

## تأثیر القای جریان مستقیم الکتریسیته همراه با نانوذره سلنیوم و نقره در بهبودی ضایعات ناشی از لیشمانیا ماژور در موش بلب سی

مهدی کریمی<sup>۱</sup>، عبدالحسین دلیمی<sup>۲</sup>، فرنوش جامعی<sup>۳</sup>، عباس دلیمی<sup>۴</sup>، فاطمه غفاری<sup>۵</sup>

تاریخ دریافت ۱۳۹۴/۰۶/۱۵ تاریخ پذیرش ۱۳۹۴/۰۸/۲۰

### چکیده

**پیش‌زمینه و هدف:** گونه‌های مختلف لیشمانیا می‌تواند سبب عفونت انسان شود و علائم بالینی مختلفی را ایجاد کند. از آنجاکه درمان‌های حاضر چندان رضایت‌بخش نبوده و واکسنی هم وجود ندارد نیاز فوری برای شناسایی داروهای مؤثر بر عامل بیماری وجود دارد. در مطالعه حاضر تأثیر جریان مستقیم همراه با نانوذرات سلنیوم و نقره در کشندگی لیشمانیا ماژور در مدل حیوانی بررسی شده است.

**مواد و روش کار:** در این مطالعه تجربی، ۲۴ سر موش بلب سی در چهار گروه تقسیم و با انگل لیشمانیا ماژور به صورت تجربی آلوده شدند. سپس نانوذرات نقره با غلظت 250mg/kg و نانوذرات سلنیوم با غلظت ۱۲۵ mg/kg در شرایط درون تنی به صورت داخل زخم تزریق و هم‌زمان ۰/۵ میلی‌آمپر جریان الکتریسیته مستقیم به زخم القا شد. پس از ۵ هفته درمان، تغییرات اندازه زخم و وزن موش‌ها اندازه‌گیری شد.

**یافته‌ها:** در گروه تحت درمان با جریان الکتریسیته و نانوذره نقره ضایعه کوچک‌تری نسبت به گروه تحت درمان با جریان الکتریسیته و نانوذره سلنیوم مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). گرچه هر دو گروه نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری داشتند ولی با گروه کنترل تحت درمان با گلوکانتیم نیز اختلاف داشتند ( $P < 0.05$ ).

**بحث و نتیجه‌گیری:** اگرچه استفاده از نانوذره سلنیوم و نقره توأم با جریان مستقیم الکتریسیته در موش ضایعه پوستی را محدود کرده است ولی سبب بهبودی کامل زخم نگردید.

**کلیدواژه‌ها:** لیشمانیا ماژور، نانوذرات سلنیوم، نقره، جریان الکتریسیته مستقیم، موش

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و ششم، شماره دهم، ص ۸۳۵-۸۲۸، دی ۱۳۹۴

آدرس مکاتبه: تهران، تقاطع بزرگراه آل احمد- شهید چمران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه انگل‌شناسی، تلفن: ۸۲۸۸۳۸۳۸-۲۱

Email: dalimi\_a@modares.ac.ir

### مقدمه

عدم بروز آن مؤثر است. این انگل از طریق نیش پشه خاکی ماده آلوده به میزبان مهره‌دار منتقل می‌شود. بسته به گونه انگل به چهار فرم اصلی جلدی، جلدی مخاطی، جلدی منتشر و احشایی مشاهده می‌شود. لیشمانیوز جلدی شایع در ایران معمولاً موجب مرگ نمی‌شود ولی آسیب‌های روحی، اجتماعی، اقتصادی را به دلایل مختلف من جمله مزمن بودن دوره زخم، منظره جوشگاه ناپسند پوستی، بجای 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

لیشمانیوزیس جزء بیماری‌های عفونی مهم دنیاست که توسط تک‌یاخته‌های نسجی خونی داخل سلولی اجباری از جنس لیشمانیا از راسته کینتوپلاست داران در ماکروفاژهای ترجیحاً پوست، کبد، طحال، مغز استخوان ایجاد می‌شود. لیشمانیوز یکی از مهم‌ترین عوامل میرایی و ناخوشی در چندین کشور می‌باشد. تخمین زده شده که بیش از ۳۵۰ میلیون نفر در سراسر جهان مورد تهدید این بیماری قرار می‌گیرند. عوامل گوناگونی از جمله گونه انگل، شدت آلودگی، محل ورود انگل، وضعیت دستگاه ایمنی و ژنتیک میزبان در ایجاد و

<sup>۱</sup> دانش‌آموخته کارشناسی ارشد انگل‌شناسی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس

<sup>۲</sup> استاد انگل‌شناسی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس (نویسنده مسئول)

<sup>۳</sup> دانش‌آموخته کارشناسی ارشد انگل‌شناسی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس

<sup>۴</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد برق قدرت دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه

<sup>۵</sup> استاد انگل‌شناسی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس

کشت و نگهداری انگل:

جهت کشت و تکثیر انبوه انگل از محیط RPMI-1640 غنی شده با سرم جنین گوساله استفاده گردید. محیط آماده RPMI1640 همراه با ۲۰-۱۰ درصد سرم جنین گوساله (FCS) به مدت ۵/۰ ساعت در دمای ۵۶ درجه سانتی گراد بن ماری حرارت و غیرفعال داده شد. برای اطمینان از عدم آلودگی، محیط به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری و سپس به داخل یخچال 4 درجه سانتی گراد منتقل شد. فلاسک‌های حاوی کشت انگل به انکوباتور  $25 \pm 1$  درجه سانتی گراد منتقل و هر روز با میکروسکوپ معکوس کنترل گردید. معمولاً پس از دو هفته انگل از فرم لگاریتمی به فرم ایستا تبدیل می‌شود.

آماده‌سازی نانوذره سلنیوم:

نانوذره سلنیوم مورد استفاده تولید کشور آمریکا، به صورت محلول و به رنگ قرمز بوده و از شرکت جهان ثانی طوس مشهد خریداری شد. برای ارزیابی نانوذره در شرایط درون تنی از تزریق نانوذره با غلظت  $125 \text{mg/kg}$  به صورت داخل زخم در سه نقطه استفاده شد. میانگین وزن موش‌های مورد مطالعه ۲۵ گرم بود.

آماده‌سازی نانوذره نقره:

در این مطالعه از محلول نانوسیلور 3000 ppm که توسط شرکت US Research Nanomaterials آمریکا تولید می‌گردد و توسط شرکت پیشگامان نانومواد ایرانیان مشهد توزیع می‌شود، استفاده شد، اندازه ذرات نقره در این محلول ۲۰ نانومتر می‌باشد که درصد خلوص آن بنابر گفته شرکت سازنده ۹۹/۹۹ درصد می‌باشد. این ترکیب دارای ویژگیهای ضد عفونی کنندگی (ضد قارچ، باکتری و ضد ویروس) می‌باشد.

نانوذره نقره مورد استفاده به صورت محلول و به رنگ سیاه می‌باشد. در این پژوهش برای ارزیابی نانوذره در شرایط درون تنی از تزریق نانوذره با غلظت  $250 \text{mg/kg}$  به صورت تزریق داخل زخم استفاده شد.

تولید جریان مستقیم DC:

برای تبدیل جریان AC به DC از دستگاه واریاک استفاده شد این دستگاه به عنوان ترانسفورماتور جهت کاهش یا افزایش ولتاژ استفاده می‌شود. برای اندازه‌گیری دقیق تر ولتاژ، از دستگاه مولتی متر استفاده شد. در مطالعه حاضر پس از بهینه سازی جریان‌های مختلف الکتروسیسته از لحاظ تولید گرما و تغییر pH محیط در شرایط برون تنی، جریان مستقیم ۰/۵ میلی آمپر به مدت ۱۰ دقیقه انتخاب شد.

حیوان آزمایشگاهی مورد استفاده:

در این مطالعه موش‌های Balb/c ۶-۴ هفته‌ای ماده مورد استفاده قرار گرفت. حیوانات مذکور، از مرکز تولید و پرورش

مناطق آندمیک من جمله ایران به حساب آورد. در استفاده از روش‌های درمانی مختلف به علت مواجهه شدن با مشکلاتی مانند عود بیماری، مقاومت به داروها، عوارض جانبی داروها، ایجاد عفونت ثانویه باکتریایی، هزینه بالا، گزارش چندین مورد اپیدمی بیماری بخصوص در افراد با نقص ایمنی، تحقیقات را در ایجاد و گسترش داروهای جدید ضد لیشمانیا یا یک واکسن مناسب پیش می‌برد (۵،۱). اصولاً درمان در لیشمانیوز به عواملی چون موضع زخم، تعداد زخم، اندازه گستره زخم، نو یا کهنه بودن زخم و همچنین احتمال انتشار مخاطی آن بستگی دارد. بیماری سالک غالباً خودبه‌خود بهبود می‌یابد ولی مزمن و پیش‌رونده شدن ضایعات و باقی ماندن جوشگاه‌های بدشکل، درمان ضایعات پوستی را به‌ویژه اگر ضایعات در صورت باشد، اجتناب‌ناپذیر می‌کند. مشکل درمانی لیشمانیوز پوستی از دیرباز مورد توجه بوده است. درمان‌های مختلفی برای این بیماری پیشنهاد شده، ولی متأسفانه هیچ‌کدام به صورت کامل مؤثر نبوده است (۶،۹). به‌طور کلی برای درمان لیشمانیوز پوستی سه روش درمان فیزیکی، درمان موضعی، درمان سیستمیک پیشنهاد شده است (۱۰).

تزریق داخل ضایعه‌ای داروهای ضد لیشمانیایی روش درمانی است که برای دهه‌های طولانی استفاده شده است. در میان درمان‌های قدیمی می‌توان تزریق داخل زخم مپاکرین، امتین و سولفات اسید بربرین را نام برد که کاربرد این داروها به خصوص امتین در مناطق آندمیک توسط WHO توصیه شده است (۲) برای درمان ضایعه پوستی لیشمانیایی تاکنون از ابزارهای فیزیکی و ترکیبات مختلفی اعم از داروهای شیمیایی، گیاهی و حتی نانوذرات استفاده شده است. شواهد و مدارک زیادی وجود دارد که جریان الکتریکی می‌تواند رشد باکتری‌ها را مهار کند (۱۳-۱۱). از طرفی از سال‌های متمادی از جریان الکتروسیسته جهت بهبود زخم نیز استفاده می‌شده است (۱۸-۱۳). علاوه بر این اثر جریان الکتروسیسته بر روی پروماستیگوت و بهبودی زخم لیشمانیایی مورد ارزیابی قرار گرفته شده است (۲۰، ۱۹). در مورد اثرات نانوذرات مختلف از جمله سلنیوم و نقره بر روی پروماستیگوت و بهبودی زخم لیشمانیایی نیز مطالعاتی انجام شده است (۳۰-۲۱).

هدف از انجام این مطالعه بررسی تأثیر جریان‌های مستقیم همراه با نانوذره سلنیوم و نقره در بهبودی ضایعه لیشمانیایی در موش است.

## مواد و روش کار

تهیه انگل لیشمانیا:

سویه استاندارد (MRHO.IR.75.ER) از انستیتو رازی تهیه و پاساژهای متوالی از آن تهیه شد.

شد، بدین صورت که جریان الکتریسیته مستقیم به میزان ۰/۵ میلی‌آمپر اعمال شد. لازم به ذکر است که ۱۰ دقیقه قبل از اعمال جریان الکتریسیته موش‌ها با ۱۵۰  $\lambda$  کتامین و زایلوزین (به نسبت ۱ به ۱۰) بی‌هوش می‌شدند.

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS ویراست ۱۶ استفاده شد و سطح معنی‌داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. از روش آنالیز واریانس یک طرفه جهت مقایسه میانگین متغیرهای مورد مطالعه در گروه‌های مختلف و برای تشخیص تفاوت‌های معنی‌دار به صورت دو به دو بین گروه‌های مختلف از آزمون T-test استفاده گردید. لازم به ذکر است که برای بررسی فرض نرمال بودن متغیرهای مورد بررسی از آزمون کولموگوروف-اسمیرنوف یک نمونه‌ای استفاده شد.

### یافته‌ها

بررسی قطر زخم موش‌ها در طول درمان:

در تمام گروه‌های مورد آزمایش و شاهد میانگین قطر زخم در هفته‌های اول الی پنجم پس از شروع درمان اندازه‌گیری شد. در گروه تحت درمان با جریان الکتریسیته و نانوذره نقره ضایعه کوچک‌تری نسبت به گروه تحت درمان با جریان الکتریسیته و نانوذره سلنیوم مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). گرچه هر دو گروه نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری داشتند ولی با گروه کنترل تحت درمان با گلوکانتیم نیز اختلاف داشتند ( $P < 0.05$ ). نتایج میانگین قطر زخم تا پایان هفته پنجم در جدول (۱) و شکل زخم در گروه‌های مختلف پس از ۵ هفته درمان در شکل ۱ آورده شده است. پس از ۵ هفته، اندازه زخم در گروه شاهد بدون درمان ۱/۳۶ برابر گروه تحت درمان با نانوذره سلنیوم و جریان مستقیم، ۱/۶۹ برابر گروه تحت درمان با نانوذره نقره و جریان مستقیم و ۲/۷۹ برابر گروه تحت درمان با گلوکانتیم بوده است.

**جدول (۱):** مقادیر میانگین و انحراف معیار اندازه زخم در گروه‌های تست و شاهد بر حسب میلی‌متر

زمان (هفته)	کنترل بدون درمان (گروه ۱)	نانوذره سلنیوم و جریان مستقیم (گروه ۲)	نانوذره نقره و جریان مستقیم (گروه ۳)	کنترل مثبت (گلوکانتیم) (گروه ۴)
۱	۸/۶۰ ± ۲/۱۲	۶/۴۸ ± ۲/۳۲	۶/۹۶ ± ۲/۰۱	۵/۰۲ ± ۱/۲۴
۲	۹/۴۴ ± ۲/۷۵	۷/۵۱ ± ۱/۸۸	۸/۱۸ ± ۲/۵۱	۵/۰۸ ± ۱/۰۸
۳	۱۰/۰۱ ± ۴/۸۷	۸/۲۱ ± ۳/۵۲	۹/۰۹ ± ۳/۱۷	۵/۱۰ ± ۱/۴۶
۴	۱۱/۶۹ ± ۵/۱۴	۹/۵۸ ± ۱/۶۱	۸/۸۱ ± ۳/۴۳	۵/۱۶ ± ۱/۳۵
۵	۱۴/۵۷ ± ۷/۰۱	۱۰/۷۱ ± ۲/۹۲	۸/۶۲ ± ۴/۰۴	۵/۲۱ ± ۱/۹۵
اختلاف آماری معنی‌دار یا گروه	۴، ۳، ۲	۴، ۳، ۱	۴، ۲، ۱	۳، ۲، ۱

مقادیر به صورت Mean  $\pm$  SD آورده شده است.

حیوانات آزمایشگاهی، واقع در مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی خریداری شده و در حیوان خانه دانشگاه نگهداری شد. آلوده کردن موش‌ها به انگل:

برای آلوده نمودن موش‌ها ۰/۱ میلی لیتر محلول حاوی پروماستیگوت لیثمانیا ماژور در فاز stationary توسط سرنگ انسولین به قاعده دم موش‌ها و به صورت زیر جلدی تزریق شد. لازم به ذکر است که در فاز ایستایی رشد انگل کند می‌شود. 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. از روش نمونه‌برداری و مشاهده با لام مستقیم در زیر میکروسکوپ برای اطمینان از حضور انگل لیثمانیا در زخم استفاده شد. گروه‌بندی موش‌ها:

مجموعاً ۲۴ سر موش بаль سی با استفاده از روش رنگ آمیزی اسید پیکریک، علامت گذاری شده و در قفس‌های جداگانه قرار داده شدند. موش‌ها به چهار گروه (گروه شاهد آلوده بدون درمان، گروه شاهد آلوده تحت درمان با گلوکانتیم، گروه آلوده تحت درمان با جریان الکتریسیته مستقیم و نانوذره سلنیوم، گروه آلوده تحت درمان با جریان الکتریسیته مستقیم و نانوذره نقره) تقسیم شدند و در هر گروه ۶ موش قرار داده شد. اندازه‌گیری قطر زخم:

پس ظاهر شدن، زخم هر سه روز یکبار قطر زخم، با استفاده از کولیس دیجیتال بطور هفتگی اندازه‌گیری شد. بدین نحو که حاصل جمع طول و عرض قطر زخم بر عدد ۲ تقسیم و به عنوان عدد مربوط به قطر زخم در نظر گرفته شد. شروع درمان:

زخم‌ها پس از ۱۴ روز کاملاً نمایان بودند. سلنیوم و نقره هر روز، روزی یک مرتبه به صورت داخل زخم و در سه نقطه تزریق شد. گروه‌های مربوط به جریان الکتریسیته یک روز در میان انجام



گروه ۱

گروه ۲

گروه ۳

گروه ۴

بررسی وزن موش‌ها در طول درمان:  
وزن موش‌ها در طول دوره درمان (۳۵ روز) پنج بار اندازه‌گیری شد. مقادیر میانگین و انحراف معیار وزن موش‌ها در گروه‌های مختلف در سطوح مختلف زمان در جدول (۲) نمایش داده شده است.

شکل ۱: مقایسه شکل و اندازه زخم در گروه‌های مختلف پس از ۵ هفته درمان. گروه ۱: شاهد آلوده بدون درمان، گروه ۲: آلوده تحت درمان با جریان الکتریسیته مستقیم و نانوذره سلنیوم، گروه ۳: آلوده تحت درمان با جریان الکتریسیته مستقیم و نانوذره نقره، گروه ۴: شاهد آلوده تحت درمان با گلوکانتیم.

جدول (۲): مقادیر میانگین و انحراف معیار وزن در گروه‌های تست و شاهد بر حسب میلی گرم

زمان (هفته)	کنترل بدون درمان (گروه ۱)	نانوذره سلنیوم و جریان مستقیم (گروه ۲)	نانوذره نقره و جریان مستقیم (گروه ۳)	کنترل مثبت (گلوکانتیم) (گروه ۴)
۱	۲۱/۷۴±۲/۱۳	۲۵/۲۶±۳/۳۱	۲۳/۷۴±۱/۰۱	۲۴/۸۵±۲/۶۹
۲	۲۵/۰۵±۲/۹۳	۲۵/۳۵±۲/۴۲	۲۳/۸۹±۰/۹۳	۲۴/۸۹±۲/۴۴
۳	۲۵/۵۴±۳/۶۸	۲۵/۵۳±۲/۸۳	۲۴/۱۷±۰/۶۲	۲۵/۸۰±۲/۵۱
۴	۲۵/۷۹±۳/۳۷	۲۵/۵۷±۲/۸۰	۲۴/۵۱±۰/۵۸	۲۶/۱۹±۳/۰۹
۵	۲۵/۸۶±۴/۴۰	۲۷/۳۰±۳/۴۹	۲۵/۲۱±۱/۱۲	۲۸/۱۱±۳/۲۳
اختلاف آماری معنی‌دار با گروه	۲،۴	۱،۳	۲،۴	۱،۳

مقادیر به صورت Mean ± SD آورده شده است.

## بحث

لیشمانیازیس پوستی یکی از مهم‌ترین علل ضایعات پوستی اولسراتیو مزمن است. از نظر بالینی بیماری به اشکال مختلف دیده می‌شود. لیشمانیازیس پوستی حاد، لیشمانیازیس پوستی مزمن، لیشمانیازیس پوستی عود کننده و لیشمانیازیس پوستی منتشر. گونه‌های لیشمانیا شامل *L. major*، *L. tropica* و *L. aethiopicum* در دنیای قدیم و چندین گونه از *L. braziliensis* و *L. mexicana* در دنیای جدید عوامل ایجاد کننده لیشمانیا هستند. بعضی از اشکال بیماری دارای ضایعات خفیف، خودبه‌خود محدود شونده ایجاد می‌کنند درحالی‌که سایر گونه‌ها اشکال پوستی مخاطی مخربی ایجاد می‌کنند که عامل آن‌ها *L. braziliensis* و *L. panamensis* است (۲). معمولاً شیمی درمانی به‌عنوان بهترین راه درمانی لیشمانیازیس استفاده می‌شود. گرچه ترکیبات دارویی سمی هستند و خطر عود و اثرات جانبی نیز وجود دارد. به همین دلیل از درمان‌های جایگزین از قبیل روش‌های فیزیکی، داروهای گیاهی و سنتی و نانوذرات استفاده می‌شود. درمان فتودینامیکی

از جمله درمان‌های جدیدی است که سبب تخریب سریع و موضعی ضایعات بدون اثرگذاری بر بافت مجاور می‌شود و می‌تواند جایگزین مناسبی برای داروهای ضدلیشمانیایی باشد (۳۱).  
از نانوذرات مختلف نیز در درمان ضایعات لیشمانیایی استفاده شده است. در مطالعه بهشتی و همکاران (۲۲) در سال ۲۰۱۳ که تأثیر غلظت‌های مختلف سلنیوم بیوژنیک تولید شده توسط باکتری باسیلوس گونه MSH-1 بر روی لیشمانیا مازور در شرایط درون تنی و برون تنی ارزیابی شد، نتایج *in vivo* آن‌ها نشان داد که زخم موش‌هایی که سلنیوم با دوز ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۱۴ روز قبل از تزریق انگل به موش به‌صورت داخل صفاقی دریافت کرده‌اند کوچکتر از بقیه بود و زخم موش‌هایی که سلنیوم را با دوز ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۱۴ روز بعد از تزریق انگل به موش به‌صورت داخل صفاقی دریافت کرده‌اند کاملاً حذف شد.

نتایج مطالعه حجازی و همکاران نشان داد که اعمال ولتاژ ۳ دریافتی از منبع تغذیه، در محل تماس الکتروود با پوست موش

می‌باشد و در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر نانوذره درصد کشنده‌گی بیشتر است (۲۴). در مطالعه الهوردیف و همکاران که تأثیر نانوذره نقره به همراه نور ماورا بنفش، بر ضد لیشمانیوز پوستی ارزیابی گردید نشان داد که ترکیب نانوذره نقره به همراه نور ماورا بنفش سبب ممانعت از تکثیر و فعالیت‌های متابولیکی پروماستیگوت می‌شود. همچنین پروماستیگوت‌هایی که تحت تأثیر نانوذره نقره همراه با نور UV قرار گرفته بودند غشای خود را از دست دادند و آنهایی که تأثیر نانوذره نقره در شرایط تاریکی قرار گرفتند شکل و ارگانل‌های داخلی‌شان مشخص نبود ولی در گروه کنترل شکل و ارگانل‌های داخلی حفظ شده بود (۲۵).

### نتیجه گیری

تأثیر توأم نانوذرات سلنیوم و نقره با جریان مستقیم برای اولین بار در ایران انجام گرفت. نتایج نشان داد استفاده از نانوذره سلنیوم و نقره توأم با جریان مستقیم الکتریسیته در موش با اینکه زخم را محدود کرده است ولی سبب بهبودی کامل زخم نگردید. در گروه تحت درمان با جریان الکتریسیته و نانوذره نقره ضایعه کوچک‌تری نسبت به گروه تحت درمان با جریان الکتریسیته و نانوذره سلنیوم مشاهده شد ( $P < 0.05$ ).

هیچگونه زخمی ایجاد نکرد درحالیکه پس از اعمال ولتاژ ۶ و ۹ در محل تماس الکتروود با پوست موش زخم ایجاد شد؛ بنابراین از آزمایشات مشخص شد که ولتاژ ۳ دریافتی از منبع تغذیه برای موش یکی از مناسبترین ولتاژهای درمانی می‌باشد زیرا حیوان هم رفلکس عضلانی کم‌تری نشان می‌دهد و هم می‌تواند بدون ایجاد زخم روی پوست موش برای درمان مورد استفاده قرار گیرد. در مطالعه حجازی و همکاران ولتاژ متغیر بوده ولی در مطالعه ما جریان متغیر است (۱۹). در مطالعه حاضر پس از بهینه سازی جریان، جریان ۰/۵ و ۱ میلی‌آمپر برای شرایط *In vivo* استفاده شد. نتایج این مطالعه نشان داد که جریان الکتریسیته به همراه نانوذره سبب بهبودی کامل زخم موش نشد. در مطالعه ترابی و همکاران که تأثیر دو غلظت ۰/۴ و ۴۰ میکروگرم بر میلی لیتر عصاره متانولی نانوذره طلا تولید شده توسط *Eucalyptus camaldulensis* در درمان لیشمانیوز پوستی ارزیابی شد نتایج نشان داد که تعداد آماستیگوت‌ها در ضایعه کاهش یافت، در حالیکه تعداد آنها در گروه کنترل افزایش یافت (۲۸). در مطالعه سفلائی و همکاران که تأثیر ضد انگلی غلظت‌های مختلف آنتی موآن سولفید تولید شده توسط باکتری *Serratia marcescens* بر لیشمانیا اینفانتوم در شرایط برون تنی ارزیابی شد، نتایج نشان داد که اثرات ضد انگلی نانوذره سلنیوم وابسته به غلظت نانوذره

### References:

- Ardehali S. Leishmania and leishmaniasis. Tehran: Tehran University Press Center; 2000. P.50-100. (Persian)
- Garcia Lynne S. Diagnostic Medical Parasitology. 5th ed. ASM Press, Washington, DC; 2007. P.123-30.
- Nadim A. Cutaneous leishmaniasis around Tehran. General Medicine J 1996; 272-4. (Persian)
- Asilian A. Cutaneous leishmaniasis, treatment and prevention. Isfahan: Isfahan Medical University Press; 1992. P. 40-52. (Persian)
- Momeni A, Javaheri A, imam jomeh M. A survey on treatment and side effect of Glucantime in cutaneous leishmaniasis. Nabz J 1993; 2: 5-10. (Persian)
- Yordley V, Graft SL. Activity of liposomal Amphotericin B against experimental cutaneous leishmaniasis. Antimicrob Agents Chemother 1997; 41(4): 752-6.
- Sundar S, Agrawal NK, Sinha PR, Horwith GS, Murray HW. Short – course, low dose amphotericin B lipid complex therapy for visceral leishmaniasis unresponsive to antimony. Ann Intern Med 1997; 127: 133-7.
- Thakur CP, Kumar M, Pandey AK. Comparison of regimens of treatment of antimony resistant Kala-azar patients: A randomized study. Am J Trop Med Hyg 1991; 45:435-41.
- Velaz I, Agudelo S, Hendrickx E. Inefficacy of Allopurinol as Monotherapy for Colombian Cutaneous Leishmaniasis A Randomized, Controlled Trial. Ann Intern Med 1997; 126: 232-6.
- Berman DY, Ksionski G, Chapman WL, Waits VB, Hanson WL. Activity of amphotericin B cholesterol dispersion in experimental visceral

- leishmaniasis. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36(9): 1978-80.
11. Rowley BA, McKenna JM, Chase GR, Wolcott LE. The influence of electrical current on an infecting microorganism in wounds. *Ann N.Y. Acad Sci* 1974; 238:543-52.
  12. Barranco SD, Spadro JA, Berfer TJ, Becker RO. In Vitro effect of weak direct current on staphylococcus aureus. *Clin. Orthop Rel Res* 1974; 2:13-6.
  13. Szuminsky NJ, Albers AC, Unger P, Eddy JG. Effect of narrow, pulsed high voltages on bacterial viability. *Phys Ther* 1994; 74, 660-7.
  14. Alvarez OM, Mertz PM, Smerbeck RV, Eaglstein WH. The healing of superficial skin wounds is stimulated by external electrical current. *J Invest Dermatol* 1983;81: 144-8.
  15. Wolcott LE, Wheeler PC, Hardwicke HM, Rowley BA. Accelerated healing of skin ulcers by electrotherapy. *South Med J* 1969;62:795-801.
  16. Gault WR, Gatens PF. Use of low intensity direct current in management of ischemic skin ulcers. *Phys Ther* 1976; 70:37-40.
  17. Carley, P.J. Wainapel, S.F. 1985. Electrotherapy for acceleration of wound healing: Low intensity direct current. *Arch Phys Med Rehabil*; 66: 443-6.
  18. Gentzkow GD, Pollack SV, Kloth LC, Stubbs HA. Improved healing of pressure ulcers using dermapulse, a new electrical stimulation device. *Wounds* 1991; 3(5):158-70.
  19. Hejazi H, Eslami G, Dalimi A. The parasiticidal effect of electricity on *Leishmania major*, both in vitro and in vivo. *Ann Trop Med Parasitol* 2004; 98(1): 37-42.
  20. Sharquie K.E, al-Hamamy H, el-Yassin D. Treatment of cutaneous leishmaniasis by direct current electrotherapy: The Baghdadin device. *J Dermatol* 1998; 25, 234-7.
  21. Soflaei S, Dalimi A, Abdoli A, Kamali M, Nasiri V, Shakibaie M, et al. Anti-leishmanial activities of selenium nanoparticles and selenium dioxide on *Leishmania infantum*. *Comp Clin Pathol* 2014;23(1):15-20.
  22. Beheshti N, Soflaei S, Shakibaie M, Yazdi MH, Ghaffarifar F, Dalimi A, et al. Efficacy of biogenic selenium nanoparticles against *Leishmania major* In vitro and in vivo studies. *J Trace Elem Med Biol* 2013; 27: 203-7.
  23. 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: 230-3.
  24. Soflaei S, Dalimi A, Ghaffarifar F, Shakibaie M, Shahverdi AR, Shafiepour M. In Vitro Antiparasitic and Apoptotic Effects of Antimony Sulfide Nanoparticles on *Leishmania infantum*. *J Parasitol Res* 2012;2012:756568.
  25. Allahverdiyev A M, 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: 2705-14.
  26. 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); 127-34.
  27. Jebali A, Kazemi B. Nano-based antileishmanial agents: A toxicological study on nanoparticles for future treatment of cutaneous leishmaniasis. *Toxicol Vitro* 2013; 27: 1896-904.
  28. Torabi N, Mohebbali M, Shahverdi AR, Rezayat SM, Edrissian Gh, Esmaeili J, et al. 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): 13-6.
29. Delavari M, Dalimi A, Ghafarifar F, Sadraei J. In vitro study on cytotoxic effects of ZnO nanoparticles on promastigote and amastigote forms of Leishmania major (MRHO/IR/75/ER). Iran J Parasitol 2014; 9(1): 6-13.
30. Andreadou M, Liandris E, Gazouli M, Taka S, Antoniou M, Theodoropoulos G, et al. A novel non-amplification assay for the detection of Leishmania spp. in clinical samples using gold nanoparticles. J Microbiol Methods 2014;96:56–61.
31. Ghaffarifar F. Leishmania major: In vitro and in vivo anti-leishmanial effect of cantharidin. Exp Parasitol 2010; 126: 126–9.

## HEALING EFFECT OF INDUCTION OF DIRECT ELECTRIC CURRENTS PLUS SELENIUM AND SILVER NANOPARTICLE ON SKIN LESIONS CAUSED BY *LEISHMANIAL MAJOR* IN BALB/C MICE

Mehdi Karimi<sup>1</sup>, Abdolhossein Dalimi<sup>\*2</sup>, Farnoosh Jameie<sup>3</sup>, Abas Dalimi<sup>4</sup>, Fatemeh Ghafarifar<sup>5</sup>

Received: 6 Sep, 2015; Accepted: 11 Nov, 2015

### Abstract

**Background & Aims:** Various *Leishmania* species can cause human infection with a spectrum of clinical manifestations. The current treatments are unsatisfactory; and in absence of a vaccine there is an urgent need for effective drugs to replace those currently in use. In the present study, the effect of direct current electricity in combination with selenium and silver nanoparticles on the healing of leishmanial lesions has been investigated.

**Materials & Methods:** In this experimental study, 24 Balb/c mice were divided into four groups and infected experimentally with *L. major*. Then silver nanoparticles with a concentration of 250 mg/kg and selenium nanoparticle with a concentration of 125 mg/kg were injected inter-lesion, and simultaneously 0.5 mA DC induction was applied directly into the wound. Finally, the lesion size and mice body weight changes were measured during five weeks.

**Results:** The lesions were found to be smaller in the group treated with DC and silver nanoparticles than the group treated with DC and selenium nanoparticles ( $P < 0.05$ ). Two treated groups showed significant differences with both negative control group and the group treated with Glucantime ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** The results showed that selenium and silver nanoparticles with direct current electricity promotes wound healing in mice.

**Keywords:** *Leishmania major*, Selenium and silver nanoparticles, Direct electricity, Mice

**Address:** Department of Parasitology and Entomology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

**Tel:** +982182883838

**E-mail:** dalimi\_a@modares.ac.ir

SOURCE: URMIA MED J 2016; 26(10): 835 ISSN: 1027-3727

<sup>1</sup> MSc, Parasitology Department, Medical Sciences Faculty, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

<sup>2</sup> Professor, Parasitology Department, Medical Sciences Faculty, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran (Corresponding Author)

<sup>3</sup> MSc, Parasitology Department, Medical Sciences Faculty, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

<sup>4</sup> MSc Student in Power Electric Electrical Power Engineering, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran

<sup>5</sup> Professor, Parasitology Department, Medical Sciences Faculty, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran