



دانشگاه ارومیه
دانشکده دامپزشکی

سال تحصیلی ۱۳۹۱-۹۲ شماره پایان نامه: ۵۲۵-۲۵

پایان نامه برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته ایمنی شناسی
عنوان

مطالعه اثر عصاره برگ زیتون بر میزان اینترلوکین-۲۳ در سرم موش صحرائی نر

جناب آقای دکتر نوروز دلیرز، استادیار دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه

استاد راهنما و رئیس هیأت داوران

جناب آقای دکتر شیخیان، استادیار دانشکده پزشکی لرستان

استاد راهنمای دوم

جناب آقای دکتر حسن ملکی نژاد

داور خارجی

سرکار خانم دکتر ملاح احمدی

داور داخلی

تنظیم و نگارش: زینب شاکرمی

بهمن ۱۳۹۱

حق چاپ برای دانشگاه ارومیه محفوظ است

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

این ناچیز را اگر قدریست تقدیم می‌کنم به:

تمامی کسانی که بواسطه:

علم و عمل،

مهر و محبت

و ایثار و فداکاریشان

در زندگی ام دارای قدر و منزلت اند. خداوند بر عزتشان بیافزاید.

تقدیر و شکر از:

جناب آقای دکتر دلیر استاد راهنمای بزرگوارم که مرابادنیای زیبای ایمنی شناسی آشنا نمودند.

جناب آقای دکتر شیخان استاد راهنمای دلسوز و مهربانم که انجام این پایان نامه بدون زحمات ارزنده ایشان

ممکن نبود.

جناب آقای دکتر علیرضایی استاد عزیزی که بدون چشمداشت زحمات زیادی جهت انجام این پایان نامه

مقتبل شدند.

سرکار خانم دکتر احمدی و جناب آقای دکتر ملکی نژاد که زحمات داورسی این پایان نامه را مقتبل شدند.

همکار عزیزم سرکار خانم چهری، خواهر مهربانم فروزان ساگر می، دوست عزیزم سرکار خانم صبا الماسی و دیگر

دوستانی که مراد انجام این پایان نامه یاری نمودند.

چکیده فارسی: پایان نامه شماره: ۵۲۵-۲۷ کارشناسی ارشد ایمنی شناسی دانشگاه ارومیه

سال تحصیلی: ۱۳۹۱-۱۳۹۲

نگارنده: زینب شاکرمی

عنوان: اثر عصاره برگ زیتون بر سطح سرمی اینترلوکین ۲۳ در موش صحرایی

نظر به نقش مؤثر سلول های Th-۱۷ در بروز بیماری های التهابی مزمن و خودایمن و اثرات اینترلوکین-۲۳ به عنوان القا کننده اصلی تکثیر سلول های Th-۱۷ این مطالعه صورت گرفت تا اثر عصاره برگ زیتون حاوی اولئوروپئین بر سطح سرمی اینترلوکین-۲۳ در موش صحرایی نر آزمایش گردد.

به طور خلاصه عصاره برگ زیتون حاوی اولئوروپئین به میزان ۲۵٪ با روش های کروماتوگرافی خالص گردید و درصد خلوص اولئوروپئین با HPLC تعیین گردید. آنگاه ۳۲ عدد موش صحرایی به چهار گروه مساوی تقسیم شدند. گروه اول به عنوان کنترل سرم فیزیولوژی دریافت کرد. گروه های دوم، سوم و چهارم به ترتیب به مدت ۱۰ روز پیوسته اولئوروپئین با دوز ۵، ۱۰، و ۱۵ mg/kg دریافت کردند در روز یازدهم پس از بیهوشی با اتر خونگیری از قلب به عمل آمد. و سرم تهیه شده در زمان انجام آزمایشات در ۷۰- درجه سانتی گراد نگهداری گردید. میزان اینترلوکین ۲۳ در سرم تمام گروه ها با استفاده از الیزا اندازه گیری شد و اختلاف آماری بین گروهها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS بررسی گردید تست آماری آنالیز واریانس یکطرفه انجام گرفت در حالی که سطح معنی داری $p < 0/05$ در نظر گرفته شد.

اگرچه اختلاف آماری معنی داری بین گروهها مشاهده نشد اما با افزایش دوز اولئوروپئین غلظت اینترلوکین ۲۳ در سرم افزایش یافت.

این مطالعه نشان داد که مصرف عصاره برگ زیتون حاوی اولئوروپئین ۲۵٪ نمی تواند اثر قابل توجهی بر اینترلوکین ۲۳ در سرم بگذارد و نمی تواند روی بیماری التهابی اثر بگذارد.

به هر حال لازم است که عصاره برگ زیتون با درصد خلوص بالاتری از اولئوروپئین در مطالعات آینده مورد بررسی قرار گیرد تا اثرات دقیق آن مشخص گردد.

کلیدواژه ها: عصاره برگ زیتون، اولئوروپئین، اینترلوکین-۱۷، ۲۳-Th

فهرست

۱	مقدمه
۳	کلیات
۳	زیتون و تاریخچه آن
۴	زیتون از دیدگاه قرآن
۵	ترکیبات شیمیایی روغن زیتون
۶	ترکیبات شیمیایی گوشت میوه زیتون
۷	اولئوروپئین
۱۰	اثرات مختلف زیتون و ترکیبات فنلی آن بر سلامت
۱۰	اثر روغن زیتون بر روی سیستم ایمنی
۱۳	اثر ضد میکروبی
۱۴	اثر ضد ویروسی
۱۴	فعالیت ضد سرطانی
۱۵	اثرات دارویی اولئوروپئین
۱۵	اثر آنتی اکسیدانی
۱۶	اثر ضد التهابی
۱۶	اثر ضد گزایی
۱۶	اثر ضد پیری
۱۶	حفاظت از پوست
۱۷	حفاظت عصبی
۱۸	جلوگیری از بیماریهای قلبی - عروقی و دیگر اثرات
۱۹	انواع سلولهای T CD4+

۲۱	پاسخ لنفوسیت‌های T CD4+ در بیماری‌های خودایمن
۲۳	ساختار، تولید، پذیرنده‌ها و اعمال اینترلوکین-۲۳
۲۳	ساختار اینترلوکین-۲۳
۲۳	پذیرنده‌های اینترلوکین-۲۳
۲۴	تولید اینترلوکین-۲۳
۲۴	اعمال اینترلوکین-۲۳
۲۵	نقش اینترلوکین-۲۳ در بیماری‌های خودایمن
۲۵	اینترلوکین-۲۳ و پسونیازیس
۲۵	اینترلوکین-۲۳ و بیماری التهابی روده بزرگ (IBD)
۲۶	اینترلوکین-۲۳ و هپاتیت B
۲۶	اینترلوکین-۲۳ و لوپوس سیستمیک اریتماتوز
۲۶	اینترلوکین-۲۳ و آرتریتروماتوئید
۲۷	اینترلوکین-۲۳ و دیابت تیپ ۱ (T1D)
۲۷	اینترلوکین-۲۳ و بیماری سیلیاک
۲۸	اینترلوکین-۲۳ و درماتیت تماسی آلرژیک
۲۸	اینترلوکین-۲۳ و سرطان
۲۹	اینترلوکین-۲۳ و بیماری‌های عفونی
۲۹	اینترلوکین-۲۳ و التهابات عصبی
۲۹	اهمیت محور اینترلوکین-۱۷ و اینترلوکین-۲۳
۳۱	مواد و روش کار
۳۱	خالص‌سازی اولئوروپئین و شرایط HPLC
۳۲	حیوانات

۳۲	تعیین دزاولتوروپئین
۳۳	اندازه‌گیری میزان اینترلوکین-۲۳
۳۳	وسایل موردنیاز
۳۴	روش کار
۳۵	روش آنالیز آماری
۳۵	نتایج
۳۵	تعیین درصد خلوص اولتوروپئین و شرایط HPLC
۳۶	سنجش سایتوکاین
۳۸	بحث، نتیجه‌گیری و پیشنهادات
۴۳	نتیجه‌گیری
۴۳	پیشنهادات
۴۴	منابع فارسی
۴۴	منابع انگلیسی

مقدمه

جایگزین شدن غذاهای طبیعی با همتای مصنوعی آن‌ها طی سالیان اخیر سلامت و کیفیت زندگی بشر را تحت تأثیر قرار داده است. عادات بد غذایی و مصرف زیاده از حد چربی، نمک و قند و نیز کاهش مصرف فیبرهای غذایی منجر به افزایش بروز بیماری‌های دژنراتیو مزمنی مثل بیماری‌های قلبی- عروقی شده است (Delgado et al., ۲۰۱۰). این در حالی است که رژیم غذایی برخی از مناطق دنیا باعث تأمین سلامت بیشتری برای مردم ساکن آن نواحی شده است. شاخص‌ترین این رژیم‌ها، رژیم مدیترانه‌ای است. شواهد گردآوری شده از سال ۱۹۵۰ نشان داده‌اند که میزان بیماری‌های مزمن در کشورهای این منطقه نسبت به سایر نقاط دنیا کمترین و امید به زندگی در آن‌ها بیشترین است. وجه مشخصه این رژیم غذایی، وجود زیتون و فرآورده‌های مشتق از آن است. رژیم مذکور در واقع نوعی مدل فرهنگی برای بهبود تغذیه است. این رژیم غنی از سبزیجات، میوه‌جات و روغن زیتون است (Visioli et al., ۱۹۹۸).

از طرفی مطالعات اپیدمیولوژیک و تجربی نشان داده‌اند که نوعی تعامل بین سیستم ایمنی و تغذیه وجود دارد. یکی از مثال‌های بارز این مدعا، نقش مهمی است که اسیدهای چرب چند غیر اشباع از نوع $n-3$ و $n-6$ در تنظیم سیستم ایمنی دارند. یکی از منابع مهم این نوع چربی‌ها، روغن زیتون است که به وفور در رژیم غذایی مدیترانه‌ای یافت می‌شود (Jimenez et al., ۲۰۰۹).

جزء اصلی این روغن را اسیدهای چرب غیر اشباع از قبیل اسید اولئیک^۱ تشکیل می‌دهند. روغن زیتون استفاده شده در این رژیم غذایی علاوه بر این ترکیب اصلی حاوی اجزاء کم مقدار دیگری نیز از قبیل اسکوالن^۲، استرول‌های گیاهی، توکوفرول و پلی‌فنل‌هایی از قبیل اولئوروپئین^۳ است که دارای اثر ضد التهابی و ضد اکسیدانی است. اولئوروپئین مهم‌ترین جزء ترکیبات اخیر است (Visoli et al., ۱۹۹۸, Miljkovic et al., ۲۰۰۹). اخیراً ادعا می‌شود که بیشتر خواص فارماکولوژیک زیتون ناشی از وجود موادی به نام پلی‌فنل‌ها است که در برگ، میوه و روغن آن یافت می‌شود (Haris, ۲۰۱۰).

مطالعات اپیدمیولوژیک نشان داده‌اند که فنل‌ها می‌توانند باعث کاهش بروز بیماری‌های قلبی عروقی شوند. مکانیسم‌های عامل چنین تأثیراتی به خوبی مشخص نشده‌اند. اثر ضد اکسیدانی و حذف رادیکال‌های آزاد توسط این مواد ممکن است تا حدودی توجیه‌گر نقش آنها در کاهش بروز بیماری‌های مذکور باشد اما احتمالاً مکانیسم‌های دیگری نیز دست‌اندرکار باشند (Palmerini et al., ۲۰۰۵).

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

^۱ -Oleic acid
^۲ -Squalene
^۳ -Oleuropein

سیستم ایمنی نقش مهمی در بروز آن‌ها دارد. از جمله این بیماری‌ها می‌توان به بیماری‌های دژنراتیو مزمن و بیماری‌های خود ایمن اشاره کرد (Lopez et al., ۲۰۰۸, Vissers et al., ۲۰۰۲). از طرفی مکانیسم‌های ایمنوپاتولوژیک متفاوتی در بروز بیماری‌های خود ایمن نقش دارند (Pedotti et al., ۲۰۰۳). این مکانیسم‌ها وابسته به وجود سلول‌های اجرایی متفاوتی هستند. بسیاری از بیماری‌های خود ایمن در انسان توسط سیستم ایمنی سلولی اکتسابی ایجاد می‌شوند (Theofilopoulos, ۱۹۹۵).

قبلاً در مورد تأثیر اولئوروپئین بر برخی از سایتوکاین‌های مرتبط با سلول‌های Th۱ و Th۲ مطالعاتی صورت گرفته است (Miles et al., ۲۰۰۵)، اما این مطالعات محدود بوده‌اند و متغیرهای ایمنولوژیک مورد مطالعه جامع و کامل نبوده‌اند خصوصاً این که به رغم آگاهی از تأثیر مثبت زیتون و بویژه ماده مؤثره آن (اولئوروپئین) بر بیماری‌های التهابی و خودایمنی، و نقش انکارناپذیر سلول‌های Th۱۷ در بروز این نوع از بیماری‌ها (Miles et al., ۲۰۰۸, Mai et al., ۲۰۰۵)، مطالعه‌ای در خصوص تأثیر اولئوروپئین بر سایتوکاین‌های تولید شده توسط این سلول‌ها (IL-۶, IL-۱۷, IL-۲۱, IL-۲۲, IL-۲۶) یا مؤثر بر تولید آنها (IL-۲۳, IL-۲۱, IL-۶, TGF- β) (Nistala et al., ۲۰۰۶; Weaver et al., ۲۰۱۰) صورت نگرفته است.

از آنجا که IL-۲۳ از سلول‌های تولید کننده‌ی IL-۱۷ (که آن را Th-۱۷ می‌نامند) ترشح می‌شود و با توجه به این که IL-۲۳ به عنوان یک القا کننده اصلی توسعه سلول‌های Th-۱۷ بیان شده است (وجگانی، ۱۳۹۱). بنابراین با توجه به موارد فوق، تصمیم گرفته شد تأثیر عصاره برگ زیتون حاوی اولئوروپئین به میزان خلوص ۲۵٪ بر میزان سطح سرمی IL-۲۳ در مدل حیوانی موش صحرایی بررسی گردد.

کلیات

زیتون و تاریخچه آن

نام علمی زیتون (*Olea europaea*) بوده و از خانواده Oleaceae می‌باشد. آنها همیشه سبز بوده و دارای برگ‌هایی کوچک و یکپارچه هستند که روبروی هم قرار گرفته اند. میوه این گیاه یک شفت می باشد. معروفترین گونه شناخته شده این گیاه *Olea europaea* زیتون اروپایی نام دارد که از دوران باستان برای تهیه روغن زیتون و نیز برای خوردن میوه آن کاربرد داشته است. میوه زیتون در حالت طبیعی تلخ است و باید در معرض تخمیر طبیعی قرار گیرد و یا به منظور قابل خوردن نمودن، آن را در آب نمک بخوابانند. زیتون وحشی به شکل درخت کوچک یا بوته‌هایی با رشد هرزه و تیغدار است که دارای برگ‌هایی دوک مانند و تیز، رنگ سبزمایل به خاکستری در قسمت بالا می‌باشد، زیتون وحشی جوان در قسمت پایین سفید رنگ و دارای پولک‌هایی مايل به سفید است. گل‌های سفید کوچکی دارد که به شکل خوشه‌هایی از بغل گل‌ها ظاهر می شوند و بر روی چوب‌های سال‌های آخر می روید. (هاشمی و رئیسی، ۱۳۸۷).

درخت زیتون جزء کهن‌ترین درختانی است که در دنیا کشت شده است. در گذشته، سنبل دوستی و صلح در میان ملل مختلف بوده است. بیشترین اطلاعات در مورد نقش اجتماعی و مذهبی این درخت در افسانه‌های یونان باستان و کتب عهد عتیق وجود دارد. تاکنون بیشتر از سی گونه درخت زیتون شناسایی شده است. اما در مورد منشأ آن شک و تردید وجود دارد. اولین فسیل‌های این درخت مربوط به یک میلیون سال پیش است (دوره سوم زمین‌شناسی) که در ایتالیا یافت شده‌اند. ولی منشأ اصلی این درخت به شکلی که امروزه موجود است، جایی بین ایران باستان و بین‌النهرین است که پنج هزار سال پیش کشت می‌شده است و سپس از آنجا به سوریه و فلسطین برده شده است. بعداً این درخت به شمال آفریقا انتقال داده شده است. فنیقی‌ها، عامل انتقال زیتون به دنیای غرب بوده‌اند. حدود ۲۸ قرن قبل از میلاد مسیح، این درخت به یونان رسید. یونانی‌ها نحوه کشت آن را به کشورهای حوزه دریای مدیترانه (مثل اسپانیا) آموزش دادند. رومی‌ها نقش مهمی در کشت سیستماتیک زیتون ایفا کردند. یکی از دانشمندان رومی لقب «ملکه درختان» را به زیتون داد. با توسعه امپراتور روم باستان، زیتون نه تنها به عنوان یکی از اجزاء اصلی رژیم غذایی بلکه به عنوان ماده‌ای دارویی اهمیت فوق‌العاده پیدا کرد. این درخت در قرن پانزدهم میلادی توسط میسیونرها به قاره آمریکا (شیلی، آرژانتین، و کالیفرنیا) انتقال داده شد (Kapellakis et al., ۲۰۰۸).

زیتون از دیدگاه قرآن

۱- وَ هُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ إِنَّ فِي ذَلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ (انعام: ۹۹).

واوست کسی که از آسمان، آبی فرود آورد. پس به وسیله آن از هرگونه گیاه برآوردیم، و از آن [گیاه] جوانه سبزی خارج ساختیم که از آن، دانه هایمتراکمی برمی آوریم و از شکوفه درخت خرماخوشه هایی است نزدیک به هم. و [نیز] باغ هایی از انگور و زیتون و انارهمانند و غیر همانندخارج کردیم. به میوه آن، چون ثمر دهد و به [طرز] رسیدنش بنگرید. قطعاً در اینها برای مردمی که ایمان می آورند، نشانه هاست.

۲- وَ هُوَ الَّذِي أَنْشَأَ جَنَّاتٍ مَّعْرُوشَاتٍ وَغَيْرَ مَعْرُوشَاتٍ وَالنَّخْلَ وَالزَّرْعَ مُخْتَلِفًا أَكْلُهُ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُتَشَابِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ كُلُوا مِن ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَآتُوا حَقَّهُ يَوْمَ حَصَادِهِ وَلَا تُسْرِفُوا إِنَّهُ لَا يُحِبُّ الْمُسْرِفِينَ (انعام: ۱۴۱).

واوست کسی که باغهایی با داربست و بدون داربست، و خرما، و کشتزار با میوه های گوناگون آن، و زیتون، و انار، شبیه به یکدیگر و غیر شبیه پدید آورد. از میوه آن چون ثمر داد بخورید و حق [بینوایان] را از آن بدهید، ولی اسراف مکنید که خدا اسراف کاران را دوست ندارد.

۳- يُنَبِّئُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنَ كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكُمْ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ (نحل: ۱۱).

به وسیله آن (آب باران)، کشت و زیتون و درختان خرما و انگور و از هرگونه محصولات [دیگر] برای شما می رویند. همانداراینها برای مردمی که اندیشه می کنند، نشانه ای است.

۴- اللَّهُ نُورُ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ مَثَلُ نُورِهِ كَمِشْكَاةٍ فِيهَا مِصْبَاحٌ الْمِصْبَاحُ فِي زُجَاجَةٍ الزُّجَاجَةُ كَأَنَّهَا كَوْكَبٌ دُرِّيٌّ يُوقَدُ مِن شَجَرَةٍ مُّبَارَكَةٍ زَيْتُونَةٍ لَّا شَرْقِيَّةٍ وَ لَّا غَرْبِيَّةٍ يَكَادُ زَيْتُهَا يُضِيءُ وَلَوْ لَمْ تَمْسَسْهُ نَارٌ نُّورٌ عَلَى نُورٍ يَهْدِي اللَّهُ لِنُورِهِ مَن يَشَاءُ وَيَضْرِبُ اللَّهُ الْأَمْثَالَ لِلنَّاسِ وَاللَّهُ بِكُلِّ شَيْءٍ عَلِيمٌ (نور: ۳۵).

خدا نور آسمان ها و زمین است. مثل نور او چون چراغدانی است که در آن، چراغی و آن چراغ درشیشه ای است. آن شیشه گویی اختریدرخشان است که ازدرخت خجسته زیتونی که نه شرقی است و نه غربی، افروخته می شود. نزدیک است که روغنش (هرچند بدان آتشی نرسیده باشد) روشنی بخشد. روشنی بر روی روشنی است. خدا هرکه را بخواهد، با نور خویش هدایت می کند و این مثل ها را خدا برای مردم می زند و خدا به هر چیزی داناست.

زیتون، خرما و انگور در تغذیه انسان نقش ویژه ای دارند.

۵- «وَشَجَرَةٌ تَخْرُجُ مِنْ طُورِ سَيْنَاءَ تَنْبُتُ بِالذَّهْنِ وَصَبْغٍ لِّلْأَكْلِينِ؛ ودرختی است که در طور سینا می روید، روغن می دهد و آن روغن برای خوردگان، نان خورشی است» (مؤمنون: ۲۰).

۶- «وَزَيْتُونًا وَنَخْلًا؛ و زیتون و درخت خرما» (عبس: ۲۹).

۷- «وَالَّتَيْنِ وَالزَّيْتُونَ؛ سوگند به [کوه] انجیر و زیتون» (تین: ۱) (Kahrizi et al., ۲۰۱۲).

ترکیبات شیمیایی روغن زیتون

روغن زیتون مشتمل بر دو سری ترکیبات است: ۱) ترکیب اصلی شامل گلیسرولها بوده که ۹۶٪ وزن آن را تشکیل می دهند و ۲) ترکیبات کم مقدار یا فرعی که شامل ۲۳۰ نوع ماده مختلف هستند و ۴٪ وزن آن را تشکیل می دهند. گروه دوم شامل موادی از قبیل الکل‌های آلیفاتیک و ترپنیک، استرولها، هیدروکربنها، ترکیبات فرار و آنتی‌اکسیدانها هستند. آنتی‌اکسیدانهای اصلی روغن خالص^۱ عبارتند از کاروتن‌ها و ترکیبات فنلی لیپوفیل و هیدروفیل. فنل‌های لیپوفیلی از قبیل توکوفرول را می‌توان در روغن سایر سبزیجات نیز یافت اما برخی از فنل‌های هیدروفیل زیتون در سایر روغن‌ها و چربی‌ها یافت نمی‌شوند و همین وجه تفاوت اصلی روغن زیتون و سایر روغن‌های گیاهی است (Servili & Montedoro ۲۰۰۲).

اثرات مفید روغن زیتون را تا مدت‌ها ناشی از بخش گلیسرولی آن می‌دانستند که حاوی مقدار زیادی روغن‌های چرب غیر اشباع خصوصاً اسید اولئیک است. اما بعداً دیده شد که روغن‌های دیگری مثل روغن آفتابگردان حاوی مقدار زیادی MUFA هستند ولی تأثیری بر پیشگیری از عوامل خطر بیماری‌های مزمن ندارند. بنابراین، اخیراً تحقیقات زیادی در خصوص عملکرد بیولوژیک ترکیبات فنلی موجود در بخش غیر صابونی شونده (یا بخش غیر گلیسرولی) روغن زیتون شده است (Cicerale et al., ۲۰۱۰). بخش فنلی روغن زیتون خالص بسیار هتروژن است و تاکنون حداقل ۴۱ ترکیب مختلف از آن جدا شده است. این‌ها در همه اجزاء زیتون به نسبت‌های مختلف یافت می‌شوند. مهمترین این ترکیبات فنلی، اولئوروپئین است که غلظت آن می‌تواند به ۱۴۰ mg/g در وزن خشک زیتون تازه و ۶۰-۹۰ mg/g در وزن خشک برگ زیتون برسد. به طور متوسط ۱-۳٪ (وزن به حجم) روغن زیتون را اولئوروپئین تشکیل می‌دهد. این مقدار در برگ زیتون بیشتر و حدود ۱۹٪ (وزن به وزن خشک) است (Haris, ۲۰۱۰). ترکیبات فنلی از فساد روغن زیتون جلوگیری نموده و طعم مطلوب در روغن ایجاد می‌کند. میزان ترکیبات فنلی (الکل فنلیک اسید و غیره) در روغن زیتون ۲۰۰-۵۰ ppm خواهد بود. میزان آن

^۱ - VirginOlive Oil Or VOO

بستگی به روش استخراج روغن زیتون دارد و می تواند بین ۵۰-۴۰٪ بر حسب روش استخراج روغن پرس سرو(هیدرولیک) غیر مداوم و مداوم کاهش یابد(میرنظامی، ۱۳۷۷).

ترکیبات شیمیایی گوشت میوه زیتون

پروتئین ها و کربوهیدرات ها: قندهای ساده گلوکز و فروکتوز و مقداری ساکاروز و مانیتول در گوشت میوه زیتون وجود دارد. مهمترین پلی ساکاریدهایی که در گوشت میوه زیتون وجود دارد، می توان از سلولز، صمغ ها نام برد و پل ساکارید در گوشت میوه زیتون ۳-۶ درصد می باشد.

اسیدهای آلی: اسیدهای آلی به مقدار کمی در تمام گوشت میوه به منظور تامین اسیدیته و pH مناسب (۵-۴/۵) پراکنده می باشد. مهمترین اسیدهای آلی عبارتند از: اسید سیتریک، اسید مالیک، اسید اگزالیست ۳۰-۴۰ درصد اسیدهای آلی موجود در گوشت میوه زیتون به صورت آزاد می باشد و در حدود ۷۰-۶۰ درصد آنها به صورت نمک دیده می شوند.

تانن ها: به میزان ۲-۱/۵ درصد از کل وزن گوشت میوه را تانن ها تشکیل می دهد. تانن ها عامل مزه گسی میوه در عین حال ترش بودن زیتون های تازه می باشد.

مواد معدنی: مواد معدنی به صورت آزاد یا ترکیبی در گوشت میوه زیتون وجود دارد. قسمت عمده مواد معدنی در حفظ pH سلول نقش پوشش محافظ را بازی می کنند و در عین حال در تنظیم نفوذ غشا سلولی نیز دخالت دارند. فسفات ها و سایر مواد معدنی در فعالیت متابولیسم سلول های میوه فعالانه عمل می کنند. مواد رنگی: مواد رنگی گوشت میوه زیتون را به دو گروه تقسیم می کنند: ۱) کلروفیل ها (سبزینه) و کارتنوئیدها (زیرینه) ۲) آنتوسیانین ها (میرنظامی، ۱۳۷۷).

پلی فنل ها: میوه زیتون حاوی برخی از مشتقات سکوایریدوئیدها^۱ است که طی فرآیند عصاره گیری مکانیکی وارد روغن می شوند. غلظت ترکیبات فنلی موجود در قسمت گوشتی میوه زیتون حدود ۱-۳٪ است. این ها شامل اسیدهای فنلی، الکل های فنلی، فلاونوئیدها و سکوایریدوئیدها می باشند. سه گروه اول ترکیبات فنلی فوق در بسیاری از خانواده های گیاهی یافت می شوند ولی گروه آخر فقط در اولئاسه^۲ یافت می شوند. مشخصه این گروه وجود اسید الینولنیک^۳ در ساختارشان است. اولئوروپئین یکی از ترکیبات مهم سکوایریدوئیدی است. این ترکیبات در پوست، بخش گوشتی و هسته زیتون وجود دارند ولی عمدتاً در بخش گوشتی یا Pulp یافت می شوند. از بین همه این ترکیبات، اولئوروپئین بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی را دارد (Servili & Montedoro, ۲۰۰۲).

^۱ - Skvayrydvyyd

^۲ - Oleacea

^۳ - Linoleic acid

میزان و نوع بیوفنلها در زیتون بستگی به عواملی نظیر نوع گونه، آب و هوا، محل کشت و میزان اولئوروپئین به رشد گیاه و نیز روش استخراج بستگی دارد. با رشد مادگی شکوفه به سرعت میزان اولئوروپئین افزایش یافته با بزرگ شدن میوه مجدداً به سرعت کاهش می یابد. اما در مورد برگ، میزان این ماده در برگهای نابالغ و برگهای کاملاً رشد یافته تنها تفاوت اندکی نشان می دهد. در استان لرستان انواع گوناگونی از درختان زیتون کشت شده اند که درصد اولئوروپئین در برگ این درختان با توجه به گونه کشت شده مشخص شده و مقایسه درصد اولئوروپئین در برگ گونه های مختلف این درخت در استان لرستان اطلاعات بسیار مفیدی برای تحقیق در زمینه استخراج و کاربردهای دارویی این ماده به جا گذاشته است (علیرضایی و همکاران، ۱۳۹۰).

اولئوروپئین

اولئوروپئین فراوانترین نوع از ترکیبات فنلی موجود در میوه و برگ زیتون است و عامل مزه تلخی خاص میوه زیتون می باشد (Andreadou et al., ۲۰۰۶).

اولئوروپئین متعلق به خانواده کلی تری به نام سکوایریدویدها^۱ است. اینها از متابولیسم ثانویه ترپن ها به وجود می آیند. سکوایریدویدهای موجود در اولئاسه^۲ مشتق از اولئوزیدها^۳ هستند که مشخصه آنها وجود اسید لنولیک^۴ و بنیان گلوکوزیدی در ساختارشان می باشد. اولئوروپئین، استر ۲- (۳، ۴) - دی هیدروکسی فنیل) اتانول است. دارای اسکلت اولئوزیدیک است که عمدتاً در شکل فاقد قند (آگلیکان) یافت می شود. ماده اصلی پیش ساز اولئوروپئین، اسید موالونیک^۵ است که طی سیزده مرحله به اولئوروپئین تبدیل می شود (Haris, ۲۰۱۰).

میزان اولئوروپئین در مراحل مختلف رشد میوه زیتون فرق می کند. تجمع اولئوروپئین و بیشترین مقدار آن در فاز رشد میوه دیده می شود. فاز دوم رشد میوه زیتون، فاز بلوغ سبز است که توأم با کاهش اولئوروپئین است و فاز سوم، فاز بلوغ سیاه است که توأم با کاهش بیشتر اولئوروپئین و تشکیل آنتوسیانین هاست. بنابراین، مقدار اولئوروپئین در مراحل اولیه رشد بیشتر است، به طوری که در حدود ۱۴٪ وزن ماده خشک را تشکیل می دهد. البته به رغم این کاهش تدریجی، مقدار آن در زمان برداشت واریته های سبز زیتون باز هم در حد قابل توجهی است. این در حالی است که در واریته های سیاه مقدار آن در هنگام بلوغ به سرعت کاهش می یابد (Haris, ۲۰۱۰).

زیست فراهمی^۶ اولئوروپئین در انسان بسیار بالاست، به طوری که حدود ۶۰-۵۵٪ مقدار مصرف شده آن در غذا جذب بدن می شود. حداکثر میزان آن در پلاسما حدود دو ساعت بعد از مصرف دیده می شود. مهمترین

^۱ - Skvayrydvyyd

^۲ - Oleacea

^۳ - Aavlyvzyd

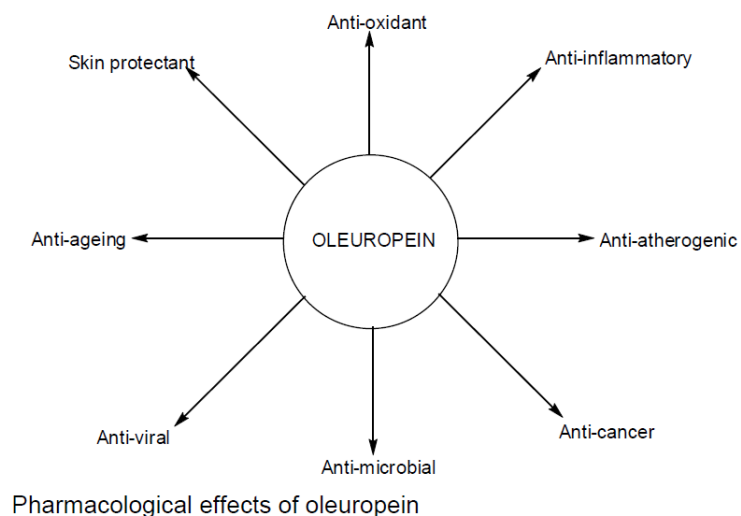
^۴ - Linoleic acid

^۵ - mevalonic acid

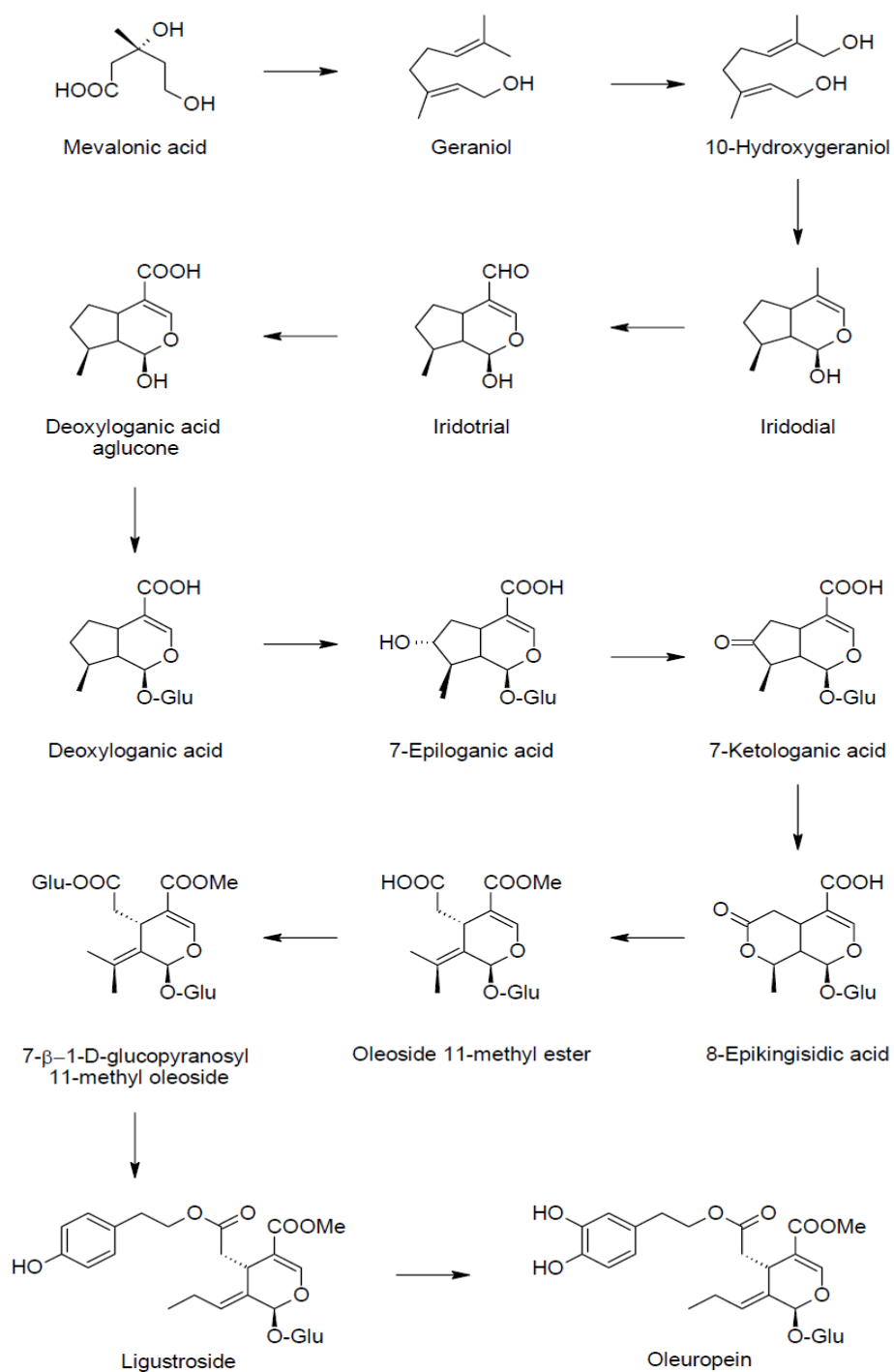
^۶ - Bioavailability

متابولیت اولئوروپئین در بدن، هیدروکسی تیروزول است. اولئوروپئین و متابولیت آن به سرعت در بدن توزیع شده و عمدتاً به شکل گلوکورونیدی در ادرار دفع می‌شوند (Haris, ۲۰۱۰).

اولئوروپئین دارای خواص فارماکولوژیک متعددی است. تاکنون دیده شده است که این ترکیب دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، آنتی‌آتروژنیک، ضد میکروبی و ضد ویروسی است. به همین دلیل است که در کشورهای حوزه مدیترانه به عنوان یک مکمل غذایی به شکل تجاری در دسترس است. البته در این کشورها میزان مصرف روغن زیتون نیز بالاست (۵۰-۲۵ میلی لیتر در روز) (Cicerale & Lucas, ۲۰۱۰).



شکل ۱-۲- آثار فارماکولوژیک اولئوروپئین (Haris, ۲۰۱۰).



شکل ۲-۲- مسیر بیوسنتز اولئوروپئین (Haris, ۲۰۱۰).

اثرات مختلف زیتون و ترکیبات فنلی آن بر سلامت

زیتون رسیده از نظر طب قدیم ایران گرم و قابض و میوه نارس آن سرد و خشک و روغن زیتون گرم و خشک است. برگ درخت زیتون نیز گرم و خشک می‌باشد. برخی از خواص دارویی زیتون به شرح ذیل می‌باشد: ۱- دم کرده برگ زیتون داروی خوبی برای پایین آوردن فشار خون است. بدین منظور باید ۲۰ عدد برگ زیتون را داخل ۳۰۰ گرم آب ریخته و آن را به مدت پانزده دقیقه جوشاند. سپس کمی قند به آن اضافه کرده و به مقدار یک فنجان دوبار در روز مصرف شود.

۲- روغن زیتون نرم کننده و صفا بر است. برای این منظور باید آن را با آبلیمو مصرف کرد، ۴- روغن زیتون دارای خاصیت گرم کشی است، ۴- روغن زیتون برای رفع سرفه‌های خشک مفید است، ۵- برای رفع خارش گزیدگی حشرات، روغن زیتون را به محل خارش می‌مالند، ۶- بدن بچه‌هایی را که مبتلا به نرمی استخوان و کم خونی هستند با روغن زیتون ماساژ می‌دهند. ۷- برای رفع پیوره لثه، روغن زیتون را بر روی لثه می‌مالند. ۸- برای برطرف کردن خارش و ترک پوست، گلیسرین و روغن زیتون را به مقدار مساوی با هم مخلوط کرده و روی پوست می‌مالند. ۹- دم کرده برگ درخت زیتون تب بر است. ۱۰- جوشانده برگ درخت زیتون برطرف کننده نفرس و رماتیسم است. ۱۱- برای سر باز کردن جوش‌ها و کورک‌ها زیتون را له کرده و روی جوش یا کورک می‌مالند. ۱۲- دم کرده و جوشانده پوست درخت زیتون تب بر و درمان کننده مالاریا است. ۱۳- پماد میوه نارس زیتون برای سوختگی مفید است. ۱۴- جویدن برگ زیتون برای از بین زخم‌های دهان مفید است. ۱۵- برای رفع سستی فلج و تقویت نیروی جنسی باید هشتاد گرم روغن زیتون را با چهارده گرم کندر و شانزده گرم سیاه دانه مخلوط کرده و به مدت سه روز از آن بخورند. ۱۶- مصرف روغن زیتون از امراض قلبی و سرطان جلوگیری می‌کند و بالاخره روغن زیتون بهترین روغن برای پخت و پز می‌باشد (علیرضایی و همکاران، ۱۳۹۰).

اثر روغن زیتون بر روی سیستم ایمنی

در مدل‌های حیوانی دیده شده است که تجویز روغن زیتون باعث کاهش تکثیر لنفوسیت‌ها در پاسخ به میتوزن‌هایی مثل Con-A می‌شود (Yaqoob et al., ۱۹۹۴). از آنجایی که روغن زیتون علاوه بر اسید اولئیک حاوی ترکیبات دیگری مثل استرول‌ها، الکل‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها نیز می‌باشد، و مشخص نبود که اثر مهار بر تکثیر لنفوسیت‌ها ناشی از چه ترکیبی است، مطالعه دیگری نیز انجام شد تا ترکیب مهارکننده مشخص گردد. این مطالعه نشان داد که اثر مهار ناشی از اسید اولئیک است (Peterson et al., ۱۹۹۸). البته این ادعا هنوز به خوبی تأیید نشده است. تأثیر روغن زیتون بر تکثیر لنفوسیت‌ها در انسان نتایج متناقضی بدست داده است زیرا تجویز روغن زیتون تأثیری بر تکثیر لنفوسیت‌های انسانی در حضور مواد میتوزن نداشت (Yaqoob, ۱۹۹۵). این اختلاف ممکن است ناشی از تفاوت در میزان چربی تجویز شده باشد که در مدل حیوانی ۳۰٪ کل انرژی مصرفی و در انسان در حدود ۱۸٪ کل انرژی مصرفی را شامل می‌شده است. تولید سایتوکاین‌ها نیز تحت تأثیر چربی‌های مختلف بررسی شده است. تجویز رژیم حاوی روغن زیتون به

مدت ۸ تا ۱۲ هفته باعث افزایش تولید لنفوکاین‌های IL-۲ و IL-۴ و کاهش لنفوکاین‌های IL-۱۰ و IL-۱۲ شده است. تولید مونوکاین‌ها نیز تحت تأثیر تجویز لیپیدها قرار می‌گیرد. تولید IL-۱ تحت تأثیر این مواد کاهش نشان داده است و تولید IL-۶ و TNF- α افزایش یافته یا تغییر نکرده است (Yaqoob, ۱۹۹۸). البته روغن زیتون از این لحاظ به اندازه روغن ماهی قوی نیست.

فعالیت سلول‌های کشنده طبیعی نیز از اعمال مهم ایمنی است که تحت تأثیر لیپیدها قرار می‌گیرد. این‌ها عمدتاً در خون و طحال وجود دارند و می‌توانند سلول‌های آلوده به ویروس و توموری را بکشند. تجویز روغن زیتون در مدل‌های حیوانی باعث کاهش فعالیت این سلول‌ها شده است. هر چند اثر مهارى روغن زیتون در این مورد نیز کمتر از روغن ماهی است. این اثر مهارى تا حد زیادی وابسته به اولئیک اسید است (Yaqoob et al., ۱۹۹۴). این اثر مهارى در انسان نشان داده نشده است، زیرا تجویز دو ماه روغن زیتون نتوانسته است به طرز معنی‌داری باعث کاهش فعالیت NK در انسان شود (Yaqoob et al., ۱۹۹۸).

بیان مولکول‌های چسبنده که نقش مهمی در عملکرد ایمونولوژیک دارند، جنبه دیگری از سیستم ایمنی است که تأثیر لیپیدها بر آن بررسی شده است. تجویز روغن ماهی و زیتون به حیوانات باعث کاهش بیان مولکول‌های چسبنده CD-۲، LFA-۱ و ICAM-۱ روی لنفوسیت‌های طحالی شده است (Sanderson et al., ۱۹۹۵). در انسان نیز تجویز روغن زیتون به مدت دو ماه باعث کاهش بیان ICAM-۱ شده است (Yaqoob et al., ۱۹۹۸). این اثر می‌تواند از لحاظ بالینی مهم باشد، زیرا مولکول مذکور در اتصالات لوکوسیت به لوکوسیت و لوکوسیت به اندوتلیوم نقش دارند. سلول‌های تک هسته‌ای موجود در سینوویوم افراد مبتلا به آرتريت روماتوئید نیز این مولکول را بیان می‌کنند. به علاوه، در فراخوانی سلول‌های تک هسته‌ای درگیر در شکل‌گیری پلاک‌های آترواسکلروتیک نیز نقش دارد (De-pablo et al., ۲۰۰۴).

