Original Article

Effect of artemether on the recovery of lesions caused by *Leishmania major*

Ebrahimi-Sadr P[1], Ghaffarifar F[1*], Hassan-Saraf ZM[2], Beheshti N[1]

1- Department of Parasitology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, I. R. Iran.
2- Department of Immunology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, I. R. Iran.

Received September 5, 2011; Accepted June 13, 2012

Abstract:

Background: Leishmaniasis is an important health problem in Iran. Considering the importance of the disease and its resistance to the chemical drugs, this study aimed to examine the effect of artemether on the recovery of lesions caused by *Leishmania major*.
Materials and Methods: This experimental study was performed on 25 Balb/c mice in 5 groups: two groups were treated with artemether (ointment and injection), one group with glucantime and the two control groups. The mice infected with *Leishmania major* (MRHO/IR/75/ER) were treated for two weeks. Finally, the lesion diameter was evaluated.
Results: Mean diameter of lesion in the infected group treated with ointment of artemether decreased from 1.294 to 0.214 cm; five days after the start of treatment until the end of treatment, a significant difference was seen in the mean diameter of lesions between the infected group treated with artemether and the untreated group ($P<0.05$). Mean diameter of lesion in the infected group treated with artemether injection decreased from 0.913 to 0.256 cm; four days after the start of treatment until the end of treatment, a significant difference was seen in the mean diameter of lesions between the infected group treated with artemether and untreated group ($P<0.05$). Moreover, five days after the start of treatment until the end of treatment, a significant difference was seen in the mean diameter of lesions between the group treated with glucantime and untreated group ($P<0.05$).
Conclusion: Administration of artemether ointment, as a painless and easy method, is effective in the treatment of cutaneous leishmaniasis.

Keywords: *Leishmania major*, Artemether, Ointment, Injection, Balb/c

* **Corresponding Author.**
Email: ghafarif@modares.ac.ir
Tel: 0098 21 828 84553
Fax: 0098 21 828 84555

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences January, 2013; Vol. 16, No 6, Pages 529-535

Please cite this article as: Ebrahimi-Sadr P, Ghaffarifar F, Hassan-Saraf ZM, Beheshti N. Effect of artemether on the recovery of lesions caused by *Leishmania major*. ***Feyz*** 2013; 16(6): 529-35.

ارزیابی اثر داروی آرتمتر بر بهبودی زخم ایجاد شده بر اثر لیشمانیا ماژور

پریسا ابراهیمی صدر [۱]، فاطمه غفاری‌فر [۲*]، زهیر محمد حسن صراف [۳]، نسیبه بهشتی [۱]

خلاصه:

سابقه و هدف: لیشمانیوز جلدی یکی از معضلات مهم بهداشتی در ایران می‌باشد. با توجه به اهمیت بیماری و مقاومت داروهای شیمیایی در درمان آن، این مطالعه به‌منظور تاثیر داروی گیاهی آرتمتر بر زخم ناشی از لیشمانیا ماژور صورت گرفت.

مواد و روش‌ها: این مطالعه تجربی بر روی ۲۵ موش Balb/c در ۵ گروه شامل گروه‌های درمان با آرتمتر (دو گروه پماد و تزریقی)، گروه تحت درمان با گلوگانتیم و دو گروه کنترل صورت پذیرفت. موش‌هایی که با لیشمانیا ماژور سویه استاندارد (MRHO/IR/75/ER) آلوده شده بودند، دو هفته تحت درمان قرار گرفته و در پایان قطر زخم آنها بررسی شد.

نتایج: در گروه موش‌های آلوده تحت درمان با داروی آرتمتر به فرم پماد، میانگین قطر زخم از۱/۲۹٤ سانتی‌متر به ۰/۲۱٤ سانتی‌متر کاهش پیدا کرد و با گروه آلوده بدون درمان از روز پنجم تا انتهای درمان دارای اختلاف معنی‌دار بود ($P<0/05$). در گروه آلوده تحت درمان با داروی آرتمتر به فرم تزریقی میانگین قطر زخم از ۰/۹۱۳ سانتی‌متر به ۰/۲٥٦ سانتی‌متر کاهش پیدا کرد که از روز چهارم تا انتهای درمان، با گروه آلوده بدون درمان دارای اختلاف معنی‌دار بود ($P<0/05$). هم‌چنین، مقایسه قطر زخم‌ها نشان داد که از روز پنجم تا انتهای درمان گروه آلوده تحت درمان با گلوکانتیم با گروه آلوده بدون درمان دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشد ($P<0/05$).

نتیجه‌گیری: استفاده از داروی آرتمتر به روش پماد در کاهش قطر زخم ناشی از لیشمانیا ماژور موثر بوده و با توجه به تجویز آسان و عدم احساس درد به هنگام تجویز آن توصیه می‌شود.

واژگان کلیدی: لیشمانیا ماژور، داروی آرتمتر، پماد، تزریقی، موش Balb/c

دو ماه‌نامه علمی– پژوهشی فیض، دوره شانزدهم، شماره ٦، بهمن و اسفند ۱۳۹۱، صفحات ٥۳٥-٥۲۹

مقدمه

لیشمانیوز جلدی نوع روستایی (حاد-مرطوب) توسط لیشمانیا ماژور ایجاد می‌شود. و در این فرم ضایعات اغلب دارای ترشحات سروزی است. در مدت ۸-۲ ماه بهبود می‌یابد و ضایعات متعدد فراوان‌تر است و به‌ویژه در مهاجران غیر مصون به‌هم می‌پیوندد و آلودگی ثانویه با باکتری را می‌دهند. بهبود این ضایعات اغلب کند است و ممکن است جای زخم‌های بزرگ (اسکار) پس از التیام زخم بر جای بماند. دوره کمون این بیماری اغلب از چهار ماه کمتر است و عفونت با لیشمانیا ماژور اغلب بدون علامت است؛ به‌طوری که در مناطق آندمیک درصد زیادی از ساکنین بدون داشتن سابقه‌ای از لیشمانیوز یا وجود اسکار، دارای تست پوستی مثبت هستند [۱].

لیشمانیوز جلدی یکی از ده بیماری انگلی مهم مناطق گرمسیری دنیا است که سازمان بهداشت جهانی انجام تحقیقات درباره جنبه‌های مختلف آن را توصیه کرده و مورد حمایت قرار داده است. شیوع موارد جدید این انگل در جهان ۱/٥ میلیون نفر در سال و در ایران ۲۰ هزار مورد می‌باشد [۳-۱]. لیشمانیوز جلدی شایع در ایران معمولا موجب مرگ نمی‌شود، ولی آسیب‌های روحی، اجتماعی، و اقتصادی را به دلایل مختلف از جمله مزمن بودن دوره زخم، منظره جوشگاه ناپسند پوستی، طولانی بودن دوره درمان و عوارض ناشی از درمان سبب می‌شود که می‌توان آن را از جمله معضلات مهم مناطق اندمیک از جمله ایران به‌حساب آورد [٤]. از انواع درمان این بیماری می‌توان به درمان موضعی، درمان سیستمی، و درمان فیزیکی اشاره کرد. از دسته درمان‌های سیستمی، درمان توسط آنتی‌موآن ٥ ظرفیتی را می‌توان نام برد که به‌عنوان اولین خط دارویی در درمان لیشمانیوز مطرح هستند و شامل گلوکانتیم و پنتوستام می‌شوند. حسن این داروها این است که با افزایش دوز دارو می‌توان بر سندروم‌های با التیام پایین غلبه کرد. [٦،٥]. پاسخ بالینی به آنتی‌موآن‌ها بسیار سریع است، ولی کل شاخص‌های بالینی تا ماه‌ها پس از درمان غیرطبیعی می‌مانند [۷،٦]. دردهای عضلانی، مفصلی، شکمی، سردرد و افزایش AST با سه برابر مقدار طبیعی، التهاب پانکراس، کاهش تعداد پلاکت‌ها،

[۱] کارشناسی ارشد، گروه انگل شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

[۲] دانشیار، گروه انگل شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

[۳] استاد، گروه ایمنی شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

***نشانی نویسنده مسئول:**

گروه انگل شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

تلفن: ۸۲۸۸۴٥٥۳ ۰۲۱ **دورنویس:** ۸۲۸۸۴٥٥٥ ۰۲۱

پست الکترونیک: ghafarif@modares.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۰/٦/۱۴ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۹۱/۳/۲۴

گلبول‌های سفید و قرمز، نوروپاتی و کاردیوتوکسیسیتی از عوارض جانبی آنتی‌موآن‌ها محسوب شده و برای جلوگیری و کاهش سمیت آن‌ها را داخل کپسول‌های لیپوزومی عرضه می‌کنند. از دیگر معایب آن‌ها مقاومت به درمان است که علت آن غیر کافی بودن دوز مصرفی و متفاوت بودن دوز آنتی‌موآن است. جهت رفع مقاومت به آنتی‌موآن باید همراه آن‌ها اینترفرون گاما تجویز شود. بهترین اثر درمانی زمانی است که سیستم ایمنی سالم و بدون نقص باشد [۹،۸]. از دیگر داروها آمفوتریسین B را می‌توان نام برد که دارای آثار جانبی همچون تب، لرز، درد استخوان، به‌ندرت ایست قلبی و مسمومیت کلیوی است [۱۰]. پنامیدین و دی‌آمیدین‌ها را نیز می‌توان به‌عنوان درمان این بیماری در نظر گرفت؛ آن‌ها هم ثبات شیمیایی بالاتر دارند و هم راحت تجویز می‌شوند و البته سمیت کمتری هم دارند. این داروها باعث مهار سنتز DNA شده، هم‌چنین در میان عوارض جانبی آن درد عضلانی، استفراغ، سردرد، تاکی کاردی، بثورات پوستی، هیپوگلیسمی، کاهش فشار، آنمی و مرگ ناگهانی نیز دیده شده است [۱۱]. از دیگر داروها می‌توان پارامومایسین و آلوپورینول، از مشتقات ایمیدازول را نام برد که هر کدام دارای آثار جانبی مانند آنمی، مسمومیت کلیه و اختلالات هورمونی هستند [٤]. در استفاده از این روش‌های درمانی مشکلاتی از قبیل عود بیماری، مقاومت به داروها، عوارض جانبی داروها، ایجاد عفونت ثانویهٔ باکتریایی و هزینه بالا وجود دارد. شناخت خواص شفا بخش در گیاه و سمیت کمتر آن‌ها، استفاده از گیاهان را در درمان بیماری‌ها مرسوم کرده است. لذا، گروهی از محققین از گیاهان دارویی جهت درمان لیشمانیوز استفاده کرده‌اند که شامل Peschiera australis, Peschiera Vanherokii, Altharea rosa, Altharea officinalis, Leguminosa falia caea, Malva caea, Lythracaea, Nigella sativa, Alkanna tinctoria, Pegamum harmala, Euphorbia mysinites می‌باشدو جالب اینکه استفاده از گیاهان دارویی مذکور دارای نتایج مثبت بوده است [۱۳-۹]. آرتمیزینین و مشتقات آن دسته جدید و مهمی از داروهای ضد مالاریا می‌باشند که استفاده از آنها به‌تدریج در سراسر جهان متداول می‌شود. مهمترین مشتقات آرتمیزینین شامل آرتزونات، آرتمتر (Artemether)، آرتیتر و دهیدروآرتمیزینین می‌باشد. هم‌چنین، مشتقات نیمه سنتزی و سنتزی آن در حال پیشرفت می‌باشد. مشتقات آرتمیزینین به سرعت عمل می‌کنند و به سرعت هم حذف می‌شوند. یورش سریع این داروها باعث شده که آنها به‌طور خاص علیه مالاریا حاد موثر باشند [١٤]. در تحقیق حاضر از آرتمتر که یکی از مشتقات نیمه سنتتیک آرتمیزینین (آرتمیزینین خود از برگ‌های گیاه آرتمیزیا استخراج شده است) می‌باشد، استفاده شده است. آرتمتر دارای فرمول ساختاری C16H26O5 و وزن مولکولی ۲۹۸/٤ گرم می‌باشد [۱۵].

آرتمتر و دیگر مشتقات آرتمیزینین داروهای نسبتا بی‌خطری هستند که واکنش‌های جانبی و اثرات ناخواسته مشهودی ندارند [١٦]. تاکنون تحقیقی در مورد اثرات بر روی انگل لیشمانیا صورت نگرفته است. با توجه به اهمیت موضوع به‌خصوص ایجاد مقاومت بیماران به داروهای قبلی، یافتن داروی موثر با اثرات سوء کمتر برای درمان لیشمانیا ماژور لازم می‌باشد. هدف از این تحقیق، بررسی اثر داروی آرتمتر بر بهبود و جلوگیری از گسترش زخم ایجاد شده بر اثر لیشمانیوز ماژور در موش‌های Balb/c می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی بوده و در سال ۱۳۸۹ در دانشگاه تربیت مدرس انجام شده است.

کشت انگل

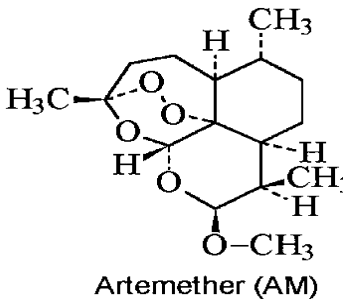
برای کشت انگل از سویه استاندارد MRHO/IR/75) (ER/ لیشمانیا استفاده شد. ابتدا غدد لنفاوی، طحال و کبد موش‌های آلوده به لیشمانیا جدا شده و به‌طور جداگانه در لوله‌های حاوی محیط کشت دو فازی (NNN تغییر یافته) کشت داده شد. برای ممانعت از رشد باکتری‌ها از پنی‌سیلین (۱۰۰IU/ml) و استرپتومایسین (۱۰ µg/ml) استفاده شد. سپس لوله‌های کشت به انکوباتور ۲۵ درجه سانتی‌گراد انتقال داده شدند. پس از ٤٨ ساعت انگل از ماکروفاژ خارج شده، در محیط مایع قرار گرفت. با مشاهده فرم پروماستیگوت انگل در فاز لگاریتمی، برای این‌که انگل قدرت آلوده کنندگی در موش را داشته باشد پروماستیگوت‌ها به محیط RPMI 1640 انتقال داده شده تا این‌که انگل وارد فاز ایستا و آلوده کننده شود.

روش آلوده‌سازی موش‌ها با انگل لیشمانیا ماژور

موش‌های Balb/c سن ٦-٨ هفتگی از مؤسسه رازی کرج خریداری شده و تحت شرایط استاندارد از لحاظ آب و غذا در حیوان خانه نگهداری شدند. سپس ۲×۱۰^{٦} پروماستیگوت در فاز ایستا (Staitionary) در حجم ۰/۱ میلی‌لیتر محیط کشت RPMI 1640 به قاعده دم موش‌های بالب سی به‌صورت داخل جلدی تزریق شد. پس از ۳ تا ۵ هفته زخم در محل تزریق انگل مشاهده شد.

طبقه‌بندی موش‌ها

در این مطالعه از دو روش پماد و تزریق استفاده شد که گروه پماد شامل دو گروه شاهد آلوده بدون درمان و گروه آلوده تحت درمان با آرتمتر (شکل شماره ۱) و گروه تزریق شامل سه گروه شاهد آلوده بدون درمان، گروه آلوده تحت درمان با آرتمتر و گروه آلوده تحت درمان با گلوکانتیم می‌باشد. در هر دو روش درمان (پماد وتزریق) و در هر گروه به‌طور جداگانه از ۵ راس موش Balb/c استفاده شد. در روش پماد به گروه شاهد آلوده بدون درمان فقط کرم به‌عنوان پایه دارو به میزان ۰/۱ ml روزانه به مدت ۱٤ روز در محل زخم مالیده شد. در روش تزریق به گروه شاهد آلوده بدون درمان فقط حلال آرتمتر (۰/۵ ml آب مقطر استریل+۰/۵ ml الکل) به‌عنوان حامل دارو به میزان ۰/۱ ml روزانه به‌مدت ۱٤ روز در محل زخم تزریق گردید.



Artemether (AM)

شکل شماره ۱- ساختار شیمیایی آرتمتر

آماده سازی پماد

با استفاده از تست‌های برون‌تنی (MTT و شمارش پروماستیگوت-ها)، IC50 داروی آرتمتر ۲۵ µg/ml به‌دست آمد. میزان ۲۵۰ میکروگرم از آرتمتر را در داخل ۱ میلی‌لیتر کِرِم ضد آفتاب معمولی مخلوط کرده و روزانه به‌مدت ۱٤ روز میزان ۰/۱ میلی‌لیتر از این پماد را بر روی زخم موش‌ها مالیده و سپس میانگین دو قطر زخم به‌صورت روزانه با خط کش کولیس اندازه‌گیری شد.

آماده سازی محلول تزریقی

میزان ۲۵۰ میکروگرم از آرتمتر را در داخل ۱ میلی لیتر حلال آرتمتر (۰/۵ml آب مقطر استریل+۰/۵ ml الکل) حل کرده و میزان ۰/۱ ml از این محلول روزانه به‌مدت ۱٤ روز به موش‌ها تزریق گردید. ۰/۱ ml از داروی گلوکانتیم با غلظت ۵ mg/ml نیز به‌عنوان کنترل به‌صورت روزانه به گروه دیگر موش‌ها تزریق گردید. اندازه زخم به‌صورت روزانه با خط کولیس اندازه گیری شد.

آنالیز آماری

برای مقایسه میانگین قطر زخم‌ها، از آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه (Anova-oneway) با سطح اطمینان $P<۰/۰۵$ و در صورت نرمال نبودن داده‌ها من‌ویتنی و نرم افزار SPSS ویرایش ۱٦ استفاده شد.

نتایج

نتایج حاصل از گروه‌های مورد مطالعه

همان‌طور که در جداول شماره ۱ و ۲ نشان داده شده است، در گروه‌های شاهد آلوده بدون درمان تا پایان کار پس از شروع آلودگی همه موش‌ها به‌تدریج مردند. در این گروه میانگین قطر زخم پیوسته در حال افزایش بود؛ به‌طوری که در برخی از موش‌ها متاستاز مشاهده شد. شکل شماره ۲ موش بدون درمان را نشان می‌دهد.

الف- گروه آلوده تحت درمان با آرتمتر به فرم پماد

تغییرات قطر زخم در گروه آلوده بدون درمان در مقایسه با گروه آلوده تحت درمان با آرتمتر از روز پنجم تا انتهای درمان دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P<۰/۰۵$). در ضمن حداقل P ($P=۰/۰۱۲$) و حداکثر P ($P=۰/۰٤۵$) می‌باشد. میانگین قطر زخم در موش‌های Balb/c تحت درمان با آرتمتر به اندازه ۱/۰۸ سانتی‌متر کاهش یافت (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱- مقایسه میانگین تغییرات قطر زخم (سانتی‌متر) ناشی از آلودگی به لیشمانیا ماژور در موش‌های بالب سی در گروه شاهد آلوده بدون درمان، و گروه آلوده تحت درمان با داروی آرتمتر (به فرم پماد). با استفاده از آزمون من‌ویتنی تفاوت بین دو گروه از روز پنجم معنی‌دار می‌باشد ($P<۰/۰۵$).

روز	تغییرات قطر زخم (سانتی‌متر) در گروه‌های	
	شاهد آلوده بدون درمان	تحت درمان با آرتمتر
	$\overline{X}\pm SD$	$\overline{X}\pm SD$
۰	۱/۰۸±۰/٤۵۰	۱/۲۹٤±۰/۱۹۳
۱	۱/۰۸±۰/٤۵۰	۱/۲۹٤±۰/۱۹۳
۲	۱/۰۸±۰/٤۵۰	۱/۱۲±۰/۱۲٦
۳	۱/۰۹٦±۰/٤٦۹	۱/۰٤٦±۰/۱۵۰
٤	۱/۱۲٦±۰/۵٦۸	۱/۰۱۲±۰/۱۱۵
۵	۱/۱۵۲±۰/٦۵٦	۰/۹۱٤±۰/۱۵۰
٦	۱/۱۸۲±۰/٦۷۲	۰/۸٦٦±۰/۱۲۹
۷	۱/۲۲۲±۰/٦۹۱	۰/۸۱۲±۰/۱۲۳
۸	۱/۲۳۲±۰/۷۰۲	۰/۷۰۲±۰/۱۲۸
۹	۱/۲۸۵±۰/۷۱۱	۰/٦۸٤±۰/۱۱۱
۱۰	۱/۳۰۸±۰/۷۲۳	۰/۵۱۱±۰/۰۹٦
۱۱	۱/۳۸۹±۰/۷۳٦	۰/٤۷۲±۰/۰۸٦
۱۲	۱/٤۰۵±۰/۷٤۱	۰/۳۰٦±۰/۰٦۸
۱۳	۱/٤۰٦±۰/۷٤۳	۰/۲٦٤±۰/۰۵۲
۱٤	۱/٤۷۸±۰/۷۵۹	۰/۲۱٤±۰/۰۳٦

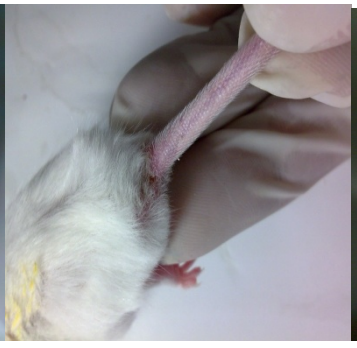
ب- گروه‌های آلوده تحت درمان به فرم تزریق (آرتمتر و گلوکانتیم)

با توجه به جدول شماره ۲ می‌توان دریافت که تغییرات قطر زخم در هر سه گروه در روزهای اول و دوم درمان هیچ‌کدام معنی‌دار نمی‌باشد؛ در حالی‌که در گروه آلوده تحت درمان با آرتمتر از روز چهارم تا انتهای درمان، با گروه آلوده بدون درمان دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشد ($P<۰/۰۵$) در ضمن حداقل P ($P=۰/۰۲۶$) و حداکثر P ($P=۰/۰۴۸$) می‌باشد. از روز پنجم تا انتهای درمان گروه آلوده تحت درمان با گلوکانتیم با گروه آلوده بدون درمان دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشد ($P<۰/۰۵$) در ضمن حداقل P ($P=۰/۰۳۵$) و حداکثر P ($P=۰/۰۴۷$) می‌باشد. میانگین قطر زخم در موش‌های درمان شده با آرتمتر ۰/٦٥٦ سانتی‌متر و میانگین قطر زخم در موش‌های تحت درمان با گلوکانتیم به اندازه ۰/٥٩٤ سانتی‌متر کاهش یافت (شکل شماره ۳ موش آلوده تحت درمان با آرتمتر به فرم تزریق و شکل شماره ٤ موش آلوده تحت درمان با آرتمتر را به فرم پماد را نشان می‌دهد).

جدول شماره ۲- مقایسه میانگین تغییرات قطر زخم (سانتی‌متر) ناشی از آلودگی به لیشمانیا ماژور در موش های بالب سی در گروه شاهد آلوده بدون درمان، گروه آلوده تحت درمان با گلوکانتیم، و گروه آلوده تحت درمان با داروی آرتمتر (به فرم تزریق). با استفاده از آزمون من‌ویتنی تفاوت بین گروه آلوده تحت درمان با آرتمتر با گروه شاهد از روز چهارم و برای گروه تحت درمان با گلوگانتیم از روز پنجم معنی‌دار است ($P<۰/۰۵$).

روز	تغییرات قطر زخم (سانتی‌متر) در گروه‌های		
	شاهد آلوده بدون درمان	تحت درمان با گلوکانتیم	تحت درمان با آرتمتر
	$\overline{X}\pm SD$	$\overline{X}\pm SD$	$\overline{X}\pm SD$
۰	۱/۰۲٥±۰/۲۰۰	۰/۹۹٦±۰/۱۲۷	۰/۹۱۳±۰/۲۷۸
۱	۱/۰۲٥±۰/۲۰۰	۰/۹۹٦±۰/۱۲۷	۰/۹۱۳±۰/۲۷۸
۲	۱/۰۳۲±۰/۲۰٤	۰/۹۷٦±۰/۲٥۱	۰/۹۲۲±۰/۲٦۹
۳	۱/۰۳۸±۰/۲۱۷	۰/۸۱٤±۰/۲۰۹	۰/٦۷۲±۰/۲۷۸
٤	۱/۱٤۰±۰/۲۲۷	۰/۷۷۸±۰/۱۸۹	۰/٦٥٦±۰/۲٦٥
٥	۱/۲۰۲±۰/۲۲۹	۰/۷٦۸±۰/۱۸۲	۰/٥۸۰±۰/۲٥۰
٦	۱/۲۳۲±۰/۲۳٤	۰/۷۰۲±۰/۲٤۷	۰/٥٤۲±۰/۲۲۳
۷	۱/۲۸٦±۰/۲۸٦	۰/۷۰۲±۰/۲٤۷	۰/٤۹۰±۰/۱۹۸
۸	۱/۳٤۲±۰/۲۲۲	۰/٦٥۷±۰/۲۲۳	۰/٤٥۷±۰/۱۳۸
۹	۱/۳۸٦±۰/۲۲٥	۰/٦۰٥±۰/۳٦۸	۰/٤۰۲±۰/۱۲۸
۱۰	۱/٤۰۲±۰/۱۳۲	۰/٥۸۹±۰/۳۷٤	۰/۳۸۳±۰/۱۱۹
۱۱	۱/٤۸۹±۰/۲۸۹	۰/٥٤۲±۰/۲٤٥	۰/۳٥۷±۰/۱۰٥
۱۲	۱/٥۱۰±۰/۳۳۰	۰/٥۱۱±۰/۲۱٦	۰/۳۲۲±۰/۰۹۸
۱۳	۱/٥۷۲±۰/۳٤٥	۰/٤۲۳±۰/۲۲۰	۰/۲۹۸±۰/۰۷٦
۱٤	۱/٦۰۲±۰/۳۸٦	۰/٤۰۲±۰/۲٦۹	۰/۲٥٦±۰/۰٦٥

شکل شماره ٤



شکل شماره۲

شکل شماره۳

شکل شماره ۲- موش شاهد آلوده بدون درمان

شکل شماره ۳- موش آلوده تحت درمان با آرتمتر به فرم تزریق

شکل شماره ٤- موش آلوده تحت درمان با داروی آرتمتربه فرم پماد

بحث

مطالعه حاضر نشان داد که میانگین قطر زخم در موش‌های تحت درمان با آرتمتر به فرم پماد از ۱/۲۹٤ سانتی‌متر به ۰/۲۱٤ سانتی‌متر رسید، در حالی‌که در گروه بدون درمان، میانگین قطر زخم از ۱/۰۸ سانتی‌متر به ۱/٤۷۸ سانتی‌متر تغییر پیدا کرد که این تأثیر داروی آرتمتر را بر روی انگل لیشمانیا ماژور نشان می‌دهد. در روش تزریق میانگین قطر زخم در گروه شاهد آلوده بدون درمان از ۱/۰۲۵ سانتی‌متر به ۱/٦۰۲ سانتی‌متر رسید و میانگین قطر زخم در موش‌های تحت درمان با گلوکانتیم که داروی مرسوم مورد استفاده در درمان لیشمانیا ماژور می‌باشد، از ۰/۹۹٦ سانتی‌متر به ۰/٤۰۲ سانتی‌متر رسید و میانگین قطر زخم در موش‌های Balb/c تحت درمان با آرتمتر از ۰/۹۱۳ سانتی‌متر به ۰/۲۵٦ سانتی‌متر تغییر پیدا کرد. با توجه به اینکه در روش تزریق میانگین قطر زخم در حیوانات تحت درمان با آرتمتر ۰/٦۵٦ سانتی‌متر و میانگین قطر زخم در موش‌های درمان شده با گلوکانتیم به اندازه ۰/۵۹٤ سانتی‌متر کاهش یافته است، این نتایج نشان می‌دهد که استفاده از میزان مشابه از داروی آرتمتر و گلوکانتیم و درمان به‌مدت یکسان در هر گروه یعنی به‌مدت ۱٤ روز به‌صورت روزانه در روش تزریق، نشان دهنده بهبودی و اثر بیشتر داروی آرتمتر بر روی زخم موش‌های Balb/c بوده است. تحقیقات گسترده‌ای در خصوص فعالیت آرتمتر بر دیگر گونه‌های مهم انگلی انسانی و حیوانی هم‌چون شیستوزوما [۱۷]، کلونورکیس [۱۸]، فاسیولا [۱۹] انجام شده است و اثرات ضد رشدی آن را مشاهده کرده‌اند. نتایج مؤثر ترکیبات آرتمیزینینی در عفونت‌های ویروسی [۲۲-۲۰]، باکتریایی [۲۳] و قارچی [۲٤] هم ثابت شده است. در مورد شیستوزوما تحقیقات صورت گرفته نشان می‌دهند که آرتمتر می‌تواند از اثر کشندگی شیستوزومیازیس جلوگیری کند [۲۵]. مطالعات نشان می‌دهند که آرتمتر در مورد شیستوزومیازیس بیشتر بر روی مرحله لاروی انگل موثر است. شیستوزوما ژاپونیکوم برای درمان به‌وسیله آرتمتر به‌مدت ۲ هفته، شیستوزوما مانسونی برای درمان به‌وسیله آرتمتر به‌مدت ۳ هفته، شیستوزوما هماتوبیوم برای درمان به‌وسیله آرتمتر به‌مدت ٤ هفته زمان نیاز دارد [۲۷-۲۵]. تحقیقات در زمینه اثرات ضد سرطانی آرتمتر و دیگر آرتمیزینین‌ها امیدوار کننده بوده است [۳۰-۲۸]؛ به‌طوری که سلول‌های سرطانی در مقایسه با سلول‌های سالم میزان بیشتری آهن مصرف می‌کنند و به‌همین دلیل، حساسیت بیشتری نسبت به تولید رادیکال آزاد توسط آرتمیزینین و مشتقات آن از جمله آرتمیتر دارند. تحقیقات مختلف برون‌تنی در مورد تاثیر مشتقات آرتمیزین بر روی انواع رده‌های سلول‌های سرطانی از جمله لوسمی، سرطان کولون، ملانوما، پستان، پروستات، سرطان‌های سیستم مرکزی اعصاب و رده‌های سرطانی انجام شده است [۳۱]. از آنجا که ساختار آرتمتر بسیار به ترکیب مادر خود آرتمیزینین شباهت دارد، مکانیسم عمل مشابهی برای آن در نظر گرفته می‌شود. در این ارتباط دو فرضیه پیشنهاد شده است که پل اندوپراکسید و حضور آهن در هر دو نقش کلیدی دارد؛ فرضیه اول این‌که پیوند اندوپراکسید می‌تواند در حضور آهن دو ظرفیتی شکست کاهشی پیدا کند و رادیکال‌های آزاد با مرکزیت کربن تشکیل شود. فرضیه دوم این‌که ساختار حلقه‌ای آرتمتر می‌تواند با پروتونه شدن (H+) یا تشکیل کمپلکس با یون فلزی آهن باز شود و رادیکال‌های آزاد با مرکزیت اکسیژن تشکیل گردد. رادیکال‌های آزاد کربنی و اکسیژنی ایجاد شده، که از نظر ساختاری باهم متفاوت هستند، در مرحله بعد به‌طور انتخابی پروتئین‌های مختلف سلول را آلکیله و هیدروکسیله می‌کنند و اثرات توکسیک به‌جا می‌گذارند [۳۲].

نتیجه‌گیری

استفاده از داروی آرتمتر یک روش نوین در درمان لیشمانیوز جلدی محسوب می‌گردد. نتایج حاصل در بطن زنده در واقع تأیید عملی نتایج به‌دست آمده در محیط آزمایشگاهی می‌باشد. از آنجا که کاهش قطر زخم در موش‌های Balb/c آلوده تحت درمان با آرتمتر در هر دو روش پماد و تزریق به‌ترتیب ۱/۰۸۰ سانتی‌متر و ۰/٦۵٦ سانتی‌متر بوده است، این نتایج نشان می‌دهد که استفاده از روش پماد هم به‌دلیل کاهش بیشتر قطر زخم، هم بهبودی بیشتر و هم استفاده آسان آن و درد کمتر بهتر از روش تزریق می‌باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس بابت حمایت مالی از این تحقیق و از آقایان دکتر دلیمی و دکتر صدرایی و خانم قاسمی، اعضاء محترم گروه انگل شناسی دانشگاه تربیت مدرس اعلام می‌دارند.

References:

[1] World Health Organization. WHO Tech Rep SerNo. 701. 1984. Expert committee: the leishmaniasis: 2-4.

[2] Leishmaniasis and leishmania/HIV co-infection. In: WHO report on global surveillance of epidemic-prone infectious diseases, WHO/CDS/CSR/ISR/-2000.1: 121–7.

[3] Yaghoobi-Ershadi MR, Zahraei-Ramezani AR, Akhavan AA, Jalali-Zand AR. Rodent control-perations against zoonotic cutaneous leishmaniasis in rural Iran. ***Ann Saudi Med*** 2005; 25 (4): 309-12.
[4] Sundar S, Agrawal NK, Sinha PR, Horwith GS, Murray HW. Short-course, low-dose amphotercin B lipid complex therapy for visceral Leishmaniasis unresponsive to antimony. ***Ann Int Med*** 1977; 127(2): 133-7.
[5] Albrecht F, Simon Li, Oliver K. Natural products as potential antimicrobial parasitic drugs. ***J Parasitol*** 2000; 1-72.
[6] Yordley V, Graft SL. Activity of liposomal AmphotericinB against experimental cutaneous leishmaniasis. ***Antimicrob Agants Chemother*** 1997; 41(4): 752-6.
[7] Cowan MM. Plant Product as antimicrobial agent. ***Clin Microbiol Rev*** 1999; 12(4): 564-82.
[8] Murray HW. clinical andexperimental advances in treatment of visceral leishmaniasis. ***Antimicrob Agents Chemether*** 2001; 45(8): 2185-97.
[9] Murray HW, Hariprashad J, Fichtl RE. Treatment of experimental visceral leishmaniasis in a T-cell-deficient host: response to amphotericin B and pentamidine. ***Antimicrob Agents Chemether*** 1993; 37(7): 154-155.
[10] Berman JD, 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] Kwissa M, Lindblad EB. Codelivery of a DNA vaccine and a protein vaccine with aluminium phosphate stimulates a potent and multivalent immune response. ***J Mol Med (Berl)*** 2003; 81(8): 502-10.
[12] Urvina JA. Lipid biosynthesis pathways as chemotherapeutic targets in kinetoplastid parasites. ***Parasitology*** 1997; 114 Suppl: S91-9.
[13] Munoz V, Moretti C. Isolation of bisindole alkaloids with anti- leishmanial and anti-bacterial activities from Peschiera vanhourkii (syn. Tabernaemontana van heurkii). ***Planta Med*** 1994; 60(5): 455-9.
[14] Meshnick SR. Artemisinin: mechanisms of action, resistance and toxicity. ***Int J Parasitol*** 2002; 32(13): 1655-60.
[15] Van Agtmael MA, Eggelte TA, Van Boxtel CJ. Artemisinin drugs in the treatment of malaria from medicinal herb to registered medication. ***Trends Pharmacol Sci*** 1999; 20(5): 199-205.
[16] Milbradt J, Auerochs S, Korn K, Marschall M. Sensitivity of human herpesvirus 6 and other human herpesviruses to the broad-spectrum antiinfective drug artesunate. ***J Clin Virol*** 2009; 46(1): 24-8.
[17] Xiao SH, Booth M, Tanner M. The prophylactic effects of Artemether against Schistosoma japonicum Infections. ***Parasitol Today*** 2000; 16(3): 122-6.
[18] Keiser J, Vargas M. Effect of artemether, artesunate, OZ78, praziquantel, and tribendimidine alone or in combination chemotherapy on the tegument of Clonorchis sinensis. ***Parasitol Int*** 2010; 59(3): 472-6.
[19] Keiser J, Rinaldi L, Veneziano V, Mezzino L, Tanner M, Utzinger J. Efficacy and safety of artemether against a natural Fasciola hepatica infection in sheep. ***Parasitol Res*** 2008; 103(3): 517-22.
[20] Kaptein SJ, Efferth T, Leis M, Rechter S, Auerochs S, Kalmer M, et al. The anti-malaria drug artesunate inhibits replication of cytomegalovirus in vitro and in vivo. ***Antiviral Res*** 2006; 69(2): 60-9.
[21] Efferth T, Romero MR, Wolf DG, Stamminger T, Marin JJ, Marschall M. The Antiviral Activities of Artemisinin and Artesunate. ***Clin Infect Dis*** 2008; 47(6): 804-11.
[22] Romero MR, Efferth T, Serrano MA, Castaño B, Macias RI, Briz O, et al. Effect of artemi-sinin/artesunate as inhibitors of hepatitis B virus production in an "invitro" replicative system. ***Antiviral Res*** 2005; 68(2): 75-83.
[23] Kumar S, Khanuja S, Kumar T, Jain D, Srivastava S, Bhattacharya A. Method for the use of alpha arteether as an anti-bacterial and anti-fungal agent. ***Counc Sci Ind Res*** 2000; 514-53.
[24] Galal AM, Ross SA, Jacob M, ElSohly MA. Antifungal activity of artemisinin derivatives. ***J Nat Prod*** 2005; 68(8): 1274-6.
[25] Xiao SH, Booth M, Tanner M. The prophylactic effects of artemether against *Schistosoma japonicum* infections Parasitol. ***Int J Parasitol*** 2000; 30(9): 122–6.
[26] Shuhua X, Chollet J, Weiss NA, Bergquist RN, Tanner M. Preventive effect of artemether in experimental animals infected with *Schistosoma mansoni*. ***Parasitol Int*** 2000; 49(1): 19–24.
[27] Xiao S, Utzinger J, Chollet J, Endriss Y, N'Goran EK, Tanner M. Effect of artemether against *Schistosoma haematobium* in experimentally infected hamsters. ***Int J Parasitol*** 2000; 30(9): 1001–6.
[28] Chen H, Sun B, Pan S, Jiang H, Sun X. Dihydroartemisinin inhibits growth of pancreatic cancer cells in vitro and in vivo. ***Anticancer Drugs*** 2009; 20(2): 131-40.
[29] Morrissey C, Gallis B, Solazzi JW, Kim BJ, Gulati R, Vakar-Lopez F, et al. Effect of artemisinin derivatives on apoptosis and cell cycle in prostate cancer cells. ***AntiCancer Drugs*** 2010; 21(4): 423-32.
[30] Chen HH, Zhou HJ, Fang X. Inhibition of human cancer cell line growth and humanu mbilical vein endothelial cell angiogenesis by artemisinin derivatives in vitro. ***Pharmacol Res*** 2003; 48(3): 231–6.
[31] Lai H, Singh NP. Selective Cancer Cell Cytoxicity from Exposure in Dihydroartemisinin and Holotransferrin. ***Cancer Lett*** 1995; 91(1): 41-6.
[32] Golenser J, Waknine J, Krugliak M, Hunt N, Grau G. Current perspectives on the mechanism of action of artemisinins. ***Int J Parasitol*** 2006; 36(14): 1427-41.