

دانشور

پزشکی

بررسی آثار فرمولاسیون گیاهی جدید از *Euphorbia mysinites*, *Peganum harmala* و *Alkanna tinctoria* بر بهبود زخم و جلوگیری از گسترش لیشمانیوز در موش‌های Balb/c آلوده به L.L.major

نویسندگان: فاطمه طباطبایی*^۱، دکتر فاطمه غفاری فر^۲، دکتر عبدالحسین دلیمی اصل^۳ و دکتر حسین ابراهیمیان^۴

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه انگل‌شناسی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس
۲. استادیار گروه انگل‌شناسی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس
۳. استاد گروه انگل‌شناسی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس
۴. متخصص طب سنتی

Email: Fatemeh-tabatabaie@yahoo.com

* نویسنده مسئول:

چکیده

مقدمه و هدف: لیشمانیوزیس جزء بیماری‌های عفونی مهم دنیا محسوب می‌شود که از معضلات مهم مناطق آندمیک از جمله ایران است. با توجه به مشکلات روش‌های درمانی که در حال حاضر به کار می‌رود، در این بررسی، ترکیب گیاهان *Alkanna tinctoria* و *Euphorbia mysinites*، *Peganum harmala* علیه لیشمانیای تجربی در موش بالب سی مورد مطالعه قرار گرفت.

روش بررسی: بدین منظور، شش گروه موش Balb/c (در هر گروه ۸ سر موش) انتخاب شدند. این گروه‌ها شامل گروه شاهد سالم، گروه شاهد آلوده بدون درمان، گروه آلوده تحت درمان با پماد گیاهی، گروه آلوده تحت درمان با داروی خوراکی گیاهی، گروه آلوده تحت درمان با پماد و داروی خوراکی گیاهی، و گروه آلوده تحت درمان با گلوکانتیم بودند. ۳۰ روز پس از ایجاد زخم، درمان آغاز شد. هر هفته، وزن موش‌ها و قطر زخم آن‌ها با کولیس اندازه‌گیری می‌شد. موش‌ها پس از پایان دوره ۲۸ روز درمان جهت بررسی عود بیماری ۴ ماه نگهداری شدند.

یافته‌ها: میزان تلفات و عود بیماری به ترتیب در گروه تحت درمان با گلوکانتیم ۲۵ و ۳۷/۵ درصد و گروه تحت درمان با پماد و داروی خوراکی گیاهی ۲۵ و ۳۷/۵ درصد و گروه تحت درمان با پماد گیاهی ۳۷/۵ و ۵۰ درصد، در گروه تحت درمان با داروی خوراکی گیاهی ۵۰ و ۳۷/۵ درصد بود. در موش‌های تحت درمان با این ترکیب گیاهی، اثر سوء جانبی مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان این ترکیب گیاهی را به عنوان یک روش درمانی مؤثر، مناسب و حتی جایگزین در درمان لیشمانیوز جلدی پیشنهاد کرد.

واژه‌های کلیدی: *L.L.major*, *Peganum harmala*, *Euphorbia mysinites*, *Alkanna tinctoria*

دوماهنامه علمی - پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال دوازدهم - شماره ۵۷
تیر ۱۳۸۴

تاریخ وصول: ۸۲/۷/۲۸
تاریخ پذیرش: ۸۳/۷/۱۱

۱- مقدمه

لیشمانیوزیس از جمله بیماری‌های عفونی مهم دنیا محسوب می‌شود که توسط تک یاخته خونی نسجی داخل سلولی اجباری از جنس لیشمانیا در ماکروفاژهای ترجیحاً کبد، طحال، مغز استخوان ایجاد می‌شود. این انگل از طریق نیش پشه خاکی ماده آلوده به میزبان مهره‌دار منتقل می‌شود که بسته به گونه انگل به سه فرم اصلی جلدی، جلدی مخاطی، و احشایی مشاهده می‌گردد [۲۱]. لیشمانیوز جلدی شایع در ایران معمولاً موجب مرگ نمی‌شود، ولی آسیب‌های روحی، اجتماعی، اقتصادی را به دلایل مختلف، از جمله مزمن بودن دوره زخم، منظره جوشگاه ناپسند پوستی، به جای ماندن آثار زخم، احتمال عفونت ثانویه، بار سنگین اقتصادی درمان برای جامعه، طولانی بودن دوره درمان و عوارض ناشی از درمان را سبب می‌شود که می‌توان آن را از معضلات مهم مناطق آندمیک من جمله ایران به حساب آورد. نوع احشایی اگر به موقع تشخیص و درمان نشود موجب مرگ و میر می‌گردد [۳ و ۴].

معمولاً جهت درمان لیشمانیوز از داروهای شیمیایی (آنتی موان ۳ و ۵ ظرفیتی) شامل گلوکانتیم، پنتوستام، فوآدین، آلوپورینول و همچنین از داروهای آلفوتریسین B و لپیوزومال آلفوتریسین B استفاده می‌شود. البته بدین منظور از داروهای موضعی، نظیر سولفات بربرین، مپاکرین، هیدروکلرایدامتین و پاراموایسین همراه با جنتامایسین و تری کلرواستیک اسید، از روش‌های فیزیکی مانند یخ خشک (سرما درمانی)، گرما درمانی اشعه x کورتاژ زخم و یا داروهای محلی نیز استفاده می‌شود [۳، ۴ و ۵].

در استفاده از این روش‌های درمانی، مشکلاتی از قبیل عود بیماری، مقاومت به داروها، عوارض جانبی داروها، ایجاد عفونت ثانویه باکتریایی، و هزینه بالا وجود دارد [۶، ۷ و ۸]. لذا گروهی از محققین از گیاهان دارویی جهت درمان لیشمانیوزیس استفاده کرده‌اند. در این رابطه، گیاهانی همچون *Peschiera australis*، *Althaea rosa*، *Althaea officinalis*، *Peschiera Vanherokii*، *Leguminosa falia caea*، *Malva caea*، *Lythraceae* - *Nigella*

sativa جهت درمان این بیماری استفاده شده که دارای نتایج مثبت بوده‌اند [۸ و ۹].

