

تأثیر مخلوط عصاره‌های هیدروالکلی آویشن شیرازی، بومادران و بره موم در درمان لیشمانیوز جلدی روستایی: مدل حیوانی Balb/c

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۷/۰۲/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۷/۰۴/۰۴

چکیده

لیلا شیرانی بید آبادی^۱، محسن محمودی^{۲*}، صدیقه صابری^۳، آزاده ذوالفقاری باغبادرائی^۱، محمدعلی نیلفروش زاده^۴، حمید عبدلی^۲، فریبرز معطر^۵، سیدحسین حجازی^۳

۱- مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی صدیقه طاهره(س)، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ۲- مرکز آموزش و تحقیقات بهداشتی اصفهان، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ۳- گروه آنکلسناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ۴- مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، مرکز بیماری‌های پوست دانشگاه علوم پزشکی تهران، ۵- شرکت گل‌دارو، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

* نویسنده مسئول: اصفهان، صندوق پستی ۳۳۴-۸۱۴۶۵ مرکز آموزش و تحقیقات بهداشتی اصفهان
تلفن: ۵۵۱۲۹۵۵-۰۳۱۱
email: mmahmoodi@sina.tums.ac.ir

زمینه و هدف: داروهای متعددی در درمان لیشمانیوز جلدی به کار گرفته شده و علیرغم تأثیر، عوارض ناشی از آنها و مقاومت دارویی توجه بیشتر به داروها با منشاء طبیعی معطوف شده است. در این تحقیق ماده‌ای موسوم به بره موم که حاصل فعالیت زنبور عسل بر روی گیاهان می‌باشد، همچنین عصاره‌های گیاهی بومادران و آویشن پیشنهاد می‌گردد. هدف این مطالعه دسترسی به فرمولاسیون دارویی فاقد مواد شیمیایی مضر و بدون عوارض جانبی و موثر می‌باشد. **روش بررسی:** هفت گروه موش آزمایشگاهی نژاد Balb/c مطالعه شد. آلوده کردن موش‌ها با تلقیح ۰/۱ ml سوسپانسیون که حاوی دو میلیون پروماستیگوت لیشمانیا مازور سوش (MRHO/IR/75/ER) بوده و در قاعده دم موش‌ها صورت گرفت. با استعمال دارو در محل زخم روزی دو نوبت به مدت شش هفته و سپس با اندازه‌گیری قطر زخم‌های ایجاد شده اثر درمانی دارو در بهبودی زخم بررسی شد. **یافته‌ها:** اختلاف معنی‌داری بین میانگین قطر زخم‌ها قبل و پس از درمان در گروه شاهد، بومادران، آویشن و بره موم مشاهده شد ($p < 0/05$). این آزمون بین میانگین قطر زخم‌ها پس از درمان در گروه‌های تحت درمان با عصاره‌های گیاهی، گروه‌های سه‌گانه شاهد و گروه گلوکانتیم اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($p > 0/05$). **نتیجه‌گیری:** عصاره هیدروالکلی آویشن و بومادران در التیام زخم سالک تأثیر خوبی داشته‌اند، لذا پیشنهاد می‌گردد که این مطالعه با عصاره هیدروالکلی گیاهان آویشن و بومادران در پایه ژل یا پماد و در مراحل ابتدایی ظهور ضایعه در موش‌های بلب سی تکرار گردد.

کلمات کلیدی: لیشمانیوز جلدی روستایی، بومادران، آویشن، بره موم.

