مجله دانشكده بهداشت انستيتو تحقيقات بهداشتي
دوره ٦ شماره ٣ و٤ پاييز و زمستان ١٣٨٧ ، صفحات : ٢٦- ١٩

اثر درماني پروپوليس بر ليشمانيا ماژور (MRHO/IR/75/ER) در مدل حيواني

محسن محمودي: مربي، گروه انگل شناسي و قارچ شناسي، دانشكده بهداشت و انستيتو تحقيقات بهداشتي ،دانشگاه علوم پزشكي تهران، تهران، ايران
نويسنده رابط : mmahmoodi@sina.tums.ac.ir
دكتر مهدي محبعلي: استاد، گروه انگل شناسي و قارچ شناسي، دانشكده بهداشت و انستيتو و تحقيقات بهداشتي، دانشگاه علوم پزشكي تهران، تهران، ايران
حسين ايراندوست: مربي، مركز آموزش دانشگاه علمي– كاربردي شهيد فارسي وابسته به جهاد كشاورزي، اصفهان
دكتر سيد حسين حجازي: دانشيار،گروه انگل شناسي و قارچ شناسي پزشكي، دانشكده پزشكي، دانشگاه علوم پزشكي اصفهان، ايران
حميد عبدلي: كارشناس، گروه انگل شناسي و قارچ شناسي، دانشكده بهداشت و انستيتو تحقيقات بهداشتي ،دانشگاه علوم پزشكي تهران ، تهران، ايران
ليلا شيراني بيدآبادي: كارشناس، مركز تحقيقات بيماريهاي پوستي و سالک صديقه طاهره، دانشگاه علوم پزشكي اصفهان، اصفهان، ايران
دكتر فريبرز معطر: استاد،گروه فارماكو گنوزي، دانشكده داروسازي، دانشگاه علوم پزشكي اصفهان ، اصفهان، ايران
سرور چاره دار: كارمند،گروه انگل شناسي و قارچ شناسي ،دانشكده بهداشت و انستيتو تحقيقات بهداشتي، دانشگاه علوم پزشكي تهران، تهران، ايران
نيلوفر شارقي: كارشناس، گروه انگل شناسي و قارچ شناسي، دانشكده بهداشت و انستيتو تحقيقات بهداشتي، دانشگاه علوم پزشكي تهران، تهران، ايران
اميراحمد اخوان : مربي، گروه حشره شناسي پزشكي و مبارزه با ناقلين، دانشكده بهداشت و انستيتو تحقيقات بهداشتي، دانشگاه علوم پزشكي تهران، تهران، ايران

تاريخ دريافت : ١٣٨٧/٢/١٠ تاريخ پذيرش : ١٣٨٧/١١/١٨

چكيده

زمينه و هدف : با توجه به اهميت روز افزون ليشمانيوز در كشور ايران و آلودگي بيش از ١٧ استان از ٣٠ استان بررسي هاي بيشتر روي روش هاي مختلف پيشگيري و درمان بيماري ضروري به نظر مي رسد. امروزه داروهاي متعددي در درمان ليشمانيوز جلدي بكار گرفته شده است. ولي با توجه به عوارض عديده ناشي از مصرف اين داروها و نيز مقاومت دارويي بخصوص در رابطه با داروهاي شيميايي، توجه بيشتر محققين را به داروها با منشاء طبيعي معطوف ساخته است. نظريه اثرات متعدد ترميمي، درماني و ضد ميكروبي محصولات زنبور عسل، تركيبات و مشتقات آن، در اين تحقيق پروپوليس يا بره موم كه حاصل فعاليت زنبور عسل بر روي گياهان و عصاره و صمغ آنها مي باشد پيشنهاد گرديد.
روش كار : اين مطالعه از انواع مطالعات تجربي *(Experimental)* بوده كه در آن ۴ گروه موش كوچک سفيد آزمايشگاهي نژاد *Balb/c* مورد مطالعه قرار گرفت كه شامل گروههاي: دريافت كننده انگل و دارو بصورت موضعي، دريافت كننده انگل و پايه دارو (الكل اتيليک ٧٠%) به صورت موضعي، دريافت كننده انگل و درمان استاندارد با گلوكانتيم بصورت صفاقي و نهايتاً گروه دريافت كننده انگل (بدون هيچ مداخله اي) مي باشد. آلوده كردن موشها با تلقيح ٠/١ ميلي ليتر سوسپانسيون كه حاوي حدود ٢ ميليون پروماستيگوت ليشمانيا ماژور سويه ايراني *(MRHO/IR/75/ER)* بوده در فاعده دم موشها صورت گرفت. در گروه درمان دوره درمان موضعي ٣٠ روز و سيستميک با گلوكانتيم ١۴ روز (بصورت داخل صفاقي) بوده كه داروي موضعي (لوسيون) مورد مطالعه روزي دوبار بر روي زخم ماليده شد و زخم ها به فاصله ٢ هفته يكبار اندازه گيري شد. نتايج بدست آمده با استفاده از آزمون آماري Anova و مقايسه ميانگين ها با آزمون آماري LSD مورد تجزيه و تحليل قرار گرفتند.
نتايج : نتايج حاصل از بررسي نشان مي دهد در شروع بررسي هيچ گونه اختلاف معني داري در بين گروهها مشاهده نشد ($p>$٠/٠١). اين آزمون اختلاف معني داري را بين ميانگين قطر زخمها پس از درمان گروههاي تحت درمان با عصاره بره موم و ديگر گروههاي سه گانه شاهد نشان مي دهد ($p<$ ٠/٠٠١). در اين بررسي نشان داده شد كه لوسيون الكلي بره موم بر روي بهبود زخم ليشمانيوز روستايي تأثير قابل ملاحظه اي داشته است.
نتيجه گيري : با توجه به نتايج حاصل از اين مطالعه و مقايسه با نتايج مطالعات گذشته نشان مي دهد كه بره موم در بهبودي زخم سالک تأثير خوبي داشته است.پيشنهاد مي شود اين مطالعه با محصولات ديگر زنبور عسل و در پايه هايي ديگر بر روي موشهاي *Balb/c* انجام شود.

واژگان كليدي:ليشمانيوز جلدي ، ليشمانيا ماژور، پروپوليس، *Balb/c*

مقدمه

ليشمانيوزها از بيماريهاي انگلي قابل سرايت به وسيله انواع بخصوصي پشه خاكي هاي فلبوتومينه مي باشند كه توسط گونه هاي مختلف انگل ليشمانيا ايجاد مي شوند. اين بيماري به شكل ضايعات جلدي (سالک)، احشايي (كالا آزار) و جلدي- مخاطي بروز مي كند. نوع جلدي به دو شكل اصلي خشک (شهري) و مرطوب (روستايي) مشاهده مي شود. اين بيماري را همراه با تريپانوزوم افريقايي و تب دانگ در گروه بيماري هاي بسيار مهم و كنترل نشده قرار گرفته است (اردهالي و همكاران ۱۳۷۳؛ يعقوبي ارشادي ۱۳۷۵؛ Kettel 1995 Brown and Franklin 1987). بخش تحقيقات سازمان جهاني بهداشت (TDR) بيماري ليشمانيوز را در رديف ده بيماري مهم مناطق گرمسيري دنيا معرفي كرده است (WHO 2001). در حال حاضر ۸۸ كشور جهان به انواع مختلف اين بيماري آلوده مي باشند و تعداد موارد جديد بيماري ساليانه دو ميليون نفر تخمين زده مي شود كه از اين تعداد، ۱/۵ ميليون مورد ليشمانيوز جلدي و ۵۰۰ هزار ليشمانيوز احشايي است. ۹۰% ليشمانيوز جلدي جهان از كشورهاي افغانستان، برزيل، ايران، پرو، عربستان سعودي و سوريه گزارش شده است (WHO 2006). متأسفانه تعداد مبتلايان به انواع اين بيماري در جهان رو به افزايش است.

روشهاي درماني متعددي براي ليشمانيوز جلدي ارايه شده است كه هدف آنها بهبودي سريع زخم، عدم ايجاد جوشگاه، حداقل عوارض جانبي و جلوگيري از عفونت ثانويه است، با اينكه سالهاي زيادي از شناخت اين بيماري مي گذرد ولي هنوز درمان قطعي براي آن وجود نداشته و تحقيقات براي يافتن داروهاي جديد ادامه دارد. داروهايي كه مورد استفاده قرار مي گيرند بايد كم عارضه، ارزان قيمت، در دسترس و از نظر نوع استفاده تا حد امكان به صورت موضعي استعمال شوند.

مطالعات متعدد نشان داده اند بره موم به ميزان زيادي خواص ضد باكتريايي، ضد پروتوزوئري، ضد قارچي و ضد ويروسي دارد، تأثير بازدارندگي آن حداقل روي ۲۱ گونه باكتريايي (از جمله MRSA)، ۹ گونه قارچي (از جمله كچلي ها، برفک، پاي ورزشكاران) و ۳ گونه پروتوزوئري (از جمله ژياردیا) و طيف وسيعي از ويروس ها (مثل هرپس و آنفولانزا) ديده شده است. در رابطه با بيماريهاي باكتريايي مطالعات نشان مي دهند كه اين ماده تأثير بسزايي در مهار رشد باكتريهاي گرم مثبت داشته ولي تأثير آن بر باكتريهاي گرم منفي ناچيز بوده است (Fernandes 1995; Silici and Kutluca 2005). مطالعات انجام شده بر روي قارچ هاي بيماريزا نيز موید اين است كه بره موم تأثير زيادي بر روي بيماريهاي قارچي بخصوص كانديداها داشته است (Sforcin et al. 2000; Fernandes 1995). در ارتباط با بيماريهاي پروتوزوئري، توانسته اند به نقش بره موم عليه بيماريهايي مثل تريكوموناز، توكسوپلاسموز، آميبيازيس، ژياردیوز، ليشمانيوز و چند بيماري پروتوزوئري ديگري پي برند (Sforcin 2002; Mustonen 2001; Suchy 1978; Strarzyk 1977; Savoia 1998; Klinghardt 2005; Grange and Davey 1990). اين تأثير بره موم احتمالاً بواسطه تحريک فعاليت سيتوتوكسيكي سلولهاي قاتل طبيعي مي باشد (Scifo 2004; Hunter 1995).

بره موم داراي خواص محرک سيستم ايمني هورمورال و سلولي، بي حسي و بيهوشي، آنتي اكسيداني، ضد التهابي، تقويب بافت پيوندي نرم،ممانعت از فعاليت برخي از هيدرولازها، اكسيد و ردوكتازها، كينازها همچنين براي نگهداري مواد غذايي به عنوان آنتي اكسيدان بكار مي-رود (Bratter 1999; Marquele 2005 ; Ahn 2004).

با توجه به اهميت بيماري ليشمانيوز و ضرورت درمان آن جهت جلوگيري از عوارض و محدود كردن انتشار بيماري كه در فوق به آنها اشاره شد و همچنين لزوم وجود يک روش درماني مناسب و كم عارضه جهت مقابله با آن در اين مطالعه سعي شده از عصاره بره موم كه داراي اثرات عديده درماني – التيامي مي باشد يک محلول موضعي تهيه

نموده و تأثير آنرا بر روي زخم ليشمانيوز جلـدي بررسـي نماييم.

روش كار

ايـــن مطالعـــه از مطالعـــات علـــوم پايـــه (Experimental) مي باشـد و جمعيـت مـورد مطالعـه موشهاي نژاد Balb/c مي باشندو براي تعيين حجم نمونه از فرمول:

$$N = ۲(Z_{۱-\alpha/۲} + Z_{۱-\beta})^۲ \quad \sigma^۲ /(\mu ۱ - \mu ۲)^۲$$

استفاده شد، مطالعات اوليه نشان ميدهد كه انحراف معيـار قطر زخم هاي ليشمانيوز در طـي ۳۰ روز درمـان حـدود ۰/۴ سانتيمتر مي باشد و كمترين اخـتلاف ميـانگين هـاي قطر زخم كه بين روشهاي درمـاني بكـار گرفتـه شـده بـا روش بدون درمان مي باشد حـدود ۰/۵ سـانتيمتر از نظـر قطر مي باشد لذا نمونه اي به حجم ۱۲ براي هر گـروه بـا اطمينان ۹۵% و قدرت آزمون برابر ۹۰% جوابگوي بررسي خواهد بود.

مراحل انجام كار به شرح زير مي باشد:

۱- تهيه عصاره :

بره موم مورد نياز از زنبورداريهاي اطـراف اصـفهان تهيـه شد و از آن عصاره گيري بعمل آمـد. بـراي تهيـه عـصاره الكلي بره موم، از روش زير استفاده شد:

مقدار ۱۰ گروه بره موم را به دقت توزين نموده و در يک بالن ۲۵۰ سي سي به مقدار ۱۰۰ ميلي ليتـر الكـل اتيليـک ۹۶% به مدت ۱ ساعت روي اجاق الكتريكي رفلاكس شد. در طول رفلاكس از همزن مغناطيـسي جهـت يكنواخـت كردن محلول حاصل استفاده گرديد. پس از عمل رفلاكس بلافاصله محلول حاصله را بصورت گـرم گـرم بـا كاغـذ فيلتر صاف نموده و روي صافي را ۳ بـار و هـر بـار بـا ۵ ميلي ليتر الكل ۹۶ درجه شستشو نموده و حاصل شستشو را به محلول حاصل از صافي اضافه نمائيد. در مرحله آخر صافي را در بن ماري تا حد خشک شدن و خـارج شـدن تمامي الكل تبخير و باقيمانده توزين شد. عـصاره حاصـله در شيشه هاي غير قابل نفوذ و تيره نگهداري شد.

۲- گروه بندي موشها:

در اين مطالعـه مـوش هـاي نـژاد Balb/c از دانـشكده بهداشـت دانـشگاه علـوم پزشـكي تهـران تهيـه شـده و در حيوانخانـه مركـز آمـوزش و تحقيقـات بهداشـتي اصـفهان نگهداري شد. همانطوريكه در مطالعات آزمايـشگاهي ثابـت گرديده مـوش Balb/c در مطالعـات In vitro نـسبت بـه انگل L.major حساس بوده و نسبت به سويه هـاي ديگـر موش (سوري) زخم ها در مدت زمـان كمتـري ظـاهر مـي-شوند، به همين دليل در اين مطالعـه از مـوش آزمايـشگاهي Balb/c اسـتفاده گرديـد. ايـن موشـها از لحـاظ سـني ۶-۴ هفته‌اي بودند. ميزان ۰/۱ ميلي ليتر سوسپانـسيون انگلـي كـه حاوي حدود ۲ ميليون انگل پروماستيگوت ليشمانيا ماژور بـا كد MRHO/IR/75/ER مي باشد بصورت زير جلدي بـا اسـتفاده از سـرنگ انـسولين در محـل قاعـده دم موشـها در قسمت بدون مو تلقيح گرديد. با مـشاهده نـدول كـه بعـد از حـدود ۲۳ روز در محـل تلقـيح ظـاهر شـد، درمـان آغـاز گرديد(آزمايش پارازيتولوژي موضع آلوده بـا تهيـه اسـمير از محل انجام و انگل ليشمانيا مشاهده گرديد). در ايـن مرحلـه موشها به ۴ گروه ۱۲ تايي تقسيم شدند كه شامل گروههـاي: ۱- دريافـت كننـده دارو و انگـل بـه صـورت موضـعي ۲- دريافت كننده پايه دارو (الكل) به صـورت موضـعي و انگـل ۳- دريافت كننده انگل به تنهايي (شاهد مثبت) ۴- دريافـت كننده انگل و درمان استاندارد با گلوكانتيم به صـورت داخـل صفاقي مي باشند. براي اطمينان از حضور انگل در زخم، قبل از درمان يک نمونه از زير ندول تهيـه شـده و وجـود انگـل تاييد شد (تهيه گسترش و رنگ آميزي با گيمسا و مشاهده با ميكروسكوپ نوري با بزرگنمايي ۱۰۰۰). دوره درماني بـراي گروه اول و دوم ۶ هفته بوده كه در اين مدت عصاره الكلـي بصورت لوسـيون و الكـل ۷۰ درجـه روزي ۲ بـار بـر روي موضع آلوده گروهها ماليده شد ولي در گروه دريافـت كننـده گلوكانتيم (۰/۰۲mg/kg، ساخت كشور فرانسه) به مدت ۱۴ روز هر روز تلقيح داخل صفاقي انجام شد. قطر زخـم هـا ۲ هفته يكبار بوسيله كوليس ديژيتال اندازه گيري شـدند. بـراي اندازه گيري زخم از روش اندازه گيري دو بعدي بـا فرمـول

S=D+d/2 برحسب ميلي متر مربع استفاده شـد(D قطـر بزرگ و *d* قطر كوچک زخم و *S* مساحت زخم).

نتايج

در اين مطالعه اثر لوسيون الكلي بـره مـوم از روي L.major سويه استاندارد ايران(MRHO/IR/75/ER) در شرايط In vitro مورد بررسي قرار گرفت و نتايج بـه شرح زير گزارش گرديد:

جهت ارزيابي درماني در موشـها هفتـه اول، هفتـه سوم و هفته ششم پس از درمـان بـا هـم مقايـسه شـدند. همچنين پس از هفته هشتم (۲ هفته پس از اتمـام درمـان) از ترشحات ضايعات و در صورت عدم وجـود ضـايعه از محل هاي تلقيح شده آزمايشات پارازيتولوژيک بعمل آمد. نتايج حاصل از بررسي نشان ميدهد با اسـتفاده از آزمـون آماري *Anova* و آزمون مقايسه ميانگين ها (Schefeh) در شروع بررسي و هفتـه اول درمـان هيچگونـه اخـتلاف معني‌داري در بـين گروههـا مـشاهده نـشد ($p>۰/۰۱$) و چنانچه در جدول ۱ مشاهده مي شود ميانگين قطر زخم‌ها اختلاف زيادي با هم ندارند ولي ايـن اخـتلاف بـه مـرور زمان بارزتر شده و از هفته سوم تا هفته شـشم درمـان در بين گروه درمان (بـره مـوم) و گروههـاي ديگـر (كنتـرل، الكل، گلوكانتيم) اخـتلاف معنـي دار مـشاهده مـي شـود ($p< ۰/۰۰۰۱$).

بين ميانگين زخم در گروه كنترل، در طول مطالعـه اختلاف معني‌داري وجود دارد كه اين اخـتلاف در جهـت روند توسعه زخم مي‌باشد ولي در گروه گلوكانتيم و الكل اين اختلاف معني دار نيست. در گروه درمان بين ميـانگين زخم در طول دوره درمـان اخـتلاف معنـي‌داري مـشاهده شده كه در روند بهبودي زخم مي باشد ($p< ۰/۰۰۰۱$) .

در پايان مطالعه تمام گروه‌هاي گلوكانتيم، الكل، بره موم از لحاظ ميانگين قطر زخم در مقايسه با گـروه شـاهد اختلاف معني داري را نشان مي دهند ($p<۰/۰۰۰۱$) .

به منظور اطمينان از بهبودي كامل زخـم، در پايـان هفته هشتم از محل ضـايعه بهبـود يافتـه در گـروه تيمـار (پروپوليس) آزمايش مستقيم انگل شناسي بعمل آمد كه نتايج آن نشان ميدهد ۶۰% از موش هاي بهبود يافتـه كـه در محـل ضايعه فاقد جسم ليشمن مي باشند ولي ۴۰% ديگـر عليـرغم بهبود ظاهري هنوز انگل مشاهده شد(به تعداد كم).

نتايج حاصل از تيمار ۴ گروه مورد مطالعه در جـدول شماره ۱ و نمودار شماره ۱ مشاهده مي شود. نتايج حاصل از بررسي نشان مي دهد كه با استفاده از آزمون آماري Paried T- test اختلاف معني داري بين ميانگين قطر زخم ها قبـل و پـس از درمـان در گـروه شـاهد و بـره مـوم مـشاهده گرديد($p< ۰/۰۵$). براساس ارقـام جـدول شـماره ۱، انـدازه زخم ها در موشهاي دريافت كننده گلوكـانتيم از ۴/۰۴ ميلـي متر به ۴/۷۴ ميلي متر در پايـان دوره درمـاني رسـيده اسـت، بنابراين استعمال گلوكانتيم بـه صـورت سيـستميک تـأثير در كنترل توسعه ضايعات ليشمانيوز جلدي در مدل آزمايشگاهي داشته است ولي اين تأثير در جلوگيري از روند توسعه قابـل ملاحظه نيست. در پايان هفته هشتم از زخم هاي گروههـاي مورد بررسي نمونه برداري شده و از نظر پارازيتولوژي مورد بررسي قرار گرفتند. در گروه پروپوليس (۴ موش مثبـت و ۶ موش منفي) گزارش گرديد. درمان ۴ موش مثبت درمان شده با بره موم تا ۲ هفته ديگر با لوسيون مذكور ادامه يافـت و از اين ۴ موش، ۳ موش بهبود يافته و آزمايش پارازيتولوژي آنها نيز منفي شد و تنها ۱ موش مثبت گزارش شد. بعـد از اتمـام آزمايـشات، موشـهاي گـروه تيمـار از لحـاظ طحـال و كبـد بررسي شدند و آزمايشات پارازيتولوژي روي آنها منفي شد.

بحث

در ابتدا تمام گروهها داراي ميانگين زخم نسبتاً يكسان بوده و تا هفته اول بين گروهها اختلافي از لحاظ قطـر زخـم مشاهده نشده است. اين تفاوت ها در انـدازه زخـم از هفتـه سوم مشهود شد. در جدول شماره۱ مـشاهده مـي شـود كـه روند زخم در گروه كنتـرل سـريعا رو بـه توسـعه بـوده و از حدود۵ ميليمتر در شروع درمان به حدود ۱۰/۵ ميليمتر يعني بيش از دو برابر رسيده است كه اين آلودگي احتمـالاً همـراه با عفونت ثانويه بوده است ولي در گروه گلوكانتيم كه درمان

استاندارد را دريافت كرده اند اين روند تا حدودي كنترل شده وگرچه تا اواخر هفته سوم روند زخم رو به توسعه بوده ولي در انتهاي هفته ششم روند بهبودي را طي كرده و ميانگين اندازه زخم در اين گروه كاهش يافته است.در گروه دريافت كننده الكل، نيز با روند توسعه زخم روبرو هستيم ولي اين روند بسيار ملايم بوده و ميانگين اندازه زخم ها از ۴/۲۷ نهايتاً به ۴/۸۰ رسيده است كه در مقايسه با گروه شاهد روند پيشرفت زخم بسيار كمتر بوده و احتمالا بدليل توانايي الكل در پيشگيري از عفونت ثانويه مي باشد و مي توان اينطور نتيجه گيري كرد كه يكي از عوامل مهم توسعه زخم هاي ليشمانيوز عفونت‌هاي ثانويه مي باشد. در گروه درمان در مقايسه با گروههاي ديگر تفاوت هاي اساسي به چشم مي خورد. اختلاف در ميانگين زخم ها در طول دوره درمان معني دار مي باشد و روند بهبودي زخم كاملاً مشهود است. چنانچه در جدول شماره ۲ ملاحظه مي شود ميانگين اندازه زخم ها در شروع بررسي حدود ۴/۲۸ بوده كه در انتهاي دوره درمان اين ميانگين به نصف تقليل يافته است. بررسي تأثير موضعي عصاره بره موم در محيط In vivo براي اولين بار در ايران و جهان انجام مي شود.مطالعاتي نيز در جهان انجام شده كه در آنها تأثير اينگونه داروها بصورت موضعي در درمان بيماريها بررسي شده است (Fournot 1992).

همانگونه كه اشاره شد بره موم تأثير قابل ملاحظه اي بر زخم حاصل از ليشمانيوز داشته است و آزمون هاي آماري هم در انتهاي درمان اختلاف معني داري را بين گروه درمان و ساير گروهها نشان مي دهد (جدول۱).

بر روي تأثير مواد مختلف از جمله بره موم بر رشد ليشمانيا ماژور در In vitro نيز مطالعاتي انجام شده و غلظت هاي مختلف بره موم را بر انگل ليشمانيا اثر داده و آثار درماني آن را مشاهده كرده اند. در اين مطالعه نشان داده شده كه اين ماده اثر كشندگي قابل توجهي بر جسم ليشمن (ليشمانياماژور) داشته است (Savoia 1998). احتمالاً اين اثر بره موم بواسطه تأثير آن در تقويت سيستم ايمني مي باشد. در مطالعه اي كه بر روي تأثير محلول هيدروالكلي بره موم بر فعاليت Killer cell ها انجام شد، مشاهده گرديد كه اين ماده فعاليت سيتوتوكسيک سلولهاي قاتل را افزايش داده و از اين طريق مي تواند باعث افزايش فعاليت ضد باكتريايي و ضد پروتوزوئري بدن گردد (Sforcin et al. 1995). در مطالعه اي ديگر نيز افزايش فعاليت سلولهاي سيتوتوكسيک عليه توكسوپلاسما گوندي نشان داده شد (Hunter 2001). همچنين محققان به نقش بره موم در كشتن آماستيگوتهاي ليشمانيا دونواني از طريق آزاد شدن اسيد نيتريک و فاكتور نكروز دهنده تومور از ماكروفاژها در In vitro اشاره نموده‌اند (Mustonen 2001). گزارشات متعدد حاكي است بره موم علاوه بر ليشمانيوز در مهار طيف وسيعي از بيماريهاي پروتوزوئري همچون تريكوموناس، آميبياز، توكسوپلاسموز و ژياردیوز نقش موثري دارد (Klinghardt 2005). در اين خصوص تأثير درماني و بازدارندگي عصاره الكلي بره موم (EEP) بر روي تريكوموناس واژينالیس (Suchy 1978; Staryzyk 1977). و توكسوپلاسما گوندي (پس از يک تماس ۲۴ ساعته) بررسي و مشخص شده است (Staryzyk 1977).

تحقيقات نشان داده است بره موم داراي اثرات ضد قارچي نيز مي باشد. محققين در مطالعه اي نشان داده اند عصاره الكلي اين ماده بر روي تريكوفيتون روبروم و تريكوفيتون منتاگروفايتيس اثر قابل ملاحظه اي داشته است و اين ماده بعنوان يک ماده داراي فعاليت ضد قارچي موثر در مقايسه با ساير داروها معرفي شده است (روش مطالعه ميكروديلاسيون بوده است)(Koc 2005).

نتيجه گيری

با توجه به نتايج حاصل از اين مطالعه و مقايسه با نتايج مطالعات گذشته نشان مي دهد كه بره موم در بهبودي زخم سالک تأثير خوبي داشته است. انجام اين مطالعه نشان داد كه احتمالاً ۶ هفته براي بررسي اثر بره موم روي زخم ليشمانيوز كافي نيست و در طي ۶ هفته اثر بره موم روي انگل سطحي است و اگر مدت زمان بيشتري بره موم را براي

درمان زخم بكار ببريم احتمالاً بعد از قطع درمان آزمايش پارازيتولوژي از محل زخم ها شايد تعداد بيشتري از موشها (بيش از ۴۰%) از نظر وجود انگل منفي مي شوند.

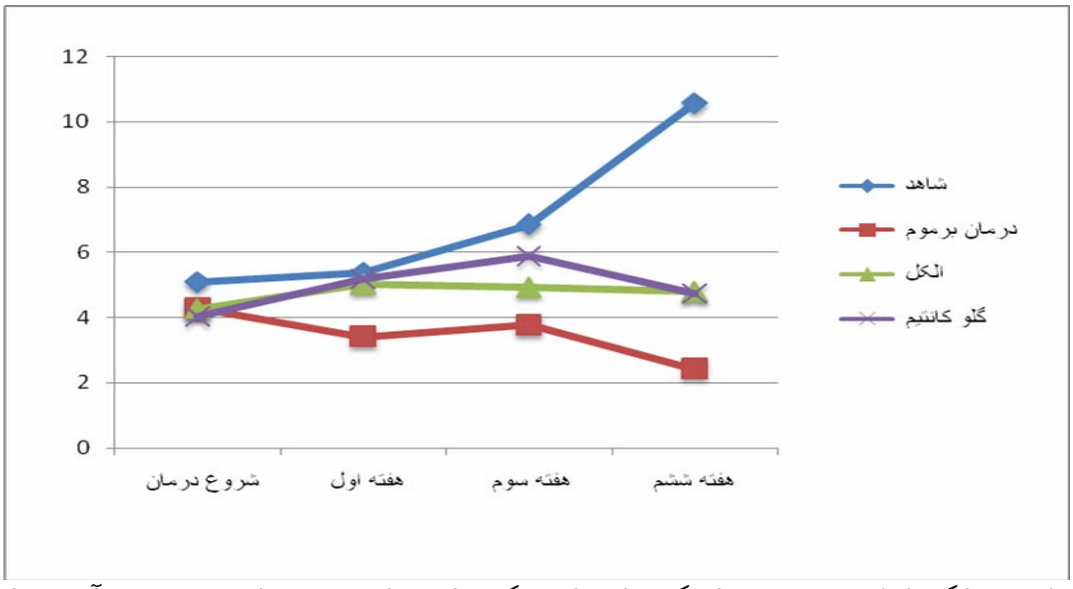
لذا پيشنهاد مي گردد كه اين مطالعه با عصاره هيدروالكلي بره موم در پايه ژل جهت ماندگاري بيشتر بر روي ضايعه در موشهاي Balb/c در مدت زمان طولاني تر تكرار گردد. همچنين تحقيق در مورد تأثير محصولات ديگر زنبور عسل بر روي اينگونه ضايعات پيشنهاد مي شود.

تشكر و قدرداني

در انتها از كاركنان محترم شركت گل دارو، مركز تحقيقات بيماريهاي پوستي و سالک اصفهان بخصوص خانمها صديقه صابري و آزاده ذوالفقاري قدرداني مي گردد.

جدول ۱- مقايسه اندازه زخمهاي ليشمانيوز جلدي در موشهاي بالب سي تحت درمان با عصاره بره موم و گروههاي شاهد

رديف	قطر زخم (ميلي متر) گروههاي درماني	قبل از درمان $\overline{X}\pm SE$	پس از درمان $\overline{X}\pm SE$	*Pvalue*
۱	گروه شاهد	۵/۰۹ ±۰/۴۵	۱۰/۵۶±۰/۶۶	<۰/۰۰۱
۲	گروه الكل خالص	۴/۲۷±۰/۲۷	۴/۸۰±۰/۶۰	۰/۴۴۶
۳	گروه گلوكانتيم	۴/۰۴±۰/۹۳	۴/۴۰±۰/۹۸	۰/۰۵۷
۴	گروه بره موم	۴/۲۸±۰/۱۹	۲/۴۲±۰/۳۶	< ۰/۰۰۰۱



نمودار ۱- ميانگين اندازه زخم در موشهاي گروههاي شاهد و گروههاي درماني در هفته هاي مورد بررسي ،آزمون مقايسه ميانگين هاي **Schefeh**

منابع

اردهالي، ص.، رضايي ، ح. ر.، نديم،ا.، ۱۳۷۳. انگل ليشمانيا و ليشمانيوزها ، تحرير دوم ، مركز نشر دانشگاهي تهران- صفحه ۲۰۸.

يعقوبي ارشادي، م. ر.، ۱۳۷۵. بررسي وضع فعلي اپيدميولوژيک ليشمانيوز جلدي در بخش هايي از كانون اندميک اصفهان به منظور طرح پيشنهاد برنامه هاي كنترل، پايان نامه جهت دريافت درجه دكتري در رشته حشره شناسي پزشكي و مبارزه با ناقلين ،دانشكده بهداشت ، دانشگاه علوم پزشكي تهران، شماره ۲۰۶۷.

Ahn, MR., 2004. Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of Korea. *J Agric Food Chem.* Dec 1; **52**(24), pp. 7286-92.

pharmaceutical formulations.] Pharm Biomed Anal May 19.

Mustonen, AM., 2001. Killing of Amastigotes of leishmania donovani and release of nitric oxide and tumor necrosis factor a inmacrophages in-vitro. *Zeitschrift fur naturforschunge.* **56**, pp. 437.

Savoia, D., 1998. In-vitro activity of different substances on the growth of Leishmania major. The Journal of Eukaryotic Microbiology .Italian Section Society Of Protozoologist. *19th Annual Metting,* pp. 27-28.

Scifo, C., 2004. Resveratrol and Propolis as necrosis or apoptosis inducers in human prostate carcinoma cells. *Oncol Res.* **14**(9), pp. 415-26.

Sforcin, JM., 2002. Absence of seasonal effect on the immunomodulatory action of brazilian propolis on natural killer activity. J. Venom. Anim. Toxins vol.8 n. Botucatu.

Sforcin JM, Fernandes A Jr, Lopes CA, Bankova V, Funari SR ,2000. Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. *J Ethnopharmacol*; **73**(1-2):243-9.

Silici, S. and Kutluca, S., 2005. Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. *J Ethnopharmacol.* 13; **99**(1), pp. 69-73.

Starzyk, J., 1977. Biological properties and clinical application of propolis .II. Studies on the antiprotozoan activity of ethanol extract of propolis. *Arzneimittelforschung,* **27**(6), pp. 1198-9.

Suchy, H., 1978. Efficiency of propolis in the treatment of trichomonas vaginalis invitro and invivo. The third international symposium on apitherapy porotoroz, Yugoslavia, pp. 160-61, French, pp.161-62, German, pp. 16.

WHO., 1993. Report of global surveillance of epidemic – prove infection disease leishmaniasis WHO/ Publication/CSR-LSK 2006.

WHO., 2001. Tropical Disease Research. www.who.intdr/cd-publications.

Bratter, C., 1999. Prophylactic effectiveness of propolis for immunostimulation: a clinical pilot study. *Forsch komplementarmed.* **6**(5), pp. 256-260.

Brown, H.W. and Franklin, A.N., 1987. Basic clinical parasitilogy. *Appleton - Century- crofts USA,* pp. 67-76 & 273-274.

Fernandes, Jr.A., l995. lnvitro activity of propolis against bacterial and yeast pathogens isolated from human infections. *J. Venom. Anim. Toxins*, **l**(2), Botucatu.

Fournot, A., 1992. Effect of natural naphtoquinones in Balb/c mice infected with Leishmania amazonensis and Leishmania venezulensis, *Trop. Med. Parasitol*, **43**(4), pp. 219-222.

Grange, JM., and Davey, RW., 1990. Antibacterial properties of propolis (bee glue). *Journal of the Royal Society of Medicine.* **83,** pp. 85-9.

Hunter, CA., 1995. Transforming growth factor- β inhibits interleukin -12-induced production of interferon -gama by natural killer ce11s:arole for transforming growth factor-β in the regulation of T cell-independent resistance to Toxoplasma gondii. *Eur. I. lmmunol,* **25**, pp. 994-1000.

Kettel, DS., 1995. Medical and veterinary Entomology - CAB International U.K. pp.177-191 & 627-637.

Klinghardt K. ,2005. Lyme Disease :A look beyond antibiotics. Explor, *infection diseases,* **14**(2).

Koc, AN., 2005. Comparison of in vitro activities of antifungal drugs and ethanolic extract of propolis against Trichophyton rubrum and T .mentagrophytes by using a micro dilution assay. *Mycoses.* **48**(3), pp. 205-10.

Marquele, FD., 2005. Assessment of the antioxidant activities of Brazilian extracts of propolis alone and in topical