مطالعات اپیدمیولوژیک کارایی برخی از لیپیدهای غذایی را در کاهش شدت بیماری‌هایی خودایمنی که جنبه التهابی دارند، نشان داده‌اند. رژیم‌های حاوی اسیدهای چرب با زنجیره بلند n-۳ pufa و n-۹ mufa می‌توانند سیستم ایمنی را تعدیل نمایند و از آنها می‌توان برای کاهش شدت علائم بیماری‌های التهابی مذکور استفاده کرد (De-pablo et al., ۲۰۰۴). شواهد برگرفته از مطالعات مداخله‌ای نشان داده‌اند که اضافه نمودن روغن زیتون و ماهی به رژیم غذایی باعث بهبود علائم آرتريت روماتوئید می‌شود که ناشی از مهار سیستم ایمنی از طریق تغییر واسطه‌های درگیر در پاسخ التهابی می‌شود (Kremer et al., ۱۹۹۰).

به طور کلی دیده شده است که اسیدهای چرب اشباع تأثیری بر تولید سایتوکاین‌ها ندارند. اسیدهای چرب غیر اشباع نیز با آن می‌توانند بر تولید سایتوکاین‌ها مؤثر باشند، توانایی یکسانی از این لحاظ ندارند. اولاً اسیدهای چرب غیر اشباع n-۳ بیشترین تأثیر را دارند ثانیاً اسیدهای چرب غیر اشباع n-۶ از این لحاظ مابین اسیدهای چرب غیر اشباع n-۳ و اسیدهای چرب اشباع قرار دارند. از طرفی، همین اسیدهای چرب غیر اشباع باعث مهار تولید سایتوکاین‌های Th۱ می‌شوند و تقریباً تأثیری بر تولید سایتوکاین‌های Th۲ ندارند. مکانیسم این اثر ظاهراً در سطح بیان ژن‌هاست (Wallac et al., ۲۰۰۱). مطالعات اخیر نشان داده‌اند که روغن ماهی از تکثیر کلون‌های

سلول‌های Th₁ ممانعت به عمل می‌آورد (Zhang et al., ۲۰۰۶).

تأثیر روغن زیتون در مقایسه با روغن ماهی به شکل خوراکی بر بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید (RA) بررسی شده است. در این مطالعه به هر فرد بیمار روزانه ۸۴ گرم اسید اولئیک مشتق از زیتون خوراند شده است. از مجموع ۴۵ متغیر بالینی، پنج متغیر در پی استفاده از این نوع درمان تغییر کرده‌اند. از جمله این که میزان تولید IL-۱ توسط ماکروفاژها ۳۸٪ کاهش یافته و تکثیر لنفوسیت‌های خون محیطی این افراد در پی درمان و تحت تأثیر Con-A افزایش نشان داده است (Kremer et al., ۱۹۹۰).

تأثیر انواع تجویز روغن‌های گرفته شده از منابع مختلف (ماهی، زیتون، آفتابگردان و ...) بر زیر مجموعه‌های لنفوسیت‌ها و اعمال آنها در رت بررسی شده است. در مجموع دیده شده است که همه انواع روغن در مقایسه با رژیم کم چربی باعث مهار تکثیر لنفوسیت‌های طحالی تحت تأثیر مواد میتوزن می‌شوند. ولی نسبت لنفوسیت‌های T به B، T کمی به TCD⁺، تغییری نمی‌کند و میزان بیان گیرنده اینترلوکین دو تحت تأثیر Con-A نیز دستخوش تغییر نمی‌شود (Yaqoob et al., ۱۹۹۴).

ایکوزانوییدها را عامل ارتباط دهنده اسیدهای چرب و اعمال لنفوسیتی می‌دانند. اینها شامل پروستاگلاندین‌ها، ترومبوکسان‌ها، لوکوترین‌ها و لیپوکسین‌ها می‌باشند. پیش‌ساز این مواد، اسید آراشیدونیک است که توسط فسفولیپاز A₂ از فسفولیپیدهای غشایی آزاد می‌گردد. لنفوسیت‌ها به طور کلی این مواد را به میزان بسیار کمی تولید می‌کنند و بیشتر اهدافی برای آنها هستند. از جمله ایکوزانوییدهای مشتق از اسید آراشیدونیک می‌توان به پروستاگلاندین E₂ و لوکوترین B₄ اشاره کرد. پروستاگلاندین E₂ باعث مهار تکثیر لنفوسیت‌ها، مهار عملکرد سلول‌های NK، و نیز مهار تولید سایتوکاین‌های Th₁ و تولید IL-۱ α و TNF- α توسط مونوسیت‌ها و ماکروفاژها و حتی کاهش بیان MHC II بر سطح آنها می‌شوند. لوکوترین B₄ اثراتی متضاد پروستاگلاندین E₂ دارد (Calder et al., ۲۰۰۷).

مصرف روغن‌های حاوی n-۳ pufa منجر به افزایش اسیدهای چرب چند غیر اشباع از قبیل ایکوزاپنتانوییک اسید^۱ و دوکوزاهگزانوییک اسید^۲ در غشاء سلول‌های التهابی می‌شود. ضمن این که مقدار اسید آراشیدونیک کاهش می‌یابد. نتیجه آن است که توانایی سلول‌های ایمنی در تولید ایکوزانوییدهای مشتق از اسید آراشیدونیک به میزان ۷۰-۴۰٪ کاهش می‌یابد و به جای آنها ایکوزانوییدهای مشتق از ایکوزاپنتانوییک اسید (EPA) ساخته می‌شوند که از لحاظ بیولوژیک ضعیف‌ترند (Calder et al., ۲۰۰۷).

مطالعات حیوانی نشان داده‌اند که اسیدهای چرب غیر اشباع تأثیر اندکی بر فعالیت لنفوسیت‌ها دارند ولی رژیم‌های حاوی میزان بالای اسیدهای چرب غیر اشباع به طور کلی باعث کاهش فعالیت لنفوسیت‌ها و تضعیف پاسخ ایمنی سلولی می‌شوند. کاهش مصرف چربی‌های در غذای انسان (از ۴۱٪ به ۲۵٪ کل انرژی جذب شده) باعث افزایش دو برابری پاسخ تکثیری لنفوسیت‌ها در برابر Con A و PHA و افزایش پنجاه درصدی فعالیت

^۱-Eicosapentaenoic acid

^۲- Dvkvzagzanvyyk acid