در تحقیق حاضر ترکیب عصاره گیاهانی با نام‌های *Alkanna tinctoria* و *Peganum harmala* و *Euphorbia mysinites* به صورت خوراکی، پماد پوستی، و خوراکی - پمادی جهت درمان موش‌های Balb/c مبتلا به انگل لیشمانیا ماژور مورد ارزیابی قرار گرفته شد.

Peganum harmala گیاهی از تیره اسفند خشک و شوره‌زار و استوایی و گرم می‌روید. نام فارسی این گیاه، اسپند و نام عربی آن حرمل یا هزار اسپند ماده است

Alkanna tinctoria گیاهی از تیره گاو زبان Boraginaceae است که در نواحی گرم و معتدل می‌روید. نام عربی آن ابوخلسا و نام فارسی آن هواچوبه است.

Euphorbia mysinites از تیره Euphorbiaceae است که در فارسی به آن فرفیون فرانسوی یا شیرسگ یا شیرشیرک می‌گویند و در نواحی مختلف قطبی، و قتل کوهستانی مرتفع یافت می‌شود [۷ و ۸].

۲- مواد و روش کار

۲-۱- کشت انگل

برای کشت انگل از سویه استاندارد (MRHO/IR/75/ER) *Leishmania* استفاده شد. ابتدا غددلنفاوی، طحال و کبد موش‌های آلوده به لیشمانیا جدا و به‌طور جداگانه در لوله‌های حاوی محیط کشت دو فاز (NNN تغییر یافته) کشت داده شدند. برای ممانعت از رشد باکتری‌ها از پنی‌سیلین، استرپتوماسین و جنتامایسین استفاده شد. سپس لوله‌های کشت به انکوباتور ۲۵ درجه سانتی‌گراد انتقال داده شدند. پس از ۴۸ ساعت، انگل از ماکروفاژ خارج شده، در RPMI یا حد فاصل محیط جامد - مایع قرار گرفت. با مشاهده فرم پروماستیگوت با پی‌پت‌پاستور RPMI را کشیده در ۱۵۰g به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ کردیم. سپس مایع رویی را برداشته در محیط NNN دو فاز کشت دادیم. آنگاه جهت تهیه انبوه انگل، آن را

۲-۴-۲ درمان با پماد گیاهی: ۱۰ گرم از عصاره هر کدام از گیاهان *Peganum harmala*، *Euphorbia mysinites* و *Alkanna tinctoria* را وزن کرده، همراه با ۱۰۰ گرم روغن کنجد مخلوط کردیم و این ترکیب را تحت عنوان پماد به کار بردیم. این پماد در ظروف شیشه‌ای درپوش دار، تیره، و استریلیزه تا ۳ ماه قابل نگهداری است. از این پماد، روزی یک بار به مدت ۲۸ روز طوری که کاملاً روی زخم را فرا گیرد به خوبی به محل زخم مالیده می‌شد.

۲-۴-۳ درمان با داروی خوراکی گیاهی: در این گروه از داروی خوراکی گیاهی *Ferula assa foetida* یا آنغوزه (گم رزین) به صورت پودر استفاده شد [۱۱] و به مقدار روزانه ۰/۸ میلی گرم در ۰/۱ میلی لیتر آب مقطر همراه با سرنگ خاص به صورت خوراکی در ۲۸ روز به موش‌ها خورانده شد.

۲-۴-۴ درمان با پماد و داروی خوراکی گیاهی: در این گروه، علاوه بر پماد، همزمان از داروی خوراکی گیاهی هم استفاده شد.

۲-۵ بررسی و تجزیه تحلیل آماری

در این تحقیق برای مقایسه میانگین مدت زمان بقای موش‌ها، قطر زخم‌ها، وزن موش‌ها و تعداد انگل در ماکروفاژها در گروه‌های مختلف، از آزمون آماری آنالیز واریانس یکطرفه (oneway anova) با سطح اطمینان $p < 0/05$ و برای مقایسه میانگین قطر زخم‌ها و وزن موش‌ها قبل و بعد از درمان از آزمون آماری «تی زوجی» (paired T-test) استفاده شد. همچنین درصد بقای موش‌ها نیز محاسبه گردید.

۳- نتایج

۳-۱ نتایج حاصل از گروه‌های مورد مطالعه
۳-۱-۱ در گروه شاهد سالم: موش‌ها تا پایان هفته بیست و دوم همگی سالم بودند.

در محیط کشت RPMI1640 حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی همراه با آنتی بیوتیک کشت دادیم [۱۰].

۲-۲ روش آلوده سازی موش‌های Balb/c با انگل لیثمانیا ماژور

موش‌های Balb/c سن ۷ هفته‌گی از مؤسسه رازی کرج خریداری و تحت شرایط استاندارد از لحاظ آب و غذا در حیوانخانه نگهداری شدند. سپس 2×10^6 پروماستیگوت را در فاز ایستا (stationary) در حجم ۰/۱ میلی لیتر محیط کشت RPMI1640 به قاعده دم موش‌های Balb/c به صورت داخل جلدی تزریق کردیم و همین حجم PBS به کف پای چپ آن‌ها نیز تزریق شد که واکنشی مشاهده نشد. پس از ۳ تا ۵ هفته، زخم در محل تزریق انگل مشاهده شد.

۲-۳ گروه بندی موش‌ها

موش‌ها به ۶ دسته - در هر دسته ۸ سر - به شرح زیر تقسیم شدند:

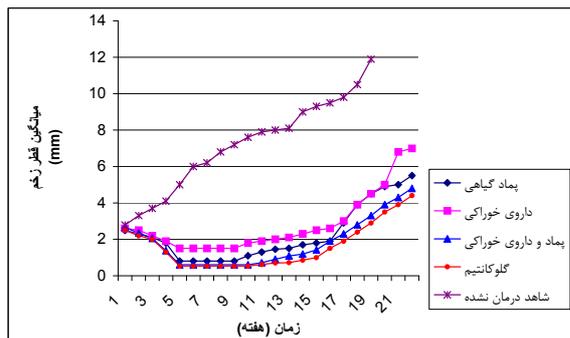
۱. گروه شاهد سالم، یعنی گروهی که به آن‌ها فقط RPMI1640 بدون انگل تزریق شد و زخمی در آن‌ها مشاهده نشد،
۲. گروه شاهد بیمار،
۳. گروه تحت درمان با گلوکانتیم،
۴. گروه تحت درمان با پماد گیاهی،
۵. گروه تحت درمان با داروی خوراکی گیاهی،
۶. گروه تحت درمان با پماد و داروی خوراکی گیاهی

۲-۴ درمان موش‌ها

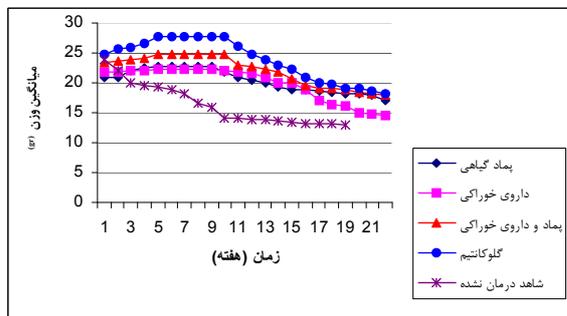
پس از ایجاد زخم، هر هفته وزن و قطر زخم با کولیس با دقت ۰/۰۱ میلی متر اندازه‌گیری و یادداشت شد.

۲-۴-۱ درمان با گلوکانتیم: گلوکانتیم با دوز ۲۰ mg/kg/day به مدت ۲۸ روز به صورت داخل جلدی در عضله ران تزریق می‌شد [۳، ۴ و ۶].

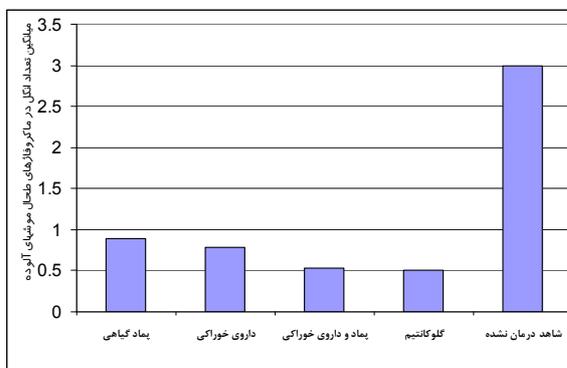
تحت درمان با گلوکانتیم از نظر میانگین تعداد انگل در ماکروفاژ با گروه تحت درمان با پماد و داروی خوراکی گیاهی اختلاف معنادار مشاهده نشد. اما با دو گروه تحت درمان با پماد گیاهی و گروه تحت درمان با داروی خوراکی گیاهی اختلاف معنادار وجود داشت (آزمون آماری آنالیز واریانس یکطرفه $p < 0/05$).



نمودار ۱: تغییرات قطر زخم ناشی از آلودگی به لیشرمانیا ماژور در موش‌های بالبی شاهد و تحت درمان در طول ۲۲ هفته (از شروع درمان یکماهه و پیگیری متعاقب درمان)



نمودار ۲: تغییرات وزن ناشی از آلودگی به لیشرمانیا ماژور در موش‌های بالبی شاهد و تحت درمان در طول ۲۲ هفته



نمودار ۳: مقایسه میانگین تعداد انگل در ماکروفاژهای طحال موش‌های بالبی آلوده به لیشرمانیا ماژور شاهد و تحت درمان

۱-۲-۳ در گروه شاهد آلوده درمان نشده: تا پایان هفته بیست و دوم پس از شروع آلودگی همه موش‌ها به تدریج مردند؛ بدین ترتیب که ۳ سر موش در هفته چهارم، ۲ سر در هفته چهاردهم و ۳ سر در هفته بیستم مردند. این گروه با همه گروه‌های تحت درمان از نظر میانگین قطر زخم و میانگین وزن و میانگین تعداد انگل در ماکروفاژ اختلاف معنادار داشت (آزمون آماری آنالیز واریانس یکطرفه $p < 0/05$). در این گروه، میانگین قطر زخم، پیوسته در حال افزایش بود و میانگین وزن در طی ۲۲ هفته کاهش داشت. به علاوه میانگین تعداد آماستیگوت ماکروفاژ نیز افزایش چشمگیری نشان داد.

۱-۳-۳ در گروه تحت درمان با گلوکانتیم: طبق جدول ۱، در این گروه تا پایان هفته بیست و دوم ۲۵ درصد موش‌ها مردند؛ بدین ترتیب که ۱ سر در هفته پنجم، و ۱ سر در هفته هفدهم مردند و در ۳۷/۵ درصد موش‌ها عود بیماری مشاهده شد. این گروه با گروه شاهد بیمار از نظر میانگین قطر زخم و وزن و تعداد انگل در ماکروفاژ اختلاف معنادار داشت (آزمون آماری «تی» $p < 0/05$).

طبق نمودار ۱، میانگین قطر زخم این گروه با گروه تحت درمان با پماد و داروی خوراکی گیاهی و گروه تحت درمان با پماد گیاهی اختلاف معنادار نداشته است (آزمون آماری آنالیز واریانس یکطرفه $p > 0/05$)؛ اما با گروه تحت درمان با داروی خوراکی گیاهی اختلاف معنادار داشت ($p < 0/05$).

طبق جدول ۲، میانگین قطر زخم از هفته اول تا هفته پنجم که هفته‌های تحت درمان محسوب می‌شوند کاهش داشت و تا هفته دهم پس از درمان، تغییری در قطر زخم وجود نداشت؛ ولی از هفته ۱۱ تا ۲۲ به تدریج عود بیماری و افزایش قطر زخم در ۳۷/۵ درصد موش‌ها مشاهده شد.

طبق نمودار ۲، در این گروه از نظر میانگین وزن در طی درمان با گروه تحت درمان با پماد و داروی خوراکی گیاهی، اختلاف معنادار مشاهده نشد؛ اما با بقیه گروه‌ها اختلاف معنادار داشت (آزمون آماری آنالیز واریانس یکطرفه $p < 0/05$). طبق نمودار ۳ در گروه

جدول ۱: نسبت مرگ و میر، عود و بهبودی کامل موش‌های بلب سی آلوده به لیسمانیا ماژور پس از ۲۲ هفته درمان

گروه	درصد مرگ و میر	درصد عود	درصد بهبودی کامل
۱- شاهد درمان نشده	۱۰۰	۰	۰
۲- تحت درمان با گلوکانتیم	۲۵	۳۷/۵	۳۷/۵
۳- تحت درمان با پماد گیاهی	۳۷/۵	۵۰	۱۲/۵
۴- تحت درمان با داروی خوراکی گیاهی	۵۰	۳۷/۵	۱۲/۵
۵- تحت درمان با پماد و داروی خوراکی گیاهی	۲۵	۳۷/۵	۳۷/۵
۶- شاهد سالم	۰	-	-

جدول ۲: تغییرات قطر زخم (میلی‌متر) ناشی از آلودگی به لیسمانیا ماژور در موش‌های بلب‌سی شاهد و بیمار تحت درمان در طول ۲۲ هفته (از شروع درمان یکماهه و پیگیری متعاقب درمان)

هفته	تغییرات قطر زخم (میلی متر) در گروه‌های:				
	تحت درمان با پماد گیاهی انحراف معیار ± میانگین	تحت درمان با داروی خوراکی گیاهی انحراف معیار ± میانگین	تحت درمان با پماد و داروی خوراکی گیاهی انحراف معیار ± میانگین	تحت درمان با گلوکانتیم انحراف معیار ± میانگین	شاهد درمان نشده انحراف معیار ± میانگین
۱	۲/۴۹±۱/۰	۲/۶±۱/۴	۲/۶۵±۱/۳	۲/۵±۱/۲۰	۲/۷۹±۱/۱
۲	۲/۳±۱/۶	۲/۵±۱/۳	۲/۳۵±۱/۲	۲/۲±۱/۱۹	۳/۳±۱/۵
۳	۲/۱±۱/۲	۲/۲±۱/۴	۲/۰۵±۱/۰	۲/۰±۱/۸۲	۳/۷±۱/۴
۴	۱/۸±۱/۷	۱/۹±۰/۹	۱/۳۸±۰/۵	۱/۳±۰/۳۹	۴/۱±۱/۴
۵	۰/۸±۰/۵۹	۱/۵±۱/۲۶	۰/۶±۰/۵	۰/۵۳±۰/۴	۵/۰±۱/۹
۶	۰/۸±۰/۵۸	۱/۵±۱/۲۴	۰/۶±۰/۵۳	۰/۵۳±۰/۴۳	۶/۰±۲
۷	۰/۸±۰/۶	۱/۵±۱/۲۸	۰/۶±۰/۵۴	۰/۵۳±۰/۴۸	۶/۲±۲/۱
۸	۰/۸±۰/۶	۱/۵±۱/۲۳	۰/۶±۰/۵۴	۰/۵۳±۰/۴۹	۶/۸±۲/۷
۹	۰/۸±۰/۵۹	۱/۵±۱/۲	۰/۶±۰/۵۶	۰/۵۳±۰/۴۷	۷/۲±۲/۹
۱۰	۱/۱±۰/۶۹	۱/۸±۱/۳	۰/۶±۰/۵۹	۰/۵۳±۰/۴۹	۷/۶±۲/۸
۱۱	۱/۳±۰/۳	۱/۹±۱/۱	۰/۷۲±۰/۶	۰/۶۲±۰/۶۸	۷/۹±۲/۹
۱۲	۱/۴۵±۰/۴	۲/۰±۱/۳	۰/۹±۰/۷	۰/۷±۰/۶۳	۸/۰±۳/۱
۱۳	۱/۵±۰/۳۹	۲/۱±۱/۳۲	۱/۰۹±۰/۶۹	۰/۷۲±۰/۶۲	۸/۱±۳/۲
۱۴	۱/۷±۰/۵	۲/۳±۱/۲	۱/۱۹±۰/۸	۰/۸۵±۰/۶	۹/۰±۳/۳
۱۵	۱/۸±۰/۵۱	۲/۵±۱/۴	۱/۴۲±۰/۹	۱/۰±۰/۷۹	۹/۳±۳/۲
۱۶	۱/۹±۰/۵۲	۲/۶±۱/۶	۱/۹±۰/۹۸	۱/۵±۰/۸۰	۹/۵±۳/۱
۱۷	۲/۹±۱/۲	۳/۰±۱/۷۸	۲/۳±۱/۴	۱/۹±۰/۹۰	۹/۸±۳/۴
۱۸	۳/۹±۱/۶	۳/۹±۱/۷۹	۲/۸±۱/۵	۲/۴±۱/۳۰	۱۰/۵±۴/۹
۱۹	۴/۵±۱/۸۱	۴/۵±۱/۸۹	۳/۳±۱/۷۸	۲/۹±۱/۴۰	۱۱/۹±۵
۲۰	۴/۹±۱/۸۸	۵/۰±۱/۹	۳/۹±۱/۷۹	۳/۵±۱/۸۲	همگی مردند
۲۱	۵/۰±۱/۹	۶/۸±۲/۰	۴/۳±۱/۸	۳/۹±۱/۸۹	همگی مردند
۲۲	۵/۵±۱/۸۲	۷±۲/۱۴	۴/۸±۱/۸۵	۴/۴±۲/۳	همگی مردند

جدول ۳: تغییرات وزن ناشی از آلودگی به لیشمانیا مازور در موش‌های بالبسی شاهد و بیمار تحت درمان در طول ۲۲ هفته (از شروع درمان یکماهه و پیگیری متعاقب درمان)

هفته	تغییرات وزن موش‌ها (گرم) در گروه‌های:			
	تحت درمان با پماد گیاهی میانگین ± انحراف معیار	تحت درمان با داروی خوراکی گیاهی میانگین ± انحراف معیار	تحت درمان با پماد و داروی خوراکی گیاهی میانگین ± انحراف معیار	شاهد درمان نشده میانگین ± انحراف معیار
۱	۲/۳±۲۱/۰	۲/۵±۲۱/۸	۴/۰±۲۳/۴	۳/۳±۲۳/۸
۲	۲/۴±۲۱/۹	۲/۴±۲۱/۹	۳/۹±۲۳/۶	۲/۹±۲۲/۰
۳	۲/۵±۲۲/۰	۲/۵±۲۲/۰	۴/۱±۲۳/۹	۳/۹±۲۰/۰
۴	۲/۸±۲۲/۵	۲/۶±۲۲/۱	۴/۲±۲۴/۰	۳/۴±۱۹/۵
۵	۳/۰±۲۲/۸	۷/۵±۲۲/۳	۴/۳±۲۴/۷	۳/۲±۱۹/۳
۶	۳/۲±۲۲/۸	۲/۴±۲۲/۳	۴/۱±۲۴/۷	۴/۰±۱۸/۹
۷	۳/۱±۲۲/۸	۳/۲±۲۲/۳	۴/۱±۲۴/۷	۴/۱±۱۸/۱
۸	۳/۱±۲۲/۸	۳/۱±۲۲/۳	۴/۰±۲۴/۷	۲/۵±۱۶/۶
۹	۳/۲±۲۲/۸	۳/۰±۲۲/۳	۴/۲±۲۴/۷	۲/۴۹±۱۵/۸
۱۰	۲/۴±۲۱/۹	۲/۹±۲۲/۰	۴/۱±۲۴/۷	۲/۱±۱۴/۲
۱۱	۲/۵±۲۱/۰	۲/۷±۲۱/۸	۲/۸±۲۳/۰	۲/۳±۱۴/۰
۱۲	۲/۳±۲۰/۵	۲/۶±۲۱/۵	۲/۶±۲۲/۸	۲/۲±۱۳/۹
۱۳	۴/۱±۱۹/۹	۲/۵±۲۱/۰	۲/۷±۲۲/۳	۲/۱±۱۳/۸
۱۴	۴/۰±۱۹/۳	۲/۵±۲۰/۰	۲/۶±۲۱/۸	۲/۱±۱۳/۶
۱۵	۳/۶±۱۸/۹	۳/۹±۱۹/۹	۲/۳±۲۰/۶	۲±۱۳/۵
۱۶	۳/۷±۱۸/۸	۳/۷±۱۸/۸	۳/۹±۱۹/۶	۲±۱۳/۲
۱۷	۳/۸±۱۸/۶	۳/۰±۱۷/۰	۳/۸±۱۹/۲	۲/۱±۱۳/۱
۱۸	۳/۹±۱۸/۳	۲/۸±۱۶/۳	۳/۵±۱۹/۰	۲/۱±۱۳/۱
۱۹	۳/۸±۱۸/۲	۲/۹±۱۶/۲	۴/۰±۱۸/۸	۲/۰±۱۳/۰
۲۰	۳/۴±۱۸/۱	۲/۳±۱۵/۱	۴/۱±۱۸/۳	همگی مردند
۲۱	۳/۶±۱۸/۰	۲±۱۴/۸	۴/۰±۱۸/۱	همگی مردند
۲۲	۳/۰±۱۷/۳	۲/۲±۱۴/۶	۳/۹±۱۸	همگی مردند

۳-۱-۴ در گروه تحت درمان با پماد و داروی خوراکی گیاهی: در این گروه تا پایان هفته بیست و دوم ۲۵ درصد موش‌ها مردند؛ بدین ترتیب که ۱ سر در هفته چهارم و ۱ سر در هفته هجدهم مردند. عود بیماری نیز ۳۷/۵ درصد بوده است. این گروه با گروه کنترل بیمار از نظر میانگین قطر زخم و وزن و تعداد انگل در ماکروفاژ اختلاف معنادار داشت (آزمون آماری «تی» $p < 0/05$) و از نظر میانگین قطر زخم با گروه تحت درمان با گلوکانتیم و گروه تحت درمان با پماد گیاهی

اختلاف معنادار نداشت (آزمون آماری آنالیز واریانس یکطرفه $p > 0/05$)؛ اما با گروه تحت درمان با داروی خوراکی گیاهی اختلاف معنادار داشت ($p < 0/05$). در گروه تحت درمان با پماد و داروی خوراکی گیاهی از نظر میانگین تعداد انگل در ماکروفاژ با گروه تحت درمان با گلوکانتیم اختلاف معناداری نداشت (آزمون آماری «تی» $p > 0/05$)؛ اما با دو گروه تحت درمان با پماد گیاهی، و گروه تحت درمان با داروی خوراکی گیاهی، اختلاف معنادار وجود داشت ($p < 0/05$).

در ایران علی‌رغم افزایش انتشار جغرافیایی بیماری، میزان بروز بیماری از سال ۱۳۶۲ تا ۱۳۷۸ همواره در فاصله ۲۰ تا ۴۰ مورد در هر صد هزار نفر جمعیت در نوسان بوده و به‌دنبال هر یک یا دو سال کاهش بیماری، یک یا دو سال افزایش موارد قابل پیش‌بینی وجود داشته که نشان‌دهنده سیر طبیعی بیماری و تأثیر موقتی اقدامات کنترلی است که به‌صورت مقطعی اعمال شده است [۱۳و۲].

عفونت لیشمانیایی به‌صورت بدون علامت و یا بر حسب شرایط ایمنی بدن، خصوصیات ژنتیک فرد، شرایط تغذیه‌ای میزبان، تعداد انگل، فاکتورهای ویروالانس انگل‌ها، محل تزریق، بزاق پشه خاکی و غیره، به‌صورت طیفی از نشانه‌های بالینی ظاهر می‌شود [۱۴]. درمان مؤثر می‌تواند از آلام و عوارض اجتماعی - روانی بیماری در حد زیادی بکاهد و به امر کنترل و پیشگیری از انتشار بیماری کمک کند.

در درمان لیشمانیوز همواره اهدافی همچون به حداقل رساندن دوره بیماری، باقی نگذاشتن اثری از جوشگاه در محل ایجاد زخم مد نظر بوده است. معمولاً سه روش درمانی مختلف شامل درمان موضعی (پماد یا تزریق داخل ضایعه)، درمان سیستمی و درمان فیزیکی همواره مورد استفاده قرار می‌گیرد. درمان موضعی، روش مناسبی است؛ زیرا در اختیار گذاشتن و تجویز دارو از نظر بیمار راحت‌تر است. همچنین جذب دارو در محل بهتر و مناسب‌تر صورت می‌گیرد و سمیت داروهای سیستمی را ندارند. در درمان بومی از عصاره‌های گیاهان و مواد معدنی استفاده می‌شود. چندین تجربه با این روش درمانی در ایران انجام شد که برخی اثر درمانی خوبی نداشتند. در درمان به‌صورت تزریق داخل ضایعه از مواد مختلفی همچون میپاکرین، امتین، و سولفات اسیدبربرین، در قدیم استفاده می‌شد که کاربرد این داروها بخصوص امتین در مناطق اندمیک توسط WHO توصیه شده است [۱۵و۴]. در سال‌های اخیر در مورد درمان با استیبوگلوکانات به‌صورت داخل ضایعه، التیامی معادل

۳-۱-۵ در گروه تحت درمان با پماد گیاهی: طبق جدول ۱ در این گروه تا پایان هفته بیست و دوم ۳۷/۵ درصد مرگ و میر مشاهده شد. یک سر موش در هفته سوم و ۱ سر موش در هفته ۱۴ و ۱ سر موش در هفته ۱۶ مردند و بیماری در ۵۰ درصد موش‌های تحت درمان عود کرد.

میانگین قطر زخم در طی درمان از هفته اول تا پنجم کاهش یافت، اما تا هفته نهم پس از درمان، تغییری در قطر زخم وجود نداشت؛ ولی از هفته ۱۰ تا ۲۲ پیوسته افزایش زخم مشاهده شد.

۳-۱-۶ در گروه تحت درمان با داروی خوراکی گیاهی: طبق جدول ۱ این گروه تا پایان هفته بیست و دوم ۵۰ درصد مرگ و میر داشت؛ بدین ترتیب که ۱ سر موش در هفته ۴ و ۲ سر موش در هفته ۱۲ و ۱۳ و ۱ سر موش در هفته ۱۷ مرد و ۳۷/۵ درصد عود بیماری وجود داشت. میانگین قطر زخم در طی درمان از هفته اول تا پنجم کاهش یافته است؛ اما تا هفته ۹ پس از درمان تغییری در قطر زخم وجود نداشت؛ ولی از هفته ۱۰ تا ۲۲ قطر زخم پیوسته افزایش می‌یافت. این گروه با همه گروه‌های تحت درمان از نظر میانگین قطر زخم، وزن و تعداد انگل در ماکروفاژ اختلاف معنادار داشت (آزمون آماری آنالیز واریانس یکطرفه $p < 0.05$).

به‌طور کلی در رابطه با کاهش قطر زخم و افزایش وزن موش‌ها، مصرف گلوکانتیم و استفاده توأم از پماد و داروی خوراکی گیاهی دارای بیش‌ترین اثر بود و میانگین تعداد انگل در ماکروفاژ نیز در این دو گروه کم‌تر از سایرین بود.

بحث

طبق آمار سازمان بهداشت جهانی ۲۰۰ میلیون نفر در جهان در معرض خطر ابتلا به لیشمانیا قرار دارند. تعداد موارد جدید لیشمانیوز سالانه ۲ میلیون نفر تخمین زده می‌شود. لیشمانیوزیس بین ۱۰۰ تا ۲۰۰ روز از عمر هر فرد می‌کاهد و علت ۵۰۰۰ مرگ در سال است [۱۲و۳].

مقدار طبیعی، التهاب پانکراس، کاهش تعداد RBC، پلاکت و WBC، نوروپاتی و کاردیوتوکسی سیتی از عوارض جانبی آنتی‌موان‌ها محسوب می‌شوند. برای جلوگیری و کاهش سمیت، آن‌ها را داخل کپسول‌های لیپوزومی عرضه می‌کنند. از دیگر معایب آن‌ها مقاومت به درمان است که علت آن، غیرکافی بودن دوز مصرفی و متفاوت بودن دوز آنتی‌موان است. جهت رفع مقاومت به آنتی‌موان باید همراه آن‌ها اینترفرون گاما تجویز شود. بهترین اثر درمانی، زمانی است که سیستم ایمنی سالم و بدون نقص باشد. معمولاً در بیماران ایدز پس از درمان با آنتی‌موان عود بیماری مشاهده می‌شود [۸].

از دیگر داروها آمفوتریسین B را می‌توان نام برد که دارای آثار جانبی، همچون تب، لرز، درد استخوان، به ندرت ایست قلبی و مسمومیت کلیوی است. برای برطرف کردن این آثار از آمفوتریسین B لیپوزومی استفاده کرده‌اند که بسیار گران است [۸]. این فرم دارو روی لیشمانیوز منتشره بیش‌ترین اثر درمانی را دارد. از دیگر داروها، پنتامیدین و دی‌آمیدین‌ها را می‌توان نام برد که هم ثبات شیمیایی بالاتر دارند و هم راحت تجویز می‌شوند و البته سمیت کم‌تری هم دارند. این داروها باعث مهار سنتز DNA می‌شوند. همچنین در میان عوارض جانبی، درد عضلانی، استفراغ، سردرد، تاکی کاردی، بثورات پوستی، هیپوگلیسمی، کاهش فشار، آنمی و بالاخره مرگ ناگهانی نیز دیده شده است. از دیگر داروها می‌توان Paramomycin و Allopurinol مشتقات ایمیدازول را نام برد که هر کدام دارای آثار جانبی، مانند آنمی، مسمومیت کلیه و اختلالات هورمونی هستند [۴].

استفاده از گیاهان به‌عنوان دارو به ۶۵۰ سال قبل از میلاد برمی‌گردد که در قرن نهم به اوج خود رسید [۹]. اصولاً طب سنتی متعلق به خاورمیانه بخصوص ایران است؛ چرا که بسیاری از اساتید برجسته این فن از ایران بودند و از این رو بیش‌تر در ایران توسعه و شیوع پیدا کرده است. همچنین به علت استقبال و علاقه مردم به گیاهان دارویی که از قدیم الایام رایج بوده و پیوسته

۷۵ درصد را گزارش کرده‌اند. گرچه تزریقات به‌صورت متناوب تا بیش‌تر از یک ماه ادامه می‌یابد، ولی روش مؤثری برای درمان به‌شمار می‌آید [۱۵و۵]. در درمان با پماد از ۱۵ درصد پاراموماسین همراه با ۱۲ درصد کلریدمتیل بنزتونیوم استفاده می‌شود. از این پماد به مدت ۱۰ روز درمان لیشمانیوز جلدی دنیای جدید استفاده شده که به ۹۰ درصد بهبودی دست یافته‌اند و الیتام زخم ۷۵ درصد بوده است. از این پماد همراه به گلوکانتیم هم می‌توان استفاده کرد که میزان الیتام توأم با دوره ۳ روزه ۴۲ درصد و در ۱۰ روز ۹۰ درصد بوده است. اثر درمانی این پماد همراه با گلوکانتیم به اندازه دوره ۲۰ روزه گلوکانتیم است. این پماد دارای عوارض جانبی همچون خارش و سوزش است [۱۶و۹]. مشکل اساسی درمان‌های موضعی این است که برای موفق بودن درمان زخم‌های لیشمانیوز جلدی، تزریقات موضعی باید به‌صورت عمقی انجام شود؛ زیرا آماسیت‌گوت‌های لیشمانیا به داخل درم نفوذ می‌کنند و از آن‌جا به سیستم لنفاوی و غشای مخاطی مهاجرت می‌کنند که اغلب این هدف حاصل نمی‌شود و حتی غلظت زیاد این پمادها هم قادر به نفوذ به عمق زخم نیست.

از درمان‌های سیستمی درمان توسط آنتی‌موان ۵ ظرفیتی را می‌توان نام برد که به‌عنوان اولین خط دارویی در درمان لیشمانیوز مطرح هستند و شامل پنتوستام و گلوکانتیم می‌شوند. بیش از ۵۰ سال از این داروها استفاده شده است. حسن این داروها این است که با افزایش دوز دارو می‌توان برسندرم‌های با الیتام پایین غلبه کرد. از پنتاستام به دو صورت داخل وریدی و داخل عضلانی استفاده می‌شود. در تزریق داخل وریدی گلوکانتیم باید خیلی آهسته (بیش از ۵ دقیقه) همراه با سوزن ریز استفاده کرد تا از ترمبوز جلوگیری گردد [۱۷و۷]. پاسخ بالینی به آنتی‌موان‌ها بسیار سریع است، ولی کل شاخص‌های بالینی تا ماه‌ها پس از درمان غیرطبیعی می‌مانند [۱۷و۶]. دردهای عضلانی، مفصلی، شکمی، سردرد و افزایش AST با سه برابر

داشته‌اند که از این میان، هارمین بیش‌ترین اثر درمانی را داشته است [۱۷].

در تحقیق حاضر، ابتدا از گیاه *Ferula assa foetida* به صورت خوراکی در درمان لیشمانیازور در شرایط *in vivo* استفاده شد که پس از ۲۲ هفته به میزان ۵۰ درصد مرگ و میر و ۳۷/۵ درصد عود بیماری داشته است. سپس از سه گیاه *Peganum harmala*، *Alkanna tinctoria* و *Euphorbia mysinites* به صورت پماد در درمان لیشمانیازور به صورت *In vivo* استفاده شد و در نهایت در یک گروه دیگر، پماد گیاهی و داروی خوراکی گیاهی توأم به کار برده شد و با گروه تحت درمان با گلوکانتیم (داروی شیمیایی رایج) مقایسه گردید. طبق نتایج به دست آمده، بهترین اثر درمانی به ترتیب در گروه تحت درمان با گلوکانتیم و پماد توأم با داروی خوراکی گیاهی و سپس پماد گیاهی و در انتها داروی خوراکی گیاهی مشاهده شده است. مصرف توأم پماد و داروی خوراکی، این ترکیب گیاهی را می‌توان به عنوان یک روش درمانی مؤثر، مناسب و حتی جایگزین در درمان لیشمانیوز جلدی پیشنهاد کرد.

منابع

- زرگری، علی؛ «گیاهان دارویی» انتشارات دانشگاه تهران؛ جلد ۱ الی ۳، ص ۴۴۳-۴۵۴ (جلد ۱) و ۴۷۶-۴۸۶ (جلد ۲) ۴۷۴-۴۸۰ (جلد ۳).
- وضعیت اپیدمیولوژیکی بیماری لیشمانیوز در کشور در سال ۱۳۷۸. وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، معاونت سلامت، اداره کل پیشگیری و مبارزه با بیماری‌ها؛ ۱۳۷۹، ص ۱-۲.
- آخوندزاده، شاهین؛ «دائرة المعارف گیاهان دارویی ایران»؛ پژوهشکده گیاهان دارویی - انتشارات ارجمند، ۱۳۷۹، ص- ۱۹۹-۲۰۹
- Sunder S., Agrawal K.N., "Short course , low dose amphotericin B lipid complex therapy for visceral leishmaniasis unresponsive to antimony"; *Ann. Int. Med.*, 1997; 127. pp. 133-137.
- Urvina A.Y., "Lipid biosynthesis pathways as chemotherapeutic targets in kinetoplastid parasites". *Parasitology*. 1997; 144; pp. 91-99.

از نسلی به نسل دیگر باور فرهنگی و عملی مردم بیش‌تر شده و سرعت بالای شناخت گونه‌های گیاهی، اثربخشی خوب، سمیت کم و کاربرد ساده‌تر برای انسان و این‌که تمایل مردم نگهداری از تندرستی خود رو به افزایش است جهت درمان این بیماری از این ترکیبات گیاهی استفاده می‌شود [۷و۶]. با جداسازی آلکالوئیدهای گیاه *Peschiera vanheroki* به ۲۰ جزء دست یافته‌اند که از بهترین اجزای آن Gabunine است و نتایج درمانی آن در دوزهای پایین مؤثرتر از گلوکانتیم بوده است. جهت بررسی فعالیت کشندگی لیشمانیا در تجزیه شیمیایی گیاه *Peschiera australis* توسط کلروفورم به اجزای آلکالوئیدی دست یافته‌اند که به طور کامل و غیرقابل برگشت از رشد پروماسیتگوت جلوگیری می‌کند. این اجزا همچنین علیه آماسیتگوت‌ها در ماکروفاژ عمل می‌کنند. همچنین از گیاه سیاه دانه (*Nigella sativa*) در درمان لیشمانیوز استفاده شده که نتایج مثبت داشته است [۱۵و۶]. جهت درمان زخم‌های ناشی از CCL از گیاهانی همچون *Lythra*، *Althaea rosa*، *Althaea officinalis*، *caea* و *Malvaceae* نیز استفاده شده است [۱۵]. به علاوه فعالیت ضد لیشمانیایی اجزا و فراورده‌های گیاهی فلاونوئیدها (فلاون، فلاونون، ایزوفلاون) علیه لیشمانیا تروپیکا نیز بررسی شده که نتایج آن مثبت بوده است. از تجزیه گیاه (*Anonaceae*) *Espintanol* نیز به اجزای تریپنی دست یافته‌اند که فعالیت ضد لیشمانیایی آن علیه پروماسیتگوت لیشمانیا مطلوب بوده است. از تجزیه گیاه *Euphorbia* نیز به اجزای دی‌تریپنی دست یافتند که فعالیت ضد پروماسیتگوت لیشمانیا آمازونی آن در شرایط *In vitro* و *In vivo* بسیار قابل توجه بوده است. روی صمغ گیاه *Ferula assa foetida* از تیره جعفری علیه لیشمانیا ماژور و لیشمانیا تروپیکا در شرایط *In vitro* مطالعه شده است که به نتایج درمانی بسیار مطلوب دست یافته‌اند. از تجزیه گیاه *Peganum harmala* به اجزای آلکالوئیدی به نام‌های هارمن، هارمین، هارمالول، پگائین دست یافته‌اند که این اجزا علیه لیشمانیا ماژور در شرایط *In vitro* آثار مثبت

12. Medda S., Baso K.M., "Evaluation of the in vivo activity and toxicity of Amorogentin". J.Antimicrob. Chemother., 1999; 43(4); pp.791-794.
13. Oster N.C., Nacy A.C., "Macrophage activation to kill *Leishmania tropica*". J.Immunol., 1984; 132(23); pp.1449-1500
14. Delorenzi L., Andra M., "Anti-leishmanial activity of an indole alkaloid from *Peschiera australis*"; Antimicrob. Agents Chemother. 2001; 45(5); pp.1349-1354.
15. Zerehsas F., Beheshti Sh., Rezaian Ch., "Amastigote negative and amastigote positive chronic cutaneous leishmaniasis: treatment results with a new chemotherapy". Iranian J. Med. Sci, 2000; 25; 114-188.
16. Murray W.H., "Clinical and experimental advances in treatment of visceral leishmaniasis". Antimicrob. Agents Chemother. ,2001; 45(8); pp.2185
17. Yordley V., Graft S.L., "Activity of liposomal amphotericin B against experimental cutaneous leishmaniasis". Antimicrob. Agents Chemother., 1997; 41(4); pp. 752-756.
6. Cowan M.M.; "Plant Product as antimicrobial agent". Clin. Microbiol. Rev., 1999; 12(4) 564-582.
7. Albrecht F., Simon Li., Oliver K, "Natural products as potential antimicrobial parasitic drugs". J. Parasitol, 2000; pp.(1-72).
8. Berman D.Y., Ksionski G., "Activity of amphotericin B cholesterol dispersion in experimental visceral leishmaniasis". Antimicrob. Agents Chemother. , 1992; 36(9); 1978-1980.
9. Munoz V., Moretti C., "Isolation of bisindole alkaloids with anti-leishmanial and anti-bacterial activities from *Peschiera vanhourkii*". Planta Med., 1994; 60; pp.455-459.
10. Bates. P.A., "The development biology of *Leishmania Promastigotes*". Exp. Parasitol., 1994; 79; pp.215-218.
11. Fierua B., Rousseaud., "Short and long-term efficacy of hexadecylphosphocholine against established *Leishmania infantum* infection Balb/c mice". Antimicrob. Agents Chemother.. 1998; 42(3); pp 654-658.