Archive of SID

(مقاله پژوهشی)

تاثیر عصاره زنجبیل(Zingiber officinale) بر تغییرات بافتی در موشهای Balb/c مبتلا به کاندیدیازیس احشایی

مهناز فتاحی نیا[1*]، علی قمری[2]، اسرافیل منصوری[3]

۱-استادیار گروه قارچ شناسی.
۲-کارشناس ارشد قارچ شناسی گروه قارچ شناسی.
۳-دانشیار گروه علوم تشریح.

۱-مرکزتحقیقات عفونی گرمسیری خلیج فارس، گروه قارچ شناسی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران.
۲-گروه قارچ شناسی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران.
۳-مرکز تحقیقات سلولی ملکولی، گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران.

*نویسندهٔ مسؤول:
مهناز فتاحی نیا؛ مرکزتحقیقات عفونی گرمسیری خلیج فارس، گروه قارچ شناسی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران.
تلفن: ۰۰۹۸۹۱۶۳۱۰۲۹۵۲
Email: fatahinia@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: گونه های کاندیدا به عنوان چهارمین عامل عفونت های خونی در بیماران بستری در بیمارستان ها مطرح است که مواردشکست درمانی و مقاومت به داروهای ضد قارچی در آن گزارش شده است در این مطالعه اثر عصاره الکلی گیاه زنجبیل که به عنوان محرک سیستم ایمنی بدن، ضد میکروب، انگل و قارچ مورد استفاده قرار می گیرد بر کاندیدیازیس احشایی در موش Balb/c ماده بررسی شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۴۹ سر موش Balb/c ماده در هفت گروه هفت تایی تقسیم شدند. بعد از عفونی کردن موش ها با سویه استاندارد کاندیدا آلبیکنس(ATCC 10231)، به مدت ۷ روز با سه دوز ۵۰ و۱۰۰و ۲۰۰ میلی گرم در میلی لیتر عصاره زنجبیل و فلوکونازول به صورت خوراکی درمان گردیدند. پس از روز هفتم موش‌ها اتونایز شدند و از نظر بار میکروبی کلیه،کبد، صفاق و شمارش ماکروفاژهای صفاقی وارزیابی پاتولوژی بافت کلیه وکبد با رنگ آمیزی اختصاصی گوماری متنامین سلیور مورد مطالعه قرار گرفتند.

یافته ها: عصاره زنجبیل با دوز ۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر به خوبی توانست باعث کاهش بار میکروبی کلیه ها، کبد، صفاق و افزایش شمارش ماکروفاژهای صفاقی در مقایسه با گروه کنترل مثبت گردد. نتایج حاصل از هیستوپاتولوژی نیز تایید کننده تغییرات آسیب شناسی کبد وکلیه در گروه دارویی زنجبیل در مقایسه با گروه دارویی فلوکونازول وگروه کنترل مثبت است که به صورت خیفیف و متوسط و شدید طبقه بندی شد.

نتیجه‌گیری: نتایج بیانگر این است که عصاره زنجبیل بخوبی می‌تواند بعنوان یک عامل ضد قارچی موثر با کارایی خوب در برابر کاندیدیازیس منتشر عمل کند.

واژگان کلیدی: "کاندیدیازیس احشایی"،" موشBalb/c "،" فلوکونازول"،"گیاه زنجبیل".

دریافت مقاله: ۱۳۹۸/۲/۳۰ دریافت مقالهٔ اصلاح‌شده: ۱۳۹۸/۴/۱۲ اعلام قبولی: ۱۳۹۷/۴/۲۲

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

کاندیدیازیس یکی از مهمترین و شایعترین عفونت‌های قارچی فرصت طلب در انسان است که بوسیله برخی از گونه های مخمری کاندیدا بویژه کاندیدا آلبیکنس ایجاد می شود. این عفونت ها معمولا در ارتباط با اختلال سیستم ایمنی و سایر عوامل مستعدکننده منتشر می شود و اندام های داخلی بدن نظیر کلیه ،کبد و نظایر آنها را درگیر می سازد و با وجود پیشرفت های انجام شده درزمینه فرآیندهای تشخیصی و درمانی، موجب مرگ و میر بسیاری از بیماران مستعد می گردد(۱). شروع سریع درمان موثر برای کنترل عفونت کاندیدای سیستمیک ضروری است و باعث کاهش مرگ و میر می شود(۲). آزول هایی مانند فلوکونازول یا کتوکونازول معمولا برای درمان عفونت های قارچی سیستمیک استفاده می شوند در بین داروهای آزولی ،فلوکونازول دارویی با عوارض جانبی و سمیت کمتر، قابلیت جذب بهترهمچنین قابل دسترس در ایران می باشد. متاسفانه موارد متعددی از مقاومت نسبت به این دارو گزارش شده و انتشار وافزایش گونه های مقاوم به این دارو در حال گسترش می باشد(۳-۵). بنابراین چالش فوری در تحقیقات دارویی کشف و توسعه داروهای ضد قارچی جدید از منابع گیاهی و میکروبی است.

