

مقایسه اثر نانو ذرات سلنیوم و نقره در بهبودی ضایعه پوستی ناشی از لیشمانیا ماژور در موش

فروش جامعی*، دکتر عبدالحسین دلیمی اصل**، مهدی کریمی***، دکتر فاطمه غفاری فر**

دریافت: ۹۴/۲/۲۲ پذیرش: ۹۴/۵/۲۴

چکیده:

مقدمه و هدف: نانو ذرات سلنیوم و نقره از موادی هستند که خاصیت ضد میکروبی و ضد قارچی و ضد انگلی آنها گزارش شده است. هدف از این مطالعه تعیین اثر ضد لیشمانیایی نانو ذرات سلنیوم و نقره در بهبودی زخم ناشی از لیشمانیا ماژور در موش بوده است.

روش کار: در این مطالعه تجربی در تعدادی موش بالغ سی از طریق تزریق پروماستیکوت های لیشمانیا ماژور آلودگی تجربی ایجاد گردید. پس از ظهور زخم در دم موش ها، آنها را به چهار گروه ۶ تایی تقسیم و در دو گروه درمان با نانو ذرات سلنیوم و نقره هر روز، روزی یک مرتبه به صورت داخل زخم و در سه نقطه و در گروه گلوکانتیم دارو بصورت عضلانی بمدت ۸ هفته تزریق شد. در گروه شاهد منفی، موشها هیچ دارویی دریافت نداشتند. وزن موش ها و قطر زخم هر روز بمدت ۵ هفته اندازه گیری و ثبت و با یکدیگر مقایسه شد.

نتایج: قطر زخم های گروه تحت درمان با نانو سلنیوم اختلاف معنی داری با گروه شاهد بدون درمان نداشت ولی قطر زخم های گروه تحت درمان با نانو نقره اختلاف معنی داری با گروه شاهد بدون درمان داشت ولی بزرگتر از گروه تحت درمان با گلوکانتیم بود.

نتیجه نهایی: برخلاف نانو ذره سلنیوم، نانو ذره نقره در محیط درون تنی اثرات ضد لیشمانیایی از خود نشان می دهد. اما این اثر همانند گلوکانتیم کاملاً ضایعه لیشمانیایی را بهبود نمی دهد.

کلید واژه ها: التیام زخم / سلنیوم / لیشمانیا ماژور / نقره

مقدمه:

و انسان را آلوده کند. لیشمانیوز جلدی یا سالک با یک ندول کوچک شروع شده و اغلب زخمی می شود. لیشمانیوز جلدی دنیای قدیم (زخم شرقی) در اثر *L. tropica*، *L. major*، *L. aethiopica* ایجاد می شود. *L. tropica* زخم خشک (شهری) را تولید می کند که دوره آن طولانی تر از زخم مرطوب (روستایی) *L. major* است. لیشمانیوز جلدی مخاطی دنیای جدید در اثر کمپلکس های *L. braziliensis*، *L. mexicana* و *L. pruvaina* ایجاد می شود. این نوع لیشمانیوز دارای اشکال بالینی متفاوت و بصورت عارضه های جلدی مخاطی است (۱).

تخمین زده شده که بیش از ۳۵۰ میلیون نفر در

لیشمانیوز نام گروهی از بیماری هاست که توسط تک یاخته هایی از جنس *Leishmania* از راسته *Kinetoplastida* ایجاد می شود. بیماری های حاصل از لیشمانیا به سه گروه تقسیم می شوند: لیشمانیوز احشایی (کالآزار)، جلدی (سالک) و جلدی-مخاطی. لیشمانیا ماژور پاتوژن داخل سلولی است که ماکروفاژها و سلول های دندریتیک ایمنی را درگیر کرده و لیشمانیوزیس پوستی زئونوتیک ایجاد می کند. این انگل از طریق پشه خاکی فلپوتوموس منتقل می شود. میزبان های اولیه آن مهره داران هستند ولی به طور معمول می تواند کفتار، سگ سانان، چوندگان

* دانشجوی دوره دکتری انگل شناسی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس

** استاد گروه انگل شناسی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس (dalimi_a@modares.ac.ir)

*** کارشناسی ارشد انگل شناسی دانشگاه تربیت مدرس

نانو ذرات مختلف می توان در نابودی انگل ها (دارای اثر کشندگی و مهارتی)، ساخت ترکیبات دارویی موثر و کم ضرر و همچنین واکسن های مفید استفاده کرد.

