

بررسی اثر سیر بر توکسوپلاسموزیس حاد در مدل موشی

فریبا خوش‌زبان*^۱، طوبی غضنفری^۲، فاطمه غفاری‌فر^۳، مهدی شرفی^۴ و سکینه قاسمی‌نیکو^۵

۱- استادیار انگل شناسی دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، پست الکترونیک: fkhosh_99@yahoo.com

۲- دانشیار گروه ایمنولوژی دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد

۳- دانشیار گروه انگل شناسی، دانشگاه تربیت مدرس

۴- دانش‌آموخته رشته پزشکی، دانشگاه شاهد

۵- گروه انگل شناسی، دانشگاه تربیت مدرس

* نویسنده مسئول مقاله

تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۸۶

تاریخ اصلاح نهایی: اردیبهشت ۱۳۸۶

تاریخ دریافت: دی ۱۳۸۵

چکیده

توکسوپلاسموزیس یکی از متداولترین عفونت‌های انگلی انسان و دیگر حیوانات خونگرم به شمار می‌آید. در این مطالعه، اثر عصاره سیر بر توکسوپلاسموزیس حاد در مدل موشی مورد ارزیابی قرار گرفت. ۳۵ سر موش BALB/c با تزریق ۱۰۰۰۰ تاکی‌زوئیت توکسوپلازما گوندی‌ای سویه RH به طریق داخل صفاقی آلوده شدند. حیوانات در گروه‌های ۵ تایی تقسیم‌بندی شدند. گروه کنترل شامل ۵ سر موش بود. در آزمایش اول به ۲۰ سر موش در ۴ گروه به ترتیب عصاره سیر با غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم روزانه به مدت ۷ روز پس از ۲۴ ساعت از آلودگی و در آزمایش دوم به ۱۰ سر موش در دو گروه به ترتیب قرص سیر با دوز ۱۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم روزانه به مدت ۷ روز پس از ۲۴ ساعت از آلودگی خوراندند. پس از مرگ موشها، تعداد تاکی‌زوئیتها در مایع صفاقی و نمونه‌های بیوپسی کبد، طحال و مغز بررسی و شمارش گردید. در مقایسه با گروه کنترل که به دنبال تزریق دوز توکسیک انگل در عرض ۵- ۴ روز بعد از آلودگی مردند، صددرصد موشهای تحت درمان تا روز پنجم زنده بودند ($p < 0.000$). تاکی‌زوئیت‌های توکسوپلازما در کبد موشهای تحت درمان دیده نشدند، اما در بررسی طحال موشهای تحت درمان تاکی‌زوئیتها به تعداد کم مشاهده شدند. تفاوتی بین اثر عصاره و قرص سیر استفاده شده در این مطالعه یافت نگردید. نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره سیر باعث افزایش بقاء بیشتر حیوانات آلوده با دوز کشنده از توکسوپلازما شده و میزان بروز این انگل را در بافتهای حیوان مهار می‌نماید. بهترین دوز مؤثر از نظر افزایش زمان بقاء ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره آبی سیر می‌باشد. این اثرات می‌تواند ناشی از خواص ضد میکروبی و اثرات ایمنومدولاتوری سیر باشد.

واژه‌های کلیدی: توکسوپلازما گوندی‌ای، عصاره سیر، تاکی‌زوئیت، زمان بقاء.

مقدمه

توکسوپلاسموزیس (عفونت ناشی از توکسوپلازما گوندی‌ای) یکی از متداولترین عفونتهای انگلی انسان و دیگر حیوانات خونگرم به شمار می‌آید. عفونت توکسوپلاسمایی ممکن است حاد یا مزمن، با علامت و یا بدون علامت باشد. در افراد با سیستم ایمنی سالم، توکسوپلاسموزیس اکثراً بدون علامت است ولی در افراد دارای اختلال در سیستم ایمنی و یا نوزادان آلوده شده از طریق جفت، تهدید کننده زندگی می‌باشد. در افراد دارای نقص سیستم ایمنی، آلودگی ممکن است دوباره فعال شده و عوارض شدید و کشنده‌ای مانند آنسفالیت، میوکاردیت و یا پنومونیت را ایجاد نماید (John et al., 2006).

در حال حاضر، درمان انتخابی توکسوپلاسموزیس ترکیب سیزژیستیک، پیریمتامین و یک سولفونامید است. این درمان مشکلاتی را برای متخصصین بالینی، به ویژه در مورد افراد مبتلا به اختلالات شدید سیستم ایمنی مانند بیماران ایدزی وجود آورده است. تقریباً در ۵۰٪ بیماران ایدزی تحت درمان با ترکیب پیریمتامین-سولفادیازین علائم مسمومیت شدیدی بروز می‌کند، که منجر به قطع درمان می‌شود. پیریمتامین باعث پوکی استخوان و مسمومیت خونی می‌شود و در ضمن به علت ایجاد اثرات تراژونیک نباید در نیمه اول بارداری مصرف شود. سولفادیازین نیز علاوه بر کریستالوری و هماتوری، واکنش‌های از دیاد حساسیت در افراد ایجاد می‌کند (McCabe, 2001).

پایداری و حتی تکامل طب گیاهی ایران در برابر گسترش کم‌نظیر شیمی درمانی حاکی از اهمیت دانش یاد شده می‌باشد. از مزایای گیاهان دارویی در اغلب موارد، نداشتن عوارض جانبی و پذیرش مطلوب توسط بیماران

است. مصرف بی‌رویه داروهای مصنوعی علاوه بر داشتن عوارض جانبی، مسئله مقاومت علیه ارگانیزمها را نیز بوجود آورده است که این مسئله ضرورت شناسایی و تحقیق در مورد کاربرد گیاهان دارویی را ایجاب می‌کند (میرحیدر، ۱۳۷۷).

