



اثرات ضد لیشمانیائی بنه کوهی گونه کردی بر لیشمانیا ماژور به روش درون تنی

امیر حبیبی^۱، غزاله ادهمی^{۲*}، عبدالحسین دلیمی اصل^۳، سوگل عاطفی^۴

۱- دانش آموخته دکترای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران.

۲- استادیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران.

۳- استاد، گروه انگل شناسی و حشره شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

۴- دانشجوی دکترای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران.

دریافت مقاله: ۰۶ تیر ۱۴۰۲، بازنگری: ۰۶ آذر ۱۴۰۲، پذیرش نهایی: ۱۶ آذر ۱۴۰۲



10.22034/nfvm.2024.403094.1193



20.1001.1.26454491.1402.6.2.3.1

چکیده

لیشمانیا یک تک یاخته زئونوز است که باعث ایجاد مشکلاتی در بهداشت عمومی می شود. استفاده از ترکیبات پنج ظرفیتی آنتیموان به عنوان داروهای شیمیایی در درمان لیشمانیوز جلدی با محدودیت ها و عوارض مختلفی همراه است. امروزه عصاره های گیاهی و مشتقات آن منابع امیدوارکننده ای در طب گیاهی هستند. هدف از این مطالعه بررسی اثربخشی عصاره شیره درخت بنه (*Pistacia atlantica*) در استان کردستان بر روی پروماستیگوت های سویه استاندارد لیشمانیا ماژور در شرایط آزمایشگاهی و درون سلول های جانوری بود. در این مطالعه غلظت های ۵، ۲۵ و ۵۰ درصد عصاره شیره بنه به زخم های حاصل از پروماستیگوت های تلقیح شده ماژور اضافه شد. اثربخشی درمان با غلظت های مختلف عصاره بنه که بر روی زخم های القایی به قاعده دم موش های Balb/c با پروماستیگوت های لیشمانیا ماژور کشت شده بود از نظر پیشرفت یا بهبود بیماری و بار انگلی کنترل شدند. طبق نتایج غلظت ۵۰ درصد عصاره بنه بیشترین اثر را در کاهش قطر زخم لیشمانیایی نشان داد. نتایج همچنین نشان داد که بین تعداد اماستیگوت های لیشمانیا ماژور در غلظت های مختلف عصاره و زمان مواجهه تفاوت معنی داری وجود دارد ($P \leq 0/05$). نتایج نشان می دهد میانگین قطر زخم اندازه گیری شده با توجه به زمان های مختلف (هفته اول تا ششم) متفاوت بوده و تفاوت معنی داری از نظر میزان قطر زخم و زمان تأثیر بنه وجود دارد. همچنین با توجه به نتیجه بخشی تأثیر عصاره شیره بنه کردی شناسایی ماده مؤثره پیشنهاد می شود.

واژگان کلیدی: لیشمانیا، درون تنی، بنه کوهی

مقدمه

لیشمانیازیس توسط گونه‌های متفاوتی از تک‌یاخته لیشمانیا، که توسط جنس ماده پشه فلبوتوموس (پشه خاکی) منتقل می‌شود، ایجاد می‌شود. این بیماری اخیراً در چهار قاره شایع شده و در ۸۸ کشور آندمیک می‌باشد که ۷۲ کشور آن جزء کشورهای در حال توسعه هستند. ۳۵۰ میلیون نفر در معرض خطر ابتلا به این بیماری هستند (۸). لیشمانیا جلدی در ۹۸ کشور و ۵ قاره آندمیک است و بیشترین میزان ابتلا در کشورهای افغانستان، برزیل، ایران، الجزایر و سوریه می‌باشد (۳).

لیشمانیازیس گروهی از بیماری‌هاست که با نشانه‌های کلینیکی آشکار همراه می‌باشد. لیشمانیای جلدی، ابتدا به صورت ندول‌های کوچک جلدی تا زخم‌های جلدی گسترش می‌یابد (۴). این بیماری در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری شایع است. متأسفانه لیشمانیازیس به‌عنوان بیماری که به شدت مورد غفلت واقع شده، همچنان وجود دارد، مشخصه این بیماری نیاز به دوره درمان سخت، طولانی و ناکارآمد است که به داروهای شدیداً سمی و قدیمی وابسته می‌باشد (۲، ۱۴).

لیشمانیازیس به‌عنوان بیماری انگلی که به صورت گسترده و جهانی عامل مرگ و میر است در نظر گرفته شده و میلیون‌ها انسان را در طول سال‌ها درگیر کرده است (۱۳). لیشمانیازیس به‌عنوان بیماری‌ای که تهدیدکننده سلامت عمومی است، واگیری و مرگ و میر قابل توجهی را در قاره آفریقا، آسیا و آمریکای لاتین سبب شده است. افزایش ابتلا به لیشمانیازیس می‌تواند به دلیل گسترش مناطق شهری و تخریب جنگل‌ها، تغییرات محیط زیست و مهاجرت مردم به مناطقی که این بیماری آندمیک است باشد (۱۶).

داروهای پیشنهادی برای لیشمانیازیس ترکیبات پنج ظرفیتی آنتیموان، سدیم استیوگلوکونات (پنتوسام) و مگلو مین‌آنتی‌مونات (گلوکانتیم) است که در طی این پنجاه سال استفاده شده است. این داروها عوارض جانبی زیادی را من جمله مسمومیت‌های کلیوی و قلبی در پی

داشته‌اند و این مشکل با ظهور سویه‌های مقاوم به داروها بدتر شده است (۲، ۸). اخیراً خانواده‌های جدیدی از داروها مثل: آمفوتریسین B و میلتفوساین شکل گرفته‌اند که گران قیمت هستند (۲).

عصاره‌های گیاهی یا ترکیبات مشتق شده از گیاهان می‌توانند به‌عنوان منبع جدیدی از ترکیبات دارویی پزشکی باشند. نیاز سریع و اورژانسی به درمان انتخابی، ما را به استفاده از محصولات طبیعی و مشاهده اثرات و پتانسیل اثر استفاده از آنها در درمان بیماری لیشمانیا واداشته است. ایران از کشورهای شناخته شده در این عرصه است به‌خصوص با گیاهان بومی‌ای که دارد که بسیاری از این گیاهان به‌عنوان دارو استفاده می‌شوند در حالی که هیچ پایه علمی برای آن وجود ندارد، در سال‌های اخیر بسیاری از گیاهان دارویی برای درمان بیماری‌های انگلی تک‌یاخته‌ای استفاده شده است (۳).

بر اساس مطالعات گذشته گیاه دارویی پسته کوهی کردی (بنه) به‌صورت سنتی در درمان عفونت‌های مختلف بکار رفته است. این گیاه از خانواده آناکاردیاسه و بومی منطقه اورامانات استان کردستان در غرب ایران می‌باشد. این گیاه به‌طور سنتی در درمان زخم معده، التیام زخم‌ها، به‌عنوان ضد التهاب بکار رفته است. همچنین بنه واجد اثرات ضد باکتریایی، ضد ویروسی، ضد قارچی می‌باشد (۵).

از آنجایی که واکسن مشخص و مؤثری برای لیشمانیازیس وجود ندارد حفظ شرایط و بهبود درمانی بیمار همراه با استفاده‌ی خلاقانه از داروهای جدید ابداع شده، تنها راهی است که کنترل لیشمانیا پوستی را ضمانت می‌کند. محصولات طبیعی مثل عصاره گیاهان، چه به‌صورت ترکیبات و چه به‌صورت عصاره استاندارد، فرصت‌های نامحدودی را برای یافته‌های جدید دارویی به‌دلیل در دسترس بودن تنوع زیادی از مواد شیمیایی فراهم می‌کند (۷). تعداد زیادی از عصاره‌های مشتق شده از گیاهان طی تحقیقات بر روی بیماری لیشمانیای پوستی به‌منظور به دست آوردن بهترین تأثیر و کمترین سمیت از

اثرات ضد لیشمانیائی بنه کوهی گونه کردی بر لیشمانیا ماژور به روش درون تنی

شد. لام‌های تهیه شده را پس از حدود یک دقیقه فیکساسیون با الکل متیلیک و ۲۰ دقیقه رنگ‌آمیزی با گیمسا، در زیر میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۱۰۰ مشاهده نموده که با دیدن اجسام لیژمن، لیشمانیوز جلدی در موش‌ها تأیید شد. موش‌های آلوده را به‌طور تصادفی به شش گروه به شرح زیر گروه‌بندی نموده و مورد تیمار قرار دادیم.

سه گروه (۱۵ سر موش) تحت درمان با عصاره شیره درخت بنه با غلظت‌های مختلف و گروه چهارم (۵ سر موش) تحت درمان با گلوکانتیم (کنترل مثبت)، گروه پنجم (۵ سر موش) که تحت هیچ درمانی قرار نگرفتند (کنترل منفی) و گروه ششم (پنج سر موش) تحت درمان با اوسرین قرار گرفتند (۷).

گروه کنترل تا پایان تحقیق برای بررسی پیشرفت بیماری، طول زمان زخم، اندازه زخم (میلی‌متر) در طول زمان، بهبود یا عدم بهبود خود به خود، مرگ و میر حیوانات و وجود یا عدم وجود انگل در محل در نظر گرفته خواهد شد. بقیه گروه‌ها به‌عنوان گروه‌های تحت درمان (۳ گروه) با داروهای مورد نظر تیمار و درمان شدند.

موش‌ها از نظر پیشرفت یا بهبود بیماری، مدت زمان زخم، اندازه زخم (میلی‌متر) در طول درمان، بهبود یا عدم بهبود، وجود یا عدم وجود انگل در محل و مرگ و میر کنترل شدند.

قطر زخم‌ها برحسب واحد میلی‌متر جهت محاسبه مساحت زخم و وضعیت بهبودی آنها در ابتدا و پایان مطالعه بررسی و ثبت شد. برای اندازه‌گیری قطر زخم‌ها از کولیس استفاده شد. جهت محاسبه بار انگلی زخم‌ها در شروع درمان (قبل از تجویز اسانس شیره بنه و گلوکانتیم) و نیز در انتهای درمان (قبل از کشتن موش‌ها)، نمونه‌گیری از زخم‌ها انجام شده و بنا به تعریف رتبه‌بندی شدت آلودگی زخم‌ها (بار انگلی) انجام گرفت. در نهایت نتایج در جدول ثبت شده و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

میان این محصولات طبیعی استفاده شده است که فعالیت آنتی لیشمانیایی با درجه کمی از سمیت در آنها دیده شده است که فرمی از مدیریت درمانی بیماری می‌باشد (۱۵). عوارض جانبی متفاوت و پایدار داروهای موجود و علاوه بر آن، افزایش موارد بیماری، ما را با نیاز فوری برای یافتن یک درمان و ترکیبات دارویی جدید سوق داده است. لذا مطالعه حاضر با توجه به خواص بنه کردی به‌منظور بررسی اثرات ضد لیشمانیائی آن بر روی اماستیگوت لیشمانیا ماژور انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

سویه‌ی استاندارد (MRHO/IR/5/ER) لیشمانیا ماژور از بخش انگل‌شناسی دانشگاه تربیت مدرس تهیه شد. جهت کشت و نگهداری انگل از محیط کشت RPMI640 استفاده شد. به‌منظور کشت انگل، محیط کشت RPMI640 از شرکت *Gibco* خریداری شد. برای ممانعت از رشد باکتری‌ها 100unit/ml پنی‌سلین و 100µg/ml استرپتومایسین و به‌عنوان ماده مکمل سرم جنین گوساله (FBS) ۱۰ درصد به محیط اضافه شد. سپس فلاسک‌ها به انکوباتور ۲۴ درجه منتقل و هر روز با میکروسکوپ اینورت بررسی شد. در صورتی که رنگ محیط زرد شده و پروماستیگوت‌ها وارد فاز ایستایی می‌شدند محیط کشت جدید به آن اضافه می‌گردید این کار تا زمانی انجام شد که انگل به تعداد مورد نیاز رسید برای شمارش انگل‌ها از لام نئوبار استفاده شد.

کشت انگل را تا زمان رسیدن پروماستیگوت‌ها به مرحله ایستائی ادامه داده و سپس با محاسبه حجم مناسب انگل حاوی 10^6 پروماستیگوت، ابتدا بعد از استریل کردن ناحیه تزریق، ۰/۲ سی‌سی از محلول حاوی پروماستیگوت لیشمانیا ماژور با غلظت 10^6 انگل در هر میلی‌لیتر در قاعده دم موش‌ها تزریق نموده، پس از گذشت ۲۵ روز زخم در قاعده دم موش‌ها تشکیل شد که برای اطمینان از این که انگل در زخم‌ها وجود دارد، با استفاده از روش نمونه‌برداری مستقیم از زخم‌ها لام تهیه



زخم حاصل از لیشمانیا ماژور در اثر تزریق زیرجلدی پروماستیگوت در ناحیه دم

۲+ : تعداد یک تا ده اماستیگوت در ۱۰ شان میکروسکوپی مشاهده می‌شود.
 ۳+ : تعداد ده تا صد اماستیگوت در ۱۰ شان میکروسکوپی مشاهده می‌شود.
 ۴+ : تعداد صد تا هزار اماستیگوت در ۱۰ شان میکروسکوپی مشاهده می‌شود.
 ۵+ و بیشتر: بیش از ۱۰۰۰ اماستیگوت در ۱۰ شان میکروسکوپی مشاهده می‌شود (۶).
 معنی‌دار بودن از لحاظ آماری بین گروه‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ (USA, IL, SPSS Inc. Chicago) مورد تحلیل قرار گرفت، تفاوت بین گروه آزمون و گروه کنترل، با آزمون t مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. همچنین $P < 0.05$ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد (۴).

پمادی با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر (۱ درصد) درخت بنه با پایه استاندارد اوسرین (Eucerin) تهیه شد. برای تعیین بار انگل، بررسی‌های میکروسکوپی با نمایش آزمایشگاهی بار (تعداد) انگل در زخم‌ها با تهیه اسمیر رنگی در پایان دوره آزمایش، انجام شد. زخم‌ها با اتانول تمیز و در حاشیه زخم با لانست استریل نمونه‌برداری صورت گرفت و با افزودن زخم، نمونه‌برداری انجام شد. اسمیرها در مقابل هوا خشک شده، توسط متانول فیکس و با *Giemsa* رنگ‌آمیزی شدند تا بار انگل‌ها با میکروسکوپ نوری به شرح زیر مشخص شود:
 منفی: هیچ اماستیگوتی در ۱۰ شان میکروسکوپی مشاهده نمی‌شود.
 ۱+ : یک اماستیگوت در ۱۰ شان میکروسکوپی مشاهده می‌شود.

جدول ۱- تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس شیره درخت بنه قبل و بعد از درمان بر اندازه زخم‌ها (سانتی‌متر) در موش‌های Balb/c آلوده به سویه ال‌ماژور

گروه	گروه کنترل (انحراف معیار ± میانگین)	پماد ۵٪ (انحراف معیار ± میانگین)	پماد ۲۵٪ (انحراف معیار ± میانگین)	پماد ۵۰٪ (انحراف معیار ± میانگین)	گلوکانتیم (انحراف معیار ± میانگین)	وازلین (انحراف معیار ± میانگین)
هفته اول	۰٫۶۹±۰٫۱۳	۰٫۶۸±۰٫۱۱	۰٫۶۸±۰٫۲۱	۰٫۶۷±۰٫۱۹	۰٫۶۰±۰٫۱۵۸	۰٫۵۶±۰٫۱۱۴
هفته دوم	۰٫۶۹±۰٫۱۲	۰٫۶۵±۰٫۳۲	۰٫۵۶±۰٫۳۳	۰٫۶۰±۰٫۳۶	۰٫۵۶±۰٫۱۶۷	۰٫۵۸±۰٫۱۰۹
هفته سوم	۰٫۶۳±۰٫۳۵	۰٫۵۹±۰٫۲۲	۰٫۵۹±۰٫۲۱	۰٫۴۹±۰٫۲۲	۰٫۴۲±۰٫۱۳	۰٫۵۶±۰٫۰۵۴
هفته چهارم	۰٫۶۰±۰٫۴۲	۰٫۵۰±۰٫۰۵	۰٫۵۲±۰٫۲۷	۰٫۴۴±۰٫۰۵۲	۰٫۳۴±۰٫۱۳	۰٫۵۶±۰٫۰۵۴
هفته پنجم	۰٫۵۹±۰٫۰۶۰	۰٫۴۴±۰٫۲۶	۰٫۴۱±۰٫۱۰	۰٫۳۴±۰٫۰۴۱	۰٫۲۲±۰٫۱۳	۰٫۶±۰٫۰
هفته ششم	۰٫۵۳±۰٫۰۵۸	۰٫۳۸±۰٫۰۴۴	۰٫۳۲±۰٫۰۲۱	۰٫۲۴±۰٫۰۵	۰٫۲۲±۰٫۱۳	۰٫۶±۰٫۰

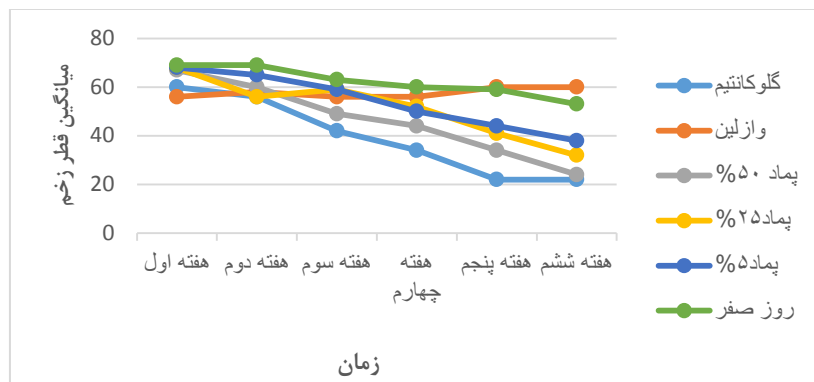
اثرات ضد لیشمانیائی بنه کوهی گونه کردی بر لیشمانیا ماژور به روش درون تنی

نتایج

توجه به مقدار پی مشاهده شده برای متغیر زمان که کمتر از ۰/۰۵ می‌باشد فرض وجود تفاوت معنی‌دار در زمان‌های مختلف پذیرفته می‌شود یعنی میانگین قطر زخم اندازه‌گیری شده با توجه به زمان‌های مختلف (هفته اول تا ششم) متفاوت بوده و تفاوت معنی‌داری از نظر زمان اندازه‌گیری قطر زخم وجود دارد.

این مطالعه در طول شش هفته صورت گرفت و در پایان هر هفته اندازه‌گیری‌هایی انجام شد که نتایج آن بدین شرح می‌باشد.

با توجه به نتایج آزمون تحلیل واریانس اندازه‌های تکراری می‌توان استنباط کرد که تفاوت معنی‌داری از نظر زمان و تیمار در قطر زخم اندازه‌گیری شده وجود دارد. با



نمودار ۱- نمودار قطر زخم اندازه‌گیری شده به تفکیک تیمارها

دریافت‌کننده پماد ۵۰ درصد مشاهده شد.

بحث و نتیجه‌گیری

باقیمانده دارویی و اثرات جانبی مضر داروهای متداول در درمان لیشمانیایوز پوستی وعود مجدد در بیماران بهبودیافته افزایش یافته، نیاز ما را در زمینه مطالعات دارویی جهت دستیابی به یک داروی مؤثر و بی‌خطر بالا برده است. بالا بردن قابلیت ضد میکروارگانسیم بنه و قابلیت‌های ضد باکتری، ضد قارچ و ضد سرطانی این عصاره در مطالعات مختلف گزارش شده است (۳). اثرات ضد سرطانی این ترکیب در مطالعات بر روی تومورهای نوروکتودرمال، اسکواموس کارسینومای ریه و سلول‌های هیپاتوما دیده شده است. همچنین پژوهش‌های بالینی نشان می‌دهد که بنه اثرات مؤثرتری بر ترمیم زخم‌ها داشته است لذا با توجه به اهمیت درمان بیماری در کشور ما که روز به روز در حال گسترش به مناطق مختلف است و نیز اثر ناکامل درمان‌های موجود، تأثیر اسانس شیره بنه که یکی از مهم‌ترین گیاهان بومی استان می‌باشد بر روی

با توجه به نمودار فوق با گذشت زمان (از هفته اول به هفته ششم) کاهش معناداری در میانگین قطر زخم ایجاد شده است در اوسرین برخلاف بقیه تیمارها با گذشت زمان میانگین قطر زخم روند افزایشی داشته است.

با توجه به مقادیر پی به دست آمده برای مقایسه زمان‌های نمونه‌برداری (هفته اول تا ششم) می‌توان بیان کرد که در همه گروه‌ها (تیمارها) تفاوت معنی‌دار زمان نمونه‌برداری از نظر بار انگلی موجود در زخم وجود داشته است. در همه گروه‌ها بجز اوسرین بار انگلی در هفته اول بیشترین و در هفته ششم کمترین مقدار بوده است.

نتایج آزمون فوق نشان می‌دهد که در بین تیمارها در هر زمان از نظر میانگین بار انگلی تفاوت معنی‌داری وجود دارد به عبارتی دیگر در هر هفته بعد از نمونه‌گیری تفاوتی از نظر بار انگلی در بین تیمارها مشاهده شده است. همچنین در هفته‌های مختلف در بین تیمارها تفاوت معنی‌دار مشاهده شد. بیشترین بار انگلی در نمونه دریافت‌کننده اوسرین و کمترین بار انگلی در نمونه

سالک ناشی از لیشمانیا ماژور در موش‌های بلب سی همانند اثر جوشانده بابونه می‌باشد (۱۷). همین موضوع نشان‌دهنده این است که مطالعه بر روی استفاده ترکیبی از چندین گیاه دارویی بر روی لیشمانیوز جلدی می‌تواند اثرات مفیدتر و مؤثرتری به همراه داشته باشد که این یافته می‌تواند در استفاده از عصاره‌های مختلف به همراه عصاره بنه جهت بررسی میزان بهبودی زخم لیشمانیائی در مطالعات بعدی مورد استفاده قرار گیرد.

علی‌رغم این، همچنان تعداد مطالعات صورت گرفته در رابطه با خاصیت ضد انگلی بنه محدود می‌باشد مثلاً در مطالعه‌ای که بر روی لیشمانیا دونوانی صورت گرفت عصاره ریشه پسته کوهی گونه ورا (*P. vera*) با غلظت $4 \mu\text{g/mL}$ و $8 \mu\text{g/mL}$ به طور قابل ملاحظه‌ای تا (۳/۷۷ درصد) رشد لیشمانیا دونوانی را مهار کرد. در مطالعه دیگری که بر روی پلاسمودیوم فالسی پارووم عصاره برگ‌های خشک گیاه حدود ۶۰/۶ درصد اثر مهارتی علیه این تک‌یاخته داشت (۷). در مطالعات مختلف محصولات طبیعی نظیر: ویزکورستین، لوتئولین، هولامین (استروئید) کورینانتین (ایندول) رودسیاکریدون (آکریدون)، دهیدروکولاریترین (فنانتریدین)، پگانین (کوپنازولین)، لینالول، آگاروفوران، نرولیدول (ترپنویید)، کونفرول (کومارین)، ایزوآپتامین (آلکالوئید). اثرات ضد لیشمانیایی از خود نشان داده‌اند و این مطالعات نشان می‌دهد که گیاهان طبیعی می‌توانند به‌عنوان داروی سنتی جهت جلوگیری از عود مجدد و درمان لیشمانیوز پوستی بکار روند (۱۷).

نتایج این مطالعه و مطالعات قبلی نشان داد که بنه هم در محیط آزمایشگاه و هم در درون سلول‌های حیوانی دارای خاصیت ضد لیشمانیایی است. قبل از اینکه هرگونه نتیجه‌گیری در ارتباط با میزان اثر بنه بر درمان و بهبود زخم‌های لیشمانیوز پوستی انسان صورت گیرد بایستی غلظت‌های مختلف و روش‌های متفاوت استعمال آن بررسی شود (۴). همچنین با توجه به نتیجه‌بخشی تأثیر عصاره شیره بنه، شناسایی ماده مؤثره بر زخم پیشنهاد می‌شود.

لیشمانیوز جلدی مورد بررسی قرار گرفت (۱، ۳، ۱۲).

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که عصاره شیره بنه موجب تفاوت معنی‌داری در کاهش قطر زخم می‌شود به‌طوری که در درمان با غلظت‌های مختلف پماد شیره اسانس بنه کاهش قطر زخم مشاهده گردید. به‌طوری که میانگین قطر زخم در استفاده از شیره اسانس بنه در شش هفته کاهش معنی‌داری داشته است.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین کاهش میانگین قطر زخم در طول زمان وجود دارد به‌طوری که در تمام گروه‌های درمان در طول زمان میانگین قطر زخم روند کاهشی داشته است اما در استفاده از اوسرین در طول مدت درمانی قطر زخم افزایش داشته است.

نتایج حاصل از این مطالعه همچنین نشان‌دهنده بیشترین تأثیر در کاهش قطر زخم در پماد ۵۰ درصد بوده است همچنین در تمام گروه‌های تیمار، کاهش معنی‌داری از نظر بار انگلی دیده شده است به‌طوری که در طول زمان درمان در بین گروه‌های تیمار کاهش معنی‌داری از نظر بار انگلی دیده شده است که این کاهش بار انگلی در گروه گلوکانتیم بلافاصله پس از استفاده و در هفته اول پس از درمان مشاهده شده و در دو هفته آخر درمان یعنی هفته پنجم و ششم در تمام تیمارها کاهش بار انگلی معنی‌دار بوده است. همچنین بیشترین بار انگلی در گروه اوسرین و کمترین میزان آن در گروه پماد ۵۰ درصد مشاهده شده است.

ترکیبات انتخابی مؤثرکه هیچ نوع سمیتی نداشته باشد نقش مهمی در معرفی درمان جدید برای لیشمانیای پوستی دارد که در این ارتباط می‌توان به اثرعصاره هیدروآتانولیک گیاه علف خوک *selaginella sellowii* اشاره کرد در مطالعه‌ای که به‌وسیله حجازی و همکاران در مورد مقایسه اثربخشی عصاره هیدروآکلکی گیاهان آویشن شیرازی، بومادران، حنا و سیر بر ضایعات جلدی ناشی از لیشمانیا ماژور در مدل حیوانی موش‌های بلب سی انجام گرفته است اثر گیاه بومادران و آویشن در بهبود زخم

References

- 1- Albalawi A.E, Althobaiti N.A, Alhasani R.H, Alnomasy S.F. Anti-tumor effects and cellular mechanisms of Pistacia atlantica methanolic extract against Ehrlich solid tumor in mice. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2022; 12(2): 69.
- 2- Bhattacharya S, Ghosh P, De T, Gomes A, Gomes A, Dungdung S.R. In vivo and in vitro antileishmanial activity of Bungarus caeruleus snake venom through alteration of immunomodulatory activity. *Experimental parasitology*. 2013; 135(1): 126-133.
- 3- Braga F.G, Bouzada M.L.M, Fabri R.L, Matos M.D.O, Moreira F.O, Scio E, et al. Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil. *Journal of ethnopharmacology*. 2007; 111(2): 396-402.
- 4- Dalimi A, Delavari M, Ghaffarifar F, Sadraei J. In vitro and in vivo antileishmanial effects of aloe-emodin on Leishmania major. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. 2015; 5(2): 96-99. [In Persian]
- 5- Dolatyabi M, Adhami G, Maroofi Y. Effect of Pistacia atlantica (kurdica) oil extract on promastigotes of Leishmania major. *New Findings in Veterinary Microbiology*. 2022; 4(2): 92-99.
- 6- Ebrahimi-Sadr P, Ghaffarifar F, Hassan-Saraf Z.M, Beheshti N. Effect of artemether on the recovery of lesions caused by Leishmania major. *Feyz Journal of Kashan University of Medical Sciences*. 2013; 16(6). [In Persian]
- 7- Ezatpour B, Saedi Dezaki E, Mahmoudvand H, Azadpour M, Ezzatkah F. In vitro and in vivo antileishmanial effects of Pistacia khinjuk against Leishmania tropica and Leishmania major. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2015.
- 8- Ferreira S.B, Costa M.S, Boechat N, Bezerra R.J, Genestra M.S, Canto-Cavalheiro M.M, et al. (2007). Synthesis and evaluation of new difluoromethyl azoles as antileishmanial agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2007; 42(11-12): 1388-1395.
- 9- Ghaderi A, Kkhadem Eerfan M.B, Barati M, Ghaderi S. Evaluation of antileishmanial effect of the plant extract of alpha-pinene (Pistacia atlantica) in vitro and in vivo. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences*. 2018; 23(5): 32-44. [In Persian]
- 10- Hesami D, Ghaffarifar F, Dalimi Asl A, Nasiri V, Ghasemi E, Jorjani O.N. A study on the effects of Pistacia atlantica Desf. essential oil on Leishmania major in vitro and in vivo. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research (IJMAPR)*. 2019; 35(1): 44-53. [In Persian]
- 11- Jameii F, Dalimi A.A, Karimi M, Ghaffarifar F. Healing effect comparison of selenium and silver nanoparticles on skin leishmanial lesions in mice. *Avicenna Journal of Clinical Medicine*. 2015; 22(3): 217-223. [In Persian]
- 12- Koko W.S, Al Nasr I.S, Khan T.A, Schobert R, Biersack B. An update on natural antileishmanial treatment options from plants, fungi and algae. *Chemistry & biodiversity*. 2022; 19(1): e202100542.
- 13- Mesquita M.L.D, Desrivot J, Fournet A, Paula J.E.D, Grellier P, Espindola L.S. Antileishmanial and trypanocidal activity of Brazilian Cerrado plants. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2005; 100(7): 783-787.
- 14- Plano D, Baquedano Y, Moreno-Mateos D, Font M, Jiménez-Ruiz A, Palop J.A, et al. Selenocyanates and diselenides: a new class of potent antileishmanial agents. *European journal of medicinal chemistry*. 2011; 46(8): 3315-3323.
- 15- Queiroz D.P.D.S, Carollo C.A, Kadri M.C.T, Rizk Y.S, Araujo V.C.P.D, Monteiro P.E.D.O, et al. (2016). In vivo antileishmanial activity and chemical profile of polar extract from Selaginella sellowii. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2016; 111: 147-154.
- 16- Rocha L.G, Almeida J.R.G.S, Macedo R.O, Barbosa-Filho J.M. (2005). A review of natural products with antileishmanial activity. *Phytomedicine*. 2005; 12(6-7): 514-535.
- 17- Sangshetti J.N, Khan F.A.K, Kulkarni A.A, Arote R, Patil R.H. Antileishmanial drug discovery: comprehensive review of the last 10 years. *Rsc Advances*. 2015; 5(41): 32376-32415.
- 18- Tahir A.E, Ibrahim A.M, Satti G.M, Theander T.G, Kharazmi A, Khalid S.A. The potential antileishmanial activity of some Sudanese medicinal plants. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*. 1998; 12(8): 576-579.



Anti leishmanial effects of *Pistacia atlantica* subspecies *Kurdica* on *Leishmania major* in vivo

Amir Habibi¹, Ghazaaleh Adhami^{*2}, Abdolhosein Dalimi Asl³, Sogol Atefi⁴

- 1- Veterinary graduate, Faculty of Veterinary Medicine, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran.
- 2- Assistant Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran.
- 3- Professor, Department of Parasitology and Entomology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.
- 4- Veterinary Student, Faculty of Veterinary Medicine, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran.

Receive: June 27, 2023; Revise: November 27, 2023; Accept: December 7, 2023



10.22034/nfvm.2024.403094.1193



20.1001.1.26454491.1402.6.2.3.1

Summary

Leishmaniasis is a protozoan zoonosis that causes problems in public health. The use of pentavalent antimony compounds as chemical drugs in the treatment of cutaneous leishmaniasis is associated with various limitations and side effects. Today, plant extracts and their derivations are the promising sources in herbal medicine. The purpose of this study was to evaluate the effectiveness of oil extract *Pistacia atlantica* Kurdistan province, Iran, on promastigotes of standard strain *Leishmania major* in vitro and in vivo. In this study, 10, 15, 25, and 50% concentrations of plant-based ointment were added to the lesions caused by promastigotes of *Leishmania major*. The effectiveness of treatment with different concentrations of pistacia extract on induced lesions at the base of the tail of Balb/c mice cultured with promastigotes of *Leishmania major* was checked in terms of disease progression or improvement and parasite load. The effect of 50% pistacia extract has the greatest effect on reducing the lesions diameter of *Leishmania* promastigotes, the results showed that there is a significant difference between the number of *Leishmania major* promastigotes in different concentrations of the extract and exposure time. With respect to the calculated P-value for time variable ($P < 0.05$), there was statistically remarkable difference among different time periods, so the mean of the measured lesion was different regarding 6 weeks of experiment, and there observed a statistically significant difference in terms of the time of lesion measurement. Additionally, the prediction, isolation, purification, and application of the effective compounds found in the *Pistacia atlantica* extract is highly suggested for future studies.

Keywords: *Leishmania*, *In vivo*, *Pistacia Atlantica*