مجله دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی
دوره ٦ شماره ١ بهار ١٣٨٧ , صفحات : ٦٢- ٥٧

تاثیر عصاره الکلی گیاه گلدر بر پلاسمودیوم برگئی در موش سفید آزمایشگاهی(سوری) و مقایسه آن با اثر کلروکین

دکتر مهدی ناطق پور : دانشیار, گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی ، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران - نویسنده رابط : nateghpour@sina.tums.ir
ابوالفضل میاهی پور : دانشجوی دوره کارشناسی ارشد, گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی, دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی ، دانشگاه علوم پزشکی تهران, تهران ، ایران
دکتر غلامحسین ادریسیان : استاد, گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
دکتر عفت سوری : دانشیار, گروه شیمی دارویی دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات علوم دارویی ، دانشگاه علوم پزشکی تهران ، تهران، ایران
افسانه متولی حقی : کارشناس, گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی ، دانشگاه علوم پزشکی تهران ، تهران، ایران

دریافت : ١٣٨٦/٧/١٦ پذیرش : ١٣٨٦/١٢/٢٦

چکیده :

زمینه وهدف: با توجه به اهمیت بالقوه داروهای گیاهی بومی که بتواند تاثیر قابل قبولی بر روی انگل های مالاریا داشته باشند، اثر الکلی عصاره گل در بر روی پلاسمودیوم برگئی به طور تجربی در موش سفید کوچک آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت و با اثر کلروکین مقایسه شد .

روش کار: در این مطالعه تعداد ٨٠عدد موش به ٨گروه ١٠تایی تقسیم شدند، که ٧ گروه از آن با پلاسمودیوم برگئی آلوده گردیدند و با عصاره الکلی گل در و کلروکین با روش Rane test تحت درمان قرار گرفتند. در این روش پس از مشاهده انگل در خون محیطی موشهای آلوده شده ، به جز گروههای شاهد و دریافت کننده پلاسبو(دارونما)، با غلظت های ٢٠، ١٠٠، ٣٠٠ و ٤٥٠ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن از عصاره و غلظت ٢٠mg /kg کلروکین تحت درمان قرار گرفتند. موثرترین غلظت در بین غلظت های مورد استفاده مشخص گردید .درمان به صورت زیر جلدی و در هر مرحله تا ٤روز ادامه داشت. میزان پارازتیمی در روزهای چهار و هفت نسبت به میزان پارازتیمی روز قبل از درمان تعیین شده تا میزان کاهش پارازتیمی در گروههای درمان شده با عصاره با گروههای شاهد و دریافت کننده دارونما مشخص شود. گروه ٨در این مطالعه بدون هیچگونه تزریقی از انگل و دارو بوده، صرفا جهت کنترل مرگ و میر تصادفی موشها در حیوانخانه نگهداری می شد.

نتایج:آنالیز داده های خام با استفاده از نرم افزار SPSSو آزمون T-testانجام گردیده و موثرترین غلظت در بین غلظت های مورد استفاده مشخص شد. بررسی نشان میدهد غلظت ٤٥٠ mg/kg از عصاره گیاهی به نحو معنی داری باعث کاهش میزان پارازتیمی در موشهای آلوده شده است(p <٠/٠٥). تاثیر کلروکین بر انگلهای تحت مطالعه قاطع و بیشتر از غلظت های متفاوت الکلی گل در بود .

نتیجه گیری:مطالعه نشان می دهد تاثیر عصاره الکلی گل در بر روی پلاسمودیوم برگئی مورد توجه است.

واژگان کلیدی : پلاسمودیوم برگئی، گلدر، درمان، کلروکین، موش سوری

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

مالاریا یک بیماری تک یاخته ای است که از نظر انتشار میزان ابتلا و مرگ و میر مهمترین بیماری انگلی در دنیاست. بطوری که سالیانه نزدیک به ۵۰۰میلیون نفر در جهان به مالاریا مبتلا میشوند و ۲/۷-۱/۵میلیون نفر در سال بر اثر مالاریا می میرند. عامل بیماری در انسان تک یاخته هایی از جنس پلاسمودیوم (پلاسمودیومهای ویواکس ، فالسیپاروم ، مالاریه و اوال)هستند (Harrision 1998; Clark and Key 1996).

مالاریا از زمانهای قدیم در نقاط مختلف ایران وجود داشته است و پزشکان ایرانی چون ابوریحان بیرونی و شیخ الرئیس بوعلی سینا با داروهای مرکبی که از چند نوع گیاه و میوه تهیه می شد، بیماران را درمان می کردند. به مرور داروهای شیمیایی جدید جایگزین داروهای گیاهی گردید که مهمترین و گسترده ترین آنها داروی کلروکین از خانواده ٤- آمینوکینولین ها بود. پس از کلروکین داروهای دیگری تولید و در درمان مالاریا به کار گرفته شدند. بروز و گسترش مقاومت دارویی در کلروکین و دیگر داروهای ضدمالاریا در پلاسمودیوم، فالسیپارم در سال های اخیر درمان و کنترل مالاریای ، فالسیپارم را در بسیاری از مناطق مالاریا خیز جهان و اخیرا درمان مالاریای ویواکس را در بعضی از مناطق جهان با مشکلاتی مواجه کرده است. از طرف دیگر عوارض جانبی داروهای شیمیایی ضد مالاریا بویژه در نزد کودکان و زنان حامله استفاده از این داروها را با محدودیتهایی مواجه ساخته است. جستجو و تحقیق پیرامون داروهای جدیدی که بتواند در درمان سویه های مقاوم موثر بوده، از عوارض جانبی کمتری نیز برخوردار باشند ضروری و با اهمیت به نظر می رسد (WHO 2001). از آنجایی که استفاده از گیاهان دارویی به طور سنتی برای درمان مالاریا از زمانهای قدیم متداول بوده است. انواعی از آنها مانند آرتمی سینین (Artemisinin)نیز از جمله داروهای موثر در این زمینه شناخته شده اند (Klayman et al.1984)، لذا تحقیق پیرامون گیاهان بومی مناطق مالاریا خیز که بصورت محلی بعنوان تب بر استفاده می شوند ممکن است نقش قابل توجهی در درمان و کنترل مالاریا داشته باشند . با توجه به اهمیت موضوع تصمیم گرفته شد اثرات ضد مالاریایی عصاره الکلی گیاه گلدر(*Otostegia persica*) که از جوشانده آن در بعضی از مناطق جنوبی کشور بعنوان تب بر استفاده می شود و تا کنون اثرات ضد مالاریایی آن بصورت علمی مورد بررسی قرار نگرفته است استفاده شود.این بررسی اولین مطالعه به روش in vivo با استفاده از گیاه مذکور در درمان تجربی مالاریا می باشد. مطالعه در آزمایشگاه تحقیقاتی مالاریا در واحد تک یاخته شناسی گروه انگل شناسی و قارچ شناسی دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران انجام گرفته است.

روش کار

۸۰ موش سوری که از نظر جنس، سن و وزن در وضعیت مشابهی بودند(وزن 23 ± 2 گرم)به ۸ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. به ۷ گروه انگل پلاسمودیوم برگئی (*Plasmodium berghei*) 10^6 گلبول قرمز آلوده، سوسپانسیون شده در سوم فیزیولوژی= حجم نهایی ۰/۲ میلی لیتر) به صورت داخل جلدی تزریق شد و پس از مشاهده انگل در خون محیطی درمان آغاز شد. گروههای ۱ تا ٤ به ترتیب با چهار غلظت مختلف از عصاره الکلی گلدر، mg/kg ٤٥٠، ۳۰۰، ۱۰۰، ۲۰ درمان شدند. به منظور حلالیت و رقیق سازی عصاره گل در، از توئین ۸۰ و سرم فیزیولوژی استفاده گردید. گروه ۵ با کلروکین mg/kg ۲۰، گروه ٦ با تزریق دارونما (۲.۵٪ توئین ۸۰ در سرم فیزیولوژی) گروه ۷ بدون دارو و گروه ۸ به منظور کنترل مرگ و میر تصادفی موشها در حیوانخانه بدون تزریق انگل و دارو نگهداری شدند .درمان با استفاده از روش پیشنهادی (Ryley and Petrs 1970) انجام گردید. این روش بر مبنای شروع درمان پس از مشاهده پارازتیمی در خون محیطی می باشد. درمان به صورت Sub cutaneous و تا

Archive of SID

www.SID.ir

٤ روز ادامه داشت. روزانه از انتهای دم موشها خونگیری به عمل آمده پس از تهیه گسترش نازک خون و رنگ آمیزی باگیمسا میزان پارازتیمی تعیین می گردید. موثرترین غلظت دارو، غلظتی بود که میزان پارازتیمی را به کمترین حد در مقایسه با دیگر غلظتها کاهش داده، اثر سمی روی موشها نداشته باشد. بررسی موشها از نظر میزان پارازتیمی تا روز ۲۱ و از نظر مرگ و میر تا روز ۳۵ ادامه داشت. نتایج پس از جمع آوری با نرم افزار SPSS و T-test مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت . جهت اطمینان از عدم سمیت عصاره الکلی تعداد ۱۰ موش سالم انتخاب و در یک گروه قرار گرفتند. به این موشها به مدت دو هفته به طور مداوم از بالاترین غلظت گیاه دارو تزریق گردید. در پایان پیگیری موشها به مدت ۵۰ روز ادامه یافت و در این مدت موشها از نظر اسهال، کاهش وزن، شفافیت و تیرگی چشم، نکروز در محل تزریق و مرگ و میر مورد بررسی قرار گرفتند .

نتایج

در این مطالعه میزان متوسط پارازیتمی گروههای تحت مطالعه در روزهای مختلف از روز صفر(روز قبل از درمان) تا روز ۲۸ تعیین شده و در روزهای ثابتی مثل روز ٤(٢٤ ساعت پس از آخرین دوز درمانی)، روز ۷ (۳ روز پس از قطع درمان) با هم مقایسه گردیدند. درگروهی که کلروکین به عنوان درمان تجویز شده است(گروه ۵)میزان پارازتیمی به تدریج کاهش یافته، به گونه ای که در روز ٤ این میزان به صفر رسیده و تا روز ۷ همچنان صفر باقی مانده است. میزان پارازتیمی در گروههای ٦ (دریافت کننده دارونما) و۷ (بدون درمان) در روز ٤ به ترتیب ١٦/٩٪ و ١٧/٥٪ بوده است که تفاوت معنی داری با گروه ۵ دارند ($p<$ ۰/۰۵).

میزان افزایش پارازتیمی برای گروههای ٦ و ۷ در روز ٤ نسبت به روز قبل از درمان به ترتیب ۱۰٪ و ۸/۹٪ بوده است و میزان افزایش پارازتیمی در روز ۷ نسبت به روز قبل از درمان ۱۵٪ و۱۸/۵٪ بوده است.

متوسط پارازتیمی در گروه اول که با غلظت ۲۰ mg/kg عصاره گل در، درمان شده اند در روز ٤، ۱۸/٤ ٪ بوده است . میزان افزایش پارازتیمی این گروه در روز ٤ نسبت به روز قبل از درمان ٦٪ و در روز ۷ نسبت به روز قبل از درمان ۱۴/۸٪ بوده است.

متوسط پارازتیمی در گروه دوم که با غلظت ۱۰۰mg/kgعصاره گل در درمان شده اند در روز ۱۸/٤٪ بوده است. میزان افزایش پارازتیمی این گروه در روز ٤ نسبت به روز قبل از درمان ۱۱/۵٪ و در روز ۷ نسبت به روز قبل از درمان ۱۵/۳ ٪ بوده است . متوسط پارازتیمی در گروه سوم که با غلظت ۳۰۰ mg/kg عصاره گل در درمان شده اند در روز ٤ ، ۱۲/۵٪ بوده است . میزان افزایش پارازتیمی این گروه در روز ٤ نسبت به روز قبل از درمان ٦/۲٪ و در روز ۷ نسبت به روز قبل از درمان ۱۰/۱٪ بوده است. متوسط پارازتیمی در گروه چهارم که با غلظت ٤۵۰ mg/kgعصاره گل در درمان شده اند در روز ٤/۱۱٪بوده است. میزان افزایش پارازتیمی این گروه در روز ٤نسبت به روز قبل از درمان ۵٪ و روز ۷نسبت به روز قبل از درمان ۸٪بوده است.مقایسه طول عمر موشها در گروههای درمانی،دارونما،کنترل و غیرآلوده صورت پذیرفت. در این مقایسه میزان مرگ و میر در گروه موشهایی که با کلروکین درمان شدند کمتر از سایر گروهها بوده،متوسط عمر آنها ۲۸روز محاسبه گردید.در سایر گروهها،گروه٤(درمان شده با عصاره با غلظت ٤۵۰ mg/kg)بعد از کلروکین دارای بیشترین متوسط طول عمر بوده، و متوسط عمر در این گروه۱۹/۱روز بود در حالیکه متوسط بقا در گروه دارونما و کنترل به ترتیب برابر با ۹و ۸ روز بوده است و این نتایج تفاوت کاملا آشکاری را نمایان می سازد.

گروه۱ که با غلظت ۲۰ mg/kg ازعصاره درمان شده بودند دارای میانگین بقای۹روز، گروه۲ که با غلظت ۱۰۰ mg/kgاز عصاره درمان شده بودند دارای میانگین بقای ۱۱روز و گروه۳ که با غلظت ۳۰۰ mg/kg ازعصاره درمان شده بودند دارای میانگین بقای ۱۳روز بوده است.

Archive of SID

www.SID.ir

لازم به ذکر است تا پایان مطالعه(به مدت ۳۵روز)هیچ مرگ و میری در گروه غیرآلوده که به منظور کنترل مرگ و میر تصادفی موشها در حیوانخانه نگهداری میشدند، مشاهده نشد.در موشهایی که به منظور بررسی سمیت احتمالی عصاره گل در،تحت نظر قرار داشتند هیچ مورد مشکوک یا منفی دیده نشد و موشها کاملا وزن گرفته و سالم به نظر می رسیدند.

بحث

هدف از این مطالعه بررسی میزان تاثیر عصاره الکلی گل در، بر روی پلاسمودیوم برگئی در موشهای سوری و مقایسه آن با کلروکین بود . بررسی های انجام شده نشان می دهد که قبلا مطالعاتی در زمینه اثر گیاهان دارویی ، از جمله اسپند و کاسنی بر روی پلاسمودیوم برگئی در ایران انجام شده است . در مطالعه بر روی عصاره الکلی دانه اسپند غلظت ۱۰۰ mg/kg با کمترین اثر سمیت ، بیشترین تاثیر را در کاهش پارازتیمی در موشهای تحت بررسی داشته است . ضمناً در این مطالعه سمیت غلظتهای عصاره مذکور در غلظتهای بالا نمایان گردید (متولی حقی و همکاران ۱۳۸۲). در این مطالعه غلظت ٤٥٠ mg/kg عصاره الکلی گیاه گلدر بیشترین تاثیر را در کاهش پارازتیمی در موشهای آلوده داشته است ($p< ۰/۰۵$) و به دلیل عدم سمیت عصاره مورد استفاده و مصرف دارویی آن به عنوان تب بر در افراد بومی مناطق مالاریاخیز ایران ، استفاده از غلظتهای بالاتر نسبت به عصاره الکلی دانه اسپند امکانپذیر بود .در مطالعه دیگر که بر روی گیاه کاسنی صورت گرفت غلظتهای ۰/۱ mg/kg و ۰/۰۷ mg/kg بیشترین تاثیر را در کاهش پارازتیمی در موشهای آلوده داشته است . عصاره این گیاه هم مانند عصاره الکلی دانه اسپند در غلظتهای بالاتر اثرات سمی داشته است(حکیمی پورو همکاران ۱۳۸٤) .

البته تفاوت این مطالعه با بررسی حاضر نحوه تجویز دارو بوده ، که عصاره گیاه کاسنی از طریق خوراکی مورد استفاده قرار گرفته است ولی در مطالعه حاضر بر روی گل در ، عصاره مورد استفاده از طریق تزریق بکار رفته است.استفاده از گل در به علت داشتن ترکیبات آنتی اکسیدان زیاد می تواند تاثیرات مفید و سودمندی بر بدن داشته باشد (Shrififar et al. 2003) .

نتیجه گیری

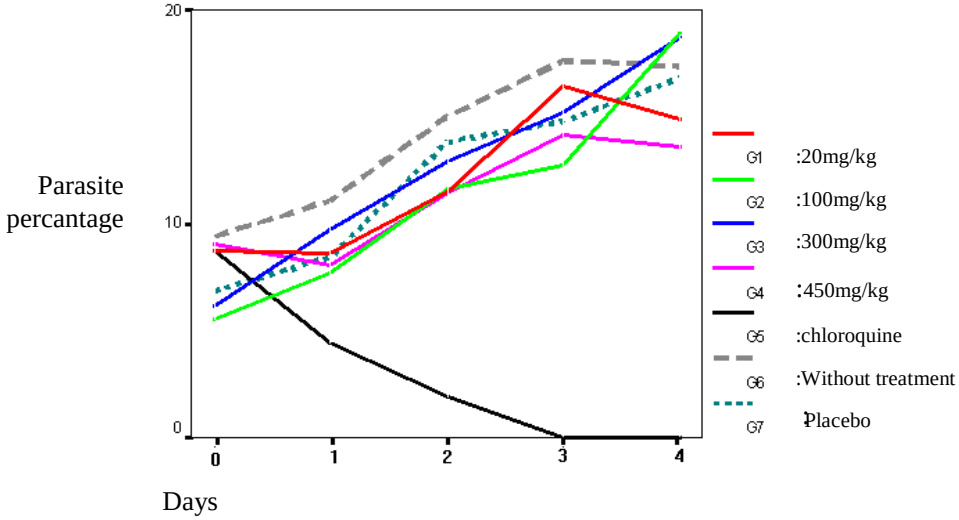
عصاره الکلی گل در،در غلظت ٤٥٠ mg/ kg دارای اثر قابل ملاحظه ای در کاهش میزان پارازتیمی انگل پلاسمودیوم برگئی در موشهای تحت مطالعه در مقایسه با گروههای کنترل داشته است. گرچه خاصیت ضدانگلی عصاره مذکور در مقایسه با داروی کلروکین بر روی انگل های یاد شده کمتر بوده است اما اگر بتوان با استفاده از حلالهای دیگر غلظت عصاره را افزایش داد و یا ماده موثره گیاه گل در را تخلیص کرد و به کار برد شاید بتوان نتایج بهتری در کاهش میزان پارازتیمی و افزایش طول عمر موشها بدست آورد.

تشکر و قدردانی

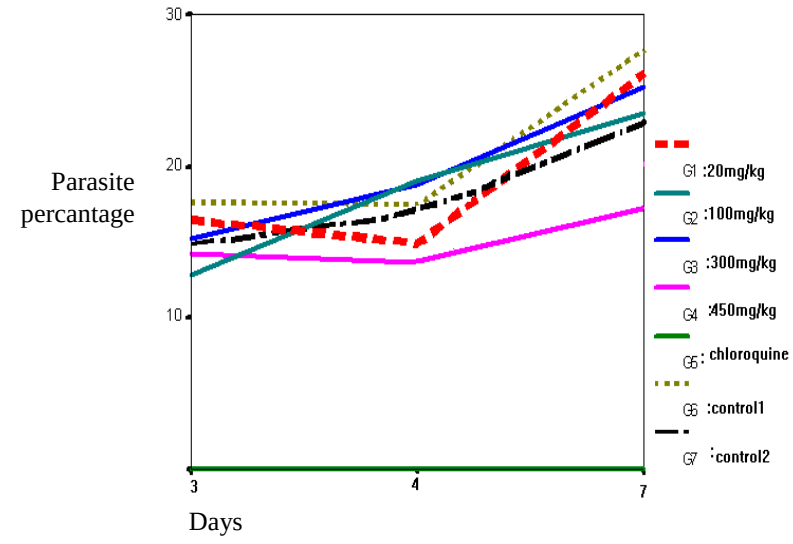
نویسندگان این مقاله وظیفه خود می دانند از آقای محمد تقی سطوت کارشناس گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی و کارکنان محترم واحد پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی که در انجام این مطالعه همکاری داشته اند قدردانی نمایند . این مطالعه با حمایت های مالی دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی ، دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام پذیرفته است که از مسوولان ذیربط قدردانی به عمل می آید .

Archive of SID

www.SID.ir



نمودار ۱- مقایسه میزان پارازیتمی ***P. berghei*** در گروههای دریافت کننده عصاره گلدر کلروکین و شاهد در روزهای **D 0- D 4** از درمان



نمودار ۲- مقایسه میزان پارازیتمی ***P. berghei*** در گروههای دریافت کننده عصاره گلدر کلروکین و شاهد در روزهای **D 3 , D 4, D 7** پس از درمان

www.SID.ir

منابع

حکیمی پور, غ., ۱۳۸۳. بررسی اثرات ضد مالاریایی گیاه کاسنی (Cichorium intybus). پایان نامه دوره دکترای داروسازی, دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی, دانشکده داروسازی.

متولی حقی، الف.، ناطق پور، م.، ادریسیان ، غ.، سوری ، ع.، سطوت، م.ت., ۱۳۸۳ . بررسی اثر عصاره الکلی دانه اسپند بر پلاسمودیوم برگئی در موش سوری و مقایسه آن با اثر کلروکین ، مجله دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی ، دانشگاه علوم پزشکی تهران ، دوره : ۲ ,شماره : یک, صفحه ٤٧-٥٤.

Clarck, C., and Key, S.W., 1996. Who releases revised facts on Malaria. Malaria weekly Report. **15,** pp. 7-9

Harrison, T.R., 1998. Harrison's Infectious Disease Viral and parasitic Infectious, *14th Edi.* Pp. 218-232.

Klayman, D.L., Lin, A.J., Acton, N., Scovill, J.P., Hoch, J.M., Milhous, W.K. and Theorides, A.D., 1984. Isolation of artemisinin (qinghaosu) from Artemisia annua growing in the united states. *J.Nat.Prod.* **47,** pp. 715-17.

Rashan, L.J., 1989. Invitro antiviral activity of the aqueous extracts from the seeds of Ph.harmala Fitotoerapia, **64,** pp. 365-367.

Ryley, J.F. and Peters, W., 1970. The antimalaril activity of some quinolon esteras. *Ann J.Trop.Med.Parasitol*. **84**(2), pp, 209.

Sharifar, F., Yassa, N. and Shafiee, A., 2003. Antioxidant Activity of Otostegia persica (Labia tae) and its constituents. Iranian Journal of pharmaceutical Research, pp.235-239

WHO., 2001. The use of antimalarial drugs , Report of a WHO Informal consultation, 13-17 Nivember, *WHO/CDS/ RBM.* **33,** pp. 8-16

Archive of SID

www.SID.ir