گیاه درمانی دانش کهنی است که ریشه در اعماق تاریخ دارد و همیشه یکی از پایه های اصلی مکاتب طبی مشهور از قبیل تمدن باستانی مصر، هند، آشور، بابل، چین، یونان، ایران و نیز طب اسلامی بوده است(۶). یکی از این گیاهان که دارای شرایط دارویی خصوصا اثر ضد میکروبی و ضد قارچی است، گیاه زنجبیل می باشد که با نام علمی ***Zingiber Officiniale Rose*** که جزء خانواده ***Zingiberaceae*** است بوده و در نقاط مختلف دنیا دارای اسامی متفاوتی می باشد. ریزوم خشک زنجبیل واجد ۶۰-۴۰ درصد نشاسته، ۱۰٪ پروتئین، ۱۰٪ چربی، ۵ درصد فیبر، ۶ درصد مواد معدنی، ۱۰٪ رطوبت، ۴-۱ درصد روغن فرار و ۸-۵ در صد ماده رزینی و موسیلاژ می باشد. دو خصوصیت بارز زنجبیل بو و مزه تند آن است که به ترتیب به محتویات روغن فرار و مواد رزینی مربوط می‌باشد دو ترکیب مهم آن که باعث جلوگیری از رشد بسیاری از باکتری ها و قارچ‌ها می‌شود جنجیرول (Gingerol) و جنجردیول(Gingerdiol) است (۷, ۸). زنجبیل در درمان سوء هاضمه، نفخ، استفراغ، اسهال، کولیک، اسپاسم و دیگر اختلالات معده، سرماخوردگی، سردرد، استئوآرتریت، ضدعفونی کننده، آب مروارید، بی خوابی، کچلی، خلط آور، معرق، محرک گردش خون، صفرا آور، ضد التهاب، سرفه، شوره سر، مالاریا، التهاب چشم، جرب، تومور، قارچ، ویروس و باکتری استفاده می شود(۹, ۱۰). اثرات ضد قارچی عصاره و اسانس زنجبیل به فراوانی مورد آزمایش قرار گرفته است (۱۱-۱۴) ولی اثرات ضدکاندیدایی آن بصورت ***in vivo*** کمتر بررسی شده است. بنابراین هدف از این مطالعه، بررسی تاثیر عصاره گیاه دارویی زنجبیل بر روی کاندیدیازیس سیستمیک تجربی ایجاد شده در موش Balb/c می باشد که این اثر بخشی با داروی صناعی فلوکونازول مقایسه شده است و در صورت موثر بودن گیاه دارویی فوق می توان از آن در جهت کمک به درمان بیماران مبتلا به کاندیدیازیس سیستمیک و یا کاهش سمیت داروهای صناعی استفاده شده بهره برد.

روش بررسی

تهیه گیاه زنجبیل و عصاره الکلی

ریشه خشک شده گیاه زنجبیل از عطاری‌های معتبر شهر اهواز خریداری شد. پس از شستشو و خشک کردن، بوسیله دستگاه خرد کن کاملا آسیاب گردید و مقدار ۱۰۰ گرم از پودر حاصل با ۵۰۰ میلی لیتر الکل ۹۶٪ در ارلن استریل مخلوط گردیده و به مدت سه روز بر دستگاه شیکر با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه و در دمای اتاق قرار داده.شد و پس از آن مخلوط حاصل به کمک کاغذ صافی واتمن(شماره ۲) صاف گردید. محلول صاف شده به مدت یک هفته درون دستگاه فور(Kari-Kolb - Germany) استریل با دمای ۵۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد تا الکل اضافی

www.SID.ir

Archive of SID

آن خارج گردد و عصاره خالص آن جمع آوری شد. رقت های ۲۰۰، ۱۰۰ و ۵۰ میلی گرم در میلی لیتر از آن تهیه شد و تا شروع کار در یخچال ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد.

تهیه مخمر کاندیدا آلبیکنس

سوش استاندارد مخمر کاندیدا آلبیکنس(ATCC:10231) از کلکسیون گروه قارچ شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه جندی شاپور اهواز تهیه گردید. پس از تهیه کشت تازه آن در محیط سابورو دکستروز مایع و سه بار شستشو با فسفات بافر سالین استریل، تعداد ۱۰۷ سلول مخمری در یک میلی لیتر به وسیله لام نئوبار شمارش شد و جهت تزریق داخل صفاقی (۰/۲ میلی لیتر) به موش آماده گردید(۱۵, ۱۶).

تهیه موش Balb/c

۴۹ سر موش ماده نژاد Balb/C با میانگین سنی ۶ تا ۸ هفته و وزن ۱۸ تا ۲۵ گرم از مرکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی اهواز خریداری شده و تحت شرایط استاندارد ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و تغذیه و دمای مناسب در حیوان خانه دانشگاه نگهداری شدند.

گروه بندی حیوانات

موش‌ها به ۷ گروه ۷ تایی تقسیم شدند. پس از ایجاد عفونت در موش‌ها طبق گروه بندی به هر موش ۰/۱ میلی لیتر سرم فیزیولوژی، داروی فلوکونازول(۱۲ میلی گرم کیلوگرم)(شرکت داروسازی زهراوی، ایران، تبریز)(۱۷) و یا غلظت های تهیه شده از عصاره زنجبیل به مدت ۷ روز خورانده شد.

A1: گروه کنترل مثبت عفونی(دریافت کننده سرم فیزیولوژی + عفونت) A2: گروه کنترل منفی (دریافت کننده سرم فیزیولوژی)

A3: گروه داروی فلوکونازول (دریافت کننده داروی فلوکونازول + عفونت) A4: گروه شاهد زنجبیل (دریافت کننده عصاره زنجبیل با غلظت ۲۰۰ میلی گرم در میلی لیتر) B1: گروه داروی زنجبیل ۵۰ میلی گرم (دریافت کننده عصاره زنجبیل با غلظت ۵۰ میلی گرم در میلی لیتر + عفونت) B2: گروه داروی زنجبیل ۱۰۰ میلی گرم: (دریافت کننده عصاره زنجبیل با غلظت ۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر + عفونت) B3: گروه دارویی زنجبیل ۲۰۰ میلی گرم: (دریافت کننده عصاره زنجبیل با غلظت ۲۰۰ میلی گرم در میلی لیتر + عفونت)

بررسی آزمایشگاهی بار میکروبی اندام ها و مایع صفاق و شمارش تعداد ماکروفاژهای صفاقی

۰/۱ گرم از بافت کلیه وکبد در یک میلی لیتر سرم فیزیولوژی هموژن شده و سپس ۱۰۰ میکرو لیتر از سوسپانسیون حاصل روی محیط سابورو دکستروز آگار(biolife, Italia) همراه با کلرامفنیکل(Penta, Czech republic) کشت داده شد و ۴۸ ساعت در۳۷ درجه انکوبه شد سپس تعداد کلنی های حاصل شمارش شدند. مقاطع بافتی کلیه و کبد تهیه گردید و پس از رنگ آمیزی با متدهای هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) و گوموری متنامین سیلور(GMS) جهت مشاهده عناصر قارچی مخمر و هایف، با میکروسکوپ بررسی شد(۱۸).

ماکروفاژهای صفاقی به وسیله تزریق ۱۰ میلی لیتر سرم فیزیولوژی سرد (در دومرحله و هر بار ۵ میلی لیتر) جدا گردیدند و پس از سانتریفوژ در دور g × ۳۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه رسوب حاصل در ۱ میلی لیتر DMEM F12(Bio-IDEA company-IRAN) حل شد و سپس بوسیله لام نئوبار شمارش شدند. ۱۰۰ میکرولیتر از مایع صفاق روی محیط سابورو دکستروز آگار همراه با کلرامفنیکل کشت داده شد و پس از ۴۸ ساعت با شمارش کلنی ها بار قارچی مایع صفاق بررسی شد(۱۵, ۱۶, ۱۹).

طرح تحقیقاتی با شناسه اخلاق IR.AJUMS.ABHC.REC.1398.040 در دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز تصویب شد.

روش‌های آماری تجزیه و تحلیل نتایج

جهت آنالیز آماری از نرم افزار SPSS Ver22 استفاده می کنیم میانگین داده‌های حاصله با استفاده از آزمون واریانس یک طرفه یا ANOVA و تست تعقیبی Tukey در سطح معنی دار ۰/۰۵ مورد ارزیابی آماری قرار گرفت.

www.SID.ir

Archive of SID

یافته ها

شمارش ماکروفاژهای صفاقی: شمارش ماکروفاژهای صفاقی در همه گروه ها انجام گرفت.که در گروه دارویی زنجبیل۵۰ و ۱۰۰ میلی گرمی بیشترین تعداد ماکروفاژ شمارش شد (جدول ۱).

بار قارچی کبد: بار قارچی کبد در گروههای مختلف بررسی شد. بیشترین تعداد در گروه کنترل مثبت شمارش شد و کمترین تعداد در موش های گروه زنجبیل ۱۰۰ مشاهده شد که اختلاف معنادار بود($P<0.017$). عصاره زنجبیل با غلظت ۲۰۰ میلی گرم در میلی لیتر نتوانسته به خوبی دو دوز دیگر بار قارچی کبد را کاهش دهد (جدول ۱).

بار قارچی کلیه: بار قارچی کلیه در گروههای مختلف بررسی شد. در بافت کلیه بیشترین کاهش در بافت کلیه گروه فلوکونازول بود. عصاره زنجبیل با غلظت ۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر نیز کاهش در بار قارچی کلیه ایجاد کرده است که اختلاف معناداری با بار قارچی گروه فلوکونازول ندارد ($P>0.415$) (جدول ۱).