سیر بخاطر دارا بودن خواص درمانی از قبیل معالجه ناراحتیهای قلبی، درد مفاصل، سر درد، سل، جذام، صرع، سرفه و سوء هاضمه در طول هزاران سال استفاده دارویی داشته است. سیر فعالیت ضد میکروبی وسیعی بر علیه باکتریهای گرم منفی و باکتریهای گرم مثبت حتی در غلظتهای بسیار پایین از خود نشان داده است. بررسیهای زیادی در ارتباط با اثر ضد میکروبی سیر صورت گرفته است (غضنفری و حسن، ۱۳۸۰).

عصاره سیر بر روی اشرشیاکلی، سودوموناس، سالمونلا، کاندیدا، کلبسیلا، میکروکوکوس، سالمونلا تیفی، موریوم، باسیلوس سوبتیلس، هلیکوباکتریپلوری، استافیلوکوکوس ارئوس، میکروباکتریوم توبرکلوزیس و میکوباکتریوم آویوم مؤثر بوده و بر روی سویه‌های اشرشیاکلی انترتوکسی ژنیک و سایر باکتریهای بیماری‌زای روده اثر ممانعتی بیشتری نسبت به باکتریهای فلور ناحیه داشته است (Sata et al., 1998). عصاره سیر بر روی باکتریهایی که نسبت به آنتی‌بیوتیکها از خود مقاومت نشان داده‌اند مؤثر بوده است (Yoshida et al., 1999a).

آلیسین (Chowdhury et al., 1991) و عصاره سیر اثر ضد قارچی و اثر ضد ویروسی و اثر ضد انگلی نیز از خود نشان می‌دهد (Focke, 1990). از جمله گزارشهایی در مورد تأثیر درمانی عصاره آبی سیر بر هیمنولیپازیس نانا (Deshpande et al., 1993) و ژیاوردیازیس و گزارشی در

و در صورت وجود حدود ۲۵-۲۰ عدد تاکی زوئیت در میدان لام و عدم وجود آلودگی میکروبی، از تاکی زوئیت‌های موجود در داخل صفاق موش و به مقدار تقریبی ۱۰۰۰۰ تاکی زوئیت به داخل محوطه صفاقی موش‌های سفید کوچک آزمایشگاهی تلقیح شد.

در ارزیابی آلودگی در موش گسترش از مایع صفاقی، مغز، کبد و طحال تهیه گردید.

برای تهیه گسترش از مایع صفاقی، قطره‌ای از سوسپانسیون انگلی را بر روی لام ریخته و بطور یکنواخت پخش نموده و برای تهیه نمونه از کبد و طحال از آنها ایمپرشن اسمیر (impression-smear) تهیه شد و سپس به روش گیمسا رنگ آمیزی شد.

نحوه تهیه عصاره آبی سیر

برای تهیه عصاره سیر از سیر خشک شده منطقه همدان استفاده گردید. در این روش حبه‌های پوست کنده سیر به مدت یک شب در فریزر نگهداشته شدند؛ روز بعد در دستگاه مخلوط‌کن و آب مقطر استریل، مخلوطی از آن تهیه شده و چند مرتبه از فیلترهای پارچه‌ای و واتمن عبور داده شد. سپس با دور ۵۰۰۰ به مدت نیم ساعت در سانتریفوژ یخچال‌دار سانتریفوژ گردید و مایع رویی به عنوان عصاره آبی سیر جدا گردید. به منظور مشخص بودن رقت نام، هنگام مخلوط کردن از نسبت یک به یک سیر و آب مقطر استفاده گردید (Ghazanfari, et al., 2000).

نحوه مصرف قرص سیر

از قرص‌های سیر موجود در داروخانه‌ها استفاده شد. ابتدا قرصها را بوسیله ترازوی حساس وزن نموده و بعد در هاون کوبیده و بصورت پودر درآوردیم. وزن ماده مؤثر

مورد تأثیر درمانی آلیسین بر آنتاموباهیستولیتیکا ارائه شده است (Ghazanfari et al., 2000). آلیسین و سایر تیوسولفینات‌های موجود در سیر عامل تمام فعالیت ضد میکروبی سیر هستند (Yoshida et al., 1999b). اگر تیوسولفینات‌ها و به ویژه آلیسین در اثر واکنش عصاره سیر با سیستین یا ممانعت از اثر آنزیم آلتیناز حذف شود کلیه فعالیت ضد میکروبی عصاره از بین خواهد رفت (Amer, 1980; Weber, 1992; Guo, 1993).

با توجه به اینکه براساس کتب طب سنتی ایران سیر اثر قابل توجهی بر ضد انگل‌ها دارد (زرگری، ۱۳۷۴)، بنظر می‌رسد که بر روی ارگان‌سم‌هایی مانند توکسوپلازما اثر بازدارندگی داشته باشد، در این تحقیق اثر سیر بر ضد توکسوپلازما مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روشها

سویه مورد استفاده

توکسوپلازما گوندی‌ای سویه RH که در سال ۱۳۶۱ از انستیتو پاستور پاریس به انستیتو پاستور ایران رسیده و حیوانات آزمایشگاهی مورد استفاده در انجام این تحقیق موش‌های سفید کوچک آزمایشگاهی Balb/c با معدل وزن ۲۵g-۲۰g (in bread) و سن ۷-۸ هفتگی که در بخش پرورش حیوانات آزمایشگاهی انستیتو پاستور تولید و نگهداری می‌شوند، بودند.

تکثیر سویه

به منظور تکثیر سویه انگل، ابتدا مایع صفاقی موش‌های آلوده به سویه RH که سه روز قبل از راه داخل صفاقی به این سویه آلوده شده و حاوی تعداد زیادی تاکی زوئیت داخل و خارج سلولی می‌باشند را با سرنگ استریل کشیده

۴۰۰، ۵۰۰ گرم عصاره آبی سیر در آب مقطر استریل به حجم ۸۰ میکرولیتر و در آزمایش دوم، دو گروه که گروه یک با مقدار ۱۰۰ mg/kg/day میلی‌گرم از قرص سیر به اضافه ۸۰ میکرولیتر آب مقطر، و گروه ۲ با مقدار ۵۰۰ mg/kg/day میلی‌گرم از قرص سیر با اضافه ۸۰ میکرولیتر آب مقطر، بطور خوراکی بوسیله سوزن تغذیه به موشها خوراندند و به مدت ۷ روز ادامه یافت.

از تمامی موشهای شاهد و بیمار بعد از مرگ، گسترشهای مایع صفاقی، کبد، طحال و مغز تهیه گردید و بعد از رنگ‌آمیزی با گیمسا مورد آزمایش میکروسکوپی قرار گرفت.

نتایج

عصاره آبی سیر و قرص سیر بر حسب دوز و طول درمان دارای اثرات کاملاً متفاوتی بود. متوسط تعداد تاکی‌زوئیتها در مایع صفاقی گروههای مورد مطالعه با استفاده از آزمون one way Anova در جدول ۱ آمده است.

دارو در هر میلی‌گرم از پودر تعیین گردید و سپس بر حسب وزن موشهای مورد آزمایش در هر گروه، مقدار ماده مؤثره مورد نیاز محاسبه گردید.

نحوه مصرف عصاره

در این بررسی موشها به ۸ گروه ۵ تایی تقسیم شدند. ۳۵ سر موش سفید کوچک آزمایشگاهی نر (balb/c) با وزن 25 ± 1 RH سوسپانسیون حاصل از صفاق موش آلوده حاوی تقریباً تعداد ۱۰۰۰۰ تاکی‌زوئیت توکسوپلازما گوندی‌ای سویه RH بطور داخل صفاقی تلقیح گردید. دو گروه موش شامل گروه شاهد سالم و گروه شاهد بیمار بودند. ۲۴ ساعت بعد از شروع آلودگی، درمان آغاز شد. دو آزمایش صورت گرفت.

گروه شاهد سالم که هم حجم سوسپانسیون انگل سرم فیزیولوژی خوراکی دریافت کردند و گروه شاهد بیمار بدون دریافت دارو بودند.

در آزمایش اول، چهار گروه انتخاب شدند که به ترتیب به این گروهها مقادیر ۱۰۰، ۲۰۰،

جدول ۱- مقایسه متوسط تعداد تاکی‌زوئیت در گروههای آزمایشی مختلف

| گروهها | میانگین تعداد تاکی‌زوئیتها | انحراف معیار | خطای معیار | حداقل تعداد تاکی‌زوئیت | حداکثر تعداد تاکی‌زوئیت |
|-----------------|----------------------------|--------------|------------|------------------------|-------------------------|
| گروه شاهد بیمار | ۲۰/۸ | ۸/۴۰۸۳۳ | ۳/۷۶۰۳۲ | ۱۰ | ۳۰ |
| G* | ۱۴/۶ | ۴/۶۱۵۱۹ | ۲/۰۶۳۹۸ | ۷ | ۱۹ |
| ۲۰۰ G | ۱۱/۴ | ۲/۸۸۰۹۷ | ۱/۲۸۸۴۱ | ۹ | ۱۶ |
| ۴۰۰ G | ۸/۴ | ۱/۶۷۳۳۲ | ۰/۷۴۸۳۳ | ۷ | ۱۱ |
| ۵۰۰ G | ۹ | ۳/۶۷۴۲۳ | ۱/۶۴۳۱۷ | ۵ | ۱۴ |
| ۱۰۰ GT** | ۱۴ | ۴/۰۶۲۰۲ | ۱/۸۱۶۵۹ | ۸ | ۱۹ |
| ۵۰۰ GT | ۱۶/۶ | ۴/۲۷۷۸۵ | ۱/۹۱۳۱۱ | ۶ | ۱۵ |

*، عصاره سیر (Garlic)

**، قرص سیر (Garlic Tablet)

به علت اینکه تاکی‌زوئیتها زیر لام نئوبار دیده شده‌اند اعداد نوشته شده در مورد تعداد تاکی‌زوئیت در 16×10000 ضرب گردید.

لحاظ آماری با یکدیگر اختلاف ندارند. گروههایی که در دو زیر گروه در یک سطح باشند با هم اختلاف آماری ندارند. بنابراین، گروههای ۵۰۰GT، ۱۰۰GT و ۱۰۰G با یکدیگر اختلاف آماری ندارند، ولی گروه شاهد بیمار با گروههای ۴۰۰G، ۵۰۰G و ۲۰۰G اختلاف آماری دارد.

آزمون ANOVA با $P < 0.005$ نشان داد که میانگین تعداد تاکی زوئیتها در گروههای مختلف یکسان نبود. متعاقباً آزمون مقایسه‌های چندگانه Duncen دسته‌بندی گروهها را نشان می‌دهد (جدول ۲). همان‌گونه که مشاهده می‌گردد گروههای آزمایشی در ۲ زیر گروه قرار گرفته‌اند. گروههایی که مجموعاً در یک زیر گروه قرار می‌گیرند به

جدول ۲- نتایج آزمون مقایسه‌های چندگانه دانکن برای دسته‌بندی گروههای آزمایشی از نظر تعداد تاکی زوئیت

| Subset for alpha=0.5 | | تعداد | گروه | دانکن |
|----------------------|------|-------|-----------------|-------|
| ۲ | ۱ | | | |
| | ۸/۴ | ۵ | ۴۰۰ G | |
| | ۹ | ۵ | ۵۰۰ G | |
| | ۱۱/۴ | ۵ | ۲۰۰ G | |
| ۱۱/۶ | ۱۱/۶ | ۵ | ۵۰۰ GT | |
| ۱۴ | ۱۴ | ۵ | ۱۰۰ GT | |
| ۱۴/۶ | ۱۴/۶ | ۵ | ۱۰۰ G | |
| ۲۰/۸ | | ۵ | گروه شاهد بیمار | |

موش (۲۰٪) و پس از ۹ روز ۱ سر موش (۲۰٪) مرگ داشتند.

گروه ۳- مصرف ۴۰۰ mg/kg/day عصاره آبی سیر، پس از ۷ روز ۳ سر موش (۶۰٪) و پس از ۸ روز ۲ سر موش (۴۰٪) مرگ داشتند.

گروه ۴- مصرف ۵۰۰ mg/kg/day عصاره آبی سیر، پس از ۶ روز ۳ سر موش (۶۰٪)، پس از ۷ روز ۱ سر موش (۲۰٪) و پس از ۸ روز ۱ سر موش (۲۰٪) مرگ داشتند.

آزمایش دوم:

گروه ۱- مصرف ۱۰۰ mg/kg/day از قرص سیر، پس از ۷ روز ۳ سر موش (۶۰٪) و پس از ۸ روز ۲ سر موش (۴۰٪) مرگ داشتند.

ارزیابی زمان بقاء موشها

I- در گروه شاهد سالم همه موشها تا ۲۰ هفته پیگیری، سالم ماندند.

II- تا پایان روز پنجم همه موشهای گروه شاهد بیمار مردند (۱۰۰٪). بدین ترتیب که ۳ سر موش در روز چهارم (۶۰٪) و ۲ سر موش (۴۰٪) در روز پنجم مردند.

آزمایش اول:

گروه ۱- مصرف ۱۰۰ mg/kg/day عصاره آبی سیر، پس از ۶ روز یک سر موش (۲۰٪)، پس از ۷ روز ۲ سر موش (۴۰٪)، پس از ۸ روز ۱ سر موش (۲۰٪) و پس از ۹ روز ۱ سر موش (۲۰٪) مرگ داشتند.

گروه ۲- مصرف ۲۰۰ mg/kg/day عصاره آبی سیر، پس از ۷ روز ۳ سر موش (۶۰٪)، پس از ۸ روز ۱ سر

گروه شاهد بیمار با گروههای تحت درمان از نظر میزان بقاء ($P < 0.001$) و میانگین تعداد انگل در مایع صفاق ($P < 0.005$) اختلاف معنی داری داشت. زیرا مرگ در گروههای تحت درمان با عصاره آبی سیر از روز پنجم به بعد بود.

گروه ۲- مصرف 500 mg/kg/day قرص سیر، پس از ۶ روز ۲ سر موش (40%)، پس از ۷ روز ۲ سر موش (40%) و پس از ۸ روز ۱ سر موش (20%) مرگ داشتند. آزمون ANOVA با $P=0.001$ نشان داد که میانگین زمان بقاء در این گروهها یکسان نیست (جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه متوسط زمان بقاء موشها در گروههای آزمایشی مختلف

| گروهها | میانگین روزهای بقاء | انحراف معیار | خطای معیار | حداقل روزهای بقاء | حداکثر روزهای بقاء |
|-----------------|---------------------|--------------|------------|-------------------|--------------------|
| گروه شاهد بیمار | ۴/۴ | ۰/۵۴۷۷۲ | ۰/۲۴۴۹۵ | ۴ | ۵ |
| ۱۰۰G | ۷/۴ | ۱/۱۴۰۱۸ | ۰/۵۰۹۹۰ | ۶ | ۹ |
| ۲۰۰G | ۷/۶ | ۰/۸۹۴۴۳ | ۰/۴۰۰۰۰ | ۷ | ۹ |
| ۴۰۰G | ۷/۴ | ۰/۵۴۷۷۲ | ۰/۲۴۴۹۵ | ۷ | ۸ |
| ۵۰۰G | ۶/۶ | ۰/۸۹۴۴۳ | ۰/۴۰۰۰۰ | ۶ | ۸ |
| ۱۰۰GT | ۷/۴ | ۰/۵۴۷۷۲ | ۰/۲۴۴۹۵ | ۷ | ۸ |
| ۵۰۰GT | ۶/۸ | ۰/۸۳۶۶۶ | ۰/۳۷۴۱۷ | ۶ | ۸ |

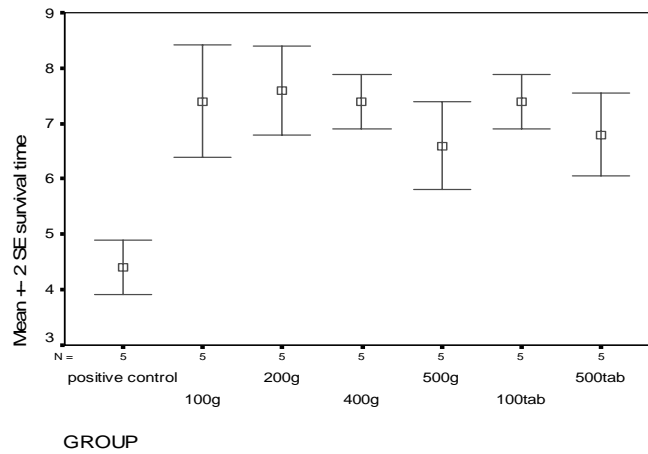
بحث

در حال حاضر، درمان انتخابی توکسوپلاسموزیس حاد مبتنی بر ترکیب سینرژستیکی پریمتامین و سولفادیازین است (Mui *et al.*, 2005). این ترکیب قادر به ریشه‌کنی کامل انگل در میزبان نمی‌باشد، بنابراین هنگامی که انگل بصورت کیست در مغز مستقر شود کیستها تحت تأثیر این ترکیب قرار نمی‌گیرند. در بیماران دارای نقص سیستم ایمنی مبتلا به توکسوپلاسموزیس باید درمان در تمام طول زندگی ادامه یابد و در بیشتر موارد به محض قطع دارو، عود بیماری مشاهده می‌شود. از طرفی، داروها بصورت بالقوه سمی هستند. به همین جهت، گاهی اوقات مصرف طولانی مدت آنها در بیماران ایدزی اثرات ناخواسته شدیدی را به بار می‌آورد که منجر به قطع دارو می‌گردد. به علاوه بعلت تراژونیک بودن پریمتامین،

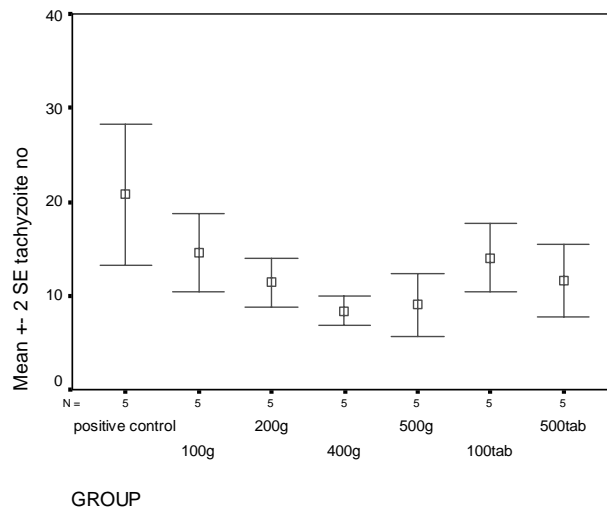
متعاقباً آزمون مقایسه‌های چندگانه Tukey دسته‌بندی گروههای آزمایشی را به این صورت نشان داد که فقط گروه شاهد بیمار با میزان بقای $4/4$ که کمترین زمان متوسط بقاست با سایر گروههای آزمایشی اختلاف معناداری داشت، ولی بقیه گروهها با همدیگر اختلاف معنادار نداشتند. گروه 200G با مدت زمان متوسط $7/6$ روز بیشترین متوسط زمان بقا را دارا بود.

نمودارهای مربوط به مقایسه متوسط زمان بقاء و تعداد تاکی‌زوئیت در ذیر آورده شده‌اند. در هیچ یک از گروههای تحت درمان تاکی‌زوئیت در مغز و کبد مشاهده نگردید.

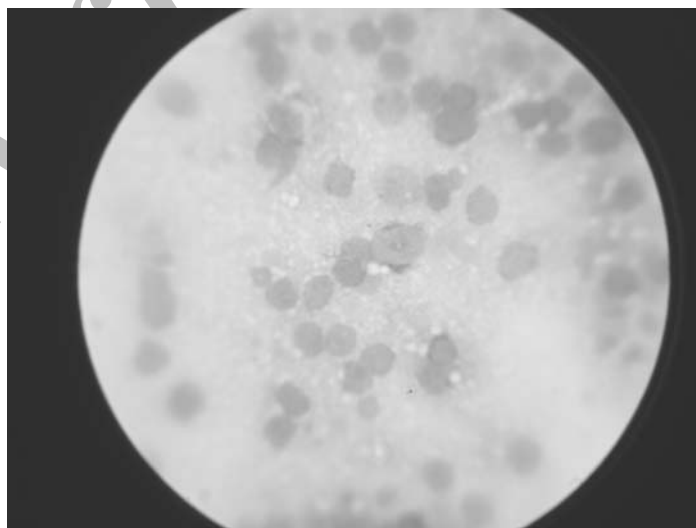
۲- در هیچ یک از گروههای تحت درمان تاکی‌زوئیت در طحال محو نگردیده بود، ولی تعداد تاکی‌زوئیتها بسیار کم بود و اکثراً تغییر شکل داده بودند (شکلهای ۳ و ۴).



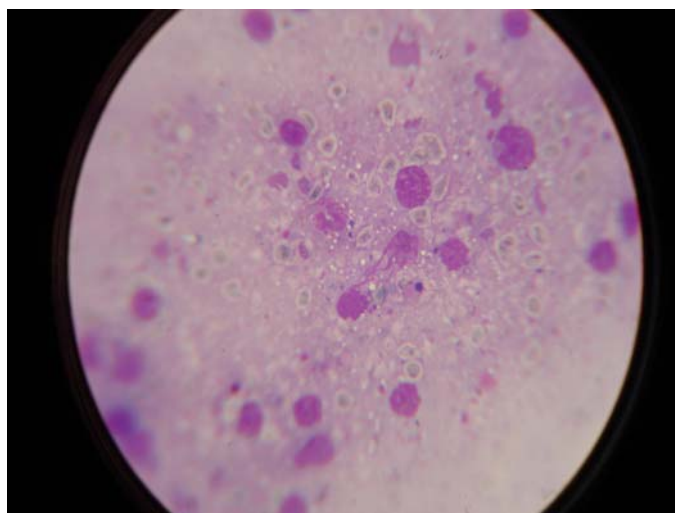
شکل ۱- مقایسه متوسط زمان بقاء موشها در گروههای آزمایشی مختلف



شکل ۲- مقایسه متوسط تعداد تاکی زوئیت در گروههای آزمایشی مختلف



شکل ۳- حضور تاکی زوئیت توکسوپلازما در طحال موش تحت درمان



شکل ۴- حضور تاکی‌زوئیت توکسوپلازما در ماکروفاژهایطحال موش شاهد بیمار

در یک تحقیق داروهای دی‌آمینو دی‌فنیل سولفون (SDDS)، پروگوانیل هیدروکلراید، سولفادایزین، سولفامنومتوکسین و پیریمتامین با مقادیر مختلف بر علیه توکسوپلاسموزیس حاد و مزمن موش مورد آزمایش قرار گرفتند. در این آزمایش برای ایجاد عفونت حاد موشهای آلبینو بطور داخل صفاقی 2×10^4 تاکی‌زوئیت توکسوپلازماگوندی‌ای استرین RH تلقیح گردید و ۲۴ ساعت بعد از عفونت درمان شروع شد و بمدت ۷ روز ادامه یافت. نتیجه این بود که ترکیب SDDS با پیریمتامین و یا سولفادایزین میزان بقاء را بطور معنی‌دار افزایش داد (Nadja *et al.*, 2001).

با بکارگیری عصاره سیر برضد توکسوپلازما سویه تهران که در مغز موشهای سوری ایجاد کیست می‌نماید، هیچ گونه اثر جانبی نامناسب در دوزهای بالای عصاره آبی و کلروفرمی حتی پس از ۸ هفته مصرف روزانه مشاهده نشد (قاسمی و دلیمی‌اصل، ۱۳۸۰).

در مطالعه‌ای که به منظور ارزیابی تأثیر مینوسایکلین (Minocyclin) در توکسوپلاسموزیس موشی حاد و مزمن ترتیب داده شد، موشهای سویس وبستر ماده بطور داخل

مصرف آن در دوران بارداری توصیه نمی‌شود (Mitchell *et al.*, 2004).

بنا به دلایل فوق، تحقیقات فراوانی جهت معرفی یک ترکیب جدید، مؤثر و بی‌خطر برای درمان توکسوپلاسموزیس حاد و مزمن، به خصوص توکسوپلاسموزیس مزمن انجام و یا در حال انجام است. این تحقیقات سه هدف اصلی را نشانه گرفته‌اند و آن ایجاد اختلال در متابولیسم فولات، اختلال در سنتز پروتئین و اختلال در سنتز اسید نوکلئیک انگل بوده است (Schmid & Robert, 2005).

بطور کلی سولفونامیدها، پیریمتامین، تری‌مترگزات، پیری‌ترکسیم و اپسون از طریق اختلال در متابولیسم فولات، کلیندامایسین، اسپیرامایسین، داکسی‌سایکلین، ماینوسایکلین و ماکرولیدها از طریق اختلال در سنتز پروتئین و اتوواکون و آرپرینوسید از طریق اختلال در سنتز اسیدهای نوکلئیک انگل را تحت تأثیر قرار می‌دهند. گرچه این داروها با درجه‌های متفاوت بصورت تکی و یا ترکیبی بر توکسوپلاسموزیس حاد مؤثر بوده‌اند ولی بر توکسوپلاسموزیس مزمن تأثیر کمی داشته‌اند (Araujo *et al.*, 1997).

بقاء در گروههای شاهد و مورد آزمایش یکسان نیست. فقط گروه شاهد بیمار با میزان بقای ۴/۴ که کمترین زمان متوسط بقاست با سایر گروههای آزمایشی اختلاف معناداری دارد. در تحقیق انجام شده گروهها از نظر متوسط زمان بقاء نیز با یکدیگر مقایسه گردیدند که براساس نتایج بدست آمده اختلاف معنی داری بین گروههای دریافت کننده عصاره مشاهده نشد. گروه G با ۲۰۰ با مدت زمان متوسط ۷/۶ روز بیشترین متوسط زمان بقاء و گروه G با ۵۰۰ با مدت زمان متوسط ۶/۶ روز کمترین متوسط زمان بقاء را دارا است.

گروههایی که مجموعاً در یک زیر گروه قرار می گیرند به لحاظ آماری با یکدیگر اختلاف ندارند. گروههای ۵۰۰GT، ۱۰۰GT و ۱۰۰G از نظر تعداد تاکی زوئیت با یکدیگر اختلاف آماری ندارند، ولی گروه شاهد بیمار با گروههای ۴۰۰G، ۵۰۰G و ۲۰۰G اختلاف آماری دارد. گروهها براساس بیشترین کمترین میزان تاکی زوئیت دسته بندی شدند که براساس نتایج گروه G با ۵۰۰ با تعداد ۸/۴ و گروه GT با ۵۰۰ با تعداد ۱۶/۶ تاکی زوئیت به ترتیب کمترین و بیشترین مقدار تاکی زوئیت را دارا بودند.

نتایج این مطالعه نشان داد عصاره آبی سیر بر روی تاکی زوئیتهای توکسوپلازما اثر دارد، زیرا زمان بقای موشهای تحت درمان به طور معنی داری با موشهای شاهد بیمار اختلاف داشت. از طرفی، در بررسی بافتهای کبد و مغز تاکی زوئیت مشاهده نشد و فقط در طحال تاکی زوئیتهای آن هم به تعداد کم قابل مشاهده بود که این موضوع هم از لحاظ ایمنولوژیک قابل بررسی است.

یکی از اهداف فرعی این مطالعه، بررسی اثر دوزهای مختلف عصاره آبی سیر بر روی تاکی زوئیتهای

صفاقی با ۱۰۰۰ تاکی زوئیت توکسوپلازما گوندی ای استرین RH آلوده شدند، درمان ۲ ساعت بعد از ایجاد عفونت شروع شده و به مدت ۱۲ روز ادامه یافت. مینوسایکلین هر ۱۲ یا ۲۴ ساعت یکبار بطور داخل صفاقی داده شد. تمام موشهای کنترل آلوده شده از توکسوپلازما سموزیس حاد مردند (در روز ۵+۱)، تمام موشهای آلوده درمان شده با مینوسایکلین زنده ماندند، یک دوز ۱۰۰mg/kg/day مینوسایکلین بمدت ۱۲ روز، صددرصد موشها را محافظت کرد ($p < 0.001$)، میزان بهبودی ۴۰٪ بود. وقتی که این دوز در ترکیب با ۸/۵mg/kg/day پیریمتامین داده شد، صددرصد موشها زنده ماندند و میزان بهبودی ۵۰٪ بود. پیریمتامین با دوز ۸/۵mg/kg/day به تنهایی بی اثر بود. مینوسایکلین با دوز ۱۰۰mg/kg/day هر ۱۲ ساعت یکبار موجب محافظت کامل (۱۰۰٪) همراه با بهبودی کامل شد. (Georgiev, 1993)

در مطالعه حاضر که اثر عصاره آبی سیر بر روی تاکی زوئیتهای توکسوپلازما در موش Balb/c بررسی شد، عصاره آبی سیر بر زمان بقاء موش و درمان دارای اثرات متفاوتی بود.

در گروه شاهد سالم همه موشها تا ۲۰ هفته پیگیری سالم ماندند. تا پایان روز پنجم همه موشهای گروه شاهد بیمار مردند (۱۰۰٪). در تحقیق انجام شده با استفاده از آزمون ANOVA با مقدار $p=0.001$ و $p=0.005$ نشان داده شده که اختلاف آماری معنی داری بین گروههای آزمایشی و موشهای شاهد چه از نظر تعداد تاکی زوئیت و چه از نظر زمان بقاء وجود دارد. مرگ در گروههای تحت درمان با عصاره آبی سیر از روز پنجم به بعد اتفاق افتاد. آزمون ANOVA با $P=0.001$ نشان داد که میانگین زمان

ارزیابی تأثیرات آن در آینده انجام شود تا شاید بتوان دارویی مؤثر و بی‌خطر بر علیه توکسوپلاسموزیس در جهان ارائه نمود.

براساس یافته‌های موجود پیشنهاد می‌شود به علت اینکه این بیماری در مدل حیوانی Rat شباهت زیادی به انسان دارد مطالعات *invivo* پیرامون تأثیر عصاره سیر روی سویه RH در Rat صورت گیرد.

با توجه به تأثیر سیر بر روی توکسوپلاسموزیس موشی، لازم است مطالعات دیگری عوارض جانبی عصاره سیر را بررسی کند و با عوارض ناشی از درمان با ترکیب (پریمتامین-سولفادiazین) مورد مقایسه قرار دهد.

منابع مورد استفاده

- زرگری، ع.، ۱۳۷۴. گیاهان دارویی. جلد چهارم، انتشارات امیرکبیر. ۹۷۰.
- غضنفری، ط. و حسن، ز.، ۱۳۸۰. تنظیم پاسخهای سایتوکاینی با استفاده از ماده ایمونومولتور جدا شده از سیر. مجله پزشکی کوثر، ۴(۶): ۲۲۴-۲۱۷.
- قاسمی نیکو، س. و دلیمی اصل، ع.، ۱۳۸۰. ارزیابی تأثیر عصاره‌های آبی و کلروفرمی سیر بر بقای کیستهای ناشی از توکسوپلاسمای گوندی‌ای در مدل موشی. گزارش نهایی طرح تحقیقاتی دانشگاه تربیت مدرس.
- میرحیدر، ح.، ۱۳۷۷. معارف گیاهی، کاربرد گیاهان در پیشگیری و درمان بیماریها. جلد اول، انتشارات دفتر نشر فرهنگ اسلامی، ۵۴۷.
- Amer, M., 1980. The effect of aqueous garlic extract on the growth of Dermatophytes. *International Journal of Dermatology*, 19: 285-288.
- Araujo, F.G., Khan, A.A., Slifer, T.L., Bryskier, A. and Remington, J.S., 1997. The ketolide antibiotics HMR 3647 and HMR 3004 are active against *Toxoplasma gondii* in vitro and in murine models of infection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 41: 2137-2140.
- Chowdhury, A.Y.A., Alisan, M. and Islam, S.K.N., 1991. Efficacy of aqueous extract of garlic & allicin

توکسوپلاسمای بود که مشخص شد گروههای دریافت کننده عصاره آبی سیر با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

یکی دیگر از اهداف فرعی این مطالعه، بررسی تأثیر عصاره آبی سیر و قرص سیر بود که مشخص گردید اولاً گروه ۵۰۰G کمترین میزان بقاء را در مقایسه با سایر گروهها داشت. ثانیاً گروههای دریافت کننده عصاره آبی سیر و قرص سیر، از نظر طول مدت بقاء با هم اختلاف معنی‌داری ندارند. با بررسی مطالعات گوناگون پیرامون ارزیابی تأثیر دارو بر روی تاکای زوئیتهای توکسوپلاسمای خصوصاً سویه حاد RH مشخص است که اولاً دارو باید زمان بقاء موش را بهبود بخشد، زیرا این سویه برای موش (Balb/c) بسیار کشنده است. ثانیاً بتواند تاکای زوئیتهای توکسوپلاسمای را نابود نماید. در مطالعه حاضر، عصاره آبی سیر زمان بقاء موش را بهبود بخشیده و ملاحظه گردید که مرگ در گروههای تحت درمان با عصاره از روز پنجم به بعد اتفاق افتاد. در صورتی که همه موشهای گروه شاهد تا روز پنجم تلف شده بودند و در گروههای ۱۰۰G و ۲۰۰G تا روز نهم هم موش زنده داشتیم. اما عصاره آبی سیر قادر به نابودی کامل انگل از احشاء موش نبود و اگر چه تاکای زوئیتهای توکسوپلاسمای را در کبد و مغز موشها نیافتیم ولی اثبات این موضوع نیازمند روشهای دقیقتر مانند PCR است. همچنین در طحال موشهای تحت درمان به میزان کم تاکای زوئیتهای توکسوپلاسمای مشاهده شد.

همان طور که اشاره شد این مطالعه شاید اولین مطالعه بررسی اثرات ضد توکسوپلاسمایی عصاره آبی سیر روی سویه حاد RH باشد و هیچ گونه منبعی دال بر انجام مطالعه مشابه جهت مقایسه یافت نشد. با توجه به نتایج مطلوب بدست آمده، لازم است مطالعات دقیقتر فارماکولوژیکی بر روی ماده مؤثره، نحوه سنتز و تولید و

- R., 2005. Triazine Inhibits *Toxoplasma gondii* Tachyzoites In Vitro and In Vivo. *Antimicrob. Agents and Chemotherapy*, 49(8): 3463-3467.
- Nadja, S., Karsten, K., Oliver, K., Rainer, H.M., Klaus, B., Helmut, H. and Oliver, L., 2001. Atovaquone Nanosuspensions Show Excellent Therapeutic Effect in a New Murine Model of Reactivated Toxoplasmosis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45: 1771-1779.
 - Satam N., Matsunaga, S. and Fusetani, N., 1998. New antifungal and cytotoxic steroidal saponins from the bulbs of an elephant garlic mutant. *Bioscience' Biotechnology and Biochemistry*, 62(10): 1904-1911.
 - Schmidt, G.D. and Robert, L.S., 2005. *Foundations of Parasitology*. 7th Edition, McGraw-Hill. U.S., 702 p.
 - Weber, N.D.I., 1992. In vitro virucidal effects of *Allium sativum* (garlic) extract and compounds. *Planta Medica*, 58(5): 717-723.
 - Yoshida, H., Katsuzaki, H. and Ohta, R., 1999a. An organosulfur compound isolated from oil-macerated garlic extract, and its antimicrobial effect. *Bioscience' Biotechnology and Biochemistry*, 63(3): 588-590.
 - Yoshida, H., Katsuzaki, H. and Ohta, R., 1999b. Antimicrobial activity of the thiosulfates isolated from oil-macerated garlic extract. *Bioscience' Biotechnology and Biochemistry*, 63(3): 591-594.
 - in experimental shigellosis in rabbits. *Indian Journal of Medical Resaerch (A)*, 93: 33-36.
 - Deshpande, R.G., Khan, M.B., Bhat, D.A. and Navalkar, R.G., 1993. Inhibition of *Mycobacterium avium* complex isolates from AIDS patients by garlic (*Album sativum*). *Journal of Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 32: 623-626.
 - Focke, M., 1990. Allicin, a naturally occurring antibiotic from garlic, specifically inhibits accetyl - CoA synthetase. *FEBs Letters*, 261(1): 106-108.
 - Georgiev, V.T., 1993. Opportunistic nosocomial infections. Treatment and developmental therapeutics. *Toxoplasmosis. Medical Research Review*, 13: 529-568.
 - Ghazanfari, T., Hassan, Z.M., Ebtekar, M., Ahamdiani, A., Naderi, G. and Azar, A., 2000. Garlic induces a shift in cytokine pattern in *Leishmania major* infected Balb/c mice. *Scandinavian Journal of Immunology*, 52: 491-494.
 - Guo, N.L., 1993. Demonstration of the anti-viral activity of garlic extract against human cytomegalovirus in vitro. *Chinese Medical Journal (Taipei) English*, 100(2): 93-96.
 - John, D.T, Petri, W.A. Markell V., 2006. *Medical Parasitology*, 9th Edition, Saunders. U.S. 463 p.
 - McCabe, R.E., 2001. Antitoxoplasma chemotherapy. 319-360. In: Joynson, D.H.M. and Wreghitt, T.G., (Ed.). *Toxoplasmosis*. Cambridge University Press, Cambridge, UK. 410 p.
 - Mitchell, S.M/, Zajac, A.M., Davis, W.L. and Lindsay, D., 2004. Efficacy of ponazuril in vitro and in preventing and treating *Toxoplasma gondii* infections in mice. *Journal of Parasitology*, 90(3): 639-642.
 - Mui, E.J., Jacobus, D., Milhous, W.K., Schiehser, G., Hsu, H., Roberts, C.W., Kirisits, M.J. and McLeod,

Archive of SID

The effect of garlic extract on acute *Toxoplasmosis* in mice

F. Khoshzaban¹, T. Ghazanfari², F. Ghaffari Far³, M. Sharafi¹, S. Ghasemi Nikoo³

1- Department of Parasitology, Medical Faculty of Shahed University, Tehran, Iran, P.O. Box: 1415635111,

E-mail: fkhosh_99@yahoo.com

2- Department of Immunology, Medical Faculty of Shahed University, Tehran, Iran

3- Department of Parasitology, Medical Faculty of Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran

Abstract

Toxoplasma gondii is one of the most important apicomplexan parasites of human and other warm-blooded animals. In the present study the effect of garlic extract on the acute *Toxoplasmosis* was evaluated in a murine model. A total of 35 balb/c mice were included, and 10000 were given to each mouse intraperitoneally. In the first experiment, 20 mice were given the garlic extract 100, 200, 400 and 500 mg/kg/day orally for 7 days starting the day after *Toxoplasma* organisms of the RH strain *Toxoplasma gondii* administration. A group of 5 mice were used as controls. In the second experiment, the treatment was started at 24 hours after administration and garlic tablets 100 and 500 mg/kg/day were given for 7 days. Animals that received the garlic extract and garlic tablets survived, and all of the control animals died after 4-5 days. Animals treated with garlic extract and garlic tablets showed a survival rate of 100% until the fifth day of experiment ($p < 0.0001$). The tachozoites of *Toxoplasma* were disappeared in the liver of experimented mice, but they were found a few in the spleen of treated mice. Garlic extract and garlic tablets were found to be effective in the treatment of murine *Toxoplasmosis*. In this study there was no difference between the effects of garlic extract and garlic tablet. The results of this study has shown that garlic extract administration results in the increasement of survival time of mice that were contaminated with a killing dose of *Toxoplasma* and reduces the appearance of this parasite in the tissues. The best dose of garlic extract for increasing the survival time is 200 mg/kg. In conclusion, these effects could be resulted from antibacterial and immunomodulatoric effects of garlic.

Key words: *Toxoplasma gondii*, Garlic extract, Tachozoites, survival.