مقدمه

در سال ۱۳۷۱، میزان وفور لیشمانیوز جلدی برابر ۹۱ مورد در صد هزار نفر رسیده است.^۱ بره موم، ماده قهوه‌ای رنگ مایل به سبز می‌باشد که توسط زنبور عسل از جوانه‌های بید، چنار، کاج، صنوبر و بلوط هندی جمع‌آوری می‌شود.^۲ مطالعات متعدد نشان داده‌اند که بره موم به میزان زیادی خواص ضد باکتریایی، ضد پروتوزوئری، ضد قارچی و ضد ویروسی دارد. تأثیر بازدارندگی آن حداقل روی ۲۱ گونه باکتریایی (از جمله استاف‌آرئوس مقاوم به درمان چنددارویی "MRSA")،^۳ ۹ گونه قارچی و طیف وسیعی از ویروس‌ها (مثل هرپس و آنفولانزا) دیده شده است. در ارتباط با بیماری‌های پروتوزوئری، توانسته‌اند به نقش بره موم علیه بیماری‌هایی مثل تریکومونیا، توکسوپلاسموز، آمیبیازیس، ژباردیوز، لیشمانیوز و چند بیماری پروتوزوئری دیگر پی ببرند. این تأثیر بره موم احتمالاً به واسطه تحریک فعالیت سیتوتوکسیکی سلول‌های NK می‌باشد.^{۸-۱۲}

سازمان جهانی بهداشت بیماری لیشمانیوز (Leishmaniasis) را در ردیف شش بیماری مهم انگلی مناطق گرمسیری دنیا معرفی کرده است، در حال حاضر ۸۸ کشور جهان به انواع مختلف این بیماری آلوده می‌باشند و تعداد موارد جدید بیماری سالانه دو میلیون نفر تخمین زده می‌شود که از این تعداد، ۱/۵ میلیون مورد لیشمانیوز جلدی و ۵۰۰ هزار لیشمانیوز احشایی است. ۹۰٪ لیشمانیوز جلدی جهان از کشورهای افغانستان، برزیل، ایران، پرو، عربستان سعودی و سوریه گزارش شده است.^{۱-۴} متأسفانه تعداد مبتلایان به انواع این بیماری در جهان رو به افزایش است. در ایران لیشمانیوز جلدی (خشک و مرطوب) از بیماری‌های مهم انگلی بوده و می‌توان گفت بعد از مالاریا مهمترین بیماری منتقله توسط بندپایان است.^{۵-۶} بیماری در ایران از سال ۱۳۶۸ به بعد افزایش چشمگیری داشته، به طوری که

۲- گروه بندی موش‌ها: در این مطالعه تعدادی موش نژاد Balb/c تهیه شده و در حیوان‌خانه مرکز آموزش و تحقیقات بهداشتی اصفهان نگهداری می‌شدند. میزان ۰/۱ میلی‌لیتر سوسپانسیون انگلی که حاوی دو میلیون انگل پروماستیگوت لیسمانیا ماژور با کد MRHO/IR/75/ER می‌باشد، به صورت زیر جلدی به کلیه موش‌ها با استفاده از سرنگ انسولین در محل قاعده دم موش‌ها در قسمت بدون مو تلقیح گردید. در این مرحله موش‌ها به هفت گروه (۹ سر در هر گروه) تقسیم گردید که شامل گروه‌های: ۱- گروه دریافت‌کننده انگل به‌تنهایی (بدون هیچ گونه مداخله درمانی و فقط جهت مقایسه با موش‌های دیگر). ۲- گروه دریافت‌کننده انگل و الکل اتیلیک (به‌عنوان پایه دارو). ۳- گروه دریافت‌کننده گلوکانتیم (۰/۰۲mg/kg)، ساخت کشور فرانسه). ۴- گروه دریافت‌کننده عصاره هیدروالکلی بومادران. ۵- گروه دریافت‌کننده عصاره هیدروالکلی آویشن. ۶- گروه دریافت‌کننده عصاره مخلوط بومادران، آویشن و بره موم. برای اطمینان از حضور انگل در زخم، قبل از درمان یک نمونه از زیر ندول تهیه شد و وجود انگل تأیید گردید. دوره درمانی شش هفته بود، که در این مدت عصاره الکی مورد نظر و الکل روزی دو بار بر روی موضع آلوده گروه‌های مورد نظر مالیده می‌شد. زخم‌ها دو هفته یک‌بار، اندازه‌گیری می‌گردید. برای اندازه‌گیری زخم از روش اندازه‌گیری دو بعدی با فرمول $S = \frac{D+d}{2}$ بر حسب میلی‌متر مربع استفاده گردید (D قطر بزرگ و d قطر کوچک زخم و S مساحت زخم). در انتهای مطالعه (دو هفته پس از درمان) مجدداً آزمایشات انگل‌شناسی (اسمیر مستقیم) از لحاظ وجود اجسام لیشمن در ضایعات انجام شد و از هر زخم دو عدد گسترش تهیه گردید. نوع مطالعه تجربی و نتایج با استفاده از آزمون آماری Paired t test، ANOVA و مقایسه میانگین‌ها با آزمون آماری Scheffeh با توان ۲۰٪ و سطح معنی‌داری ۹۵٪ توسط نرم‌افزار SPSS ویراست ۱۲ بررسی شدند. ملاحظات اخلاقی در مورد موش‌ها کاملاً رعایت می‌گردید. ۱- موش‌های گروه شاهد قبل از تزریق گلوکانتیم بی‌هوش می‌شدند. ۲- موش‌های ماده باردار از مطالعه خارج گردیدند. ۳- به موش‌ها روزانه آب و غذای مخصوص حیوانات آزمایشگاهی داده می‌شد. ۴- در انتهای مطالعه کلیه موش‌ها به روش Euthanasiahc از بین برده شدند. جهت تأثیر مثبت عصاره‌ها بار انگلی طحال در هر گروه قبل از شروع درمان و در پایان کار به‌طریق

فرآورده‌های گیاهی موثر بر سالک شامل: Iridoids, Terpenes, Indole analogues, Alkaloid, Quinones و غیره می‌باشد که بسیاری از آنها در گیاهان آویشن شیرازی و بومادران وجود دارد. هدف روش‌های مختلف درمانی در سالک، ایجاد مصونیت در بیمار، بهبودی سریع زخم، عدم ایجاد جوشگاه و جلوگیری از عفونت ثانویه است. با وجود شناخت طولانی این بیماری درمان قاطعی برای آن وجود ندارد. داروی مناسب باید کم‌عارضه، ارزان‌قیمت و در دسترس بوده، از نظر نوع استفاده به صورت موضعی استعمال و در این مطالعه از محلول بره‌موم (پروپولیس)، عصاره هیدروالکلی بومادران و آویشن شیرازی استفاده شد.

روش بررسی

مطالعه در مرکز تحقیقات بیماری‌های پوست و سالک دانشگاه علوم پزشکی اصفهان و مرکز آموزش و تحقیقات بهداشتی اصفهان، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران در سال ۱۳۸۵ انجام گردید. ۱- تهیه عصاره‌ها: ابتدا مخلوط ۳۰ درصد الکل اتیلیک و بره موم (به‌واسطه حلالیت کم بره موم تقریباً دو برابر مقدار مورد نیاز بره موم در مخلوط استفاده شد) تهیه شده و این مخلوط به‌خوبی هم زده می‌شد. این عمل روزی یک یا دو بار به مدت سه روز تکرار می‌گردید. سپس مخلوط در مکانی گرم و تاریک به مدت یک تا دو هفته قرار داده شد و بعد از این مدت صاف گردید و ماده صاف شده به مدت یک روز در دمای ۴-۱ درجه سانتیگراد (در یخچال) قرار گرفته و سپس محلول دوباره فیلتر شد. جهت خارج نمودن الکل باقیمانده از محلول به دست آمده و تهیه عصاره خالص بره موم، به وسیله دستگاه سوکسله عمل تقطیر در خلاء انجام گردید. عصاره حاصله در شیشه‌های غیر قابل نفوذ و تیره نگهداری گردید. آویشن و بومادران مورد استفاده در این بررسی ابتدا از خار و خاشاک جدا گردید و سپس با آسیاب الکتریکی خرد و از الک شماره ۱۰ عبور داده شد. پودر حاصله به نسبت یک به یک با الکل اتیلیک ۸۰ درجه مخلوط و سپس به نسبت پنج به یک (با حلال ماده گیاهی) به روش پرکولاسیون مطابق دستورالعمل فارماکوپه ۱۰ آلمان به مدت ۷۲ ساعت عصاره‌گیری شد. سپس عصاره به دست آمده تا حد خروج تمام الکل با دستگاه تبخیر در خلاء دوار تقطیر و عصاره آویشن و بومادران حاصله آماده بهره‌برداری در مرحله بعدی گردید.

آویشن و بره موم مشاهده می‌شود ($p < 0.05$). براساس ارقام جدول ۱، اندازه زخم‌ها در موش‌های دریافت‌کننده گلوکانتیم از ۴/۰۴ میلی‌متر به ۴/۷۴ میلی‌متر در پایان دوره درمانی رسیده است، بنابراین استعمال گلوکانتیم به‌صورت سیستمیک تأثیر قابل‌توجهی در کنترل ضایعات لیشمانیوز جلدی در مدل آزمایشگاهی نداشته است. میانگین اندازه زخم نشان می‌دهد که در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره گیاهی، عصاره‌های هیدروالکلی آویشن و بومادران تأثیر خوبی بر جلوگیری از روند توسعه زخم داشته و آزمون آماری نشان می‌دهد در هفته ششم در گروه‌های آویشن و بومادران بین میانگین قطر زخم‌ها قبل و پس از درمان اختلاف معنی‌داری مشاهده می‌گردد (شکل ۳ و ۶) اما اختلاف معنی‌داری بین میانگین قطر زخم‌ها پس از درمان با عصاره‌های گیاهی و گروه تحت درمان با گلوکانتیم مشاهده نگردید ($p > 0.05$). درمان چهار موش مثبت درمان شده با بره موم تا دو هفته دیگر با لوسپون مذکور ادامه یافت و از این چهار موش سه موش بهبود یافته و آزمایش پارازیتولوژی (اسمیر مستقیم) آنها نیز منفی شد. بعد از اتمام آزمایشات، طحال موش‌های گروه درمان از لحاظ بار انگلی بررسی و آزمایشات پارازیتولوژی (اسمیر مستقیم) آنها منفی گردید.

بحث

عصاره‌های گیاهی استفاده شده در این مطالعه به‌صورت موضعی به‌کار رفته‌اند. از این نظر، با مطالعه Fournot شباهت دارد.^{۱۵} Savoia تأثیر مواد مختلف از جمله بره موم را بر رشد لیشمانیا ماژور در *In-vitro* بررسی و آثار درمانی غلظت‌های مختلف آن‌را را بر لیشمانیا مشاهده نمود.^{۱۶} در این مطالعه این ماده اثر کشندگی قابل توجهی بر جسم لیشمن (لیشمانیا ماژور) داشته است. Sforcin مطالعه‌ای بر روی تأثیر محلول هیدروالکلی بره موم بر فعالیت Killer cellها انجام داد و

زیر محاسبه شد. طحال را جدا کرده وزن نموده حدود ۲۰mg آن‌را بین دو لام شیشه‌ای استریل در محیط کشت *Insect grace medium* هموزنیزه کرده و تا غلظت ۱mgr/ml با همان محیط کشت رقیق می‌گردید. سوسپانسیون بافت هموزنیزه رقیق‌شده را در پلیت‌های ۹۶تایی کاشته و به‌مدت سه هفته در دمای ۲۶°C نگهداری و جهت ارزیابی پرو ماستیگوت‌های زنده سه روز پیاپی پلیت چک می‌شد و بیشترین رقتی که در آن پارازیت مثبت گزارش شد، به‌عنوان غلظت پارازیت در میلی‌گرم بافت گزارش می‌شد. بار انگلی کل بافت با توجه به وزن کل بافت محاسبه می‌شد.

یافته‌ها

در این بررسی هفت گروه موش‌های آزمایشگاهی (Balb/c) مورد مطالعه قرار گرفتند که نتایج آن در جدول ۱ و ۲ و نمودار ۱ قابل مشاهده است. نتایج حاصل از بررسی نشان می‌دهد که با استفاده از آزمون آماری Paired t test، ANOVA و آزمون مقایسه میانگین‌ها Schefeh در شروع بررسی و هفته اول درمان هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری در بین گروه‌ها مشاهده نشد ($p > 0.05$). در هفته سوم درمان در بین گروه‌های بره موم و شاهد از نظر قطر زخم‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید ($p < 0.05$). در هفته ششم درمان در بین گروه‌های گلوکانتیم، الکل، آویشن شیرازی، بومادران، بره موم و عصاره مخلوط با گروه شاهد از نظر قطر زخم‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید ($p < 0.05$). این آزمون اختلاف معنی‌داری را بین میانگین قطر زخم‌ها پس از درمان در گروه‌های تحت درمان با عصاره‌های گیاهی و دیگر گروه‌های سه‌گانه شاهد نشان می‌دهد. نتایج حاصل از بررسی نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری بین میانگین قطر زخم‌ها قبل و پس از درمان در گروه شاهد، بومادران،

جدول ۱: میانگین اندازه زخم‌های لیشمانیوز جلدی در موش‌های Balb/c تحت درمان با عصاره‌های گیاهی و گروه‌های شاهد (Mean±SD)

گروه‌های درمانی	تعداد	قطر زخم در شروع بررسی	قطر زخم در هفته اول	قطر زخم در هفته سوم	قطر زخم در هفته ششم
شاهد	۹	۵/۰۹±۱/۵۹	۵/۳۸±۱/۳۰	۶/۸۵±۱/۷۹	۱۰/۵۶±۲/۲۹
گلوکانتیم	۹	۴/۰۴±۲/۲۹	۵/۱۸±۱/۱۰	۵/۸۸±۰/۶۷	۴/۷۴±۲/۴۰
الکل	۹	۴/۲۷±۰/۹۶	۵/۰۲±۰/۹۸	۴/۹۳±۱/۱۶	۴/۸۰±۲/۰۸
آویشن	۹	۵/۳۹±۰/۹۲	۴/۶۱±۰/۶۵	۳/۹۰±۲/۱۷	۳/۵۲±۱/۸۸
بومادران	۹	۴/۳۵±۱/۲۹	۴/۲۰±۰/۹۰	۳/۳۲±۱/۷۳	۲/۷۰±۱/۷۵
بره موم	۹	۴/۲۸±۰/۶۷	۳/۴۱±۱/۰۷	۳/۷۶±۱/۷۹	۲/۴۲±۱/۲۵
عصاره مخلوط	۹	۴/۶۸±۲/۶۱	۴/۹۶±۲/۱۴	۵/۷۰±۳/۱۴	۶/۳۷±۴/۴۹

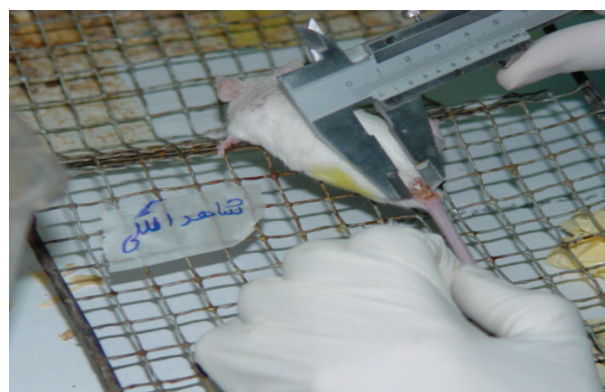
مقادیر بر حسب میلی‌متر آورده شده‌اند

جدول ۲: مقایسه اندازه زخم‌های لیثمانیوز جلدی در موش‌های بالب سی تحت درمان با عصاره‌های گیاهی و گروه‌های شاهد (میلی‌متر)

P*	اختلاف $\bar{D} \pm SE$	قطر زخم پس از درمان $\bar{X} \pm SE$	قطر زخم قبل از درمان $\bar{X} \pm SE$	تعداد	گروه‌های درمانی
<۰/۰۰۱	-۵/۴۷±۰/۶۵	۱۰/۵۶±۰/۶۶	۵/۰۹±۰/۴۵	۹	شاهد
۰/۴۴۶	-۰/۵۳±۰/۶۶	۴/۸۰±۰/۶۰	۴/۲۷±۰/۲۷	۹	الکل خالص
۰/۰۵۷	-۰/۷±۰/۲۸	۴/۷۴±۰/۹۸	۴/۰۴±۰/۹۳	۹	گلوکانتیم
۰/۰۲۴	۱/۶۵±۰/۳۶	۲/۷۰±۰/۷۸	۴/۳۵±۰/۵	۹	بومادران
۰/۰۵۰	۱/۸۷±۰/۶۷	۳/۵۲±۰/۸۴	۵/۳۹±۰/۴۱	۹	آویشن
<۰/۰۰۱	۱/۸۶±۰/۳۳	۲/۴۲±۰/۳۶	۴/۲۸±۰/۱۹	۹	بره موم
۰/۲۷۶	-۱/۶۹±۱/۴۸	۶/۳۷±۱/۲۰	۴/۶۸±۰/۶۹	۹	عصاره مخلوط

*آزمون آماری Paired t-test مقادیر $p < 0.05$ معنی‌دار می‌باشد

شکل ۴: موش بهبود یافته (گروه بره موم)



شکل ۱: نحوه اندازه‌گیری زخم موش‌ها در گروه‌های مختلف



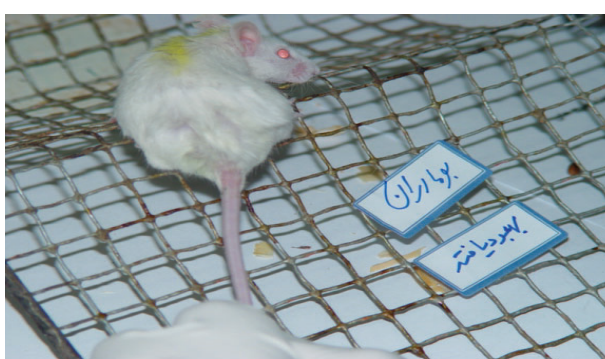
شکل ۵: موش بهبود نیافته (گروه عصاره مخلوط)



شکل ۲: یکی از موش‌های گروه شاهد (انگل تزریق شده)

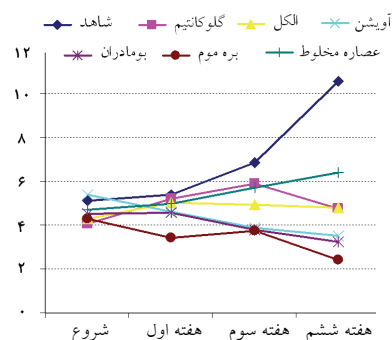


شکل ۶: موش بهبود یافته (گروه آویشن شیرازی)



شکل ۳: موش بهبود یافته (گروه بومادران)