بار قارچی مایع صفاق: بار قارچی مایع صفاق در گروههای مختلف بررسی شد. بیشترین کاهش بار قارچی توسط زنجبیل با غلظت ۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر صورت گرفته است که نسبت به گروه کنترل مثبت کاهش معناداری داشت($P<0.046$). بیشترین بار قارچی مربوط به گروه عصاره زنجبیل با غلظت ۲۰۰ میلی گرم در میلی لیتر بود (جدول ۱).

بررسی پاتولوژی بافت کلیه و کبد موش های گروه های مختلف

در رنگ آمیزی اختصاصی در بافت کلیه موشهای گروه عفونی، مخمر، میسلیوم وپسودوهایف در بین لوله های کلیه مشاهده می شود که تاییدی بر ایجاد کاندیدیازیس سیستمیک می باشد(شکل1A1). در رنگ آمیزی GMS از بافت کلیه از گروه کنترل منفی و کنترل زنجبیل هیچ مخمری مشاهده نمی شود و ساختار بافت کلیه طبیعی می باشد(شکل1A2و 1A4). در گروه فلوکونازول ساختارکلی بافت کلیه حفظ شده ولی مخمر ها در داخل بعضی از گلومرول های کلیه مشاهده می شود وهمچنین بعضی از سلول های لوله ای کلیه دارای هسته متراکم و مچاله شده هستند(شکل1A3). در رنگ آمیزی اختصاصی GMS از بافت کلیه گروه زنجبیل ۵۰ مخمرها به میزان قابل توجه ای در بین لوله های کلیه مشاهده می‌شود(شکل1B1). در رنگ آمیزی اختصاصی GMS از بافت کلیه گروه زنجبیل ۱۰۰ در بین لوله های کلیه مخمری دیده نمی شود (شکل1B2) . در بافت کلیه گروه زنجبیل ۲۰۰ مخمر ها در بعضی از گلومرول ها و در بین لوله های کلیوی وجود دارد و تخریب لوله های کلیه نیز در برخی از نواحی دیده می شود (شکل1B3).

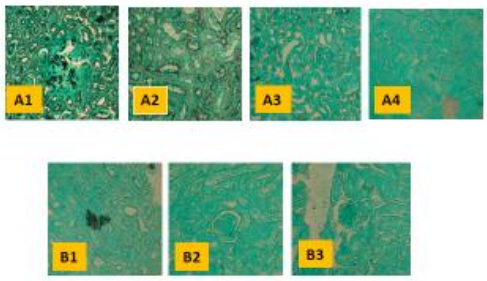
در رنگ آمیزی اختصاصی در بافت کبد موشهای گروه عفونی، مخمر، میسلیوم وپسودوهایف به طور مجتمع دیده می شود (شکل2A1). در بافت کبد دو گروه کنترل منفی و کنترل زنجبیل هیچ مخمری مشاهده نمی شود آرایش طناب کبدی طبیعی بوده و هیچگونه تغییرات پاتولوژیکی در بافت کبد ی مشاهده نمی شود وسینوزئید های کبدی کاملا نرمال می باشد (شکل 2A4 و2A2). در رنگ آمیزی اختصاصی از بافت کبد در گروه دارویی فلوکونازول تجمع مخمری در بافت کبد مشاهده می‌شود (شکل2A3). در بافت کبد گروه زنجبیل ۵۰ و ۱۰۰ مخمری مشاهده نشد. در رنگ آمیزی از بافت کبد در گروه زنجبیل ۵۰ آرایش طناب سلولی از دست رفته و نکروز و تخریب بافت کبد مشاهده می شود و سلول های التهابی به میزان قابل توجه ای مشاهده می شود (شکل2B1, 2B2). در گروه زنجبیل ۱۰۰ بافت کبد از نظر آرایش طناب کبدی وسینوزئیدها کاملا طبیعی بوده. در بافت کبد گروه زنجبیل ۲۰۰ نکروز و تخریب سلول های کبدی مشاهده می شود. علاوه بر این مخمر و سلول های التهابی نیز در بافت کبد مشاهده می گردد (شکل2B3).

