مجله علوم پزشکی مدرس: آسیب‌شناسی زیستی
دوره ۱٤، شماره ۳: از ۲۵-۳٤
پاییز ۱۳۹۰

مقایسه اثر درمانی عصاره آبی و فرآورده R10 سیر در درمان زخم ناشی از لیشمانیا ماژور در مدل‌های موشی BALB/c و $C_{57}BL/6$ و سوری

فریبا خوش‌زبان[۱،۲*]، فاطمه غفاری‌فر[۳]، عباس محمودزاده پورناکی[٤]، طوبی غضنفری[٥]، محسن ناصری[٦]، علی خامسی‌پور[۷]، علیرضا نایینی[۱]، فاطمه‌سادات مجابی[۸]

۱- استادیار، گروه انگل‌شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۲- استادیار، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۳- دانشیار، گروه انگل‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۴-استاد، گروه انگل‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله(عج)، تهران، ایران
۵-استاد، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۶- دانشیار، مرکز تحقیقات کارآزمایی بالینی طب سنتی ایران، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۷- استاد، مرکز تحقیقات پوست و جذام، دانشگاه تهران، ایران
۸- پزشک، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

دریافت مقاله: ۸۹/۱۲/۰۹ پذیرش مقاله: ۹۰/۰۸/۰۴

چکیده

هدف: لیشمانیوز یکی از شش بیماری مهم انگلی مناطق گرمسیری دنیاست. روش‌های درمانی متعددی برای لیشمانیوز ارایه شده است؛ اما مقاومت تدریجی انگل به برخی از داروها مشکلات جدیدی را در رابطه با این بیماری به‌وجود آورده است. بنابراین امروزه استفاده از درمان‌های جدید به‌ویژه داروهای گیاهی به‌عنوان یکی از گزینه‌های درمانی مورد تحقیق قرار گرفته است. محققان حاضر نیز در این مطالعه درمان لیشمانیوز پوستی با گلوکانتیم و پماد عصاره سیر و پماد فرآورده R10 تهیه شده از عصاره سیر در مدل موشی را مقایسه نموده‌اند.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی که در دانشگاه شاهد انجام شد، اثر گلوکانتیم پماد عصاره سیر و پماد فرآورده R10 تهیه شده از عصاره سیر در مدل موشی روی زخم‌های جلدی ناشی از لیشمانیا ماژور، در موش‌های نژاد BALB/c، $C_{57}BL/6$ و سوری بررسی شد. هریک از این سه نژاد براساس این که کدام‌یک از این درمان‌ها را بگیرند یا اصلاً درمانی نگیرند به ٤ گروه تقسیم شدند. اثر درمانی ترکیبات مذکور به وسیله اندازه‌گیری قطر زخم‌ها و شمارش اجسام لیشمن در زخم‌ها قبل و پس از هشت هفته درمان و همچنین بررسی وجود یا عدم وجود انگل در کبد و طحال تعیین شد.

نتایج: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد پماد R10 تهیه شده از عصاره سیر، در بهبودی زخم موش‌های مبتلا به لیشمانیوز جلدی ناشی از لیشمانیا ماژور تأثیر معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$) که این تأثیر از هفته‌های سوم درمان به بعد معنی‌دار بود. اختلاف آماری بین گروه‌های مختلف از نظر وجود اجسام لیشمن (بار انگلی) نیز معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: با توجه به تجربیات حاصل از این پژوهش عصاره R10 اثربخشی خوبی در درمان بیماری سالک دارد که قابل مقایسه با گلوکانتیم است.

***نشانی مکاتبه:** تهران، دانشگاه شاهد، بزرگراه خلیج فارس، روبروی حرم مطهر امام خمینی، کدپستی: ۳۳۱۹۱۱۸٦۵۱
Email: fkhosh_99@yahoo.com

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-04-19]

کلیدواژگان: لیشمانیوز جلدی، عصاره سیر، فرآورده R10، مدل موشی

۱- مقدمه

لیشمانیوز (Leishmaniasis) یکی از مشکلات مهم بهداشتی در ایران و جهان است و سالانه تعداد زیادی از مردم به آن مبتلا می‌شوند. راه‌های کنترل بیماری از طریق مبارزه با ناقلین و مخازن تاکنون نتایج مطلوبی نداشته است [۱، ۲]. در انسان ضایعات متعددی از لیشمانیوز به شکل لیشمانیوز پوستی، لیشمانیوز احشایی و لیشمانیوز مخاطی دیده می‌شود [۳]. عامل بیماری گونه‌های مختلف انگل‌های جنس لیشمانیا هستند. این انگل‌ها از سیستم کشنده ماکروفاژها فرار کرده و در داخل آن‌ها زنده مانده و تکثیر می‌یابند [۱]. لیشمانیوز پوستی شایع‌ترین نوع بیماری لیشمانیوز است و از نظر جغرافیایی وسیع‌ترین انتشار را دارد. لیشمانیوز پوستی حاد شایع‌ترین شکل بیماری است. زخم‌های ناشی از لیشمانیا ماژور (*Leishmania major*) در مدت چند هفته تا چند ماه بدون درمان بهبود می‌یابند. ضایعات ناشی از این انگل می‌تواند زخم‌های وسیعی بدهد که برای بهبود نیاز به ماه‌ها زمان دارد و اغلب با عفونت ثانویه، وضعیت پیچیده‌تر می‌شود [۲].

عفونت‌های تجربی در موش‌ها با گونه‌های مختلف لیشمانیا، می‌تواند اشکال مشابهی از نوع لیشمانیوز پوستی انسانی ایجاد کند. بعضی از استرین‌های موش از قبیل BALB/c نسبت به عفونت با لیشمانیا ماژور به شدت حساس هستند، بر عکس گونه‌های دیگر موشی از قبیل C_3H و $C_{57}BL/6$ ضایعات بهبود یابنده همراه با ایمنی سلولی قوی از خود نشان می‌دهند، عفونت در این حیوانات مشابه ضایعات خودبه خود بهبود یابنده در انسان است [٤].

درمان‌های دارویی و روش‌های درمانی مختلفی برای این بیماری به‌کار رفته است که موثرترین آن‌ها استفاده از آنتی‌موان‌های پنج ظرفیتی [سدیم استیبوگلوکونات (Sodium Stibogluconate) (پنتوستام: Pentostam) و مگلومین آنتی‌موان (Meglumine Antimonate) (گلوکانتیم: Glucantime)] است که این داروها گران، کم‌یاب، دارای عوارض جانبی نسبتاً شدید و درمان آن‌ها طولانی مدت است، همچنین اثر درمانی تولیدهای مختلف آن متفاوت بوده و در سال‌های اخیر مقاومت دارویی، تأثیر درمانی آن‌ها را کاهش داده است [۵]. از روش‌های فیزیکی از قبیل الکتریسیته، گرمادرمانی و سرمادرمانی نیز در درمان برخی از انواع لیشمانیوز استفاده شده است [٦]. به‌نظر می‌رسد در درمان موفق لیشمانیوز، تقویت سیستم ایمنی به‌خصوص تقویت ایمنی سلولی و افزایش پاسخ‌های ایمنی Th1 (T helper 1) کلید حل مشکل باشد. بنابراین روش‌ها یا داروهایی که بتوانند پاسخ ایمنی Th1 را در میزبان تقویت نمایند، می‌توانند با کشتن انگل‌ها بیماری را کنترل کنند [۷].

در سال‌های اخیر فرآورده‌های گیاهی مختلفی به‌عنوان تقویت کننده سیستم ایمنی در دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد مطالعه و ارزیابی شده است [۸، ۹]. سیر دارای خواص دارویی زیادی است که از گذشته‌های دور مورد توجه بوده است. آثار ایمونومودولاتوری (تعدیل کننده سیستم ایمنی=Immunomodulators) سیر تقویت کننده پاسخ‌های ایمنی سلولی به‌وسیله تقویت پاسخ‌های Th1 است که باعث افزایش بلع انگل لیشمانیا توسط ماکروفاژها می‌شود. مطالعات قبلی نشان می‌دهد که خواص ایمونومودولاتوری سیر بیشتر مربوط به فرآورده R10 (Residue of 10 micro Filtration) است. R10 یک گلیکوپروتئین با وزن ملکولی ١٤ کیلودالتون است [۱۰-۱۲].

در مطالعات قبلی اثر سیر بر انگل لیشمانیا در شرایط آزمایشگاهی انجام شده بود [۱۳]، در این پژوهش پس از ایجاد زخم لیشمانیوز پوستی در مدل‌های حیوانی مختلف، با استفاده از داروهای رایج (آنتی‌موان پنج ظرفیتی) و فرآورده گیاهی عصاره سیر و ماده ایمونومدولاتور (R10)، به درمان بیماری پرداخته و نتایج از نظر اندازه زخم (میلی‌متر)، طول درمان، وجود

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-04-19]

انگل در موضع و بقا بررسی شد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مدل حیوانی زخم لیشمانیایی

سه مدل موشی، BALB/c و C57BL/6 و موش سوری (موش کوچک سفید آزمایشگاهی) از مؤسسه سرم‌سازی و تحقیقاتی رازی به تعداد مورد نیاز خریداری شد.

۲-۲- ایجاد زخم لیشمانیایی در موش‌های تحت مطالعه

انگل مورد استفاده لیشمانیا ماژور سویه استاندارد ایران (MRHO/IR/75/ER) بود که در موش سفید کوچک آزمایشگاهی نژاد BALB/c به‌عنوان مخزن نگهداری می‌شد. انگل‌ها پس از دریافت از موش در محیط‌های دوفازی (NNN) و تک‌فازی (Fetal Calf Serum) FCS + RPMI) ۱۰ درصد) تکثیر یافتند و برای ایجاد زخم در موش‌های مورد آزمایش تلقیح شدند. انگل از محیط‌های NNN و RPMI که تا پاساژ سوم قابل استفاده است برداشت شد. تعداد انگل در هنگام تزریق، 10^6 در هر میلی‌لیتر و در فاز ایستا بود. به‌وسیله سرنگ انسولین به مقدار ۰/۲ میلی‌لیتر(به اندازه یک عدس) در داخل جلد در انتهای قاعده دم موش تزریق شد. موش‌ها در قسمت مخصوص در حیوان‌خانه نگهداری شده و بعد از یک هفته الی یک ماه و نیم روزانه بررسی شدند.

۲-۳- گروه‌بندی موش‌ها

موش‌های دارای زخم از نظر وجود زخم لیشمانیایی با روش آزمایش میکروسکوپی و مشاهده جسم لیشمن (Leishman Body) مورد تأیید قرار گرفته و سه استرین موشی در گروه‌های ۱۰ تایی (٤ گروه شامل گروه کنترل، گروه تحت درمان با عصاره سیر به‌صورت پماد، گروه تحت درمان با فرآورده R10 به‌صورت پماد و گروه تحت درمان با گلوگانتیم) تقسیم شدند.

یک گروه از هر استرین موشی به‌عنوان گروه کنترل بدون درمان تا پایان تحقیق برای بررسی پیشرفت بیماری، طول زمان زخم، اندازه زخم (میلی‌متر) در طول زمان، بهبود یا عدم بهبود خود به‌خود، مرگ و میر حیوانات و وجود انگل در کبد و طحال در نظر گرفته شد و بقیه گروه‌ها به‌عنوان گروه‌های تحت درمان (۳ گروه) با داروهای مورد نظر تیمار و درمان شدند.

۲-٤- درمان موش‌ها

الف) درمان با آنتی‌موان پنج ظرفیتی (گلوکانتیم با غلظت ۵ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر)، هفته‌ای یک‌بار، به‌صورت تزریقی با استفاده از سرنگ انسولین و با تزریق مقدار ۰/۳- ۰/۵ میلی‌لیتر در محل زخم در نقاط مختلف آن انجام گرفت.

ب) درمان با عصاره سیر و R10 (بخش ایمونومدولاتور= تعدیل کننده سیستم ایمنی عصاره سیر) که به‌صورت پماد از ماده اصلی تهیه شد و دفعات استفاده از پماد ۲ بار در روز بود.

۲-۵- تهیه پماد عصاره سیر و پماد R10

برای تهیه عصاره سیر مقدار ۵۰۰ گرم از حبه‌های پوست کنده سیر که یک شب در فریزر نگهداری شده بود به همراه آب مقطر استریل در مخلوط‌کن خرد، سپس چند بار از میان پارچه استریل و فیلتر واتمن (Whatman Filter) عبور داده و صاف شد. محلول به‌دست آمده با دور ۵۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۳۰ دقیقه در سانتریفوژ یخچال‌دار، سانتریفوژ شده و مایع رویی به‌عنوان عصاره آبی سیر جدا شد. به‌منظور مشخص بودن رقت تام هنگام مخلوط کردن از رقت یک به یک سیر و آب مقطر استفاده شد. پماد عصاره با وارد نمودن عصاره آبی سیر در اوسرین (Eucerin) به‌عنوان پایه پماد به نسبت ۱ به ۱۰ به‌دست آمد [۱۰].

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-04-19]

۲-۵-۱- طرز تهیه پماد R10

در این روش از فیلترهای سانتریفوژی آمیکون (Amicon Centrifugal Filter) استفاده شد. عصاره سیر آبی تهیه شده به روش قبل از چندین فیلتر با اندازه‌های مختلف ۵، ۱۰، ۳۰، ۵۰ و ۱۰۰ کیلودالتونی عبور داده شد و به‌ترتیب مولکولهای با وزن بالاتر از این مقدار در محلول رویی موجود در بالای فیلتر باقی ماند و از فیلتر رد نشد. بدین ترتیب عصاره R10 که حاصل فیلتر کردن این فرآورده از فیلترهای بین ۳۰ کیلو دالتونی و ۱۰ کیلو دالتونی در روی فیلتر بود به‌عنوان R10 آماده شد. ماده حاصل از فرآورده به نسبت ۱به ۱۰ با ماده اولیه اوسرین ترکیب و پماد R10 تهیه شد [۱۰].

۲-۶- پیگیری مراحل آزمایش و درمان

موش‌ها از نظر پیشرفت یا بهبود بیماری (مدت زمان زخم، اندازه زخم (میلی‌متر) در طول درمان، بهبود یا عدم بهبود، وجود یا عدم وجود انگل در محل، مرگ و میر و ...) کنترل شدند.

۲-۷- نمونه‌گیری از کبد و طحال و زخم در انتهای آزمایش (آخر هفته هشتم)

در پایان هفته هشتم، نمونه‌گیری از زخم انجام شده و بعد از کشتن موش‌ها، نمونه‌گیری از کبد و طحال نیز انجام شد تا به توانایی انگل در انتشار و درگیری سایر اندام‌ها بررسی شود. پس از نمونه‌گیری و تهیه گسترش فشاری (قطعه کوچکی از بافت کبد یا طحال به اندازه یک عدس بین دو اسلاید شیشه‌ای قرار داده شد و با فشار دادن و کشیدن لام‌ها در دو جهت مخالف، دو نمونه گسترش فشاری تهیه شد)، اسلایدهای تهیه شده پس از رنگ‌آمیزی گیمسا (Giemsa) در زیر میکروسکوپ با عدسی روغنی (۱۰۰×) بررسی شده و با استفاده از تعریف زیر به‌عنوان معیار، وجود انگل در اندام‌ها رتبه‌بندی شد.

به‌طور میانگین تعداد انگل در میدان‌های دید مختلف میکروسکوپی به ازای هر ۱۰۰ هسته سلول ماکروفاژ بافت شمارش شد. وجود یک جسم لیشمن مثبت تلقی شد و اگر در کل لام، انگلی مشاهده نشد، منفی در نظر گرفته شد. در مجموع دو نمونه از کبد و دو نمونه از طحال از هر موشی تهیه شد.

۲-۸- محاسبه بار انگلی زخم‌ها

در شروع درمان (قبل از زدن پماد سیر و R10 و گلوکانتیم) و نیز در انتهای درمان (قبل از کشتن موش‌ها)، نمونه‌گیری از زخم‌ها انجام شد و بنا به تعریف زیر رتبه‌بندی شدت آلودگی زخم‌ها (بار انگلی) انجام شد:

چنان‌چه در میانگین ۱۰ میدان دید میکروسکوپی با عدسی روغنی، ۱ جسم لیشمن دیده می‌شد ۱+، اگر ۱ تا ۱۰ جسم لیشمن دیده می‌شد ۲+، اگر ۱۱ تا ۱۰۰ عدد دیده می‌شد ۳+ و اگر ۱۰۱ تا ۱۰۰۰ عدد دیده می‌شد ٤+ در نظر گرفته می‌شد و اگر در کل لام هیچ انگلی دیده نمی‌شد، منفی تلقی می‌شد.

در نهایت نتایج در جداول ثبت شده و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با روش آنالیز واریانس یک‌طرفه انجام گرفت و تفاوت بین میانگین‌ها با آزمون من‌ویتنی (Mannwhitney) و کروسکال- والیس (Kruskal-Wallis) و با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۳ صورت پذیرفت. سطح معنی‌دار برای تفسیر نتایج ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

۲-۹- اندازه‌گیری قطر زخم‌ها

برای اندازه‌گیری قطر زخم‌ها از کولیس استفاده شد که از هر زخم دو قطر اندازه‌گیری و میانگین آن‌ها به‌دست آمد؛ سپس میانگین و انحراف معیار محاسبه شد.

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-04-19]

۳- نتایج

۳-۱- بهبودی کامل زخم

بهبودی در گروه موش‌های BALB/c تحت درمان با گلوکانتیم، ۳ مورد در هفته‌های دوم، چهارم و پنجم، در گروه تحت درمان با R10، ۲ مورد در هفته پنجم و در گروه تحت درمان با سیر، ۲ مورد در هفته‌های دوم و هفتم مشاهده شد. در گروه کنترل موردی از بهبودی دیده نشد.

در گروه موش‌های C57BL/6 تحت درمان با گلوکانتیم، ۲ مورد در هفته هشتم و در گروه تحت درمان با R10، ۳ مورد از بهبودی در هفته‌های پنجم و هفتم دیده شد. در گروه تحت درمان با سیر ۲ مورد در هفته‌های دوم و ششم دیده شد. در گروه کنترل موردی از بهبودی دیده نشد.

فقط ۱ مورد مرگ در گروه موش‌های BALB/c تحت درمان با R10 در هفته پنجم درمان اتفاق افتاد.

بهبودی در موش‌های سوری تحت درمان با گلوکانتیم، ٤ مورد در هفته‌های دوم، چهارم و پنجم، در گروه تحت درمان با R10، ٤ مورد در هفته سوم، چهارم و پنجم و در گروه تحت درمان با سیر، ۲ مورد در هفته‌های پنجم و هفتم مشاهده شد. در گروه کنترل موردی از بهبودی دیده نشد.

۳-۲- میزان بار انگلی در زخم موش‌های BALB/c

میزان بار انگلی در همه گروه‌های تحت درمان پس از طی دوره درمان کاهش محسوسی را نشان داد که برای گروه‌های تحت درمان با R10 و گلوکانتیم در ۸۰ درصد موارد حذف انگل مشاهده شد. سایر نتایج در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱ درصد میزان بار انگلی در زخم موش‌های BALB/c قبل و پس از درمان

گروه‌های تحت درمان	درصد بار انگلی	درصد میزان بار انگلی در زخم موش‌های BALB/c				
		منفی	+۱	+۲	+۳	+٤
سیر	قبل از درمان	۰	٦۰	۰	۰	٤۰
	پس از درمان	۲۰	۸۰	۰	۰	۰
R10	قبل از درمان	۰	۲۰	۲۰	۲۰	٤۰
	پس از درمان	۸۰	۰	۰	۲۰	۰
گلوکانتیم	قبل از درمان	۰	۸۰	۰	۰	۲۰
	پس از درمان	۸۰	۰	۲۰	۰	۰
کنترل	قبل از درمان	۰	۷۵	۰	۰	۲۵
	پس از درمان	۰	۰	۲۵	۲۵	۵۰

جدول ۲ درصد میزان بار انگلی در زخم موش‌های C57BL/6 قبل و پس از درمان

گروه‌های تحت درمان	درصد بار انگلی	درصد میزان بار انگلی در زخم موش‌های C57BL/6				
		منفی	+۱	+۲	+۳	+٤
سیر	قبل از درمان	۰	۰	۵۰	۱٦/۷	۳۳/۳
	پس از درمان	۰	۱٦/۷	٦٦/۷	۰	۱٦/۷
R10	قبل از درمان	۰	۲۰	۲۰	٤۰	۲۰
	پس از درمان	۰	٤۰	٦۰	۰	۰
گلوکانتیم	قبل از درمان	۰	۰	۳۳/۳	۵۰	۱٦/۷
	پس از درمان	۱٦/۷	۵۰	۳۳/۳	۰	۰
کنترل	قبل از درمان	۰	٤۰	۰	٤۰	۲۰
	پس از درمان	۰	۲۰	۲۰	٤۰	۲۰

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-04-19]

۳-۳- میزان بار انگلی در زخم موش‌های C57BL/6

میزان بار انگلی در زخم موش‌ها در همه گروه‌های تحت درمان پس از طی دوره درمان کاهش نشان می‌دهد که برای گروه‌های تحت درمان با گلوکانتیم در ۱۶/۷ درصد موارد حذف انگل مشاهده شد. سایر نتایج در جدول ۲ آمده است.

۳-٤- میزان بار انگلی در زخم موش‌های سوری

میزان بار انگلی در زخم موش‌ها در همه گروه‌های تحت درمان پس از طی دوره درمان کاهش نشان می‌دهد که برای گروه‌های تحت درمان با گلوکانتیم در ۳۰ درصد موارد حذف انگل مشاهده شد. سایر نتایج در جدول ۳ آمده است.

جدول ۳ درصد میزان بار انگلی در زخم موش‌های سوری قبل و پس از درمان

گروه‌های تحت درمان	درصد بار انگلی	درصد میزان بار انگلی در زخم موش‌های سوری				
		منفی	۱+	۲+	۳+	٤+
سیر	قبل از درمان	۰	۵۰	۲۰	۰	۳۰
	پس از درمان	۰	٤۰	٦۰	۰	۰
R10	قبل از درمان	۰	۲۰	۲۰	٤۰	۲۰
	پس از درمان	۰	۷۰	۳۰	۰	۰
گلوکانتیم	قبل از درمان	۰	۰	۳۰	۵۰	۲۰
	پس از درمان	۳۰	٦۰	۱۰	۰	۰
کنترل	قبل از درمان	۰	۳۰	۰	۵۰	۲۰
	پس از درمان	۰	۰	۰	۹۰	۱۰

جدول ٤ میانگین و انحراف معیار اندازه زخم‌ها (میلی‌متر) در موش‌های BALB/c درمان شده با عصاره سیر، فرآورده R10، گلوکانتیم و گروه کنترل

هفته	R10	سیر	گلوکانتیم	کنترل
قبل از درمان	٤/۲۲±۱/۰۲	٤/۱۵±۰/۷۵	۳/۹۵±۱/۰٦	٤±۱/۰۵
هفته اول	٤/۰۲±۰/۸۷	۳/۹۵±۰/۷٦	۳/۵±۰/۹۷	٤/۷۵±۱/۰۳
هفته دوم	۳/۸۲±۱/۰۵	۳/۷±۰/۹۷	*۳/۳±۱/۱۳	۵/۵۲±۱/۰۷
هفته سوم	*۳/۵۷±۱/٤۹	*۳/۵۵±۱/۰۷	*۳±۱/۰۹	٦/۱۵±۱/۱۲
هفته چهارم	*۳/٦۵±۲/۲٦	*۳/۲۵±۱/٦	*۲/۷۵±۱/۲	٦/۹۵±۱/۹۵
هفته پنجم	*۳/۵۲±۲/۲۸	*۳/۱۷±۱/۷۱	*۲/۵۷±۱/۳۷	۷/۵۵±۱/٦۷
هفته ششم	*۳/۵۵±۲/۵۱	*۳/۱۵±۱/۷۸	*۲/۲۷±۱/۲۳	۷/۸±۰/۵۳
هفته هفتم	*۳/۲±۲/۳۵	*۳/٤۲±۱/۸۸	*۲/۰۲±۱/۱	۸/۷۵±۰/٦٤
هفته هشتم	*۳/۱۲±۲/۲۸	*۳/۷±۱/۹۲	*۱/٦±۱/۰۸	۹/۵±۰/۵۹

*دارای اختلاف معنی‌دار آماری با گروه کنترل (P<۰/۰۵) با استفاده از آزمون‌های آماری تجزیه و تحلیل واریانس آنووا (ANOVA) و من‌ویتنی

۳-۵- نتایج میانگین و انحراف معیار قطر زخم‌ها در گروه‌های مورد مطالعه

در موش‌های BALB/c، میانگین قطر زخم برای گروه گلوکانتیم از هفته دوم به بعد و برای گروه‌های R10 و عصاره آبی سیر از هفته سوم به بعد در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵) در حالی‌که بین دو گروه گلوکانتیم و R10 هیچ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵)؛ نتایج در جدول ٤ آمده است.

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-04-19]

در موش‌های سوری میانگین قطر زخم برای گروه گلوکانتیم و برای گروه R10 از هفته پنجم به بعد در مقایسه با گروه کنترل دارای اختلاف معنی‌دار آماری بود (P<۰/۰۵) در حالی‌که بین دو گروه گلوکانتیم و R10 هیچ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵)؛ سایر نتایج در جدول ۵ آمده است.

میانگین قطر زخم در موش‌های C57BL/6 برای گروه‌های گلوکانتیم R10 و عصاره سیر در مقایسه با گروه کنترل از نظر آماری اختلاف معنی‌داری نشان نداد؛ سایر نتایج در جدول ٦ آمده است.

مقایسه نتایج میانگین و انحراف معیار اندازه زخم‌ها (میلی‌متر) در موش‌های BALB/c، C57BL/6 سوری درمان شده با عصاره سیر، فرآورده R10، گلوکانتیم و گروه کنترل در هفته هشتم درمان در جدول ۷ آمده است.

۳-٦- نتایج بررسی وجود انگل در کبد و طحال

در موش‌های مقاوم C57BL/6 و سوری در همه گروه‌های مورد مطالعه، انگلی در کبد و طحال مشاهده نشد.

در موش‌های BALB/c، انگل در طحال در گروه درمان شده با گلوکانتیم ٤۰ درصد، در گروه درمان شده با سیر ۹۰ درصد، در گروه درمان شده با R10 ۷۰ درصد و در گروه کنترل ۱۰۰ درصد مشاهده شد. میزان انگل موجود در کبد در گروه درمان شده با گلوکانتیم ٦۰ درصد، در گروه درمان شده با سیر ۹۰ درصد، در گروه درمان شده با R10 ۵۰ درصد و در گروه کنترل ۱۰۰ درصد مشاهده شد.

جدول ۵ میانگین و انحراف معیار اندازه زخم‌ها (میلی‌متر) در موش‌های C57BL/6 درمان شده با عصاره سیر، فرآورده R10، گلوکانتیم و گروه کنترل

هفته	R10	سیر	گلوکانتیم	کنترل
قبل از درمان	۳/۸۵±۱/۱۷	٤/۹±۲/۰۲	٤±۱/٤٤	۵/٤±۲/۱۱
هفته اول	۳/۸±۱/۲۳	٤/۷۹±۱/۸۳	٤±۱/۲۷	۵/۸۵±۲/۷۷
هفته دوم	۳/۷۵±۱/۱٤	٤/۷±۰/۷۳	۳/۸۱±۲/۰۱	٦/۱۵±۱/۸
هفته سوم	۳/۷±۱/۲۸	٤/۸±۱/۱۳	۳/٤۵±۱/۹۲	٦/۳۵±۱/٤۵
هفته چهارم	۳/۷±۱/۳۳	٤/۸±۱/۲۷	۳/۳۵±۱/۵	٦/٤±۲/۲۲
هفته پنجم	۳/٤۵±۱/۷	۵/۲±۱/۸۰	۳/۲۹±۱/۱۷	۵/۹۵±۱/۷۱
هفته ششم	۳/٤±۱/۱۳	۵/۳۵±۱/۱۵	۳±۱/۳	۵/۸۳±۱/۳۳
هفته هفتم	۳/۳۵±۱/۵٦	۵/۵۳±۱/٤٤	۲/۷۹±۱/٤۳	۵/۸±۱/۱۲
هفته هشتم	۳±۱/۱٤	۵/۷±۱/۱۷	۲/۲±۱/۳۸	۵/۷۵±۱/٤۱

جدول ٦ میانگین و انحراف معیاراندازه زخم‌ها (میلی‌متر) در موش‌های سوری درمان شده با عصاره سیر، فرآورده R10، گلوکانتیم و گروه کنترل

هفته	R10	سیر	گلوکانتیم	کنترل
قبل از درمان	۱۱/۱۷±۱/۷۷	۱۱/۲۵±۱/۸۱	۱۱/۲±۱/۷۵	۱۰/۱٤±۲/۳
هفته اول	۱۱/۰۳±۱/٤۵	۱۱/۱٤±۱/۷٤	۱۱/۱±۱/۷٤	۱۰/٤۵±۲/٤۳
هفته دوم	۱۰/۵±۱/۱۷	۱۱/۰۳±۱/۱۹	۱۰/۷±۱/۵٦	۱۱/۲±۲/۷۸
هفته سوم	۱۰/۳۳±۱/٤۳	۱۱±۱/۱٤	۹/۷±۱/۳۲	۱۲/۰۳±۲/۲
هفته چهارم	۱۰/۰۵±۱/۹	۱۰/۵۳±۱/۵۷	۹/۱۵±۱/٦٦	۱۲/۸±۱/۸۹
هفته پنجم	٭۹/۸±۱/٤٤	۱۰/۹۲±۱/۳۳	٭۸/۷۵±۱/۳۲	۱۳/٦±۲/۰۱
هفته ششم	٭۹/٦۳±۱/۷۵	۱۱/۵±۱/٤۸	٭۸/۵۳±۱/٤۸	۱٤/۱±۲/۱۲
هفته هفتم	٭۹/۵۳±۱/۳۲	۱۱/۸±۱/۰۳	٭۸/۳±۱/۵۹	۱٤/۸±۲/۲۲
هفته هشتم	٭۹/٤±۱/۵	۱۲/۳±۱/۰۹	٭۸/۲±۱/۷۸	۱۵/۰۸±۲/۵۷

٭ دارای اختلاف معنی‌دار آماری با گروه کنترل (P<۰/۰۵) با استفاده از آزمون آماری تجزیه و تحلیل واریانس (آنووا) و من‌ویتنی

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-04-19]

جدول ۷ میانگین و انحراف معیار اندازه زخم‌ها (میلی‌متر) در موش‌های BALB/c، C57BL/6 سوری درمان شده با عصاره سیر، فرآورده R10، گلوکانتیم و گروه کنترل قبل از درمان و در هفته هشتم درمان

		R10	سیر	گلوکانتیم	کنترل
BALB/c	قبل از درمان	٤/٢٢±١/٠٢	٤/١٥±٠/٧٥	٣/٩٥±١/٠٦	٤±١/٠٥
	٨ هفته پس از درمان	*٣/١٢±٢/٢٨	*٣/٧±١/٩٢	*١/٦±١/٠٨	٩/٥±٠/٥٩
C57BL/6	قبل از درمان	٣/٨٥±١/١٧	٤/٩±٢/٠٢	٤±١/٤٤	٥/٤±٢/١١
	٨ هفته پس از درمان	٣±١/١٤	٥/٧±١/١٧	٢/٢±١/٣٨	٥/٧٥±١/٤١
سوری	قبل از درمان	١١/١٧±١/٧٧	١١/٢٥±١/٨١	١١/٢±١/٧٥	١٠/١٤±٢/٣
	٨ هفته پس از درمان	*٩/٤±١/٥	١٢/٣±١/٠٩	*٨/٢±١/٧٨	١٥/٠٨±٢/٥٧

* دارای اختلاف معنی‌دار آماری با گروه کنترل (P<٠/٠٥)

٤- بحث

درمان اصلی بیماری لیشمانیوز استفاده از داروهای شیمیایی است که عوارض زیادی دارد. ترکیبات آنتی‌موان به عنوان دارو در این بیماری به‌کار گرفته می‌شود. این ترکیب تاکنون روش اصلی درمان لیشمانیوز بوده است ولی شکست درمان در بسیاری از مناطق رو به افزایش است [٥]. سایر داروها مثل آمفوتریسین B، کتوکونازول (Ketoconazol)، آلوپورینول (Allopurinol)، پارامومایسین (Paromomycin)، مترونیدازول (Metronidazole) نیز به‌کار می‌رود که بیشتر به‌صورت ترکیبی از آن‌ها استفاده می‌شود [٥].

یکی از بزرگ‌ترین روندهای اخیر در مراقبت‌های پزشکی رشد درمان‌های جایگزینی شامل مداوا با طب سوزنی، هموپاتی، برگزاری جلسات دعا و نیایش و مهم‌تر از همه کاربرد گیاهان دارویی در پیشگیری و درمان بیماری‌های مزمن است. داروهای گیاهی به علت طبیعی بودن، داشتن آثار درمانی متفاوت، عوارض جانبی کمتر و ارزان‌تر بودن از مقبولیت بهتری نسبت به داروهای شیمیایی برخوردار است [٦، ٨].

در مبتلایان به سالک ضایعات جلدی مهم‌ترین هدف درمانی است. برای درمان ضایعات جلدی بهتر است از درمان‌هایی که جذب سیستمیک کمتر و عوارض جانبی خفیف‌تری دارند استفاده شود که محققان حاضر نیز در این مطالعه به بررسی اثربخشی عصاره سیر و فرآورده R10 که فرآورده‌ای از عصاره آبی سیر است، به‌عنوان داروی گیاهی در درمان سالک پرداختند.

سیر کاربردهای درمانی زیادی از جمله خواص ضد باکتری، ضد ویروس، ضد کرم، افزایش دهنده گلبول سفید و کاهش دهنده فشار خون دارد. از سیر برای درمان سرماخوردگی، سیاه سرفه و آسم ناشی از برونشیت استفاده می‌شود [١٥].

همان‌طور که در قسمت نتایج این مطالعه مشاهده شد، بیشترین میزان منفی شدن انگل لیشمانیای نمونه‌های گرفته شده از زخم‌ها (بار انگلی منفی)، در گروه‌های گلوکانتیم و R10 دیده شد. هرچند که عصاره سیر نیز اثر نسبتاً خوبی داشت.

یکی از شاخص‌های تأثیر دارو در درمان لیشمانیوز جلدی در موش‌های حساس مثل BALB/c عدم انتشار انگل در اندام‌های موش است که با بررسی آلودگی یا عدم آلودگی و نیز شدت آلودگی کبد و طحال ارزیابی می‌شود [٢]. در مورد موش‌های C57BL/6 عدم درگیری کبد و طحال با توجه به سیستم دفاعی قوی موش‌ها مطابق انتظار بوده است و سیستم دفاعی بدن این موش‌ها به آسانی بر عفونت لیشمانیایی غلبه می‌نماید که با سایر مطالعات تطبیق دارد [١٤].

هرچند که پماد عصاره سیر در مقایسه با پماد فرآورده R10 و گلوکانتیم اثربخشی کمتری در مورد حذف اجسام

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-04-19]

لیشمن در نمونه‌های زخم داشت ولی این اثربخشی کمتر تنها در هفته‌های انتهایی درمان به چشم می‌خورد که ممکن است گلوکانتیم و R10 دارای اثر تجمعی باشند و بنابراین اثر آن‌ها در پایان بیش از سیر باشد. احمدی و همکاران، اثر عصاره سیر بر لیشمانیوز جلدی از طریق افزایش نیتریک اکساید را مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که درمان ۱۰، ۲۰ و ۳۰ روز با عصاره سیر توانایی کنترل زخم لیشمانیایی را دارد ولی رضایت‌بخش نیست؛ این محققین هنگامی که عصاره سیر را به‌صورت همزمان با ویتامین آ استفاده نمودند، طی درمان ۳۰ روز از گسترش زخم لیشمانیوز پوستی جلوگیری به‌عمل آمد و سبب بهبودی زخم شد [۱۶].

مطالعات انجام شده روی سیر عموماً نشان دهنده عدم کارآیی آن به‌عنوان یک داروی منفرد بوده است و بنابراین بیشتر توصیه به استفاده از ترکیبات دارویی شده است تا بدین‌وسیله با بهره‌گیری از هم‌افزایی دارویی بتوان اثربخشی این گیاه دارویی کم عارضه را به حداکثر میزان ممکن رساند.

امروزه داروهای گیاهی با اقبال عمومی مواجه شده است که به علت قابل پذیرش‌تر بودن این ترکیبات توسط زیست‌شناسی بدن موجودات زنده و عوارض کمتر آن‌ها است. هرچند که عصاره سیر در این مطالعه در قیاس با درمان استاندارد (گلوکانتیم) و فرآورده R10 کارآیی خوبی نداشت؛ ولی خود آن به تنهایی داروی مناسبی است و کارآیی آن به‌ویژه در هفته های نخست قابل توجه است.

برخی از محققان اثربخشی سیر را مرتبط با وجود یک بخش ۱۰ تا ۱٤ کیلودالتونی در عصاره سیر دانسته‌اند که مسئول تولید نیتریک اکساید است [۱۱]. فرآورده R10 که از عصاره آبی سیر تهیه شده، دارای وزن مولکولی بین ۱۰ الی ۳۰ کیلودالتون است .بنا براین تأثیر بیشتر این فرآورده نسبت به عصاره کامل سیرتأیید کننده نظر محققینی است که معتقدند اثربخشی سیر اغلب در بخش ۱۰ تا ۱٤ کیلودالتونی است.

مطالعه غلامی و همکاران نشان داد با استفاده از کرم ۵ درصد سیر در درمان سالک می‌توان نتایج خوبی به‌دست آورد [۱۷].

مطالعه غضنفری و همکاران نیز نشان داد که سیر می‌تواند سبب تقویت سیستم ایمنی سلولی و به‌ویژه ماکروفاژها شود که موجب کنترل سالک خواهد شد [۱۱].

در مجموع همان‌طور که از نتایج این مطالعه بر می‌آید استفاده از عصاره سیر به‌ویژه فرآورده R10 آن می‌تواند به‌عنوان یک گزینه درمانی مناسب در مبتلایان به سالک مدنظر باشد؛ به‌ویژه آن که این ماده گیاهی عوارض جانبی کم و اثربخشی نسبتاً خوبی دارد. با این وجود انجام مطالعات بیشتر به‌منظور تعیین حداقل دوز مؤثر و در صورت امکان انجام مطالعه روی نمونه‌های انسانی می‌تواند کارآیی‌های علمی و عملی این داروی گیاهی را بیش از پیش مشخص نماید.

۵- تشکر و قدردانی

این تحقیق از سوی مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه شاهد تأمین اعتبار شده است که بدین‌وسیله از تمامی دست‌اندرکاران تشکر و قدردانی می‌شود.

٦- منابع

[1] John DT, Petri AJ. Markell and Voge's Medical parasitology. 9th Ed., Philadelphia: Saunders company 2006; p: 127-32.

[2] Cunningham MW, Fujinami RS. Immunologic Mechanisms in Leishmania (Chapter 33). In: Effects of microbes on the Immune system. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins 2000; p: 357-554.

[3] Roberts LS, Janovy JJR. Foundation of parasitology. 7th Ed, New York: McGraw-Hill

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-04-19]

2005; p: 78-9.

[4] Viana da Costa A, Huerre M, Delacre M, Auriault C, Correia Costa JM, Verwaerde C. IL-10 leads to a higher parasite persistence in a resistant mouse model of Leishmania major infection. Parasitol Int 2002; 51(4): 367-79.

[5] Blum J, Desjeux P, Schwartz E, Beck B, Hatz C Treatment of cutaneous leishmaniasis among travellers. J Antimicrob Chemother 2004; 53(2): 158-66.

[6] Gurei MS, Tatli N, Ozbilge H, Erel O, Seyrek A, Kocyigit A, Ulukanligil M. Efficacy of cryotherapy and intralesional pentostam in treatment of cutaneous leishmaniasis. J Egypt Soc Parasitol 2000; 30(1): 165-76.

[7] Genaro O, de Toledo VP, da Costa CA, Hermeto MV, Afonso LC, Mayrink W. Vaccine for prophylaxis and immunotherapy, Brazil. Clin Dermatol 1996; 14(5): 503-12.

[8] Ghazanfari T, Shahrokhi S, Jalali-Nadooshan MR, Yaraii R, Kardar K. Survey of toxicity of ACA1 human melanoma cancer cell lines. JMUM 2006; 16(55): 42-9. (Persian)

[9] Borek C. Garlic reduces dementia and heart-disease risk. J Nutr 2006; 136(3 Suppl): 810S-812S.

[10] Hassan ZM, Yaraee R, Zare N, Ghazanfari T, Sarraf Nejad AH, Nazori B. Immuno-modulatory affect of R10 fraction of garlic extract on natural killer activity. Int Immunopharmacol 2003; 3(10-11): 1483-9.

[11] Ghazanfari T, Hassan ZM, Ebtekar M, Ahmadiani A, Naderi G, Azar A. Garlic induces a shift in cytokine pattern in Leishmania major-infected BALB/c mice. Scand J Immunol 2000; 52(5): 491-4.

[12] Herwaldt BL. Leishmaniasis. Lancet 1999; 354(9185): 1191-9.

[13] 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): 333-7.

[14] Gamboa-León MR, Aranda-González I, Mut-Martín M, García-Miss MR, Dumonteil E. In vivo and in vitro control of Leishmania mexicana due to garlic-induced NO production. Scand J Immunol 2007; 66(5): 508-14.

[15] Newall C, Anderson L, Philipson JD. Herbal Medicine-Guide for Health-care Professionals. London: The Pharmaceutical Press (UK) 1996; p: 129-33.

[16] Ahmadi K, Mahmoodzadeh A, Cheraghali A, Esfehani A. Effect of Garlic extracton cutaneous leishmaniosis by increasing nitric oxide. J Shahr kord Univ Med Sci 2002; 4: 1-4. (Persian)

[17] Gholami A, Kamesipoor A, Moameni A, Ghazanfari T, Nilforooshzadeh MA, Dolati D. Effect of garlic cereme (0.05%) on cutaneous leishmaniasis. Iranian J Dermatol 2006; 3(11): 24-7. (Persian)

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2024-04-19]