

## مقایسه‌ی اثر موضعی محلول نانوسیلور با غلظت‌های مختلف بر ضایعات ناشی از لیشمانیا

## ماژور (MRHO/IR/75/ER) در مدل حیوانی Balb/c

دکتر محمد علی نیلفروش زاده<sup>۱</sup>، مهندس لیلا شیرانی بیدآبادی<sup>۲</sup>، مهندس رضا جعفری<sup>۳</sup>،  
مهندس آزاده ذوالفقاری باغبادرانی<sup>۴</sup>، دکتر مهدی قهرمان تبریزی<sup>۵</sup>، دکتر شهرام مرادی<sup>۶</sup>،  
نیلوفر شارق<sup>۷</sup>، مهندس حمید عبدلی<sup>۸</sup>

## خلاصه

**مقدمه:** لیشمانیوز جلدی عفونت ناشی از تک یاخته‌ای جنس *Leishmania* است. گلوکانتیم به عنوان یک داروی رایج در درمان لیشمانیوز استفاده می‌شود. از عوارض جانبی گلوکانتیم افزایش آنزیم‌های کبدی و تغییرات در الکتروکاردیوگرام می‌باشد. با توجه به عوارض عدیده‌ی این دارو و نیز مقاومت دارویی توجه محققین به داروهای جدید نظیر محلول نانوسیلور معطوف شده است. بنابراین این مطالعه، جهت بررسی تأثیر موضعی محلول نانوسیلور با غلظت‌های مختلف، در شرایط *In vivo* انجام شد.

**روش‌ها:** در این مطالعه ذرات کلویید به کار برده شد. موش‌های آزمایشگاهی ماده‌ی نژاد Balb/c در سنین ۶ تا ۸ هفته‌گی در ۹ گروه ۱۰ تایی استفاده گردید. محلول نانوسیلور با غلظت‌های مختلف (۶۰، ۸۰، ۱۲۰، ۱۳۰ و ۲۰۰۰ ذره در میلیون) تهیه شد. کنترل روند بالینی عفونت به صورت هفته‌گی تا ۶ هفته پس از بروز زخم از طریق اندازه‌گیری قطر ضایعه در قاعده‌ی دم موش انجام شد. داده‌ها توسط آزمون Paired- t و ANOVA و مقایسه‌ی میانگین‌ها توسط آزمون Tukey تجزیه و تحلیل گردید.

**یافته‌ها:** میانگین قطر زخم‌ها قبل و پس از درمان در گروه‌های مختلف اختلاف معنی‌داری نداشت ( $P > 0.05$ ). در مقایسه‌ی بار انگلی طحال نیز در گروه‌های درمانی مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید.

**نتیجه‌گیری:** غلظت‌های مختلف نانوسیلور سبب کاهش معنی‌داری در اندازه‌ی میانگین زخم‌ها نگردید. استفاده نانوسیلور در درمان عفونت ثانویه در بیماران مبتلا به لیشمانیوز جلدی در کلینیک‌ها مفید می‌باشد.

**واژگان کلیدی:** نانوسیلور، لیشمانیا ماژور، Balb/c.

## مقدمه

موجود، میزان واقعی موارد بروز این بیماری ۴ تا ۵ برابر میزانی می‌باشد که گزارش شده است. میزان بروز بیماری در ایران ۰/۲۸ در هر هزار نفر جمعیت تخمین زده می‌شود (۱-۲).

لیشمانیوز جلدی عفونت ناشی از تک یاخته‌ای جنس *Leishmania* است. در ایران سالانه حدود پانزده هزار نفر به سالک مبتلا می‌شوند. بر اساس تحقیقات

<sup>۱</sup> دانشیار، مرکز تحقیقات پوست و سلول‌های بنیادی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

<sup>۲</sup> کارشناس ارشد، گروه حشره شناسی پزشکی، کارشناس پژوهشی، مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

<sup>۳</sup> کارشناس ارشد، گروه حشره شناسی پزشکی، مؤسسه ملی تحقیقات سلامت، ایستگاه تحقیقات سلامت اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

<sup>۴</sup> کارشناس ارشد، گروه میکروبیولوژی، کارشناس پژوهشی، مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

<sup>۵</sup> پزشک عمومی، مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

<sup>۶</sup> متخصص عفونی، مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

<sup>۷</sup> کارشناس، مؤسسه ملی تحقیقات سلامت، ایستگاه تحقیقات سلامت اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

<sup>۸</sup> کارشناس ارشد، گروه انگل شناسی پزشکی، مؤسسه ملی تحقیقات سلامت، ایستگاه تحقیقات سلامت اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

(الکترونی) یاد می‌شود. این خاصیت از تنفس، رشد، تکثیر و زاد و ولد هر گونه باکتری یا قارچی جلوگیری می‌کند. مزایای استفاده از محصولات نانو نقره این است که خاصیت ضد باکتری، ضد قارچی و ضد ویروسی با غلظت‌های کم و مدت زمان زیادی ماندگاری طولانی دارد (۹-۱۰).

تأثیر موضعی محلول نانوسیلور با غلظت‌های مختلف، در شرایط *In vivo* بر روی موش‌های Balb/c آلوده به لیشمانیا در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفت.

### روش‌ها

در این مطالعه از ذرات کلویید نانوسیلور ۴۰۰۰ ذره در میلیون (ppm) با نام تجاری نانو الوند، که توسط شرکت نانو الوند آزاد تولید گردید، استفاده شد. این محلول فرآورده‌ای است که از ترکیب یون‌های نقره به میزان ۴۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر تشکیل شده است. این ماده از نظر شکل ظاهری به شکل محلول مایع و به رنگ سفید می‌باشد. این ترکیب دارای ویژگی‌های ضد عفونی‌کنندگی (ضد قارچ، باکتری و ضد ویروس) می‌باشد.

در این مطالعه از سوش انگل لیشمانیای ایرانی (MRHO/IR/75/ER) استفاده گردید. سوش استاندارد انگل فریز شده را ذوب نموده و سپس در محیط NNN کشت داده و به عنوان فاز مایع از BHI ۴ درصد (۱۱) و آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین، استرپتومایسین و پنی‌سیلین G استفاده شد. هر دو تا سه روز یک بار این محیط‌ها بررسی شدند و هر گاه تعداد انگل‌ها به حد قابل توجهی رسید، فاز مایع اضافه شد. به دلیل دست‌یابی به انگل‌های فاقد آگار و گلبول‌های قرمز، کشت انبوه انگل در محیط RPMI1640 انجام شد. برای غنی‌سازی محیط کشت از سرم جنین گوساله FCS ۱۰

درمان‌های رایج در این بیماری استفاده از ترکیبات پنج ظرفیتی آنتی‌موان (پنتوستام و گلوکانتیم) می‌باشند. سایر درمان‌ها عبارت از آمفوتریسین B، مترونیدازول، دیامیدین، پنتامیدین، آلپورنیول، کتوکونازول، استروکونازول، داپسون، پاراموایسین و مونومایسین می‌باشند که علاوه بر اثرات جانبی آن‌ها، اثر بخشی این داروها به تنهایی همراه با گلوکانتیم و یا ترکیبی از آن‌ها و عوارض حاصل از مصرف به صورت سیستمیک یا موضعی نیاز به تحقیق بیشتری دارد (۳-۶).

در ایران گلوکانتیم به عنوان داروی رایج استفاده می‌شود که از عوارض جانبی آن افزایش آنزیم‌های کبدی و تغییرات در الکتروکاردیوگرام می‌باشد. در بیماران با مشکلات کبدی و کلیوی استفاده از دارو مجاز نمی‌باشد. ضمن آن که این دارو گران قیمت بوده است، تریق آن دردناک می‌باشد و تحقیقات نشان می‌دهد که مقاومت انگل در مناطق مختلف نسبت به گلوکانتیم در حال افزایش است (۳-۴، ۷).

با توجه به عوارض عدیده‌ی ناشی از مصرف این داروها و نیز مقاومت دارویی به خصوص در رابطه با داروهای شیمیایی، توجه بیشتر محققین به داروهای جدید نظیر محلول نانوسیلور معطوف شده است. نانوسیلور به علت قابلیت ضد باکتریایی و ضد ویروسی خود مشهور گردیده است و به عنوان ماده‌ی ضد عفونی‌کننده‌ی محیطی نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد (۸).

فلز نقره زمانی که به ابعاد بسیار کوچک در حد نانومتر تبدیل می‌شود، خاصیت میکروب‌کشی آن افزایش می‌یابد. اندازه‌ی نانو نقره‌ها در حد ۲۵ نانومتر است و به دلیل بالا بردن سطح مقطع آن در این مقیاس در برخورد به سلول‌ها خاصیت جالب توجهی از خود بروز می‌دهد که از آن به ممانعت با متابولیسم سلولی

شاهد دریافت کننده‌ی انگل بدون درمان (گروه ۲)، گروه تیمار با پایه‌ی محلول نانوسیلور (آب مقطر اسیدی با  $PH = 5-5/5$ ) (گروه ۳)، گروه شاهد مثبت با تزریق داخل پریتونئال ۶ میلی‌گرم بر حسب هر کیلوگرم وزن بدن آمفوتریسین B به صورت یک روز در میان به مدت دو هفته (گروه ۴)، گروه تیمار با تزریق داخل ضایعه‌ی محلول نانوسیلور با غلظت ppm ۶۰ (گروه ۵)، گروه تیمار با تزریق داخل ضایعه‌ی محلول نانوسیلور با غلظت ppm ۸۰ (گروه ۶)، گروه تیمار با اسپری موضعی محلول نانوسیلور با غلظت ppm ۱۲۰ (گروه ۷)، گروه تیمار با اسپری موضعی محلول نانوسیلور با غلظت ppm ۱۳۰ (گروه ۸)، گروه تیمار با اسپری موضعی محلول نانوسیلور با غلظت ppm ۲۰۰۰ (گروه ۹).

محلول نانوسیلور با غلظت‌های مختلف (۶۰، ۸۰، ۱۲۰، ۱۳۰ و ۲۰۰۰ ppm) تهیه شد. بعد از ایجاد ندول، موش‌هایی که بیش از ۲ عدد ضایعه نیز نداشتند، انتخاب شدند و ۵ تزریق داخل ضایعه، هر ۴ روز یک بار (به مدت ۱۶ روز) انجام گردید. زخم‌ها هفته‌ای یک بار، اندازه‌گیری شد، برای اندازه‌گیری زخم از روش اندازه‌گیری دو بعدی با فرمول  $S = D + d/2$  بر حسب میلی‌متر مربع استفاده گردید. در این فرمول S مساحت زخم، d قطر کوچک زخم و D قطر بزرگ بود. کنترل روند بالینی عفونت به صورت هفتگی تا ۶ هفته پس از بروز زخم از طریق اندازه‌گیری قطر ضایعه در قاعده‌ی دم موش انجام شد.

بار انگلی طحال در هفته‌ی دوم بعد از شروع زخم و در ۲ ماه پس از درمان تعیین گردید. وزن کل طحال جداسازی شده تعیین شد و حدود ۲۰ میلی‌گرم آن بین دو لام استریل شیشه‌ای در ۱ میلی‌لیتر محیط کشت

تا ۲۰ درصد به محیط اضافه شد. برای اجتناب از آلودگی‌های باکتریایی به ازای هر میلی‌لیتر کشت ۲۰۰ واحد پنی‌سیلین، ۱۰۰ میکروگرم جنتامایسین و استریپتومایسین اضافه شد.

برای انجام مطالعه از موش‌های آزمایشگاهی ماده Balb/c در ۶ تا ۸ هفتگی که از انستیتو پاستور تهران خریداری شده بودند، استفاده شد. محیط کشت در بر دارنده‌ی انگل در لوله‌های سانتریفوژ ریخته شد و با دور ۴۰۰۰ در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. پس از دور ریختن محلول بالایی، رسوب حاوی انگل با PBS شستشو داده و به طور مجدد با دور ۴۰۰۰ در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. دوباره محلول بالایی را دور ریخته، به اندازه‌ی PBS به آن اضافه شد که در هر ۰/۱ میلی‌لیتر محلول،  $2 \times 10^6$  پروماستیگوت در فاز ایستا وجود داشته باشد (۱۱-۱۲). محلول آماده شده داخل سرنگ انسولین کشیده شد و در بشرهای حاوی یخ خرد شده به حیوان‌خانه منتقل گردید. جهت تزریق ابتدا قاعده‌ی دم موش‌ها را با دستگاه ریش تراش اصلاح کرده، استریل نموده، با سرنگ انسولین به قاعده‌ی دم هر موش ۰/۱ میلی‌لیتر از این محلول به صورت زیر جلدی تزریق شد.

تیمارهای درمانی نانوسیلور شامل ۳۵ سی‌سی و ۴۰ سی‌سی محلول غلیظ نانوسیلور در ۵۰۰ سی‌سی آب مقطر با PH اسیدی (۱۲۰-۱۳۰ ppm) به صورت اسپری موضعی و ۱۵ سی‌سی و ۲۰ سی‌سی محلول غلیظ نانوسیلور در ۵۰۰ سی‌سی آب مقطر PH اسیدی (۶۰-۸۰ ppm) به صورت تزریق موضعی بود.

در این تحقیق ۹ گروه ۱۰ تایی موش به شرح زیر وجود داشت:

گروه شاهد بدون تزریق انگل (گروه ۱)، گروه

## یافته‌ها

میانگین اندازه‌ی زخم در گروه‌های درمانی شاهد، آب مقطر، شاهد مثبت و ۵ گروه نانوسیلور با غلظت‌های مختلف (۶۰، ۸۰، ۱۲۰، ۱۳۰ و ۲۰۰۰ ppm) در جدول ۱ آورده شده است.

مقایسه‌ی میانگین اندازه‌ی زخم‌ها در گروه‌های مختلف با استفاده از آزمون آماری ANOVA نشان داد که هیچ اختلاف معنی‌داری در بین گروه‌های مختلف در طی ۶ هفته مشاهده نگردید. توزیع اندازه‌ی قطر زخم لیشمانیوز جلدی قبل و پس از درمان با آمفوتریسین B، آب مقطر، غلظت‌های مختلف نانوسیلور و شاهد در جدول ۲ آورده شده است. آزمون آماری Paired-t اختلاف معنی‌داری بین میانگین قطر زخم‌ها قبل و پس از درمان در گروه‌های مختلف نشان نداد ( $P > 0.05$ ).

Graces insect medium شامل ۱۵ درصد سرم گاوی غیرفعال شده توسط دما، هموژنیزه شد و تا غلظت نهایی ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر با همان محیط کشت رقیق گردید. رقت‌های مختلف تهیه شده در پلیت‌های ۹۶ تایی کاشته و برای ۳ هفته در درمای ۲۶ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. جهت ارزیابی پروماستیگوت‌های زنده سه روز پیاپی چاهک‌ها تست شدند و بیشترین رقتی که در آن پارازیت‌های مثبت گزارش گردید، به عنوان غلظت پارازیت در میلی‌گرم بافت در نظر گرفته شد (۱۳).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها توسط آزمون Paired-t و آزمون آماری ANOVA و مقایسه‌ی میانگین‌ها توسط آزمون Tukey با استفاده از SPSS نسخه‌ی ۱۷/۵ (version 17.5, SPSS Inc., Chicago, IL) و سطح معنی‌داری  $P < 0.05$  انجام شد.

جدول ۱. اندازه‌ی زخم در گروه‌های مختلف درمانی نانوسیلور در زمان‌های مختلف در موش Balb/c و مقایسه‌ی آن‌ها با گروه‌های شاهد

مقدار P	هفته‌ی پنجم انحراف معیار ± میانگین	هفته‌ی چهارم انحراف معیار ± میانگین	هفته‌ی سوم انحراف معیار ± میانگین	هفته‌ی دوم انحراف معیار ± میانگین	هفته‌ی اول انحراف معیار ± میانگین	شروع درمان انحراف معیار ± میانگین	زمان درمان گروه‌های درمانی
۰/۱۰۸	۱۲/۷۲ ± ۲/۷۳	۱۰/۴۶ ± ۱/۵۰	۹/۰۱ ± ۲/۱۳	۹/۳۸ ± ۳/۸۹	۷/۷۱ ± ۲/۳۱	۶/۸۷ ± ۲/۸۴	شاهد
۰/۳۰۷	۱۳/۱۵ ± ۱/۹۷	۱۲/۶۷ ± ۰/۰۳۵	۱۲/۹۵ ± ۲/۶۸	۱۰/۳۶ ± ۲/۹۴	۹/۶۱ ± ۲/۲۷	۵/۴۷ ± ۱/۶۳	آب مقطر
۰/۱۳۱	۶/۷۵ ± ۰/۷۴	۶/۸۵ ± ۱/۱۲	۷/۵۸ ± ۱/۴۸	۸/۴۸ ± ۲/۹۶	۶/۰۸ ± ۲/۴۹	۴/۹۱ ± ۰/۶۰	آمفوتریسین B (شاهد مثبت)
۰/۱۲۷	۱۳/۲۶ ± ۱/۳۱	۱۰/۰۸ ± ۲/۹۲	۱۰/۶۳ ± ۳/۵۶	۱۰/۲۱ ± ۱/۵۴	۱۰/۴۱ ± ۳/۴۱	۷/۴۴ ± ۲/۷۴	تزریق موضعی نانوسیلور ۶۰ ppm
۰/۴۴۸	۱۰/۸۱ ± ۲/۴۴	۹/۹۱ ± ۲/۵۱	۹/۶۹ ± ۴/۲۱	۱۰/۵۶ ± ۲/۸۲	۸/۰۳ ± ۱/۱۴	۷/۲۰ ± ۲/۶۴	تزریق موضعی نانوسیلور ۸۰ ppm
۰/۲۸۱	۹/۲۰ ± ۳/۵۳	۱۱/۳۰ ± ۲/۱۷	۱۴/۳ ± ۹/۰۱	۱۲/۹ ± ۵/۰۸	۱۰/۴۱ ± ۳/۸۷	۷/۲۴ ± ۱/۸۸	اسپری موضعی نانوسیلور ۱۲۰ ppm
۰/۶۷۷	۱۲/۵۲ ± ۷/۰۳	۱۲/۱۶ ± ۵/۴۲	۹/۷۰ ± ۳/۳۴	۱۰/۱۷ ± ۲/۲۰	۱۰/۳۰ ± ۲/۱۱	۷/۴۰ ± ۱/۹۱	اسپری موضعی نانوسیلور ۱۳۰ ppm
۰/۵۳۴	۱۳/۶۶ ± ۲/۸۶	۱۵/۰۵ ± ۳/۴۶	۱۱/۶۶ ± ۲/۴۶	۱۰/۹۶ ± ۱/۲۵	۹/۲۹ ± ۱/۸۱	۶/۵۴ ± ۱/۴۴	اسپری موضعی نانوسیلور ۲۰۰۰ ppm

آزمون آماری ANOVA

جدول ۲. مقایسه‌ی اندازه‌ی زخم‌های لیشمانیوز جلدی در موش‌های Balb/c تحت درمان با غلظت‌های مختلف محلول نانوسیلور، شاهد، آب

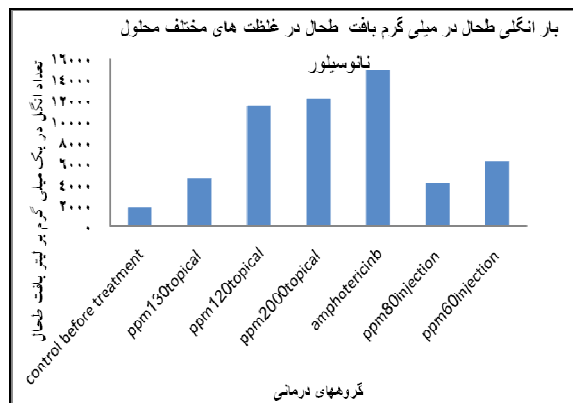
## مقتر و آمفوتریسین B

مقدار P	قطر زخم (میلی متر)		گروه‌های درمانی
	پس از درمان	قبل از درمان	
۰/۱۰۸	۱۲/۷۲ ± ۲/۷۳	۶/۸۷ ± ۲/۸۴	گروه شاهد
۰/۳۰۷	۱۳/۱۵ ± ۱/۹۷	۵/۴۷ ± ۱/۶۳	گروه آب مقطر
۰/۱۳۱	۶/۷۵ ± ۰/۷۴	۴/۹۱ ± ۰/۶۰۱	گروه آمفوتریسین B
۰/۱۲۷	۱۳/۲۶ ± ۱/۳۱	۷/۴۴ ± ۲/۷۴	گروه تزریق موضعی نانوسیلور ۶۰ ppm
۰/۴۴۸	۱۰/۸۱ ± ۲/۴۴	۷/۲۰ ± ۲/۶۴	گروه تزریق موضعی نانوسیلور ۸۰ ppm
۰/۲۸۱	۹/۲۰ ± ۳/۵۳	۷/۲۴ ± ۱/۸۸	گروه اسپری موضعی نانوسیلور ۱۲۰ ppm
۰/۶۷۷	۱۲/۵۲ ± ۷/۰۳	۷/۴۰ ± ۱/۹۱	گروه اسپری موضعی نانوسیلور ۱۳۰ ppm
۰/۵۳۴	۱۳/۶۶ ± ۲/۸۶	۶/۵۴ ± ۱/۴۴	گروه اسپری موضعی ۲۰۰۰ ppm

به علت عوارضی که دارند تلاش برای یافتن ترکیبات جدید ادامه دارد. ترکیباتی که زخم‌ها را زودتر بهبود بخشیده و عمق و وسعت جوشگاه باقی مانده را کمتر کنند و در عین حال کمترین عارضه‌ی جانبی را داشته باشند (۱۴). نانو ذرات نقره، در اندازه‌های ۱۰۰-۱۰ نانومتر تولید می‌شوند (۱۵). این ذرات ویژگی‌های منحصر به فردی را به خصوص بر ضد باکتری‌های مختلف، ویروس‌ها و قارچ‌ها دارند. نقره برای درمان عفونت‌ها به مدت چند قرن مورد استفاده قرار گرفته است ولی با پیشرفت نانو تکنولوژی، استفاده از نقره به شکل نانو ذره، راه‌های درمانی جدیدی را گشوده است (۱۵).

در این مطالعه غلظت‌های مختلف محلول نانوسیلور (۶۰، ۸۰، ۱۲۰، ۱۳۰ و ۲۰۰۰ ppm) بر روی لیشمانیا ماژور در شرایط *In vivo* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که بر خلاف تأثیر نسبی غلظت‌های مختلف نانوسیلور بر لیشمانیا ماژور در شرایط آزمایشگاهی، میانگین اندازه‌ی زخم موش‌های آلوده به لیشمانیا ماژور در پایان دوره‌ی درمان کاهش معنی داری را نشان نداد. در بررسی بار انگلی طحال در

در مقایسه‌ی بار انگلی طحال گروه‌های درمانی مختلف قبل از شروع درمان و ۶ هفته بعد از درمان هیچ اختلاف معنی داری مشاهده نگردید (نمودار ۱).



نمودار ۱. مقایسه‌ی بار انگلی طحال قبل و بعد از درمان موش‌های بالب سی آلوده به *L.major* در گروه‌های مختلف تحت درمان با نانوسیلور و گروه‌های شاهد

## بحث

گلوکانتیم و پنتوستام از جمله ترکیباتی هستند که برای درمان انواع لیشمانیوز به کار می‌روند. این دو دارو قریب به یک صد سال است که به عنوان داروی رده‌ی اول برای درمان لیشمانیوز مطرح هستند، ولی

نانوسیلور سبب کاهش معنی داری در اندازه‌ی میانگین زخم‌ها نگردید (۱۸).

نتایج حاصل از مطالعه‌ی ما نشان داد که استفاده از نانوسیلور در درمان عفونت ثانویه در بیماران مبتلا به لیشمانیوز جلدی در کلینیک‌ها مفید می‌باشد. مطالعات بیشتری برای تعیین تأثیر غلظت‌های مختلف نانوسیلور در درمان لیشمانیوز جلدی بر روی بیماران بایستی انجام شود.

### تشکر و قدردانی

مطالعه‌ی انجام شده حاصل انجام طرح پژوهشی به شماره‌ی ۲۲۸۱۹۷ بود که با حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام گردید. از کلیه‌ی پرسنل مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک به خصوص خانم نوشین لطفی قدردانی می‌گردد.

### References

1. John DT, Petri WA. Markell and Voge's Medical Parasitology. 9<sup>th</sup> ed. Philadelphia: WB. Saunders; 2006.
2. Saebi A. Parasitic Disease In Iran, Protozoan Diseases. Tehran: Enghelabe Eslami Publications and Eduaction Organization; 2003.
3. Hadighi R, Mohebbali M, Boucher P, Hajjaran H, Khamesipour A, Ouellette M. Unresponsiveness to Glucantime treatment in Iranian cutaneous leishmaniasis due to drug-resistant *Leishmania tropica* parasites. PLoS Med 2006; 3(5): e162.
4. Marquis N, Gourbal B, Rosen BP, Mukhopadhyay R, Ouellette M. Modulation in aquaglyceroporin AQP1 gene transcript levels in drug-resistant *Leishmania*. Mol Microbiol 2005; 57(6): 1690-9.
5. Arevalo I, Ward B, Miller R, Meng TC, Najjar E, Alvarez E, et al. Successful treatment of drug-resistant cutaneous leishmaniasis in humans by use of imiquimod, an immunomodulator. Clin Infect Dis 2001; 33(11): 1847-51.
6. Lupton JR, Alster TS. Laser scar revision. Dermatol Clin 2002; 20(1): 55-65.
7. al-Majali O, Routh HB, Abuloham O, Bhowmik

قبل و بعد از شروع درمان هم کاهش معنی‌داری مشاهده نگردید.

ترکیبات نانوسیلور تأثیر بسیار وسیعی بر روی تعداد زیادی از میکروارگانیسم‌ها شامل باکتری‌ها، ویروس‌ها، قارچ‌ها، پروتوزوآها و حتی در مقابل ویروس آنفولانزا و سرماخوردگی هم محافظت می‌کند (۱۶-۱۵).

Weigel و همکاران اثر ضد لیشمانیایی نانو سیلور را در شرایط آزمایشگاهی بررسی نمودند. محلول سبب از بین رفتن پروماستیگوت‌ها در شرایط آزمایشگاهی می‌گردد (۱۷).

مجمعی و همکاران غلظت‌های مختلف نانوسیلور را در شرایط *Invivo* و *Invitro* بر روی انگل لیشمانیا ماژور مورد بررسی قرار دادند. نتایج این مطالعه نشان داد که غلظت‌های مختلف نانوسیلور در مقایسه با گروه شاهد سبب کاهش آماستیگوت‌ها گردید، ولی اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. همچنین، غلظت‌های مختلف

8. KR, Muhsen M, Hebeheba H. A 2-year study of liquid nitrogen therapy in cutaneous leishmaniasis. Int J Dermatol 1997; 36(6): 460-2.
8. Antibacterial Effects of Silver. [Online]; Available from: URL: <http://en.wikipedia.org/wiki/silver/> antibacterial effects of silver.
9. Nanotech Facts. [Online]; Available from: URL: <http://www.nanosilver.com.my/nanotech.asp>.
10. Jose L Elechiguerra JL, Justin L Burt JL, Jose R Morones JR, Alejandra Camacho-Bragado A, Xiaoxia Gao X, et al. Interaction of silver nanoparticles with HIV-1. [Online] 2005 Mar 28; [cited 2005 Jun 29]; Available from: URL: <http://www.jnanobiotechnology.com/content/3/1/6>
11. Hejazi HS, Tahani M. Study of Therapeutic Effect of Traditional Ointment on Cutaneous Leishmaniasis in Animal Model [Thesis]. Isfahan: Isfahan University of Medical Sciences; 1999.
12. Mohbali M, Yaghoobi P, Hooshmand P, khamesi poor A. Paromomycin ointment made in Iran (Paramo - io) in the mouse model of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania major*. Iranian

- Journal Of Dermatology 2003; 7(2): 88-94.
13. Melby PC, Yang YZ, Cheng J, Zhao W. Regional differences in the cellular immune response to experimental cutaneous or visceral infection with *Leishmania donovani*. *Infect Immun* 1998; 66(1): 18-27.
  14. Ardehai SD. *Leishmania Parasite and Leishmaniasis*. Tehran: University Publishing Center; 1985.
  15. Gunawan C, Teoh WY, Marquis CP, Lifa J, Amal R. Reversible antimicrobial photoswitching in nanosilver. *Small* 2009; 5(3): 341-4.
  16. Mehrbod P, Motamed N, Tabatabaian M, Soleimani Estyar R, Amini E, Shahidi M, et al. Invitro antiviral effect of "Nanosilver" on influenza virus. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences* 2009; 17(2): 88-93.
  17. Weigel MM, Armijos RX, Avila A, Burgos X, Martinez LJ. In-vitro study of the antileishmanicidal activity of nanosilver. *Proceedings of the 11<sup>th</sup> International Congress of Parasitology*; 2006 Aug 6-11; Glasgow, Scotland.
  18. Mohebbali M, Rezayat M.M, Gilani K, Sarkar S, Akhondi 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 Journal of Pharmaceutical Sciences* 2009; 17(4): 285-9.

Archive of SID

## Topical Effectiveness of Different Concentrations of Nanosilver Solution on Leishmania Major Lesions in Mice (Balb/c)

Mohammad Ali Nilforoushzadeh MD<sup>1</sup>, Leila Shirani Bidabadi MSc<sup>2</sup>, Reza Jafary MSc<sup>3</sup>, Azadeh Zolfaghari Baghbaderani MSc<sup>4</sup>, Mehdi Ghahraman Tabrizi MD<sup>5</sup>, Shahram Moradi MD<sup>6</sup>, Niloufar Shareghi<sup>7</sup>, Hamid Abdoli MSc<sup>8</sup>

### Abstract

**Background:** Cutaneous leishmaniasis is an infection caused by protozoan genus leishmania the incidence rate of which has been estimated as 0.28 in every 1000 individuals in Iran. Although glucantime is commonly used to treat leishmaniasis, it has some side effects including increased liver enzymes and electrocardiogram changes. In addition, the drug is expensive, the injection is painful, and research shows that glucantime resistance of parasite is growing in different parts. Therefore, scientists are paying more attention to new drugs such as nanosilver solution. The present study tried to evaluate the in-vivo topical effects of different concentrations of nanosilver solution.

**Methods:** Colloidal particles were used in this study. Female Balb/c rats aged 6-8 weeks were studied in groups of 10. Different concentrations [60, 80, 120, 130, and 2000 particles per million (ppm)] of nanosilver 4000 were prepared (Nano Alvand, Arad Co., Iran). Rats were subcutaneously injected at the base of the tail with 0.1 ml of solution containing the parasite. Clinical control of the infection trends was conducted weekly for 6 weeks by measuring lesion diameter at the base of the tail. Data was analyzed by paired t-test, analysis of variance (ANOVA), and Tukey test. The significance level was considered as  $P < 0.05$ .

**Findings:** Mean lesion diameter before and after the treatment did not significantly differ between different groups ( $P > 0.05$ ). Likewise, a significant difference in splenic parasite load was not observed between different treatment groups.

**Conclusion:** Based on our results, different concentrations of nanosilver are ineffective in reducing mean sizes of lesions. However, nanosilver can be used in treating secondary infections in patients with cutaneous leishmaniasis.

**Keywords:** Nanosilver, Leishmania major, Balb/c, Topical effect.

<sup>1</sup> Associate Professor, Skin and Stem Cell Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

<sup>2</sup> Researcher, Department of Medical Entomology, Skin Diseases and Leishmaniasis Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

<sup>3</sup> Department of Medical Entomology, National Institute of Health Research, Isfahan Health Research Station, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

<sup>4</sup> Researcher, Department of Microbiology, Skin Diseases and Leishmaniasis Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

<sup>5</sup> General Practitioner, Skin Diseases and Leishmaniasis Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

<sup>6</sup> Specialist in Infectious Disease, Skin Diseases and Leishmaniasis Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

<sup>7</sup> National Institute of Health Research, Isfahan Health Research Station, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

<sup>8</sup> Department of Medical Parasitology, National Institute of Health Research, Isfahan Health Research Station, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

**Corresponding Author:** Leila Shirani Bidabadi MSc, Email: l-shirani@mui.ac.ir