

دانشور

پزشکی

اثر کاروتنوئیدهای محلول در آب زعفران بر پاسخ ایمنی سلولی در موش BALB/c

نویسندگان: دکتر طیبه رجبیان¹، دکتر طوبی غضنفری^{2*} و فریده دانیالی³

1. استادیار گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم‌پایه دانشگاه شاهد و عضو گروه تحقیقاتی تنظیم پاسخ‌های ایمنی مرکز تحقیقات پزشکی
2. دانشیار گروه ایمونولوژی دانشکده پزشکی مرکز تحقیقات تنظیم پاسخ‌های ایمنی دانشگاه شاهد
3. کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری دانشکده علوم‌پایه دانشگاه شاهد

مسئول:

نویسنده

E-mail: tghazanfari@yahoo.com

چکیده

مقدمه: زعفران در طب سنتی برای درمان بیماری‌های مختلف، از جمله سرطان و بیماری‌های عفونی مورد استفاده قرار می‌گرفته است. در حال حاضر، فعالیت ضدتوموری، سیتوتوکسیک، ضد جهش‌زایی و آنتی‌اکسیدان متابولیت‌های مؤثر کلاله زعفران به‌ویژه کاروتنوئیدهای آن (کروسین و کروستین) نشان داده شده است. هدف: با توجه به ارزش غذایی زعفران و اهمیت شناخت دقیق سازوکارهای اثر آن، در این مطالعه اثر کاروتنوئیدهای محلول در آب کلاله این گیاه دارویی بر پاسخ ایمنی سلولی در موش Balb/c مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: کلاله‌های زعفران در فصل گلدهی تهیه و در فضای فاقد رطوبت خشک گردیدند. ابتدا کلاله‌ها با استفاده از اتر نفت و دی اتیل اتر در یک دستگاه سوکسله و در تاریکی برای حذف کاروتنوئیدهای غیر گلیکوزیدی، لیپیدها، ترکیبات معطر و پیکروکروسین عصاره‌گیری شدند و سپس در یک لوله درپوش‌دار محتوی 10 میلی‌لیتر آب مقطر به مدت 20 دقیقه در حمام آب جوش برای جداسازی کاروتنوئیدهای محلول در آب استخراج شدند. برای جداسازی بافت‌های گیاهی باقیمانده، عصاره در 3000 g و در دمای 10°C به مدت 20 دقیقه سانتریفوژ شد. به 6 گروه 4 تایی موش Balb/c دوزهای مختلف از عصاره تزریق گردید. پاسخ ایمنی سلولی با آزمون ازدیاد حساسیت تأخیری و اندازه‌گیری فعالیت حیاتی سلول‌ها به روش MTT انجام گردید.

نتایج: تجویز مقادیر 20 و 10 mg/kg از عصاره حاوی کاروتنوئیدهای محلول در آب زعفران، بدون حضور میتوزن و مقدار 20 mg/kg از عصاره در حضور میتوزن موجب کاهش معنی‌داری در فعالیت حیاتی سلول‌ها شدند. دوزهای مختلف به کار رفته در این مطالعه تأثیر معنی‌داری بر پاسخ DTH نداشتند.

بحث: نتایج این مطالعه نشان داد که کاروتنوئیدهای محلول در آب کلاله‌های زعفران به صورت وابسته به دوز باعث کاهش پاسخ ایمنی سلولی می‌گردند. انجام مطالعات بیشتر با دوزهای مختلف و بررسی سایر سازوکارهای ایمنی پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: زعفران، کاروتنوئیدها، ایمنی سلولی، ازدیاد حساسیت تأخیری، فعالیت حیاتی سلول

علفی است که از گذشته‌های دور شناخته شده است. بعضی منشأ زعفران را نواحی مختلف آسیا، مانند هند و ایران می‌دانند. هم‌اکنون ایران سهم عمده‌ای در تولید زعفران دنیا دارد.

مقدمه

زعفران (saffron) یک ادویه گران‌قیمت است که از کلاله‌های قرمز رنگ و سه شاخه زعفران زراعی (*Crocus sativus* L.) به دست می‌آید. زعفران گیاهی پایا و

دوماهنامه علمی - پژوهشی دانشگاه شاهد سال پانزدهم - شماره 76 شهریور 1387

وصول: 86/12/7

ارسال اصلاحات: 87/2/2

دریافت اصلاحات: 87/2/18

طب مکمل شده است. لذا کنترل مطلوب پاسخ‌های ایمنی پس از شناسایی ترکیبات ایونومدولاتور می‌تواند یکی از اهداف تحقیقاتی در علوم‌پایه پزشکی باشد. گیاهان دارویی به‌عنوان یکی از منابع غنی از مواد ایونومدولاتور مطرح می‌باشند [23-31]. مطالعات فراوانی در مورد آثار ایونومدولاتوری ترکیبات دارویی گیاهی در کشورهای با سابقه طب سنتی صورت گرفته است. در کشور ما علی‌رغم گنجینه غنی طب سنتی ایران و منابع متنوع گیاهان دارویی متأسفانه کم‌تر به این موضوع پرداخته شده است. در سال‌های اخیر مطالعات هدفمندی در دانشگاه شاهد در مورد شناسایی و جداسازی مواد ایونومدولاتور از گیاهان دارویی بومی آغاز گردیده است. در همین راستا و با توجه به ارزش غذایی زعفران و کاربرد وسیع آن در دنیا و با توجه به گزارش‌های موجود در مورد اثر آن بر مهار رشد سلول‌های سرطانی، در این مطالعه اثر کاروتنوئیدهای کلالة این گیاه دارویی بر پاسخ سلولی در موش Balb/c مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

عصاره‌گیری از کلالة زعفران بنه‌های گلدار زعفران در فصل گلدهی (پاییز- آبان ماه) از مزرعه‌ای واقع در شهرگناباد تهیه شدند. پس از جدا کردن کلالة‌ها از دیگر اجزای گل، آن‌ها در تاریکی در دمای اتاق و در فضای فاقد رطوبت خشک گردیدند. مقدار 100mg از نمونه خشک کلالة به‌طور متوالی با 50mL اتر نفت (نقطه جوش 40-60°C) و 50mL دی‌اتیل اتر (BHT 0/03%) در یک دستگاه سوکسله و در تاریکی برای حذف کاروتنوئیدهای غیرگلیکوزیدی، لیپیدها، ترکیبات معطر و پیکروکروسین عصاره‌گیری شد. سپس نمونه در یک لوله درپوش‌دار محتوی 10mL آب مقطر به مدت 20 دقیقه در حمام آب جوش عصاره‌گیری شد. پس از آن

زعفران به‌طور عمده به‌عنوان یک ماده رنگ‌دهنده و طعم‌دهنده در صنایع غذایی، دارویی و نساجی مورد استفاده قرار می‌گیرد. رنگیزه‌های کاروتنوئیدی محلول در آب (کروسین‌ها)، گلیکوزید تلخ مزه پیکروکروسین و مواد فرار معطر (سافرانیال) مهم‌ترین مواد کلالة زعفران را تشکیل می‌دهند. زعفران در اروپا و مشرق‌زمین در طب سنتی برای درمان سرطان‌هایی چون مثانه، کبد، طحال، پستان، دهان، رحم توصیه می‌شده است. زعفران گاهی نیز جهت درمان اسهال خونی، سرخک، تب، یرقان، بزرگ‌شدن کبد و طحال، عفونت دستگاه‌های ادراری، دیابت و همچنین به‌عنوان یک ماده محرک و آرام‌بخش مورد استفاده قرار می‌گرفته است [1].

در طب نوین با مشخص شدن نقش زیستی برخی از فراورده‌های گیاهی، به‌ویژه کاروتنوئیدها در کاهش ابتلا به برخی بیماری‌ها به‌ویژه سرطان‌ها، مطالعات گسترده‌ای با کمک تجارب آزمایشگاهی و اپیدمیولوژیکی روی مدل‌های حیوانی و انسانی بر روی خواص دارویی زعفران آغاز گردیده است [2-6]. در حال حاضر فعالیت ضد توموری، سیتوتوکسیک و ضد جهش‌زایی [7-14]، آنتی‌اکسیدان [15-18] و ضد سمیت‌ژنی [19-22]. متابولیت‌های مؤثر کلالة زعفران به‌ویژه، کاروتنوئیدهای آن (کروسین و کروسنتین) نشان داده شده است.

سیستم ایمنی در اتیولوژی و پاتوفیزیولوژی بیماری‌های متعدد دخالت می‌کند. تعدیل پاسخ‌های ایمنی به منظور بهبود و کنترل بیماری‌ها سال‌ها است که مد نظر محققین رشته‌های مختلف علوم پزشکی است. پاسخ‌های سیستم ایمنی می‌توانند توسط عوامل متعدد، از جمله برخی ترکیبات موجود در باکتری‌ها، قارچ‌ها، گیاهان و نیز محصولات سنتزی تعدیل شوند. در سال‌های اخیر تلاش فراوانی توسط محققین جهت شناسایی مواد تعدیل‌کننده سیستم ایمنی صورت گرفته است که از این میان، توجه خاصی به گیاهان دارویی، محصولات طبیعی و

گروه‌های مختلف تیمار

حجم عصاره تجویز شده (μL)	مقدار ماده (mg/mL)	دوز تجویز شده (mg/kg)	میانگین وزن (gr)	گروه‌ها
100 میکرولیتر آب مقطر	-	-	25	کنترل
100 میکرولیتر عصاره	0/25	1	25	1
100 میکرولیتر عصاره	0/15	5	30	2
100 میکرولیتر عصاره	0/3	10	30	3
100 میکرولیتر عصاره	0/6	20	30	4
100 میکرولیتر عصاره	0/9	30	30	5
100 میکرولیتر عصاره	1/5	50	30	6

سنجش فعالیت حیاتی لنفوسیت‌ها به روش MTT

پس از پایان مدت زمان تیمار (14 روز)، موش‌ها با استفاده از پنبه آغشته به اتر بیهوش گردیدند و سپس در شرایط سترون پس از بازکردن پوست سینه، طحال آن‌ها برداشته شده و در پتری دیس‌های سترون قرار داده شدند. با استفاده از تزریق RPMI به داخل بافت طحال و ماساژ آرام آن با نوک پنس، سلول‌های بافت طحال جدا و به لوله سترون منتقل گردیدند. سپس با استفاده از بافر لیزکننده، گلبول‌های قرمز لیز شد و پس از دو مرحله شستشو، سلول‌های باقیمانده که عمدتاً لنفوسیت بودند، جدا گردیدند. در پایان، RPMI حاوی 10% FBS اضافه و سلول‌ها با لام نئوبار شمارش شدند. سپس تعداد 2×10^5 سلول در هر چاهک پلیت 96 خانه کشت و در انکوباتور 37 درجه حاوی 5 درصد CO_2 قرار داده شدند.

پس از گذشت 48 ساعت، به هر چاهک یک دهم حجم محیط چاهک MTT اضافه شد و پس از 4 ساعت قرار

برای جداسازی باقیمانده‌های گیاهی، عصاره در 3000g و در دمای $10^\circ C$ به مدت 20 دقیقه سانتریفوژ شد. محلول رو شناور (حاوی کروسین‌ها) برای آزمایش‌های درمانی مورد استفاده قرار گرفت.

آزمایش‌ها روی حیوان

تعداد 28 سر موش نر Balb/c با میانگین وزنی 28 گرم در سن 8-10 هفته‌ای که در شرایط دما و رطوبت کنترل شده و فاقد پاتوژن نگهداری شده بودند، به‌طور تصادفی به 6 گروه 4 تایی برای تیمار با عصاره آبی کلانه زعفران و یک گروه کنترل 4 تایی گروه‌بندی شدند. در گروه‌های تیمار، دوزهای مختلف عصاره آبی زعفران طبق جدول 1 به صورت خوراکی به حیوانات خورانده شدند. به حیوانات گروه کنترل $100 \mu L$ آب مقطر سترون خورانده شد. تیمار حیوانات با عصاره به‌طور روزانه و به مدت دو هفته ادامه داشت.

روش سنجش افزایش حساسیت تأخیری (DTH)

برای تحریک سیستم ایمنی سلولی، به هر موش در روز شروع تجویز عصاره، تعداد 1×10^8 گلبول قرمز خون گوسفند (sRBC) در پشت دم و در روز هفتم نیز همان مقدار سلول به‌عنوان دوز یادآور در همان محل به صورت زیر جلدی تزریق گردید. در روز آخر، همین تعداد sRBC در کف پای موش‌ها تزریق گردید و پس از گذشت 24 ساعت با استفاده از کولیس ورنیه با دقت 0/01، درصد افزایش قطر پای تزریق شده و تزریق نشده اندازه‌گیری شد. سپس میزان DTH طبق فرمول زیر محاسبه گردید [27]:

$$DTH = \frac{100 \times (\text{مقدار تورم پای تزریق شده (L)} - \text{مقدار تورم پای تزریق نشده (R)})}{\text{مقدار تورم پای تزریق نشده (R)}}$$

جدول 1. دوزهای استفاده شده از عصاره آبی کلانه زعفران در

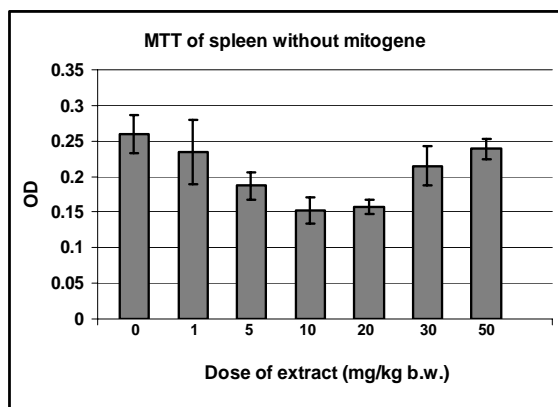
معنیداری	DTH (میانگین±خطای استاندارد)	میزان دوز تجویز شده (mg/kg)	گروه‌ها
-	0/062±0/084	0	کنترل
0/431	0/004 ±0/002	1	1
0/772	0/083±0/035	5	2
0/496	0/010±0/030	10	3
0/163	0/169 ±0/084	20	4
0/957	0/066 ±0/043	30	5
0/905	0/071±0/034	50	6

MTT در جداول 3 و 4 و نمودارهای 1 و 2 آورده شده است.

متعاقب آنالیز داده‌های حاصل از اندازه‌گیری جذب نوری حیاتی MTT کاهش معنیداری در فعالیت لنفوسیت‌ها موش‌های تحت تیمار عصاره زعفران در غیاب میتوژن بین گروه کنترل و گروه‌های 3 و 4 (تیمار شده با دوزهای 20 mg/kg و 10 عصاره زعفران) مشاهده گردید.

جدول 3. فعالیت حیاتی لنفوسیت‌ها با آزمون MTT متعاقب تجویز خوراکی دوزهای مختلف عصاره آبی کلانه زعفران در موش‌های Balb/c بدون حضور میتوژن

معنیداری	میزان جذب (میانگین±خطای استاندارد)	میزان دوز تجویز شده (mg/kg)	گروه ها
-	0/260±0/027	0	کنترل
0/992	0/235 ±0/045	1	1
0/284	0/187±0/019	5	2
0/035	0/152±0/018	10	3
0/044	0/157±0/010	20	4
0/890	0/215 ±0/027	30	5
0/996	0/239 ±0/014	50	6



نمودار 1. فعالیت حیاتی لنفوسیت‌ها با آزمون MTT متعاقب تجویز خوراکی دوزهای مختلف عصاره آبی کلانه

دادن نمونه‌ها در انکوباتور، محلول روی سلول‌ها برداشته شد و بلورهای ایجاد شده بر روی سلول‌ها در 100µL ایزوپروپانول اسیدی حل گردیدند. پس از انتقال به پلیت الیزا، جذب نوری نمونه‌ها در طول موج 492 نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان جذب نوری، شاخص فعالیت حیاتی سلول‌ها است [30 و 31].

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها به منظور بررسی وجود تفاوت بین گروه‌های مختلف تحت تیمار با گروه کنترل از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و به دنبال آن آزمون توکی (Tukey) در سطح معنیدار $\alpha=0/05$ استفاده گردید. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام گرفت. داده‌ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد بیان شدند.

نتایج

سنجش DTH (ازدیاد حساسیت تأخیری) دوزهای مختلف عصاره آبی کلانه زعفران به مدت دو هفته به موش‌های نر Balb/c به صورت خوراکی تجویز شد. آنتیژن sRBC طبق روشی که در بخش روش‌ها توضیح داده شد در کف پای موش‌ها تزریق گردید و پاسخ DTH سنجیده شد. همان‌گونه که در جدول 2 مشاهده می‌شود با توجه به آنالیز آماری، تغییر معنیداری در پاسخ DTH موش‌های تحت تیمار عصاره آبی کلانه زعفران مشاهده نشد.

پاسخ فعالیت حیاتی لنفوسیت‌ها با آزمون MTT

با استفاده از آزمون MTT میزان فعالیت حیاتی سلول‌های لنفوسیت طحال موش‌های تحت تیمار مورد سنجش قرار گرفت. نتایج جذب نوری ناشی از حیاتی

جدول 2. ازدیاد حساسیت تأخیری متعاقب تجویز خوراکی دوزهای مختلف عصاره آبی کلانه زعفران در موش‌های Balb/c

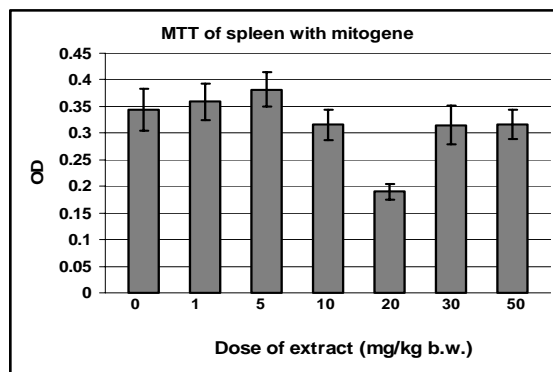
زیوه) و از تست MTT جهت ارزیابی فعالیت حیاتی سلول‌ها در *in vitro* (در شیشه) استفاده گردید. دوزهای مختلف از عصاره آبی کلاله زعفران به مدت 14 روز به موش‌های Balb/c خوراندند. نتایج این بررسی نشان داد که پاسخ DTH به آنتیژن مورد استفاده پس از تجویز دوزهای مختلف دارو تغییر معنی‌داری نمی‌کند. فعالیت حیاتی سلول‌های طحال در گروه‌هایی که مقادیر 10 و 20mg/kg عصاره زعفران را دریافت کرده‌اند در غیاب میتوزن، و در گروهی که 20 mg/kg از عصاره را دریافت کرده است، در حضور میتوزن کاهش معنی‌داری نشان داد. این نتایج نشان داد که عصاره آبی زعفران در مقادیر مورد اشاره پاسخ سلولی را کاهش داده و در مقادیر کم‌تر و بیشتر، فاقد این اثر می‌باشد. دلیل عدم تفاوت در پاسخ DTH را می‌توان به دلیل حساس نبودن این آزمون دانست. باید در نظر داشت که اگر چه آزمون جلدي DTH از حساسیت مناسبی برخوردار نیست، اما به دلیل امکان انجام آن در شرایط *in vivo* و ساده و ارزان بودن آن هنوز به عنوان یک ابزار مناسب در ارزیابی پاسخ ایمنی سلولی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این مطالعه، عدم تغییر معنی‌دار در DTH و کاهش فعالیت حیاتی سلول‌ها تنها در برخی از گروه‌ها در آزمون MTT بیانگر این موضوع است که این اثر کاهش‌دهنده در مطالعات دیگری نشان داده شده است که زعفران موجب اثر سیتوتوکسیک بر سلول‌های سرطانی شده است [2-7] و [9-12]. نتایج تحقیقات نشان داده‌اند که کاروتنوئیدهای کلاله زعفران، به‌ویژه کروسین‌ها دارای آثار وابسته به دوز بر روی سلول‌های بدخیم انسانی می‌باشند. در بررسی‌های انجام شده اثر کاروتنوئیدهای زعفران در دوزهای مختلف (200, 100, 80, 50, 25, 20, 10) بر روی انواعی از نژادهای سلول سرطانی انسان (HeLa, A549, VA31, A-204, HepG2, S-180, EAC, DLA, P388) مورد مطالعه قرار گرفته و

زعفران در موش‌های Balb/c بدون حضور میتوزن. داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد SE نشان داده شده‌اند.

جدول 4. فعالیت حیاتی لنفوسیت‌ها با آزمون MTT متعاقب تجویز خوراکی دوزهای مختلف عصاره کلاله آبی زعفران در موش‌های Balb/c در حضور میتوزن

گروه‌ها	میزان دوز تجویز شده (mg/kg)	میزان جذب (میانگین \pm خطای استاندارد)	معنی‌داری
کنترل	0	0/4385 \pm 0/0398	-
1	1	0/3594 \pm 0/0345	0/551
2	5	0/3819 \pm 0/0318	0/840
3	10	0/3154 \pm 0/0280	0/840
4	20	0/1898 \pm 0/0147	0/000*
5	30	0/3146 \pm 0/0364	0/099
6	50	0/3165 \pm 0/0269	0/122

*با توجه به آنالیز فوق کاهش معنی‌داری در فعالیت حیاتی لنفوسیت‌ها موش‌های تحت تیمار عصاره آبی زعفران در حضور میتوزن بین گروه کنترل و گروه 4 (20mg/kg b.w.) مشاهده می‌شود.



موردار 2. فعالیت حیاتی لنفوسیت‌ها با آزمون MTT متعاقب تجویز خوراکی دوزهای مختلف عصاره آبی زعفران در موش‌های Balb/c در حضور میتوزن. داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد (SE) نشان داده شده‌اند.

بحث

در این مطالعه برای اولین بار، اثر عصاره زعفران بر پاسخ ایمنی سلولی مورد بررسی قرار گرفت. از ازدیاد حساسیت تأخیری (DTH) به‌عنوان شاخص ایمنی سلولی *in vivo* (در

مختلف بر پاسخ‌های ایمنی، به‌ویژه مولکول‌های ایمنی از جمله سایتوکاین‌ها انجام شود. آن‌جا که نتایج این تحقیق اثر ضدالتهابی را برای کاروتنوئیدهای زعفران مطرح می‌کند و با توجه به ارزشمند بودن این اثر پیشنهاد می‌شود بررسی‌های بیشتر در این مورد در مدل‌های سلامت و بیماری‌های التهابی صورت گیرد.

سپاسگزاری

این پژوهش با پشتیبانی مالی مرکز تحقیقات پزشکی دانشگاه شاهد انجام شده که بدین‌وسیله از حمایت و همکاری مسئولان محترم آن مرکز تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

1. ابراهیم‌زاده ح، رجیبیان ط، ابریشم چپی پ، کریمی‌ان ر و صبورا ع. زعفران ایران با نگاه پژوهشی. انتشارات اطلاعات، 1385، 644 صفحه.
2. Nair SC, Kurumboor SK, Hasegawa JH. Saffron chemoprevention in biology and medicine: a review. *Cancer Biother* 1995 winter; 10(4):257-640.
3. Deng Y, Guo ZG, Zeng ZL, Wang Z. Studies on the pharmacological effects of saffron (*Crocus sativus* L.). *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 2002 Aug; 27(8):565-8.
4. Abdullaev Jafarova F, Caballero-Ortega H, Riveron-Negrete L, Pereda-Miranda R, Rivera-Luna R, Manuel Hernandez J, Perez-Lopez I, Espinosa-Aguirre JJ. *In vitro* evaluation of the chemopreventive potential of saffron. *Rev Invest Clin* 2002 Sep-Oct; 54(5):430-6.
5. Giaccio M. Crocetin from saffron: an active component of an ancient spice. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2004; 44(3):155-72.
6. Schmidt M, Betti G, Hensel A. Saffron in phytotherapy: pharmacology and clinical uses. *Wien Med Wochenschr* 2007; 157(13-14):315-9.
7. Nair SC, Pannikar B, Panikkar KR. Antitumour activity of saffron (*Crocus sativus*). *Cancer Lett* 1991 May 1; 57(2):109-14.
8. Escribano J, Alonso GL, Coca-Prados M, Fernandez JA. Crocin, safranal and picrocrocin from saffron (*Crocus sativus* L.) inhibit the growth of human cancer cells in vitro. *Cancer Lett* 1996 Feb 27; 100(1-2):23-30.
9. Abdullaev FI, Espinosa-Aguirre JJ. Biomedical properties of saffron and its potential use in cancer therapy and chemoprevention trials. *Cancer Detect*

نتایج نشان داده‌اند که دوزهای بیش از 50mg/kg مؤثرتر بوده‌اند و یازده غلظت کشندگی عصاره‌های آبی و الکلی کلانه برای نژادهای مختلف سلول‌های سرطانی بین 7-200 $\mu\text{g/mL}$ تغییر می‌کند. فرضیه‌های متعددی تاکنون درباره چگونگی اثر ضدسرطانی زعفران ارائه شده است. در فرضیات مختلف، سازوکار عمل زعفران را عمدتاً به اثر بازدارندگی آن بر سنتز نوکلئیک اسیدها و واکنش‌های زنجیره‌ای رادیکال‌های آزاد (به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان)، تداخل در عملکرد سیستم آنزیمی درگیر در برهم‌کنش پروتئین-DNA و اثر آن در مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی (آپوپتوز) می‌دانند [11]. مهم‌ترین ویژگی کاروتنوئیدهای کلانه زعفران به منظور استفاده از آن به‌عنوان یک دارو در ممانعت از رشد سلول‌های سرطانی را حلالیت آن‌ها در آب می‌دانند. علی‌رغم وجود گزارش‌های متعدد در باره آثار ضد سرطانی زعفران، داده‌ها در رابطه با اثر زعفران به‌عنوان یک ماده ایمنومودولاتور بسیار اندک بوده، تنها به چند گزارش محدود می‌شود [19-22]. دوزهای مؤثر در غالب گزارش‌های موجود بیشتر ($>80\text{mg/kg}$) از دوزهای مورد استفاده در تحقیق حاضر است. نتایج این مطالعه با اثر ضدالتهابی گزارش شده در مورد زعفران [32] همخوانی دارد. با توجه به اندک بودن اطلاعات در مورد آثار تعدیل‌کنندگی ایمنی زعفران، نتایج تحقیق حاضر می‌تواند راهگشای مطالعات بعدی در این زمینه باشد. با توجه به خواص متعدد دارویی زعفران و نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر، بررسی خواص ضدالتهابی آن با بررسی سازوکارهای مولکولی لازم به نظر می‌رسد. همچنین سایر خواص ایمنومودولاتوری آن با استفاده از دوزهای کمتر و بیشتر ضروری است. برای رسیدن به این هدف، لازم است مطالعات کامل‌تری در مورد اثر مواد مؤثر زعفران به‌ویژه فراکشن‌های کاروتنوئیدی آن در دوزهای

- (*Crocus sativus* L.) on chemical-induced genotoxicity in mice. *Asia Pac J Clin Nutr* 2003; 12(4):474-6.
23. Borchers AT, Hckman RM, Keen CL, Stem JS, Gershwin ME. Complementary medicine: a review of immunomodulatory effects of Chinese herbal medicines. *Am J Clin Nutr* 1997; 66(6):1303-12.
 24. Qiu Y, Hu YL, Cui B A, Zhang HY, Kong XF, Wang DY, Wang YG. Immunopotentiating effects of four Chinese herbal polysaccharides administered at vaccination in chickens. *Poult Sci* 2007 Dec; 86(12):2530-5.
 25. Clarke JO, Mullin GE. A review of complementary and alternative approaches to immunomodulation. *Nutr Clin Pract* 2008 Feb; 23(1):49-62.
 26. Leemol D, Girgia K. Immunomodulatory activity of *Withania somnifera*. *Journal of Ethnopharmacol* 2000; 71(1):193-200.
 27. غضنفری ط، محمد حسن ز. بررسی تاثیر سربر ایمنی سلولی: افزایش حساسیت تأخیری (DTH). دانشور، دوماهنامه علمی-پژوهشی دانشگاه شاهد، 1373، 7، 8 (2): 82-87.
 28. Ghazanfari T, Hassan ZM, Khamesipour A. Enhancement of peritoneal macrophage phagocytic activity against *Leishmania major* by Garlic (*Allium Sativum*) treatment. *J Ethnopharmacol* 2006; 103(3): 327-332.
 29. Ghazanfari T, Hassan ZM, Ebrahimi M. Immunomodulatory activity of a protein isolated from garlic extract on delayed type hypersensitivity. *International Immunopharmacol* 2002 Oct; 2(11):1541-9.
 30. غضنفری ط، شاهرخی س، ناصری م و همکاران. بررسی سمیت فرآورده گیاهی ACAI بر رده سلول سرطانی ملانوما انسانی. مجله علوم پزشکی مازندران، 1385، دوره 16، شماره 42: 49-55.
 31. غضنفری ط، یارایی ر، ناصری م و همکاران. تاثیر فرآورده گیاهی ACAI بر پاسخ تکثیری و تولید نیتریک اکساید توسط ماکروفاژهای صفاقی موش Balb/c. مجله علوم پایه پزشکی ایران، 1386، ج 10، ش 1، 8-15.
 32. Hosseinzadeh H, Younesi HM. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Crocus sativus* L. stigma and petal extracts in mice. *BMC Pharmacol* 2002 Mar 15; 2:7.
 10. Escribano J, Alonso GL, Coca-Prados M, Fernandez JA. Crocin, safranal and picrocrocin from saffron (*Crocus sativus* L.) inhibit the growth of human cancer cells *in vitro*. *Cancer Lett* 1996 Feb 27; 100(1-2):23-30.
 11. Abdullaev Fikrat I. Cancer Chemopreventive and Tumoricidal Properties of Saffron (*Crocus sativus* L.). *Experimental Biology and Medicine* 2002, 227:20-25.
 12. Bathaie SZ, Bolhasani A, Hoshyar R, Ranjbar B, Sabouni F, Moosavi-Movahedi AA. Interaction of saffron carotenoids as anticancer compounds with ctDNA, Oligo (dG.dC)15, and Oligo (dA.dT)15. *DNA Cell Biol* 2007 Aug; 26(8):533-40.
 13. Chryssanthi DG, Lamari FN, Iatrou G, Pylara A, Karamanos NK, Cordopatis P. Inhibition of breast cancer cell proliferation by style constituents of different *Crocus* species. *Anticancer Res* 2007 Jan-Feb; 27(1A):357-62.
 14. Premkumar K, Thirunavukkarasu C, Abraham SK, Santhiya ST, Ramesh A. Protective effect of saffron (*Crocus sativus* L.) aqueous extract against genetic damage induced by anti-tumor agents in mice. *Hum Exp Toxicol* 2006 Feb; 25(2):79-84.
 15. Ochiai T, Ohno S, Soeda S, Tanaka H, Shoyama Y, Shimeno H. Crocin prevents the death of rat pheochromyctoma (PC-12) cells by its antioxidant effects stronger than those of alpha-tocopherol. *Neurosci Lett* 2004 May 13; 362(1):61-4.
 16. Assimpoulou AN, Sinakos Z, Papageorgiou VP. Radical scavenging activity of *Crocus sativus* L. extract and its bioactive constituents. *Phytother Res* 2005 Nov; 19(11):997-1000.
 17. Shen XC, Qian ZY. Effects of crocetin on antioxidant enzymatic activities in cardiac hypertrophy induced by norepinephrine in rats. *Pharmazie* 2006 Apr; 61(4):348-52.
 18. Kanakis CD, Tarantilis PA, Tajmir-Riahi HA, Polissiou MG. Crocetin, dimethylcrocetin, and safranal bind human serum albumin: stability and antioxidative properties. *J Agric Food Chem* 2007 Feb 7; 55(3):970-7.
 19. Abdullaev FI, Riveron-Negrete L, Caballero-Ortega H, Manuel Hernandez J, Perez-Lopez I, Pereda-Miranda R, Espinosa-Aguirre JJ. Use of *in vitro* assays to assess the potential antigenotoxic and cytotoxic effects of saffron (*Crocus sativus* L.). *Toxicol In Vitro* 2003 Oct-Dec; 17(5-6):731-6.
 20. Premkumar K, Kavitha S, Santhiya ST, Ramesh AR, Suwanteerangkul J. Interactive effects of saffron with garlic and curcumin against cyclophosphamide induced genotoxicity in mice. *Asia Pac J Clin Nutr* 2004; 13(3):292-4.
 21. Premkumar K, Abraham SK, Santhiya ST, Ramesh A. Protective effects of saffron (*Crocus sativus* Linn.) on genotoxins-induced oxidative stress in Swiss albino mice. *Phytother Res* 2003 Jun; 17(6):614-7.
 22. Premkumar K, Abraham SK, Santhiya ST, Ramesh A. Inhibitory effects of aqueous crude extract of [1; 2]