www.SID.ir

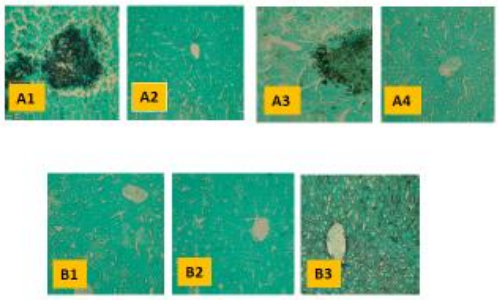
Archive of SID

جدول ۱: بار قارچی مایع صفاق، بافت کلیه و کبد و تعداد ماکروفاژهای صفاق

گروه / میانگین	زنجبیل ۲۰۰	زنجبیل ۱۰۰	زنجبیل ۵۰	کنترل زنجبیل	فلوکونازول	کنترل منفی	کنترل مثبت
بار قارچی بافت کبد (CFU/ML)	۷۱×۱۰۲	۷×۱۰۲	۶۶×۱۰۲	۰	۱۰×۱۰۲	۰	۱۲۱/۲×۱۰۲
بار قارچی بافت کلیه (CFU/ML)	۶۰×۱۰۲	۱۲/۳×۱۰۲	۱۱۷×۱۰۲	۰	۷/۱۶×۱۰۲	۰	۵۸/۴×۱۰۲
بار قارچی مایع صفاق (کل صفاق)	۱۰۲×۱۰۲	۱۳×۱۰۲	۲۶×۱۰۲	۰	۱۹/۶۶×۱۰۲	۰	۶۹/۸۳×۱۰۲
تعداد ماکروفاژهای صفاقی	۵/۳×۱۰۴	۶/۱۱×۱۰۴	۶/۱۱×۱۰۴	۴/۹۴×۱۰۴	۴/۴۷×۱۰۴	۴/۱×۱۰۴	۴/۱۱×۱۰۴



شکل ۱: رنگ آمیزی اختصاصی(GMS) بافت کلیه در تمام گروههای تحت آزمایش



شکل ۲: رنگ آمیزی اختصاصی(GMS) بافت کبد در تمام گروههای تحت آزمایش

بحث

مطالعات متعددی فعالیت ضد میکروبی عصاره و اسانس زنجبیل را در برابر قارچ‌ها، باکتری ها، ویروس ها و پروتوزوئرهای بیماریزا بررسی کرده اند(۷, ۱۱-۱۳). درگزارش های قبلی فعالیت ضد قارچی زنجبیل بر علیه تعدادی از پاتوژن های انسانی در غلظت کمتر از۲ میلی گرم در میلی لیتر در آزمایشگاه نشان داده شده است(۲۰). در این مطالعه، ما تلاش کردیم با استفاده از یک مدل موشی از کاندیدیازیس سیستمیک، توانایی زنجبیل را در برابر *C. albicans* بررسی کنیم.

در مطالعه حاضر، اثرات ضد قارچی *in vivo* دوزهای مختلف زنجبیل بر بارقارچی و اثرات هیستوپاتولوژی اندامهای کبد و کلیه بعنوان دو عضو با ریسک بالای عفونت کاندیدیازیس و صفاق (منبع عفونت) در یک مدل تجربی کاندیدیازیس سیستمیک در موش Balb / c بررسی شد.

www.SID.ir

Archive of SID

با توجه به خواص مفید زنجبیل مانند فعالیت ضد میکروبی و ضد قارچی و ضد التهابی آن ،این گیاه مورد توجه ما قرار گرفت.در مطالعه ای اثرات ضد قارچی زنجبیل را به پروتئین موجود در ریزوم زنجبیل نسبت داده و اثر مهاری آن بر برخی از قارچها، مانند فوزاریوم اکسیزپاروم(Fusarium oxysporum) بررسی شد(۱۳). Nguefack و همکاران . (20)نشان دادند که عصاره زنجبیل می تواند از تکثیرفوزاریوم مونیلی فرم (Fusarium moniliforme)، آسپرژیلوس فلاووس (Aspergillus flavus) و آسپرژیلوس فومیگاتوس (A. fumigatus) در شرایط آزمایشگاهی جلوگیری کند(۲۱). فیکر و همکاران خواص ضد قارچی ۳۶ عصاره گیاهی بر روی ۱۳ عفونت قارچی شناخته شده انسان را ارزیابی نموده و گزارش دادند که عصاره های زنجبیل اثرات مهاری بر گونه های مختلف قارچی دارند(۲۲).

نتایج حاصل از کشت کبد و کلیه و مایع صفاق موش گروههای مختلف آزمایش شده نشان دهنده مهار رشد کاندیدا و کاهش بار قارچی در مقایسه با گروه شاهد بدون درمان و نزدیک به گروه فلوکونازول بود.

این نتایج نشان داد عصاره زنجبیل در رقت ۱۰۰ رشد *C. albicans* را تقریبا به طور موثر و حتی بهتر از فلوکونازول کاهش داده است ($p<0.05$). در مطالعه محمدی و همکاران نشان داده شد که عصاره زنجبیل دارای خواص ضد قارچی قوی در مقابل گونه های *C. albicans* مقاوم به فلوکونازول است که از بیماران مبتلا به کاندیدیازیس تناسلی جدا شده اند(۲۳) درمطالعه دیگری اثر کلینیکال زنجبیل و کلوتریمازول در مقایسه با کلوتریمازول واژینال به تنهایی مورد بررسی قرار گرفت .نتایج مطالعه نشان داد که کرم حاوی زنجبیل و کلوتریمازول ۱٪ موثر بوده و ممکن است مفیدتر از کلوتریمازول به تنهایی برای درمان کاندیدیازیس واژینال باشد(۲۴).

نتایج حاصل در این مطالعه نشان داد که اثرات عصاره زنجبیل وابسته به دوز نبوده و غلظت ۲۰۰میلی گرم در لیتر نتایج ضعیف تری نسبت به غلظت ۱۰۰ میلی گرم در لیترنشان داده است. بدلیل غلظت بالای این دوز شاید بهتر بود جهت جذب بهتر و بیشتر دارو و افزایش اثرات آن، عصاره بصورت چند دوز مجزا در روز خورانده شده و مجددا بررسی شود. زنجبیل حاوی ترکیبات پلی فنولیک مانند فلاونوئیدها هستندکه از مهم ترین مواد شیمیایی مسئول اثرات بیولوژیکی این گیاه می باشد. این ترکیبات احتمالا مسئول فعالیت های ضد قارچی هستند(۲۵).

همچنین در رنگ آمیزی اختصاصی مقاطع بافتی کلیه در گروه دارویی زنجبیل ۱۰۰میلی گرم در میلی لیتر در بین لوله های کلیه مخمری دیده نشد. در سال ۲۰۰۱ در کشور آمریکا، Manohar و همکاران در مطالعه خود اثر ضد قارچی گیاه دارویی Origanum بر علیه کاندیدا آلبیکنس در موش Balb/c را مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که داروی گیاهی فوق باعث زنده ماندن ۸۰٪ از موش های گروه دارو بعد از ۳۰ روز شد ودر بررسی های پاتولوژی اسمیر کلیه با رنگ آمیزی بلودومتیلن ۱٪ و همچنین کشت کلیه‌ها در محیط سابورو دکستروز آگار و شمارش کلنی های کاندیدا آلبیکنس انجام گرفت(۲۶) در مطالعه حاضر نیز کار مشابهی صورت گرفت و اثر عصاره گیاه دارویی زنجبیل با فلوکونازول مقایسه شد و نتایج حاصل نشان داد که از بین سه دوز مصرفی در موش ها دوز ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم وزن بدن از لحاظ کاهش بار میکروبی بافتها و اثرات نامطلوب بافتی بهتر از دو دوز ۵۰ و ۲۰۰ عمل کرده و قابل مصرف است. البته لازم است بررسی های بیشتری بصورت *in vivo* *انجام* گیرد.

ماکروفاژها یک جمعیت عمده سلولی درسیستم ایمنی ذاتی هستند که نقش مهمی در ایجاد پاسخ التهابی، توسط ترشح تعدادی از سیتوکین‌ها و کیموکین ها دارند. فرا خوانی ماکروفاژ ها به موضع عفونت در بیماریهای قارچی از اهمیت بالایی برخوردار است زیرا در مراحل اولیه یکی از مهمترین و موثرترین سلولها در دفاع میزبان محسوب می شوند. دوز مخمرهای تزریق شده، مدت زمان درمان و زمان اتونایز کردن می تواند در تعداد ماکروفاژهای شمارش شده نقش داشته باشد(۲۷).

www.SID.ir

Archive of SID

با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق عصاره زنجبیل به خوبی توانسته است فراخوانی ماکروفاژها به موضع را انجام داده و این تعداد حتی از گروه فلو کونازول هم بیشتر بوده است. یارئی وهمکاران در سال ۲۰۰۹ در مطالعه ای که در تهران انجام دادند تاثیر داروی گیاهیM14 بر عفونت سیستمیک کاندیدایی در موش Balb/c بررسی کردند به این نتیجه رسیدند که داروی گیاهی فوق باعث کاهش میزان مرگ ومیر موش ها بعد از ۲۴ ساعت در گروه دارو وکاهش تعداد کلنی حاصل از کشت کلیه ها وکاهش تعداد کلنی حاصل از کشت خون شد. همچنین تعداد ماکروفاژهای صفاقی در موش های گروه دارو در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنا داری نشان داد(۲۸) و این پدیده را موثر در حفظ موش ها و کاهش بار میکروبی اندام ها در نظر گرفتند که با نتایج ما در مورد زنجبیل شباهت داشت.

نتیجه گیری

این یافته ها اثرات ضد قارچی عصاره ی زنجبیل را در شرایط *in vivo* نشان می‌دهد و بیانگر این است که عصاره زنجبیل می‌تواند بعنوان یک عامل ضد قارچی موثر با کارایی خوب در برابر کاندیدیازیس منتشر عمل کند. همچنین این گیاه می‌تواند برای جلوگیری از عفونت‌های قارچی، مانند کاندیدیازیس، به ویژه در بیماران با ریسک بالا مفید باشد. بررسی اثر سینرژیسمی آنها با آنتی بیوتیک ها به منظورکاهش سمیت داروهای شیمیایی و کاهش اثرات جانبی دارو نیز پیشنهاد می شود.

قدردانی

این مقاله حاصل از طرح تحقیقاتی با شناسه اخلاق IR.AJUMS.ABHC.REC.1398.040 در دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز می باشد که منبع مالی آن توسط معاونت پژوهشی این دانشگاه تأمین شده است.

منابع

1-Pfaller M, Diekema D. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. Clinical microbiology reviews. 2007;20(1):133-63.
2-Morrell M, Fraser VJ, Kollef MH. Delaying the empiric treatment of Candida bloodstream infection until positive blood culture results are obtained: a potential risk factor for hospital mortality. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2005;49(9):3640-5.
3-Looi CY, D'Silva EC, Seow HF, Rosli R, Ng KP, Chong PP. Increased expression and hotspot mutations of the multidrug efflux transporter, CDR1 in azole-resistant Candida albicans isolates from vaginitis patients. FEMS microbiology letters. 2005;249(2):283-9.
4-Pemán J, Cantón E, Espinel-Ingroff A. Antifungal drug resistance mechanisms. Expert review of anti-infective therapy. 2009;7(4):453-60.
5-Garvey E, Hoekstra W, Schotzinger R, Sobel J, Lilly E, Fidel P. Efficacy of the clinical agent VT-1161 against fluconazole-sensitive and-resistant Candida albicans in a murine model of vaginal candidiasis. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2015;59(9):5567-73.
6-Aghel N, Mahmoudabadi AZ, Darvishi L. Volatile constituents and anti candida activity of the aerial parts essential oil of Dittrichia graveolens (L.) Greuter grown in Iran. African Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2011;5(6):772-5.
7-Ficker C, Smith M, Akpagana K, Gbeassor M, Zhang J, Durst T, et al. Bioassay-guided isolation and identification of antifungal compounds from ginger. Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives. 2003;17(8):897-902.
8-Sanwal SK, Rai N, Singh J, Buragohain J. Antioxidant phytochemicals and gingerol content in diploid and tetraploid clones of ginger (Zingiber officinale Roscoe .(Scientia Horticulturae. 2010;124(2):280-5.
9-Singh G, Kapoor I, Singh P, de Heluani CS, de Lampasona MP, Catalan CA. Chemistry, antioxidant and antimicrobial investigations on essential oil and oleoresins of Zingiber officinale. Food and Chemical Toxicology. 2008;46(10):3295-302.
10-Talpur AD, Ikhwanuddin M, Bolong A-MA. Nutritional effects of ginger (Zingiber officinale Roscoe) on immune response of Asian sea bass, Lates calcarifer (Bloch) and disease resistance against Vibrio harveyi. Aquaculture. 201.٥٢-٤٠٠:٤٦;٣

www.SID.ir

Archive of SID

11-Agarwal M, Walia S, Dhingra S, Khambay BPS. Insect growth inhibition, antifeedant and antifungal activity of compounds isolated/derived from Zingiber officinale Roscoe (ginger) rhizomes. Pest Management Science: formerly Pesticide Science . ۳۰۰-۲۸۹:(۳)۵۷;۲۰۰۱.
12-Noshirvani N, Ghanbarzadeh B, Gardrat C, Rezaei MR, Hashemi M, Le Coz C, et al. Cinnamon and ginger essential oils to improve antifungal, physical and mechanical properties of chitosan-carboxymethyl cellulose films. Food Hydrocolloids. 2017;70:36-45.
13-Wang H, Ng TB. An antifungal protein from ginger rhizomes. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2005;336(1):100-4.
14-Chrubasik S, Pittler M, Roufogalis B. Zingiberis rhizoma: a comprehensive review on the ginger effect and efficacy profiles. Phytomedicine. 2005;12(9):684-701.
15-Doyle TC, Nawotka KA, Kawahara CB, Francis KP, Contag PR. Visualizing fungal infections in living mice using bioluminescent pathogenic Candida albicans strains transformed with the firefly luciferase gene. Microbial pathogenesis. 2006;40(2):82-90.
16-Green CB, Zhao X, Hoyer LL. Use of green fluorescent protein and reverse transcription-PCR to monitor Candida albicans agglutinin-like sequence gene expression in a murine model of disseminated candidiasis. Infection and immunity. 2005;73(3):1852-5.
17-Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, Clancy CJ, Marr KA, Ostrosky-Zeichner L, et al. Clinical practice guideline for the management of candidiasis: 2016 update by the Infectious Diseases Society of America. Clinical Infectious Diseases. 2015;62(4):e1-e50.
18-Khodavandi A, Alizadeh F, Harmal NS, Sidik SM, Othman F, Sekawi Z, et al. Comparison between efficacy of allicin and fluconazole against Candida albicans in vitro and in a systemic candidiasis mouse model. FEMS microbiology letters. 2011;315(2):87-93.
19-Nikaein D, Khosravi AR, Moosavi Z, Shokri H, Erfanmanesh A, Ghorbani-Choboghlo H, et al. Effect of honey as an immunomodulator against invasive aspergillosis in BALB/c mice. Journal of Apicultural Research. 2014;53(1):84-90.
20-Atai Z, Atapour M, Mohseni M. Inhibitory effect of ginger extract on Candida albicans. American Journal of Applied Sciences. 2009;6(6):1067-9.
21-Nguefack J, Leth V, Zollo PA, Mathur S. Evaluation of five essential oils from aromatic plants of Cameroon for controlling food spoilage and mycotoxin producing fungi. International Journal of Food Microbiology. 2004;94(3):329-34.
22-Ficker CE, Arnason J, Vindas P, Alvarez L, Akpagana K, Gbeassor M, et al. Inhibition of human pathogenic fungi by ethnobotanically selected plant extracts. Mycoses. 2003;46(1-2):29-37.
23-Mohammadi R, Moattar F. Antifungal activity of Zingiber officinale Rosc. essential oil against fluconazole resistant vaginal isolates of Candida albicans. Journal of Medicinal Plants. 2007;4(24):22-7.
24-Shabanian S, Khalili S, Lorigooini Z, Malekpour A, Heidari-Soureshjani S. The effect of vaginal cream containing ginger in users of clotrimazole vaginal cream on vaginal candidiasis. Journal of advanced pharmaceutical technology & research. 2017;8(2):80.
25-Ghasemzadeh A, Jaafar HZ, Rahmat AJM. Antioxidant activities, total phenolics and flavonoids content in two varieties of Malaysia young ginger (Zingiber officinale Roscoe). 2010;15(6):4324-33.
26-Manohar V, Ingram C, Gray J, Talpur NA, Echard BW, Bagchi D, et al. Antifungal activities of origanum oil against Candida albicans. Molecular and cellular biochemistry. 2001;228(1-2):111-7.
27-Odds FC, Van Nuffel L, Gow NA. Survival in experimental Candida albicans infections depends on inoculum growth conditions as well as animal host. Microbiology. 2000;146(8):1881-9.
28-Yaraee R, Ghazanfari T, Eghtedardoost M, Rajabi M, Naseri M. The effect of MS14 on innate and cellular immune responses in BALB/c mice. Immunopharmacology and immunotoxicology. 2011;33(3):509-14.

www.SID.ir

Archive of SID

Effect of *Zingiber officinale* Extract on Tissue Changes in BALB/c Mice with Systemic Candidiasis

Mahnaz Fatahinia[1*], Ali Ghamari[2], Esrafil Mansori[3]

1-Assistant Professor of Medical Mycology.
2-MSc, of Medical Mycology.
3-Associate Professor of Anatomy.

1-Department of Medical Mycology, Infectious and Tropical Diseases Research Center, Health Research Institute and school of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.
2-Department of Mycology, school of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.
3-Department of Anatomy, Cellular and Molecular Research Center, Faculty of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

**Corresponding author:*
Mahnaz Fatahinia; Department of Medical Mycology, Infectious and Tropical Diseases Research Center, Health Research Institute and School of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.
Tel:+989163102952
Email: fatahinia@yahoo.com

Abstract

Background and Objectives: *Candida* species are the fourth agent of blood infections in hospitalized patients. Many cases of treatment failure and resistance to antifungal drugs have been reported. In this study, the effect of alcoholic extract of ginger, as an immune system stimulant, with antimicrobial and antifungal properties, was surveyed on systemic candidiasis in Balb/c mice.

Materials and Methods: In the experimental study, 49 female mice of Balb/c were randomly divided into seven groups (n=7 in each group). After intravenously injection by the standard strain of *C. albicans* (ATCC 10231), mice were treated by ginger extract at doses of 50, 100 and 200 mg/ml and fluconazole (12 mg/kg of body weight, 0.1 ml) for 7 days. Then the mice were euthanized and evaluated for microbial load of the kidneys, liver, peritoneum liquid and peritoneal Macrophages. In addition pathological examinations of kidney and liver tissues were carried out by specific staining of GMS.

Results: Ginger extract at 100 mg/ml was able to reduce the microbial load of the kidneys, liver, peritoneum and increase the count of peritoneal macrophages compared to the positive control group. The results of histopathology also confirmed the pathological changes of liver and kidney tissues in ginger group compared to fluconazole and positive control group which were classified as mild, moderate and severe.

Conclusion: The results indicate that ginger extract can act as an effective antifungal agent with good efficacy against invasive candidiasis.

Key words: *"Systemic Candidiasis"; "Balb / c mouse"; "Fluconazole";" Ginger".*

►*Please cite this paper as:*
Fatahinia M, Ghamari A, Mansori E. Effect of Zingiber officinale Extract on Tissue Changes in BALB/c Mice with Systemic Candidiasis. Jundishapur Sci Med J 2019; 18(2): 143-151

Received: May 20, 2019 **Revised: July 3, 2019** **Accepted: July 13, 2019**

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir