

بررسی اثر عصاره الکلی دانه اسپند بر پلاسمودیوم برگئی در موش سوری و مقایسه آن با اثر کلروکین

افسانه متولی حقی^{۱*}، دکتر مهدی ناطق پور^۱، دکتر غلامحسین ادریسیان^۱، دکتر عفت سوری^۲ و محمدتقی سطوت^۱

چکیده:

باتوجه به اهمیت بالقوه داروهای گیاهی بومی که بتوانند تاثیر قابل قبولی بر روی انگلهای مالاریا داشته باشند، اثر عصاره الکلی اسپند بر روی پلاسمودیوم برگئی به طور تجربی در موش سفید کوچک آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت و با اثر کلروکین مقایسه شد. بدین منظور تعداد ۵۶ عدد موش در ۸ گروه ۷ تایی قرار گرفتند، که هفت گروه از آن با پلاسمودیوم برگئی آلوده شدند و با عصاره الکلی اسپند و کلروکین با متد 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 غلظتهای مختلف از عصاره الکلی اسپند و کلروکین، تحت درمان قرار گرفتند. موثرترین غلظت در بین غلظتهای مورد استفاده مشخص گردید. آنالیز داده‌ها از طریق آزمون ANOVA و SPSS و آزمون آنالیز واریانس یک طرفه انجام گردید و موثرترین غلظت در بین غلظت‌های مورد استفاده مشخص شد.

نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که غلظتهای مختلف اسپند تاثیرات متفاوتی در کاهش میزان پارازیمی انگل دارند. گرچه تمام غلظتهای مورد استفاده به نحو چشمگیری باعث کاهش تعداد انگل در موشهای آلوده شدند، غلظت ۱۰۰ mg/kg به نحو معنی داری در این کاهش نقش داشت ($p < 0/05$). تاثیر کلروکین بر انگلهای تحت مطالعه قاطع و بیشتر از غلظتهای متفاوت عصاره الکلی اسپند بود. به عبارت دیگر، در این مطالعه تاثیر عصاره الکلی اسپند بر روی انگل بطی ولی مورد توجه است. به نظر می‌رسد اگر از عصاره‌های ۱۰۰ mg/kg و ۱۰۰ mg/kg اسپند استفاده شود، نتایج بهتری بتوان دریافت کرد.

واژگان کلیدی: پلاسمودیوم برگئی، اسپند، درمان

* (عهده دار مکاتبات)

^۱ گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران، صندوق پستی ۶۴۴۶-۱۴۱۵۵، تهران، ایران.

مقدمه :

مالاریا یک بیماری تک یاخته ای است که از نظر انتشار، میزان ابتلا و مرگ و میر مهمترین بیماری انگلی در دنیاست. به طوری که سالیانه نزدیک به ۵۰۰ میلیون نفر در جهان به مالاریا مبتلا می شوند و ۲/۷ - ۱/۵ میلیون نفر در سال بر اثر مالاریا میمیرند. عامل بیماری در انسان تک یاخته هایی از جنس پلاسمودیوم (پلاسمودیومهای ویواکس، فالسیپاروم، مالاریه واول) هستند (Harrison T.R. 1998, Clark C. and Key S.W. 1996).

مالاریا از قدیم الایام در نقاط مختلف ایران وجود داشته است و پزشکان ایرانی چون ابوریحان بیرونی و شیخ الرئیس بوعلی سینا با داروهای مرکبی که خود از چند نوع گیاه و تنه های شمشاد در آن درمان می نمودند. آمارهای سازمان بهداشت جهانی در ایران نشان می دهد که در سال ۱۳۸۱ می باشد که توسط اداره کنترل و پیشگیری بیماریها جمع آوری و اعلام گردیده است، با توجه به این آمار از مجموع ۱۵۱۷۵ مورد مالاریا در سال ۱۳۸۱، ۱۱۶۰۵ مرد و ۲۲۴۰ مورد فالسیپاروم، ۸۰۸ مورد کل و ۴۰۴ مرد مالاریه بوده است که این آمار شامل اسفند ماه ۱۳۸۱ نمی باشد.

افزایش موارد مقاوم به کلرکین در پلاسمودیوم فالسیپاروم و مقاومت ناقلین به بعضی از حشره کشها مشکلات ناشی از بیماری را افزونتر ساخته است. متأسفانه تعداد داروهای ضد مالاریایی موجود که در مورد مقاومت انگل به کار برده می شوند محدودند و گاهی اثرات سمی بر روی بیمار دارند و همچنین در اکثر موارد این داروها برای زنان حامله که بخشی از جمعیت آسیب پذیر اندی مالاریا خیز را تشکیل می دهند، مناسب نیستند و ضروری است که همیشه مواظب نحوه مقاومت و گسترش آن بود و آمادگی مواجهه با مشکل را داشته، لذا جهت نور تحقیق پیرامون داروهای موثر و جدید که 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 و انواعی از آنها مانند آرتمی سینین (Artemisinin) نیز از جمله داروهای موثر در این زمینه شناخته شده اند (Klayman D.L. et al. 1984)، لذا تحقیق پیرامون گیاهان بومی مناطق مالاریا خیز که قابلیت درمانی ندارند، ممکن است نقش ارزنده ای در درمان و کنترل مالاریا داشته باشند. با توجه به اهمیت موضوع تصمیم گرفته شد مطالعه ای بر روی اثرات ضد مالاریایی عصاره الکلی گیاه اسپند که قبلاً اثرات ضد میکروبی و ضد کرمی آن توسط محققان دیگر مشخص شده است (مهدوی و مسعود ۱۳۸۱، Kang J.F. 1994, Rashan L.J. 1989) انجام پذیرد. این مطالعه اولین مطالعه به روش *in vivo* با استفاده از گاه زکوره در درمان مالاریا می باشد. طالب در آزمایشگاه تحقیقی 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 مطالعه :

۱۶ موش سوی نر که از نظر جنس، سن و وزن در وضعیت مشابهی بودند (وزن 20 ± 2 گرم) به ۸ گروه ۷ تایی تقسیم شدند. به ۷ گروه انگل پلاسمودیوم برگنی *Plasmodium berghei* (۱۰^۶ گلبول قرمز آلوده، سوسپانسیون شده در سرم فیزیولوژی به حجم نهایی ۰/۲ میلی لیتر) به صورت داخلی صفاقی تزریق شد پس از ۲۴ ساعته انگل در خون معینی مان آغاز شد. گروههای ۱ تا ۲ به ترتیب با چهار غلظت مختلف از عصاره الکلی اسپند (۶۰۰، ۳۰۰، ۱۰۰، ۲۰) mg/kg درمان شدند. جهت عملیات و رقابت سازی عصاره اسپند از توئین ۸۰ و سرم فیزیولوژی استفاده گردید.

گروه ۵ با کلروکین ۲۰ mg/kg، گروه ۶ 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 حیوان خانه بدون تزریق انگل و دارو نگهداری شدند.

درمان با استفاده از روش پیشنهادی (Ryley and Petrs W. 1970) انجام گردید. این روش برمبنای شروع درمان پس از مشاهده پارازیتی در خون محیطی می باشد. درمان به صورت sub cutaneous و تا ۴ روز ادامه داشت. روزانه از انتهای دم موشها خونگیری به عمل آمده پس از تهیه گسترش نازک خون و رنگ آمیزی با گیمسا میزان پارازیتی تعیین می گردید. موثرترین غلظت دارو، غلظتی بود که میزان پارازیتی را به کمترین حد در مقایسه با دیگر غلظتها کاهش داده و اثر سمی روی موشها نداشته باشد. بررسی موشها از نظر میزان پارازیتی تا روز ۱۰ و از صورت موشها تا روز ۱۰ ادامه داشت. روش پیرسنش اثر شیرینوسیدازول و ماساسر روش (Peters W. 1965) انجام شد، که در آن پس از تهیه اسلایدهای رنگ آمیزی شده با میکروسکوپ دوچشمی و عدسی روغنی ۱۰۰× و چشمی ۱۰× و استفاده از یک کانتار ۱۰ فیلد میکروسکوپی شمش و درصد آلودگی مشخص می گردید. نتایج پس از جمع آوری با نرم افزار SPSS و آزمون آنالیز واریانس یک طرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

جهت اطمینان از عدم حسیت دور مورد استفاده تعداد ۳۰ موش سالم انتخاب و به گروههای ۱۰ تایی تقسیم شدند. به گروه اول داروی مورد استفاده در دوز انتخابی به مدت دو هفته به طور مداوم تزریق شد و با گروه شاهد که صرفاً سرم فیزیولوژی دریافت می کرد مقایسه گردید. گروه سوم جهت کنترل مرگ و میر تصادفی موشها در حیوان خانه بدون هیچ تزریقی حسط و نگهداری گردیدند.

در پایان، پیگیری موشها با 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 که هیچ مورد مشکوک یا

منفی دیده نشد و موشها کاملاً وزن گرفته و سالم به نظر می رسیدند.

یافته ها:

در این مطالعه میزان متوسط پارازیتی گروههای تحت مطالعه در روزهای مختلف از روز صفر (روز قبل از درمان) تا روز ۲۸ تعیین شده و در روزهای ثابتی مثل روز ۴ (۲۴ ساعت پس از آخرین دوز درمانی)، روز ۷ سه روز پس از قطع درمان با هم مقایسه گردیدند.

باتوجه به نمودار شماره (۱) مشاهده می شود در گروهی که کلروکین به عنوان درمان تجویز شده است (گروه ۵) میزان پارازیتی به تدریج کاهش یافته، به گونه ای که در روز ۴ میزان آن به صفر رسیده است و تا روز ۷ همچنان صفر باقی مانده است.

میان پارازیت در گروههای ۶ و ۷ تفاوت معنی آرونماری (بدون درمان) در روز ۲ به ترتیب ۵/۱۳ و ۱۷/۳٪ بوده است که تفاوت معنی داری با گروه ۵ دارند ($p < 0/05$).

میزان افزایش پارازیتی برای گروه ۶ و ۷ در روز ۴ نسبت به روز قبل از درمان به ترتیب ۱۱٪ و ۱۳/۷٪ بوده است و میزان افزایش پارازیتی در روز ۷ نسبت به روز قبل از درمان ۱۶/۵٪ و ۲۰/۸٪ بود است.

میزان پارازیتی در گروه یک (موشهایی که با دوز ۱۰۰ mg/kg عصاره اسپند درمان شده اند) در روز ۴ نسبت به روز قبل از درمان ۱/۶٪ و در روز ۷ نسبت به روز قبل از درمان ۳/۹٪ بود است.

میان پارازیت در گروه دو که با غلظت ۳۰۰ mg/kg عصاره اسپند درمان شده اند در روز ۴ و ۱۰٪ بود است. میزان افزایش پارازیتی این گروه در روز ۴ نسبت به روز قبل از درمان ۲/۸٪ و در روز ۷ نسبت به روز قبل از درمان ۷/۴٪ بوده است.

متوسط پارازیتی در گروه سه که با غلظت ۱۰۰ mg/kg عصاره اسپند درمان شده اند در روز ۴ و

بهتری در کاهش میزان پارازیتی و افزایش عمر موشها بدست آورد.

تشکر و قدردانی:

نویسندگان این مقاله وظیفه خود می دانند از مسئولین محترم دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی که هزینه انجام این پروژه را متقبل شده اند، از همکاران محترم گروه انگل شناسی و قارچ شناسی و کارکنان محترم واحد پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی که در انجام این مطالعه همکاری داشته اند قدردانی نمایند. همچنین سپاسگزاری خود را از خانم اشرف

عصاره بر روی موشها می باشد. گرچه تاثیر غلظت mg/kg ۲۰ بر روی انگل تا روز هفتم قابل ملاحظه بود ولی به علت افزایش میزان پارازیتی در روزهای بعد باعث کاهش متوسط عمر در مقایسه با غلظت mg/kg ۱۰۰ گردید. پیگیری وضعیت پارازیتی در موشهای گروه ۳ که متوسط عمر آنها ۲۴/۱ روز بوده است. نشان می دهد میزان پارازیتی با روند کندی روبه افزایش بوده است که شاید بتوان آن را به طولانی بودن نیمه عمر دارو در بدن موش نسبت داد.

استفاده از اسپند مستلزم رعایت احتیاط همه جانبه می باشد. مطالعات انجام شده نشان می دهد بعضی از آلکالوئیدهای موجود در دانه اسپند به خصوص هارمالین اگر در دوز زیاد مصرف شوند سبب بروز مسمومیتی مانند نوع سرگیجه، تریس، و سس در یک عضلانی شده و به دل اثر این مواد روی سیستم اعصاب مرکزی (CNS)، سبب عدم هماهنگی اعصاب محرکه و حالت رعسه می شود و با مقادیر زیادتر، دستگاه عصبی حرکتی فلج می گردد.

بررسی انجام شده روی عصاره مذکور در ایران نیز سمیت عصاره را در مقادیر بالا از میزان کار شد در این مطالعه تأیید می کند. (مهدوی و سعوی، ۱۳۰۱)

بدیهی است پیشنهاد می شود بررسی سمیت عصاره مذکور به صورت مستقیم و غیر مبنای تأثیر آلکالوئیدهای مختلف آن بر روی جوندگان مورد بررسی قرار گیرد.

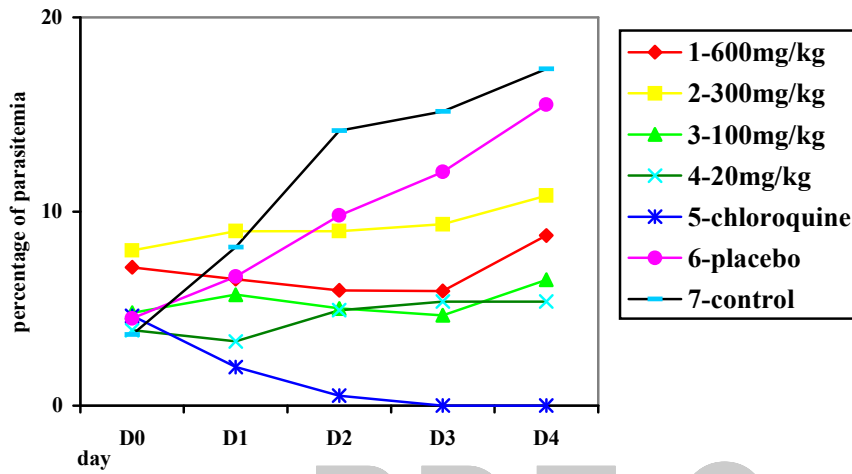
نتیجه گیری:

به طور خلاصه می توان گفت، عصاره الکلی اسپند دارای اثر قابل ملاحظه ای در کاهش میزان پارازیتی انگل پلاسمودیوم برگتی در موشهای تحت مطالعه در مقایسه با گروههای کنترل داشته است که در این میان اثر غلظت mg/kg ۱۰۰ از همه نمایانتر بود است. گرچه خاصیت ضدانگلی عصاره مذکور در مقایسه با داروی کلروکین بر روی انگلهای یاد شده کمتر بوده است اما اگر بتوان ماده موثره اسپند را تخلیص کرد و به کار برد شاید بتوان نتایج

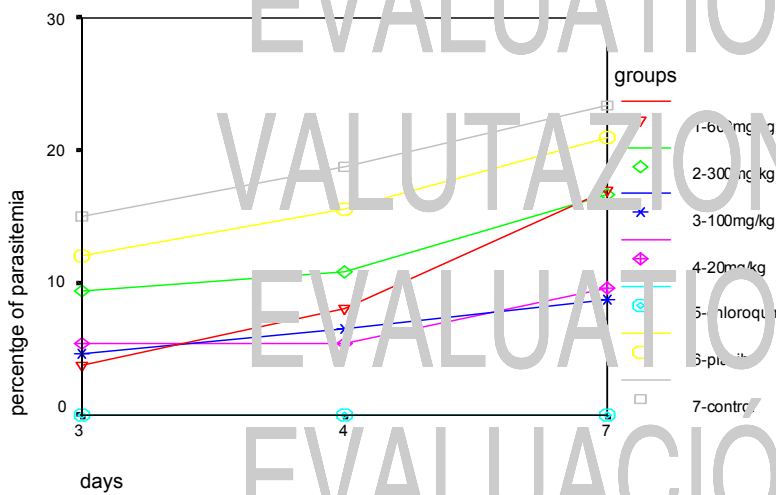
Jaws PDF Creator
EVALUATION
EVALUATION
EVALUATION
EVALUATION

Jaws PDF Creator

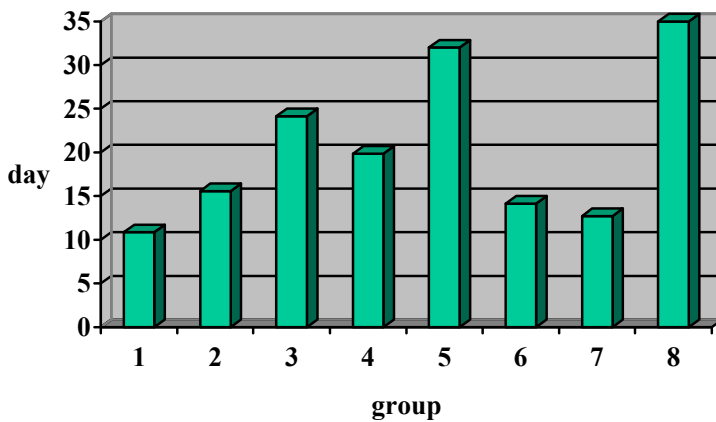
EVALUATION
VALUTAZIONE
EVALUATION
EVALUACIÓN
EVALUATION



نمودار ۱- مقایسه میزان پارازیتیمی پلاسمودیوم برگنس (*P. berghei*) در موشهای درمان شده با کلروکین، عصاره اسپند و گروههای کنترل در روزهای یک تا چهار



نمودار ۲- مقایسه میزان پارازیتیمی در موشهای درمان شده با کلروکین، عصاره اسپند و کنترل در روزهای سه، چهار و هفت



1. 00 mg/kg
 2. 100 mg/kg
 3. 100 mg/kg
 4. 00 mg/kg
 5. Chloroquine
 6. Placebo
 7. Control
 8. Non-infected

نمودار ۳- مقایسه متوسط عمر موشها در گروههای درمانی و کنترل

منابع:

- Peters W. (1965) Drug Resistance in *Plasmodium berghei* vincke and Lips, 1948. I. Chloroquine Resistance. *Exp. Parasitol.* **17**:80 – 89.
- Rashan L.J. (1989) In vitro antimalarial activity of the aqueous extracts from the seeds of *Pharmlala*. *Fitoterapia*, **64**: 365- 367.
- Ryley J.F. and Peters W. (1970) The antimalarial activity of some quinolon esteras. *Ann J. Trop. Med. Parasit.* **84**(2): 209.
- Sathiyamoorthy P., Sathiyamoorthy P., Lugasi Evig H., Schlesinger P., Kedar L., Gopal S., Pollack Y. and Golan – Goldhirsh A. (1999) Screening for cytotoxic and antimalarial activities in desert plants of the Negev and Bedouin market plant products. *Pharmacological Biology*. **37**(3): 188 – 195.
- WHO (2001). The use of antimalarial drugs, Report of a WHO Informal consultation, 13-17 November, *WHO/CDS/RBM*. **33**. 8-16.
- مهدوی، مینا. مسعود، جعفر (۱۳۸۱). بررسی اثرات اسکولسینوسید عصاره های آبی، - الکیلی و آلکالوئیدهای تام دانه اسپند (*Peganum harmala L.*) بر روی *Plasmodium berghei* کیست هیداتید، مجله دانشکده پرستاری، دانشگاه علوم پزشکی تهران، سال ۶۰، شماره ۳، ۲۲۶-۲۱۵.
- Clark C. and Key S.W. (1996) Who releases revised facts on Malaria. *Malaria weekly Report*, **15**: 7-9.
- Harrison T.P. (1993) Harrison's Infectious Disease viral and parasitic Infectious, **14th Edi.** 218 – 232.
- Lang J.F. (1994) In vitro cidal effect of 10 Chinses traditional herbs against *Echinococcus granulosus* Protoscolices. *Endemic Disease – Bulltetin.* **9**:22-24.
- Klayman D.J., Lin A.J., Acton N., Scovill J.P., Hoch J.M., Mihos W.K. and Theorides A.D. (1984) Isolation of artemisinin (qinghaosu) from *Artemisia annua* growing in the united states. *J. Nat. Prod.* **47**:715 – 17.

**EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF ETHANOLIC
EXTRACT
OF *PEGANUM HARMALA L.* AGAINST *PLASMODIUM
BERGHEI* IN COMPARISON WITH CHLOROQUINE IN
SOURIAN
MICE USING INVIVO TESTS**

**Motevalli haghgi A.,*² MSPH; Nateghpour M.,¹ Ph.D.; Edirssian Gh.H.,¹ Ph.D;
Sori E.,¹ Ph.D.; Satvat M.T.,¹ BSc.**

Owing to importance of employing native and traditional medicinal plants with good efficacy against malaria parasites, an ethanolic extract of *Peganum harmala L.* was tested on *Plasmodium berghei* in sourian mice and a comparison was made with the effect of chloroquine on the same parasite.

In this study 56 sourian mice were divided into 8 groups, each consisting of seven animals. The first 7 groups were infected with *P. berghei* and the last group was used as control. The first seven groups were given chloroquine, *Peganum harmala* at four different concentrations (20, 100, 200, 600 mg/kg) and placebo, respectively and the seventh group did not receive any treatment. The evaluation was done by Rine test. In each group the level of parasitaemia was determined on days 4 & 7 and compared with values from Day 0 (just before treatment) in order to record the decline in parasitaemia in treated groups. Results were analysed using SPSS software and one-way analysis of variance (ANOVA).

The results indicated that, although all the four concentrations of the *Peganum harmala* extract significantly reduced parasitaemia in the infected subjects, the 100 mg/kg solution showed optimal effectiveness on the parasite in comparison with other concentrations and the no-treatment option.

We conclude that although the ethanolic extract of *peganum harmala* is not as effective as chloroquine in reducing parasitaemia, it can nonetheless cause a significant decrease when compared to control and placebo groups.

Key word: *Plasmodium berghei*, *Peganum harmala L.*, treatment.

*. Author to whom all correspondence should be addressed.

1. Department of Parasitology, School of PublicHealthInstitute of PublicHealth, Tehran University of Medical Sciences.

بهار ۱۳۸۲، سال دوم، شماره اول