در سالیان اخیر از برخی نانوپارتیکل ها از جمله طلا، سلنیوم، نقره و سولفید در درمان لیشمانیا استفاده شده است. مزایای استفاده از محصولات نانو نقره این است که خاصیت ضد باکتری، ضد قارچی و ضد ویروسی با غلظت های کم و مدت زمان ماندگاری طولانی را دارند (۶،۷). در مورد اثرات نانو ذرات مختلف از جمله سلنیوم و نقره بر روی بهبودی زخم لیشمانیایی نیز مطالعاتی انجام شده است (۸-۱۵).

گرچه در مورد اثر نانو ذرات نقره بر زخم لیشمانیایی مطالعاتی خوبی انجام شده ولی نتایج آنها متفاوت و گاهی متناقض بوده است ممکن است نوع سویه انگل در اثربخشی داروی مورد استفاده موثر باشد. از طرفی در مورد تاثیر نانو ذرات سلنیوم بر زخم لیشمانیایی نیز مطالعات بسیار محدودی صورت گرفته است. هدف از انجام این مطالعه مقایسه تاثیر نانو ذرات سلنیوم و نقره در بهبودی ضایعه لیشمانیایی ناشی از سویه ایرانی لیشمانیا ماژور در موش بلب سی بود.

روش کار:

تهیه انگل لیشمانیا: سویه بومی استاندارد (MRHO.IR.75.ER) از انستیتو رازی خریداری و پاساژهای متوالی از آن تهیه شد.

کشت و نگهداری انگل: در این مطالعه تجربی از دو محیط NNN تغییر یافته و RPMI1640 استفاده شد. ابتدا انگل در محیط NNN تغییر یافته سپس در محیط RPMI1640 کشت داده شد به منظور کشت انگل لیشمانیا، محیط RPMI1640 به صورت آماده از شرکت Gibco خریداری شد. برای جلوگیری از رشد باکتری ها 100unit/ml پنی سیلین و 100µg/ml استرپتومایسین و به عنوان ماده مکمل سرم جنین گوساله (FBS) ۱۵-۱۲٪ به محیط اضافه شد. سپس فلاسک ها به انکوباتور ۲۴°C منتقل و هر روز با میکروسکوپ invert بررسی شد. در صورتیکه رنگ محیط زرد شده و پروماستیگوت ها وارد فاز ایستا می شدند، محیط کشت جدید به آنها اضافه می گردید. این کار تا زمانی انجام می شود که تعداد انگل به میزان مورد نیاز بالا رود. برای شمارش تعداد انگل از لام نئوبار و برای تعیین تعداد انگل در هر میلی لیتر از این فرمول استفاده شد.

سراسر جهان مورد تهدید این بیماری قرار می گیرند. طبق آمار وزارت بهداشت سالانه حدود پانزده هزار نفر در کشور ایران به بیماری لیشمانیوز جلدی مبتلا می شوند که بنابر تحقیقات موجود میزان واقعی آن ۴ تا ۵ برابر این مقداری است که گزارش می شود. میزان بروز بیماری در ایران ۰/۲۸ در هر هزار نفر جمعیت تخمین زده می شود (۱).

رایج ترین داروهای موجود استفاده از ترکیبات پنج ظرفیتی آنتی موان (پنتوستام و گلوکانتیم) می باشد. سایر داروهای مورد استفاده عبارتند از آمفوتریسین B، مترونیدازول، دیامیدین، پنتامیدین، آلپورینول، کتوکونازول، استروکونازول، داپسون، پارامومایسین و مونومایسین. اثر بخشی این داروها به تنهایی و یا همراه با گلوکانتیم و یا ترکیبی از آنها و عوارض حاصل از مصرف آنها به صورت سیستمیک یا موضعی نیاز به تحقیق بیشتری دارد (۲،۳).

گلوکانتیم رایج ترین دارویی است که در ایران استفاده می شود در اثر مصرف این دارو عوارض موضعی مانند دردناک بودن آن هنگام تزریق و عوارض عمومی و سیستماتیک مانند بی اشتهایی، تب و لرز، درد مفاصل، سردرد، درد عضله، ضعف، سرفه، تنگی نفس، اختلالات گوارشی، تورم صورت، پانکراتیت، افزایش آمیلاز و لیپاز سرم، عوارض قلبی و عروقی به شکل بی نظمی ضربان قلب و تغییرات در الکتروکاردیوگرام، عوارض کبدی بصورت افزایش آنزیم های کبدی و واکنش های آنافیلاکتوئیدی، عوارض کلیوی و دیسکرازی خونی گزارش شده است. معمولا در بیماران با مشکلات کبدی و کلیوی استفاده از این دارو توصیه نمی شود. علاوه بر این گلوکانتیم گران قیمت بوده و گزارشهای مربوط به مقاومت انگل نسبت به گلوکانتیم در مناطق مختلف جهان رو به افزایش است (۱،۲،۴).

با توجه به موارد فوق الذکر، محققین نسبت به استفاده از برخی از ترکیبات جدید مانند محلول نانو ذرات مختلف علاقه مند شده اند (۵). نانو ذره، ذراتی با ابعاد ۱۰ تا ۱۰۰ نانومتر هستند که در دو نوع فلزی و غیر فلزی وجود دارند. معمولا به خاطر زیست سازگاری بالا، از انواع غیر فلزی برای مصارف پزشکی و دارو رسانی استفاده می شود. این ذرات به روش های فیزیکی و شیمیایی سنتز می شوند و از آنها برای از بین بردن میکروارگانیسم ها می توان به صورت منفرد یا ترکیبی استفاده کرد. از

علامت گذاری شده و در قفس های جدا گانه قرار گرفتند. موش ها به ۴ گروه (شاهد آلوده بدون درمان، گروه آلوده تحت درمان با نانوذره سلنیوم، گروه آلوده تحت درمان با نانوذره نقره و گروه شاهد آلوده تحت درمان با گلوکانتیم) تقسیم شدند و در هر گروه ۶ موش قرار داده شد.

شروع درمان، طول دوره درمان و اندازه گیری قطر زخم: زخم ها پس از ۱۴ روز کاملاً مشهود بودند. نانو ذرات سلنیوم و نقره هر روز، روزی یک مرتبه به صورت داخل زخم و در سه نقطه به مدت چهار هفته تزریق شد. در موشهای گروه چهارم تزریق گلوکانتیم ۲۰ mg/kg بصورت عضلانی روزی یکبار به مدت چهار هفته انجام شد. وزن موش ها و قطر زخم هر روز بمدت ۵ هفته اندازه گیری و ثبت می شد.

تحلیل آماری: جهت مقایسه میانگین متغیرهای مورد مطالعه در گروه های مختلف از روش تحلیل واریانس یک طرفه استفاده شد. همچنین برای تشخیص تفاوت های معنی دار به صورت دو به دو بین گروه های مختلف از آزمون t-test استفاده گردید. قابل ذکر است که از آزمون کولموگوروف- اسمیرنوف یک نمونه ای برای بررسی فرض نرمال بودن متغیرهای مورد بررسی استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار SPSS ویراست ۱۶ استفاده شد و سطح معنی داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. نتایج آزمون کولموگوروف- اسمیرنوف یک نمونه ای نشان دهنده آن است که فرض نرمال بودن برای متغیرهای وزن و اندازه زخم در زمان های مختلف را نمی توان رد کرد ($P > 0.05$).

نتایج:

میانگین قطر زخم در گروه های تحت آزمایش و شاهد: در تمام گروه های شاهد و تحت آزمایش میانگین قطر زخم در هفته های اول الی پنجم پس از شروع درمان اندازه گیری شد. نتایج میانگین قطر زخم گروه های شاهد و تحت آزمایش در طول پنج هفته در جدول ۱ آورده شده است. در هیچ کدام از گروه ها درمان قطعی زخم حاصل نگردید. گروه تحت درمان با گلوکانتیم دارای کوچکترین قطر زخم بودند. اختلاف میانگین اندازه قطر زخم این گروه با سایر گروه ها معنی دار بود ($P < 0.05$). میانگین قطر زخم های گروه تحت درمان با نانوسلنیوم اختلاف معنی داری با گروه شاهد بدون درمان نداشتند ($P > 0.05$) ولی اندازه قطر زخم های این گروه بصورت معنی داری

۱۰۰۰×۱۰×۱۰ میانگین تعداد انگل در ۴ خانه شمارش WBC

نوبار = N (تعداد انگل در هر میلی لیتر)

آماده سازی نانو ذره سلنیوم: نانو ذره سلنیوم مورد استفاده تولید کشور آمریکا، به صورت محلول و به رنگ قرمز بوده و از شرکت جهان ثانی طوس مشهد خریداری شد. غلظت اولیه نانو ذره 3000ppm و اندازه آن ۱۵-۱۰ نانومتر بود.

آماده سازی نانو ذره نقره: در این مطالعه از محلول نانوسیلور ۳۰۰۰ ppm که توسط شرکت US Research Nanomaterials آمریکا تولید می گردد و توسط شرکت پیشگامان نانومواد ایرانیان مشهد توزیع می شود، استفاده شد، اندازه ذرات نقره در این محلول ۲۰ نانومتر می باشد که درصد خلوص آن بنابر اعلام شرکت سازنده ۹۹/۹۹٪ می باشد. این ترکیب دارای ویژگی های ضد عفونی کنندگی (ضد قارچ، باکتری و ضد ویروس) می باشد. نانوذره نقره مورد استفاده به صورت محلول و به رنگ سیاه می باشد. در این پژوهش برای ارزیابی نانو ذره در شرایط درون تنی از تزریق نانو ذره با غلظت ۱۲۵ mg/kg به صورت تزریق داخل زخم در سه نقطه روزی یکبار به مدت چهار هفته استفاده شد.

حیوان آزمایشگاهی مورد استفاده: در این مطالعه موش های Balb/c ۴-۶ هفته ای ماده مورد استفاده قرار گرفت. حیوانات مذکور، از مرکز تولید و پرورش حیوانات آزمایشگاهی، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی خریداری شده و در واحد نگهداری حیوانات آزمایشگاهی متعلق به دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس نگهداری شدند.

آلوده کردن موش ها: برای آلوده نمودن موش ها ۰/۱ میلی لیتر محلول حاوی 2×10^6 پروماستیگوت لیثمانیا ماژور در فاز stationary توسط سرنگ انسولین به قاعده دم موشها و به صورت زیر جلدی تزریق شد. لازم به ذکر است برای تایید فاز ایستایی انگل، تعداد پروماستیگوت ها پس از کشت در محیط NNN تغییر یافته، بصورت روزانه شمارش گردید. در فاز ایستایی رشد انگل کند می شود. پس از گذشت ۲ هفته از تزریق انگل، گره کوچک سفتی در محل تزریق پدید آمد که پس از حدود ۲ هفته به زخم تبدیل شد. برای اطمینان از حضور انگل لیثمانیا در زخم، از روش نمونه برداری و مشاهده با لام مستقیم در زیر میکروسکوپ استفاده شد.

گروه بندی موش ها: برای تفکیک موشها از یکدیگر، با استفاده از روش رنگ آمیزی اسید پیکریک، حیوانات

یکی از این مواد می باشد که تاثیر ضد میکروبی و ضد قارچی دارد. استفاده از نقره برای درمان عفونت ها از سالهای دور رایج بوده است ولی با پیشرفت نانوتکنولوژی، استفاده از آن به شکل نانو ذره، راههای درمانی جدیدی را گشود (۷). محبعلی و همکاران غلظت های مختلف نانوسیلور را در سال ۲۰۰۹ در شرایط برون تنی و درون تنی بر روی انگل لیشمانیا ماژور مورد بررسی قرار دادند. نتایج این مطالعه نشان داد که غلظتهای مختلف نانوسیلور در مقایسه با گروه کنترل سبب کاهش آماستیگوت ها می گردد ولی این کاهش اختلاف معنی داری با گروه شاهد نداشته است. همچنین، غلظت های مختلف نانوسیلور سبب کاهش معنی داری در اندازه میانگین زخم ها نشده است (۸). برعکس، در مطالعه حاضر مصرف نانونقره باعث کاهش معنی دار در میانگین رشد قطر زخم شده بطوری که پس از ۵ هفته پیگیری، اندازه زخم در گروه تحت درمان با نانونقره حدود یک دوم اندازه گروه شاهد منفی (بدون دریافت هرگونه درمان) بوده است. با توجه به اینکه در هر دو این مطالعات از سویه واحد استفاده شده است لذا نقش سویه در اثر بخشی نانو ذرات نقره بر علیه لیشمانیا ماژور کاملاً منتفی است.

بزرگتر از گروههای تحت درمان با نانونقره و گلوکانتیم بود ($P < 0.05$). میانگین قطر زخم های گروه تحت درمان با نانو نقره اختلاف معنی داری با گروه شاهد بدون درمان داشتند ($P < 0.05$) و تا حدودی نزدیک به گروه تحت درمان با گلوکانتیم بودند.

بطور کلی نتایج نشان داد استفاده از نانو ذرات سلنیوم و نقره در موش باعث بهبودی کامل زخم ناشی از لیشمانیا ماژور نمی شود.

بررسی وزن موشها در طول درمان: وزن موشها در طول دوره درمان (۳۵ روز) پنج بار اندازه گیری شد. مقادیر میانگین و انحراف معیار وزن موشها در گروههای مختلف در مدت زمان مطالعه در جدول ۲ نمایش داده شده است. وزن موشهای گروه تحت درمان با نانوسلنیوم و گروه تحت درمان با نانونقره اختلاف معنی داری با گروه شاهد بدون درمان داشتند ($P < 0.05$).

بحث:

با پیشرفت تکنولوژی در سال های اخیر، استفاده از علوم نانو در رشته های مختلف گسترش یافته است، در علوم پزشکی نیز استفاده از نانوذرات در از بین بردن بسیاری از میکروارگانیسم ها به اثبات رسیده است، نانو ذره نقره

جدول ۱: مقادیر میانگین و انحراف معیار اندازه زخم در موشهای تحت مطالعه در گروههای تحت درمان و شاهد بر حسب میلیمتر

زمان (هفته)	شاهد بدون درمان (گروه ۱)	نانو ذره سلنیوم (گروه ۲)	نانو ذره نقره (گروه ۳)	شاهد مثبت (گلوکانتیم) (گروه ۴)
۱	۸/۶۰±۲/۱۲	۷/۴۲±۱/۹۱	۶/۲±۳/۱۴	۵/۰۲±۱/۲۴
۲	۹/۴۴±۲/۷۵	۸/۸۸±۲/۸۶	۶/۴۳±۲/۱۶	۵/۰۸±۱/۰۸
۳	۱۰/۰۱±۴/۸۷	۱۰/۴۸±۴/۴۱	۶/۷۷±۳/۴۶	۵/۱۰±۱/۴۶
۴	۱۱/۶۹±۵/۱۴	۱۱/۰۶±۶/۳۴	۶/۹۹±۳/۵۳	۵/۱۶±۱/۳۵
۵	۱۴/۵۷±۷/۰۱	۱۲/۸۸±۸/۳۹	۷/۴۵±۴/۳۲	۵/۲۱±۱/۹۵
اختلاف معنی دار با	گروههای ۳ و ۴	گروههای ۳ و ۴	گروههای ۳ و ۴	گروههای ۳ و ۴

جدول ۲: مقادیر میانگین و انحراف معیار وزن موشهای تحت مطالعه در گروههای تحت درمان و شاهد بر حسب گرم

زمان (هفته)	شاهد بدون درمان (گروه ۱)	نانو ذره سلنیوم (گروه ۲)	نانو ذره نقره (گروه ۳)	شاهد مثبت (گلوکانتیم) (گروه ۴)
۱	۲۱/۷۴±۲/۱۳	۲۳/۴۱±۱/۴۷	۲۵/۹۷±۲/۵۳	۲۴/۸۵±۲/۶۹
۲	۲۵/۰۵±۲/۹۳	۲۴/۴۰±۲/۱۲	۲۶/۰۰±۱/۶۷	۲۴/۸۹±۲/۴۴
۳	۲۵/۵۴±۳/۶۸	۲۵/۹۱±۱/۶۶	۲۶/۶۴±۱/۶۱	۲۵/۸۰±۲/۵۱
۴	۲۵/۷۹±۳/۳۷	۲۶/۷۹±۱/۵۷	۲۷/۵۵±۱/۵۲	۲۶/۱۹±۳/۰۹
۵	۲۵/۸۶±۴/۴۰	۲۷/۵۱±۱/۶۸	۲۸/۲۴±۱/۷۲	۲۸/۱۱±۳/۲۳
اختلاف معنی دار با	گروههای ۳، ۴ و ۵	گروههای ۳، ۴ و ۵	گروههای ۳، ۴ و ۵	گروههای ۳، ۴ و ۵

بهشتی و همکاران (۱۵) که تاثیر غلظت های مختلف سلنیوم بیوژنیک تولید شده توسط باکتری باسیلوس گونه MSH-1 بر روی لیشمانیا ماژور در شرایط درون تنی ارزیابی شد، نتایج نشان داد که زخم موش هایی که نانو سلنیوم با دوز ۵ و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت ۱۴ روز قبل از تزریق انگل به موش به صورت داخل صفاقی دریافت کرده اند کوچکتر از بقیه بود و زخم موش هایی که سلنیوم را با دوز ۵ و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم به مدت ۱۴ روز بعد از تزریق انگل به موش به صورت داخل صفاقی دریافت کرده اند کاملاً حذف شد. ولی در مطالعه حاضر که تزریق نانو ذره سلنیوم به صورت داخل زخم و در سه نقطه بمدت چهار هفته انجام شد نتایج نشان داد که قطر زخم در گروه دریافت کننده نانو سلنیوم تفاوت چندانی با گروه شاهد بدون درمان نداشته است. تفاوت این دو مطالعه ممکن است به دلیل نوع متفاوت نانو سلنیوم مورد استفاده از لحاظ منبع و اندازه و یا روش تزریق آن باشد. معمولاً مکانیزم اثر نانو سلنیوم از طریق القای آپوپتوز در سلولهای یوکاریوتی مانند انگل لیشمانیا رخ می دهد (۱۵) و تاکنون گزارشی در مورد عوارض جانبی مصرف آن منتشر نشده است.

نتیجه نهایی:

نتایج نشان داد استفاده از نانو ذرات سلنیوم تاثیر چندانی بر روند بهبود و یا کاهش اندازه قطر زخم ناشی از لیشمانیا ماژور ندارد. از طرفی نانو ذره نقره در موش با اینکه زخم را محدود کرده ولی باعث بهبود کامل زخم لیشمانیایی نمی شود.

سپاسگزاری:

این مقاله به عنوان بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد انگل شناسی پزشکی مصوب دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس می باشد. بدینوسیله، از کلیه همکاران محترم گروه و معاونت پژوهشی دانشگاه و دانشکده تشکر و قدردانی به عمل می آید. ضمناً نتایج این مطالعه با منافع نویسندگان در تعارض نمی باشد.

References

1. Saebi A. Clinical parasitology, protozoal diseases in Iran. 5th ed. Tehran: Aeeizh, 2011: 218-248, 620-622.
2. Hadighi, R, Mohebbali, M, Boucher, P, Hajjaran, H, Khamesipour, A, Ouellette, M. Unrespon-

در همین راستا در مطالعه بایوکو و همکاران در سال ۲۰۱۰ که اثر کشندگی نانو ذره نقره، بر ضد لیشمانیوز احشایی ارزیابی شده، نتایج نشان داد که نانو ذره نقره نسبت به ترکیبات آنتی موان تاثیر بیشتری در کشندگی لیشمانیا دارد (۹). مطالعه علمی و همکاران در سال ۲۰۱۳ مبنی بر استفاده از نانو ذره در درمان عفونت های انگلی، نشان داد که نانو ذره نقره، طلا، کیتوزان و اکسید فلزات بر روی لیشمانیا اثر کشندگی یا مهارکنندگی رشد دارند (۱۰). در مطالعه جبلی و همکاران در سال ۲۰۱۳ که تاثیر نانو ذره نقره، طلا، دی اکسید تیتانیوم، دی اکسید روی و دی اکسید منیزیم زیر نور ماورا بنفش، مادون قرمز و شرایط تاریکی ارزیابی گردید نشان داد که بیشترین فعالیت ضد لیشمانیایی را نقره دارد و نور ماورا بنفش و مادون قرمز نیز هر دو دارای فعالیت ضد لیشمانیایی هستند (۱۱). در مطالعه ترابی و همکاران در سال ۲۰۱۲ تاثیر غلظت های مختلف نانو ذره طلا بر ضد لیشمانیوز پوستی ارزیابی گردید نتایج نشان داد که تعداد آماستیگوت ها کاهش پیدا کرده است (۱۲).

در مورد مکانیزم اثر نانو نقره، مشخص شده است که نانو ذرات نقره گونه های واکنش گر اکسیژن تولید می کنند و انگل لیشمانیا به آن بسیار حساس است (۸). در مطالعه الله وردیو و همکاران در سال ۲۰۱۱ که تاثیر نانو ذره نقره به همراه نور ماورا بنفش، بر ضد لیشمانیوز پوستی ارزیابی گردید نتایج نشان داد که ترکیب نانو ذره به همراه نور ماورا بنفش سبب ممانعت از تکثیر و فعالیت های متابولیکی پروماستیگوت می شود (۱۳). در مورد عوارض جانبی مصرف نانو نقره نیز در پژوهشی که توسط حیدرنژاد و همکاران (۱۳۹۲) برای تعیین تاثیر درمان موضعی زخم های پوستی با نانو ذرات نقره انجام شد نشان داده شد که احتمالاً نانو ذرات نقره اثرات سمی بر روی هموگلوبین و عملکرد کبد در موش سفید آزمایشگاهی ایجاد نمی کند (۱۴).

در مورد استفاده از نانو ذره سلنیوم بر علیه لیشمانیوز جلدی مطالعات محدودی انجام شده است در مطالعه

- siveness to Glucantime treatment in Iranian cutaneous leishmaniasis due to drugresistant *Leishmania tropica* parasites. PLoS Med 2006;3:e162.
3. Arevalot WB, Miller R. Successful treatment of drug resistant cutaneous leishmaniasis in humans

- by use of imiquimod an immuno-modulator. *Clin Infect Dis* 2001;33(11):1847-51
4. Al- Majolio RHB, Abuloham O. A 2 years-Study of Liquied nitrogen therapy in cutaneous leishmaniasis. *Int J Dermatol* 1997; 36(6): 460-462
 5. Maillard JY, Hartemann PH. Silver as an antimicrobial: Facts and gaps in knowledge. *Crit Rev Microbiol* 2013; 39(4):373-83.
 6. Lansdown, Alan B.G. *Silver in Healthcare: Its Antimicrobial Efficacy and Safety in Use*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2010: 159.
 7. Gunawan G, Teoh WY, Marquis CP, Lifla J, Amal R. Reversible Antimicrobial photoswittching in nanosilver. *Small* 2009; 5(3): 341-344.
 8. Mohebalı M, Rezayat MM, Gilani K, Sarkar S, Akhoundi B, Esmaeili J, et al. Nanosilver in the treatment of localized Cutaneous Leishmaniasis Caused by *Leishmania major* (MRHO/IR/75/ER): an in vitro and in vivo study. *DARU* 2009; 17(4): 285-289.
 9. Baiocco P, Ilari A, Ceci P, Orsini S, Gramiccia M, Di Muccio T, Colotti G. Inhibitory Effect of Silver Nanoparticles on Trypanothione Reductase Activity and *Leishmania infantum* Proliferation. *ACS Med Chem Lett* 2011;2:230-233.
 10. Elmi T, Gholami Sh, Fakhar M, Azizi F. A review on the use of nanoparticles in the treatment of parasitic infections. *J Mazand Univ Med Sci* 2013; 23(102); 127-134. (Persian)
 11. Jebali A, Kazemi B. Nano-based antileishmanial agents: A toxicological study on nanoparticles for future treatment of cutaneous leishmaniasis. *Toxicol In Vitro* 2013; 27: 1896-1904.
 12. Torabi N, Mohebalı M, Shahverdi AR, Rezayat SM, Edrissian Gh, Esmaeili J, Charehdar S. Nanogold for the treatment of zoonotic cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania major* (MRHO/IR/75/ER): An animal trial with methanol extract of *Eucalyptus camaldulensis*. *J Pharm Health Sci* 2012; 1 (1): 13-16.
 13. Allahverdiyev AM, Sefik Abamor E, Bagirova M, Ustundag CB, Kaya C, Kaya F, et al. Antileishmanial effect of silver nanoparticles and their enhanced antiparasitic activity under ultraviolet light. *Int J Nanomedicine* 2011; 6: 2705-2714.
 14. Heydarnejad MS, Yarmohammadi-Samani P, Mobini-Dehkordi M, Rahnama S. The influence of Topical Treatment of Dermal Wounds with Silver Nanoparticles on ALT and AST Enzymes and Hemoglobin in Mice (*Mus Musculus*). *J Zanzan Univ Med J* 2013; 21(86): 35-44. (Persian)
 15. Beheshti N, Soflaei S, Shakibaie M, Yazdi MH, Ghaffarifar F, Dalimi A, Shahverdi AR. Efficacy of biogenic selenium nanoparticles against *Leishmania major* in vitro and in vivo studies. *J Trace Elem Med Biol* 2013; 27: 203- 207.

Archive

Original Article

Healing Effect Comparison of Selenium and Silver Nanoparticles on Skin Leishmanial Lesions in Mice

F. Jameii, M.Sc.^{*}; A. Dalimi Asl, Ph.D.^{**}; M. Karimi, M.Sc.^{***}; F. Ghaffarifar, Ph.D.^{**}

Received: 12.5.2015

Accepted: 15.8.2015

Abstract

Introduction & Objective: The antibacterial, antifungal and anti-parasitological effect of selenium and silver nanoparticles have been reported previously. The purpose of this study was to determine the anti-*Leishmania* healing effect of selenium nanoparticles and silver in lesions caused by *Leishmania major* in mice.

Materials & Methods: In the present experimental study, Balb/c mice were experimentally infected with *Leishmania major* promastigotes. After the appearance of the lesion in the tail, they were divided into four groups of six. Two groups were treated with selenium and silver nanoparticles by injection in the three-points of the lesion as well as Glucantime per day, for 4 weeks. The mice in the negative control group did not receive any treatment. The diameter of the wound and body weight of the mice was measured every day for 5 weeks.

Results: The diameter of the lesions in the group treated with nanoselenium was not different with the untreated control group. The diameter of the wounds treated with nanosilver was significantly different with the control group without treatment, but was larger than the group treated with meglumine antimoniate.

Conclusion: Unlike selenium nanoparticles, silver nanoparticle showed anti-*Leishmanial* effect in vivo. Like Glucantime, it did not heal leishmanial lesion entirely.

(*Sci J Hamadan Univ Med Sci* 2015; 22 (3): 217-223)

Keywords: *Leishmania major* / Selenium / Silver / Wound Healing

^{*}Ph.D. Student of Parasitology, Faculty of Medical Sciences
Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

^{**}Professor, Department of Parasitology, Faculty of Medical Sciences
Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. (dalimi_a@modares.ac.ir)

^{***}M.Sc. in Parasitology, Faculty of Medical Sciences
Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.