲ ساعت با استون عصاره‌گیری شد. آن‌گاه عصاره تبخیر شد و پس از حذف حلال، باقیمانده آن با مخلوط دی کلرو متان-متانول به نسبت ۲ به ۹۸ شسته شد و مواد غیرقابل حل جدا و خشک گردید. برای جداسازی و اندازه‌گیری کمی اولئوروپئین در نمونه استخراجی از کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) استفاده گردید (۲). مخلوطی از آب مقطر و اسید ارتوفسفریک pH=۲/۹ و استونیتریل با نسبت ۷۰ به ۳۰ (حجمی به حجمی) و میزان جریان ۱/۲ میلی‌لیتر در دقیقه به عنوان فاز متحرک استفاده گردید. دمای ستون با آون در سی درجه سانتیگراد ثابت نگه داشته شد و در طول موج ۲۵۴ نانومتر با حجم قابل تزریق بیست میکرولیتر، میزان اولئوروپئین در عصاره ۲۵ درصد تعیین گردید. اولئوروپئین موجود در عصاره در مقابل استاندارد اولئوروپئین با زمان احتباس یکسان به دست آمد.

حیوانات

چهل سر موش صحرایی نر بالغ با وزن ۲۲۰ تا ۲۵۰ گرم از مرکز حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی اهواز تهیه و به خانه حیوانات دانشگاه لرستان انتقال داده شد. محل نگهداری این حیوانات از شرایط استاندارد دما (۲۱-۲۴ درجه سانتی‌گراد) و تهویه برخوردار بوده و دوره تاریکی/روشنایی نیز شامل ۱۲/۱۲ ساعت بود. این مطالعه بر اساس آیین‌نامه نحوه استفاده از حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی لرستان به اجرا درآمد. حیوانات به طور تصادفی در پنج گروه هشت تایی به صورت زیر تقسیم بندی شدند:

۱-گروه کنترل (یک میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی)، ۲-گروه ویتامین C، با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، ۳-گروه اولئوروپئین با دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، ۴-گروه اولئوروپئین با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، ۵-گروه اولئوروپئین با دوز ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن. همه درمان‌ها به صورت خوراکی به‌مدت ده روز پیوسته با استفاده از گاواژ انجام شد.

دوز اولئوروپئین بر اساس مطالعات علیرضایی و همکاران (۱۵) و دوز ویتامین C بر اساس مطالعه قبلی انتخاب گردید (۱۶). میزان مصرف غذا و وزن‌گیری در روز اول، پنجم و دهم محاسبه گردید. با توجه به وزن به‌دست آمده، میزان اولئوروپئین و ویتامین C محاسبه شد (اندازه‌گیری وزن به

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-01]

خاطر تعیین میزان اولئوروپئین و ویتامین C بوده است و وزن موش‌ها در قسمت نتایج آورده نشده است). در خاتمه آزمایش پس از بیهوشی خفیف با دی‌اتیل‌اتر، خون‌گیری از قلب به‌عمل آمد و سرم هر حیوان در میکروتیوب جداگانه در فریزر منهای ۷۰ درجه سانتیگراد تا زمان انجام آزمایشات نگهداری گردید. همچنین سر حیوانات با استفاده از گیوتین جدا گردید و مغز آنها برای ارزیابی پروتئین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و شاخص پراکسیداسیون لیپید (TBARS) در دمای منهای ۷۰ درجه سانتیگراد نگهداری گردید.

آماده‌سازی بافت، تهیه هموژنیزه و اندازه گیری پروتئین بافت

در زمان انجام آزمایشات نیمکره‌های راست مغز از انجماد خارج گشته و به صورت دستی با بافر فسفات ۰/۱ مولار حاوی ۵ میلی مولار EDTA و pH=۷/۴ بر روی ازت مایع هموژنیزه شدند. با استفاده از سانتریفوژ، ده دقیقه با دور ۲۰۰۰، مواد جامد آن ته‌نشین و محلول بالایی برای آزمایشات بیوشیمیایی جدا گردید (۱). میزان پروتئین در محلول بالایی بافت (سوپرناتانت) با استفاده از روش لوری تعیین گردید (۱۷).

تعیین فعالیت آنزیم گلوتاتیون پر اکسیداز (GPX)

فعالیت آنزیم گلوتاتیون‌پراکسیداز با استفاده از کیت ارزیابی این آنزیم بر اساس دستورالعمل سازنده آن (راندوکس، انگلیس) اندازه گیری شد (۱،۲). ارزیابی فعالیت به‌وسیله اسپکتروفتومتر در مقابل شاهد در طول موج ۳۴۰ نانومتر انجام گرفت. فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز به صورت واحد (میزانی از آنزیم که یک میکرومول از NADH را در واحد زمان تبدیل به +NAD می‌کند) در میلی‌گرم پروتئین بافت (Protein U/mg) بیان گردید.

تعیین فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با استفاده از کیت ارزیابی این آنزیم بر اساس دستورالعمل سازنده‌ی آن (راندوکس، انگلیس) اندازه گیری شد (۱،۲). یک واحد از سوپراکسید دیسموتاز مقداری است که موجب مهار ۵۰ درصد از واکنش احیا ۲-۴-یدوفنیل ۳- ۴ نیتروفنیل تترازولیوم (I.N.T) تحت شرایط آزمایش می‌شود. ارزیابی فعالیت به‌وسیله‌ی اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۰۵ نانومتر انجام گرفت و به صورت واحد در میلی‌گرم پروتئین بافت (U/mg Protein) بیان گردید.

تعیین فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

اندازه‌گیری فعالیت کاتالاز طبق روش کلایبورن صورت گرفت. فعالیت آنزیم به‌صورت واحد در میلی‌گرم پروتئین بافت (U/mg Protein) بیان گردید (۱۸).

اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون لیپید (TBARS)

میزان پراکسیداسیون لیپید در بافت مغز به وسیله‌ی تعیین مقدار مواد واکنش دهنده با اسید تیوباربیتوریک بر اساس روش سوبارو و همکاران اندازه گیری شد (۱۹). به طور خلاصه ۴۰ میکرولیتر از بافت هموژنیزه به ۴۰ میکرولیتر سدیم کلرید ۰/۹ درصد و ۴۰ میکرولیتر آب مقطر دیونیزه استفاده شده و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شد. سپس با استفاده از ۶۰۰ میکرولیتر اسید هیدروکلریک ۰/۸ مولار که حاوی تری‌کلرواستیک اسید ۱۲/۵ درصد است، واکنش متوقف گردید. پس از اضافه نمودن ۷۸۰ میکرولیتر تیوباربیتوریک اسید یک درصد، محلول به مدت بیست دقیقه جوشانده شده و در دمای چهار درجه سانتیگراد سرد گردید. محلول سرد به مدت بیست دقیقه با دور ۱۵۰۰ سانتریفیوژ گردید؛ و میزان جذب نور آن در طول موج ۵۳۲ نانومتر در مقابل شاهد، برای محاسبه مقدار مواد واکنش

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-01]

دهنده به اسید تیوباربیتوریک به کار گرفته شد. این میزان به صورت نانومول در میلی‌گرم پروتئین بافت (nmol/mg protein) بیان گردید.

اندازه‌گیری میزان اینترلوکین ۲۳ در سرم

از کیت الایزا شرکت گلوری ساخت کشور آمریکا که بر اساس Double -antibody Sandwich ELISA با حساسیت اندازه گیری<1.24ng/L برای IL-23 در سرم موش صحرایی طراحی شده است استفاده گردید و مقادیر بر اساس (pg/ml) گزارش شد.

اندازه‌گیری میزان اینترلوکین ۱۷ در سرم

با استفاده از دستورالعمل کیت الایزا IL-17 موش صحرایی شرکت گلوری ساخت کشور آمریکا که بر اساس Double -antibody Sandwich ELISA طراحی شده است، اندازه‌گیری شد و مقادیر بر اساس (pg/ml) گزارش شد.

اندازه‌گیری میزان TGFβ در سرم

از کیت TGFβ موش صحرایی شرکت بوستر آمریکا که بر اساس الایزای ساندویچی استاندارد است، استفاده گردید و مقادیر بر اساس (pg/ml) گزارش شد.

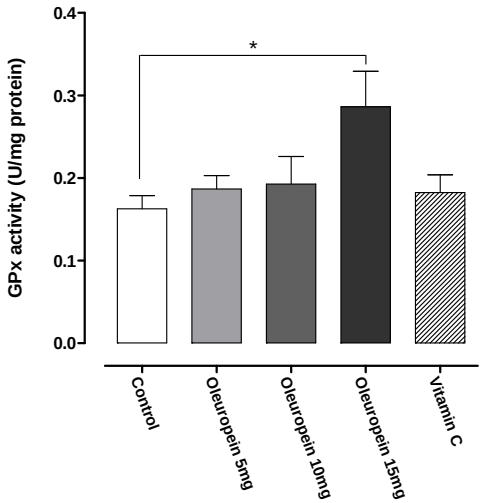
روش آنالیز آماری

داده‌ها به‌صورت انحراف معیار ± میانگین. بیان گردیدند و برای مقایسه داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (One Way ANOVA) در محیط نرم افزاری SPSS (ورژن ۱۹) استفاده شد. به منظور بررسی وجود ارتباط خطی بین میزان اولئوروپئین مصرفی و میزان اینترلوکین ۲۳ از آزمون رگرسیون خطی استفاده گردید و $p<۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

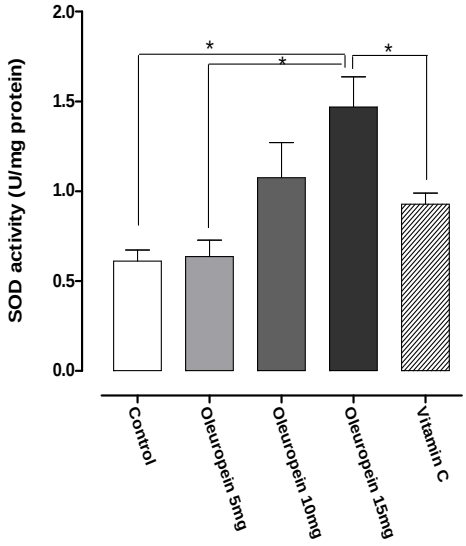
ارزیابی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و سنجش پراکسیداسیون لیپید

فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز تنها برای گروه اولئوروپئین ۱۵ میلی‌گرم نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری را نشان داد (**P <۰/۰۵** ، شکل ۱). درحالی‌که فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز افزایش معنی‌داری را در گروه اولئوروپئین ۱۵ میلی‌گرم نسبت به گروه‌های کنترل، ویتامین C و اولئوروپئین ۵ میلی‌گرم نشان داد (**P <۰/۰۵** ، شکل ۲). فعالیت آنزیم کاتالاز در گروه اولئوروپئین ۱۵ میلی‌گرم نسبت به گروه کنترل و اولئوروپئین ۵ میلی‌گرم افزایش معنی‌داری را نشان داد (**P <۰/۰۵** ، شکل ۳). شاخص پراکسیداسیون لیپید (TBARS) به طور معنی‌داری در گروه‌های درمان شده با اولئوروپئین و ویتامین C نسبت به گروه کنترل کاهش یافت (**P <۰/۰۵** ، شکل ۴).

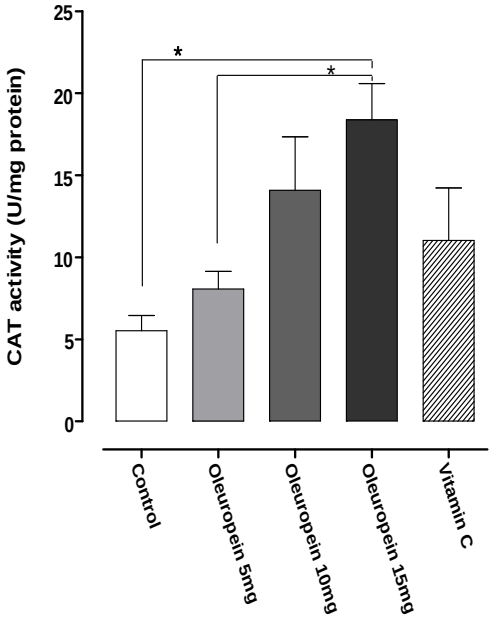


شکل ۱. افزایش فعالیت آنزیم GPX در گروه ۱۵mg/kg نسبت به گروه کنترل اختلاف آماری معنی‌داری را نشان می‌دهد (p=۰/۰۳۴۷).

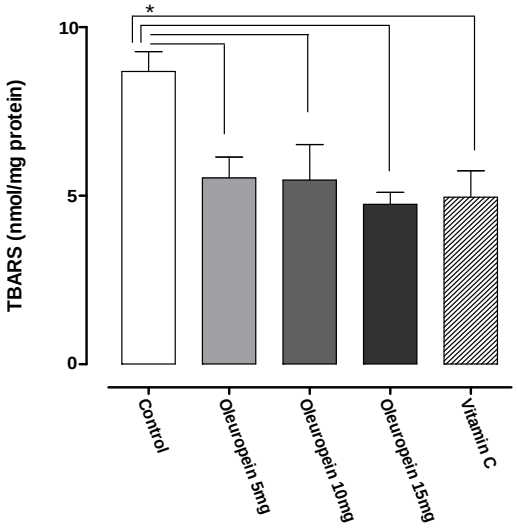
[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-01]



شکل ۲. افزایش فعالیت آنزیمSOD در گروه ۱۵mg/kg نسبت به گروه های ویتامین C، اولئوروپئین ۵mg/kg و کنترل اختلاف آماری معنی‌داری نشان می‌دهد (p=۰/۰۰۰۲).



شکل ۳. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گروه اولئوروپئین ۱۵mg/kg نسبت به گروه کنترل و اولئوروپئین ۵mg/kg اختلاف آماری معنی‌داری را نشان می‌دهد (p=۰/۰۰۶۶).

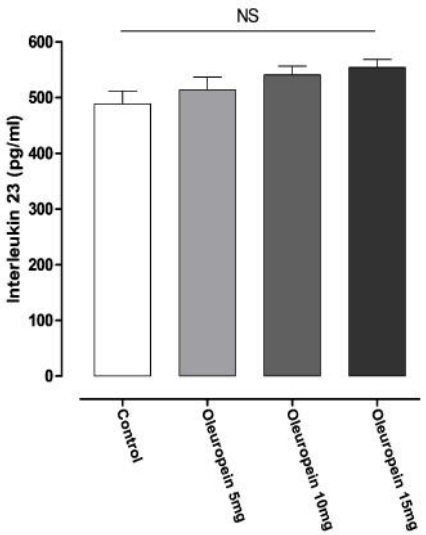


شکل ۴. پراکسیداسیون لیپید (TBARS) به طور واضح در گروه کنترل نسبت به گروه‌های دیگر اختلاف آماری معنی‌داری را نشان می‌دهد(p=۰/۰۰۳۱).

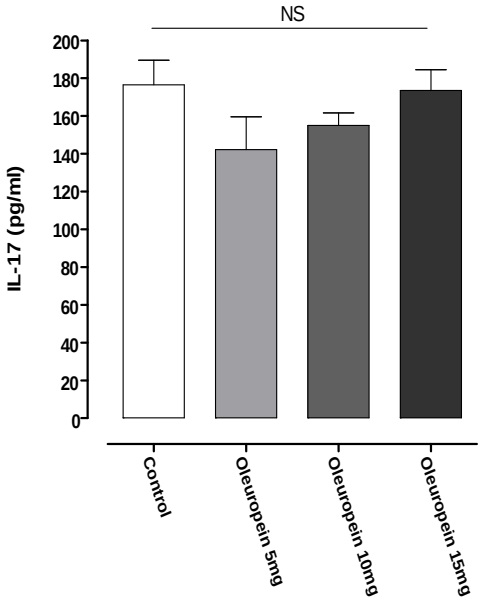
سنجش سایتوکاین‌ها

در این تحقیق مشخص شد میزان IL-23 به ترتیب از گروه کنترل به عصاره ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت خطی و منظم افزایش می‌یابد. اگرچه با افزایش میزان اولئوروپئین مصرفی غلظت اینترلوکین ۲۳ در سرم نیز افزایش یافت، اما تفاوت آماری معنی‌داری بین آنها وجود نداشت (p=۰/۰۷۸، شکل ۵). نتایج آزمون رگرسیون خطی بیانگر ارتباط خطی و مستقیم بین میزان اولئوروپئین مصرفی و میزان اینترلوکین ۲۳ در سرم است (r=۰/۹۸، p=۰/۰۰۵۲). میزان اینترلوکین ۱۷ در گروه‌های کنترل و درمان تفاوت آماری معنی‌داری را نشان ندادند (شکل ۶). در حالی‌که گروه اولئوروپئین ۱۵ میلی‌گرم کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل برای TGFβ نشان داد و میزان آن در گروه اولئوروپئین با دوز ۱۰ میلی‌گرم، افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه اولئوروپئین ۵ میلی‌گرم نشان داد (شکل ۷).

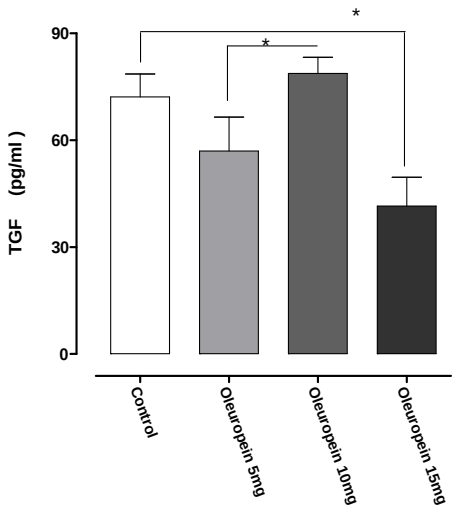
[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-01]



شکل ۵.تغییرات میزان IL-23 در گروه‌های کنترل و درمان. (NS) بیانگر عدم تفاوت آماری معنی‌داری بین گروه‌هاست.اگرچه تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های کنترل و درمان وجود ندارد اما با افزایش غلظت اولئوروپئین مصرفی، میزان اینترلوکین۲۳ در سرم افزایش می‌یابد (p=۰/۰۷۸).



شکل ۶.تغییرات میزان IL-17 در گروه‌های کنترل و درمان. (NS) بیانگر عدم تفاوت آماری معنی‌داری بین گروه‌هاست. گرچه اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها نیست ولی میزان IL-17 در گروه اولئوروپئین با دوز ۱۵ mg/kg افزایش ملایمی نسبت به دوزهای ۱۰mg/kg و ۵ mg/kg داشته است (p=۰/۲۰۸۵).



شکل ۷.تغییرات میزان TGFβ در گروه‌های کنترل و درمان. در گروه اولئوروپئین ۱۰mg/kg نسبت به اولئوروپئین ۵mg/kg و همچنین گروه ۱۵mg/kg نسبت به گروه کنترل تفاوت آماری معنی‌داری را نشان می‌دهد (p=۰/۰۱۱۲).

بحث و نتیجه گیری

برگ زیتون به وفور در طب سنتی همچنین در رژیم غذایی مدیترانه‌ای استفاده می‌شود. در سال‌های اخیر بیشتر تحقیقات بر روی اثر عصاره‌های برگ زیتون در رابطه با پیشگیری از فشار خون، آترواسکلروزیس، سرطان، دیابت و بیماری‌های قلبی-عروقی تمرکز یافته است. برگ زیتون حاوی فنل‌های زیستی است که خواص درمانی دارند. فراوان‌ترین بیوفنل آن اولئووپئین است (۲۰). رژیم غذایی با محتوای بالای پلی‌فنل‌های آنتی‌اکسیدانی با شیوع کم بیماری‌های قلبی-عروقی همراه است. رگزایی التهابی یک فرآیند کلیدی آسیب‌شناسی در سرطان و آترواسکلروز است و به شدت به‌وسیله آنزیم‌های پیش‌التهابی سیکلو اکسیژناز ۲ (COX-2) و آنزیم‌های ماتریکسی متالوپروتئیناز (MMPS) تنظیم می‌شود. پلی‌فنل‌های روغن زیتون و شراب قرمز با ممانعت از COX-2 و MMPS رگ‌زایی التهابی در سلول‌های آندوتلیال را کاهش می‌دهند در نتیجه نقش بالقوه حفاظتی در

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-01]

بیماری‌هایی نظیر آترواسکلروز و سرطان دارند (۲۱). تاکنون مطالعات زیادی در مورد اثرات زیتون و اولئوروپئین مشتق از آن بر سلامت انجام گرفته است؛ اما تأثیر آن بر سیستم ایمنی بخصوص محور IL-23/IL-17 - IL و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن در مغز کمتر مورد بررسی قرار گرفته است، از این رو تصمیم گرفته شد که به بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی و تعدیل‌کنندگی ایمنی عصاره‌برگ زیتون بر نیمکره راست مغز و میزان سرمی برخی از سایتوکاین‌های مرتبط با سلول‌های Th17 پرداخته شود.

نتایج حاصل از این مطالعه به خوبی نشان می‌دهد که بسیاری از ویژگی‌های فارماکولوژیک اولئوروپئین به خاطر عملکرد آنتی‌اکسیدانی آن است. علیرضایی و همکاران در سال۲۰۱۲ به بررسی تأثیر عصاره برگ زیتون (حاوی اولئوروپئین ۹۴٪) بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت بیضه، کبد و معده در مدل حیوانی موش صحرایی پرداختند. نتایج مطالعات آنها نشان داد که اولئوروپئین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان در پیشگیری از استرس اکسیداتیو عمل می‌کند و به دنبال آن باعث افزایش قابلیت زنده‌مانی اسپرم و جلوگیری از تغییرات و صدمات ناشی از اتانول در بافت کبد و معده می‌گردد (۲،۱۴،۱۵). نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ زیتون بر موش‌های درمان شده با اولئوروپئین تأثیر می‌گذارد. به عبارت دیگر آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی (GPX، CAT و SOD)، همچنین شاخص پراکسیداسیون لیپید(TBARS) در موش‌های درمان شده با اولئوروپئین به‌طور معنی‌داری تغییر یافت. بنابراین، یافته‌های ما و آنچه در مطالعات گذشته آمده‌اند اثرات سودمند تغذی‌های برگ زیتون را تأیید می‌کنند (۲۲،۲۳).

تأثیر تعدادی از مواد آنتی‌اکسیدانی از جمله اسید وانیلیک، کامپفرول، اسید سیرینجیک و اولئوروپئین بر تولید سایتوکاین‌های IL-2، IL-4 و IFN-γ توسط سلول‌های موجود در خون کامل انسان در محیط کشت تحت اثر محرک سلول T (ConA) بررسی شده است. در این خصوص دیده شده که فقط کامپفرول می‌تواند باعث کاهش تولید IFN-γ شود و سایر مواد تأثیری بر تولید هیچ کدام از سایتوکاین‌ها نداشته‌اند (۲۴). در این مطالعه اثر ضد التهابی این ماده (به شکل اولئوروپئین گلیکوزید) بر تولید سایتوکاین‌های پیش‌التهابیIL-6، TNF-α و IL-1β توسط سلول‌های خون کامل انسان در محیط کشت بررسی و مشاهده شده که در غلظت ۴-۱۰ مولار اولئوروپئین فقط باعث کاهش تولید IL-1β به میزان ۸۰ درصد می‌شود و تأثیری بر تولید سایر سایتوکاین‌های پیش‌التهابی ذکر شده ندارد (۲۴).

مالتیپل اسکلروز (MS) نوعی التهاب سیستم عصبی مرکزی است که منجر به دمیلینه شدن اعصاب در CNS می‌شود و سیستم ایمنی نقش مهمی در ایجاد آن دارد. به دلیل آن که شیوع MS در افراد با رژیم مدیترانه‌ای نسبتاً کم است، اخیراً تأثیر عصاره برگ زیتون بر مدل حیوانی MS بررسی شده است. در این مطالعه عصاره برگ زیتون به صورت داخل معدی همزمان با القاء بیماری به حیوانات خورانده شده است و تأثیر آن بر سیر بیماری و میزان بیان ژن سایتوکاین‌های IL-17 و IFN-γ بررسی شده و دیده شده است که عصاره مذکور می‌تواند علاوه بر کاهش شدت بیماری باعث ارتشاح سلولی در گره‌های لنفی تخلیه کننده و نیز افزایش بیان ژن سایتوکاین‌های مذکور و تولید این سایتوکاین‌ها توسط سلول‌های ارتشاح یابنده در طناب نخاعی موش‌های بیمار شود (۲۵). در بیماری‌های متابولیک و دیابت اثرات مثبت ترکیبات مشتق از درخت زیتون به طور عمده با

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-01]

کاهش قند خون و ترشح انسولین همراه بوده است. در مطالعه‌ای که در مورد تأثیر عصاره برگ خشک زیتون بر دیابت نوع یک انجام گرفته است، گزارش شده است که افزایش قند خون در موش‌هایی که دیابت نوع یک در آنها القا شده، کاهش یافته است. همچنین میزان سایتوکاین‌های پیش التهابی IL-17، IFN-γ و TNF-α در طحال آنها کاهش یافته است. بنابراین عصاره برگ زیتون از طریق کاهش سایتوکاین‌های پیش التهابی می‌تواند بر دیابت نوع یک که یک بیماری خود ایمن است، مؤثر باشد (۲۶).

اخیراً نیز تأثیر عصاره برگ زیتون بر مدل حیوانی دیابت نوع یک بررسی شده است. این عصاره حاوی ۲۶-۱۸ درصد اولئوروپئین بوده است و تأثیر آن بر برخی از سایتوکاین‌های پیش‌التهابی و ضدالتهابی موجود در مایع رویی کشت سلولی گره‌های لنفاوی صفاقی بررسی شده است. در این مطالعه میزان سایتوکاین‌های پیش‌التهابی IL-17 و IFN-γ در گروه درمان شده با عصاره برگ زیتون به طور قابل توجهی نسبت به گروه کنترل، کاهش نشان داده است، در حالی که میزان سایتوکاین‌های ضد التهابی IL-4 افزایش یافته و سطح TGFβ نیز به طور ناچیز افزایش یافته است. در این خصوص سایتوکاین پیش التهابی IL-2 هم افزایش را نشان داده اما تغییر معنی‌داری بین گروه درمان و گروه کنترل در مورد سایر سایتوکاین‌های پیش التهابی و ضد التهابی مشاهده نشد است. به دلیل فعالیت زیستی قوی و سمیت کم ترکیبات عصاره برگ زیتون می‌توانند به‌عنوان مکمل‌های دارویی-تغذیه‌ای مورد استفاده قرار گیرند (۲۷).

نتایج مطالعه ما نشان داد که بین میزان IL-۲۳ و IL-۱۷ گروه‌های تیمار شده با عصاره برگ زیتون و گروه کنترل اختلاف آماری معنی‌داری وجود ندارد؛ اما میزان TGFβ اختلاف آماری معنی‌داری را نشان داد. به‌خوبی مشخص شده است در حضور سایتوکاین‌های پیش‌التهابی IL-۶، IL-۲۱، IL-۲۳ و مقادیر کم TGFβ، عرضه RORγt افزایش، در حالی که عرضه و عملکرد FOXp3 کاهش می‌یابد که این به نفع تولید Th17 است. برعکس در غیاب سایتوکاین‌های پیش‌التهابی، مقادیر بالای TGFβ برای عرضه FOXp3 مناسب بوده و کفه را به سمت تولید Treg پیش می‌برد (۸). در مطالعه حاضر نیز میزانIL-۲۳ در سرم گروه‌های تیمار شده با عصاره برگ زیتون نسبت به گروه کنترل به صورت خطی و منظم افزایش یافته، هر چند این افزایش قابل توجه نبوده و اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها وجود نداشت. علاوه بر این، میزان TGFβ در گروه ۱۵mg/kg نسبت به گروه کنترل و ۵mg/kg کاهش معنی‌داری نشان داد و میزان IL-۱۷ از گروه ۵mg/kg تا ۱۵mg/kg افزایش منظم و خطی نشان داد هر چند این افزایش نیز معنی‌دار نبود.

در پایان، عصاره برگ زیتون حاوی اولئوروپئین، دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی معنی‌داری بر شاخص‌های اکسیداتیو در مغز موش صحرایی بود، ولی اثر قابل توجهی بر میزان سایتوکاین‌های مرتبط با سلول‌های Th17 (بجز TGFβ) نداشت؛ بنابراین، اثر محافظتی آن در برابر بیماری‌های التهابی احتمالاً ناشی از خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن است نه تعدیل سایتوکاین‌های مرتبط با سلول‌های Th17.

تشکر و قدردانی

از ریاست محترم مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی به خاطر همکاری خوبشان تشکر و قدردانی می‌گردد. منابع مالی این مطالعه از مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی وابسته به دانشگاه علوم پزشکی لرستان بر اساس طرح شماره ۳۸/۹۰ تأمین شده است.

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-01]

References

1. Alirezaei M, Jelodar GA, Niknam P, Ghayemi Z. Betaine prevents ethanol-induced oxidative stress and reduces total homocysteine in the rat cerebellum. J Physiol Biochem. 2011; 67:605–612.
2. Alirezaei M, Kheradmand A, Heydari R, Tanideh N, Neamati S, Rashidipour M. Oleuropein protects against ethanol-induced oxidative stress and modulates sperm quality in the rat testis. Mediterr J Nutr Metab. 2012; 5:205-211.
3. López-Miranda J, Pérez-Jiménez F, Ros E, De Caterina R, Badimón L, Covas MI, Escrich E, Ordovas JM, Soriguer F, Abia R. Olive oil and health: Summary of the II international conference on olive oil and health consensus report, Jaén and Córdoba (Spain) 2008. Nutr Metab Cardiovas Dis. 2010; 20(4):284-294.
4. Vissers MN, Zock PL, Roodenburg AJ, Leenen R, Katan MB. Olive oil phenols are absorbed in humans. J Nutr. 2002; 132(3):409-417.
5. Theofilopoulos AN. The basis of autoimmunity. Part I: Mechanisms of aberrant self-recognition. Immunology today. 1995;16(2):90-98
6. Annunziato F, Cosmi L, Santarlasci V, Maggi L, Liotta F, Mazzinghi B. Phenotypic and functional features of human Th17 cells. J Exp Med. 2007; 204(8):1849-61.
7. Yang X, Yang J, Xing X, Wan L, Li M. Increased frequency of Th17 cells in systemic sclerosis is related to disease activity and collagen overproduction. Arthritis Res Ther. 2014;16(1):R4.
8. Tang W, Liu F, Chen Y, Song L, Dai W, Li C, et al. Reduction of IL-17A Might Suppress the Th1 Response and Promote the Th2 Response by Boosting the Function of Treg Cells during Silica-Induced Inflammatory Response In Vitro. Med Inflamm. 2014 (In Press)
9. Gu C1,Wu L, Li X. IL-17 family: cytokines, Receptors and signaling. Cytokine. 2013 ; 64(2):477-485.
10. Costa VS, Mattana TCC, da Silva MER. Unregulated IL-23/IL-17 immune response in autoimmune diseases. Diabetes Res Clin Pr. 2010; 88(3):222-226.
11. Huang Z, van Velkinburgh JC, Ni B, Wu Y. Pivotal roles of the interleukin-23/T helper 17 cell axis in hepatitis B. Liver Int. 2012; 32(6):894-901.
12. Sherlock JP, Zuniga LA, Cua DJ. IL-23 in Health and Disease: Cytokine Frontiers. Springerr. 2014؛ p: 179-98.
13. Cicerale S, Lucas L, Keast R. Biological Activities of Phenolic Compounds Present in Virgin Olive Oil. Int J Mol Sci. 2010; 11(2):458-479.
14. Alirezaei M, Dezfoulian O, Kheradmand A, Neamati S, Khonsari A, Pirzadeh A. Hepatoprotective effects of purified oleuropein from olive leaf extract against ethanol-induced damages in the rat. Iran J Vet Res. 2012; 13(3):218-226.
15. Alirezaei M, Dezfoulian O, Neamati S, Rashidipour M, Tanideh N, Kheradmand A. Oleuropein prevents ethanol-induced gastric ulcers via elevation of antioxidant enzyme activities in rats. J Physiol Biochem. 2012; 68:583–592.

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-01]

16. Soylu Ali Riza, Aydogdu Nurettin, Basaran Umit Nusret, Altaner Semsi, Tarcin Orhan, Gedik Nursal, Umit Hasan, Tezel Ahmet, Dokmeci Gulbin, Baloglu Huseyin, Ture Mevlut, Kutlu Kemal, Kaymak Kadir. Antioxidants vitamin E and C attenuate hepatic fibrosis in biliary-obstructed rats. World J Gastroenterol. 2006; 12(42): 6835-6841.
17. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem.1951; 193:265–275.
18. Claiborne A. Catalase activity. In: Greenwald RA (ed) CRC handbook of methods for oxygen radical research, 2nd edn. CRC, Boca Raton, FL, 1986; pp: 283–284.
19. Subbarao KV, Richardson JS, Ang LC. Autopsy samples of Alzheimer's cortex show increased peroxidation in vitro. Journal of Neurochemistry. 1990; 55(1):342-345.
20. Shen Y, Song SJ, Keum N, Park T. Olive Leaf Extract Attenuates Obesity in High-Fat Diet-Fed Mice by Modulating the Expression of Molecules Involved in Adipogenesis and Thermogenesis. Evide-Based Compl Alt. 2014(In Press)
21. Scoditti E1, Calabriso N, Massaro M, Pellegrino M, Storelli C, Martines G, De Caterina R, Carluccio MA. Mediterranean diet polyphenols reduce inflammatory angiogenesis through MMP-9 and COX-2 inhibition in human vascular endothelial cells: a potentially protective mechanism in atherosclerotic vascular disease and cancer. Arch Biochem Biophys.2012;527(2):81-89.
22. Lujan R, Castro MD. Superheated liquid extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves. J Chromatograph A. 2006; 1136: 185-191.
23. Al-Azzawie Hf, Alhamdani MSS. Hypoglycemic and antioxidant effect of oleoropein in alloxan–diabetic rabbits. Life sci. 2006; 78:1371-1377.
24. Miles EA, Zoubouli P, Calder PC. Effects of polyphenols on human Th1 and Th2 cytokine production. Clin Nutr. 2005; 24(5):780-784.
25. Miljkovic D, Dekanski D, Miljkovic Z, Momcilovic M, Mostarica-Stojkovic M. Dry olive leaf extract ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis. Clin Nutr. 2009; 28: 346-350.
26. Cvjetićanin T, Miljković D, Stojanović I, Dekanski D, Stosić-Grujicić S. Dried leaf extract of Olea europaea ameliorates islet-directed autoimmunity in mice. Brit J Nutr. 2010; 103(10): 1413-1424.
27. Saksida T, Miljkovi Dc, Dekanski-Dragana S, Ivana & Stosic S. Dry Olive leaf extract (DOLE) down–regulates the progression of experimental immune–mediated diabetes by modulation of Cytokin profile in the draining lymph nodes. Arch Belgrade 2011; 63(2): 289-297

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-01]