مهار بیماری‌های پروتوزوئری همچون تریکوموناس، آمیبیاز، توکسو-پلاسموز و ژیاودیوز اشاره نمود.^{۱۱} Staryzyk اثر کشندگی عصاره الکلی بره‌موم (EEP) را بر تریکوموناس واژینالیس مشاهده کرد و همچنین نشان داد عصاره مذکور پس از ۲۴ ساعت قادر است توکسو-پلاسمو گوندی را از بین ببرد.^{۱۹} Suchy تأثیر درمانی و بازدارندگی رشد پروپولیس را در درمان تریکوموناس واژینالیس نشان داد.^{۲۰} Koc در تحقیق خود به اثر ضد فارچی بره‌موم اشاره نمود.^{۲۱} با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه و مقایسه با مطالعات گذشته، عصاره هیدرو-الکلی آویشن، بومادران و بره‌موم نسبت به مخلوط عصاره‌های گیاهی مذکور در بهبودی زخم سالک تأثیر خوبی داشته است. در این مطالعه عصاره‌های گیاهی مورد استفاده در مقایسه با گلوکانتیم و داروهای دیگر تأثیر قابل توجهی در کاهش اندازه و بهبودی زخم‌ها داشته است، لذا پیشنهاد می‌گردد که این مطالعه با عصاره هیدروالکلی گیاهان آویشن و بومادران در پایه ژل یا پماد و در مراحل ابتدایی ظهور ضایعه در موش‌های Balb/c تکرار گردد.



نمودار ۱: میانگین اندازه زخم در موش‌های گروه‌های شاهد و گروه‌های آزمون

مشاهده کرد این ماده فعالیت سیتوتوکسیک سلول‌های قاتل را افزایش داده و می‌تواند باعث افزایش فعالیت ضدباکتریایی و ضد پروتوزوئری بدن گردد.^{۱۷} Hunter در تحقیقی مشابه افزایش فعالیت سلول‌های سیتوتوکسیک علیه توکسوپلاسمو گوندی را نشان داد.^{۱۸} Mustonen در تحقیقی به نقش بره‌موم در کشتن آماستیگوت‌های لیشمانیا دونوانی از طریق آزاد شدن اسید نیتریک و فاکتور نکروزدهنده تومور از ماکروفاژها در *In vitro* اشاره کرد.^{۱۸} Klinghardt به نقش بره‌موم در

References

- World Health Organization. Report on global surveillance of epidemic-prone infectious diseases. Leishmaniasis. WHO/CDS/CSR/LSK, 2006.
- World Health Organization. Report by the secretariat control of leishmaniasis. EB 118/4. 11th, May 2006.
- Strategic Direction for Research. Leishmaniasis. Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases. Feb 2002. Available from: [http://www.who.int/tdr].
- Desjeux P. The increase in risk factors for leishmaniasis worldwide. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 2001.
- صائبی ا. بیماری‌های انگلی در ایران: بیماری‌های تک یاخته‌ای. چاپ سازمان انتشارات و آموزش انقلاب اسلامی، ۱۳۸۲.
- John DT, Petri WA. Markell and Vogue's Medical Parasitology. 9th ed.: St. Louis, MO: Elsevier Saunders; 2006.
- Pontin K, Da Silva Filho AA, Santos FF, Silva ML, Cunha WR, Nanayakkara NP, et al. In vitro and in vivo antileishmanial activities of a Brazilian green propolis extract. *Parasitol Res* 2008; 103: 487-92.
- Hunter CA, Bermudez L, Beernink H, Waegell W, Remington JS. Transforming growth factor-beta inhibits interleukin-12-induced production of interferon-gamma by natural killer cells: a role for transforming growth factor-beta in the regulation of T cell-independent resistance to *Toxoplasma gondii*. *Eur J Immunol* 1995; 25: 994-1000.
- Freitas SF, Shinohara L, Sforzin JM, Guimarães S. In vitro effects of propolis on *Giardia duodenalis* trophozoites. *Phytomedicin* 2006; 13: 170-5.
- Imhof M, Lipovac M, Kurz Ch, Barta J, Verhoeven HC, Huber JC. Propolis solution for the treatment of chronic vaginitis. *Int J Gynaecol Obstet* 2005; 89: 127-32.
- Klinghardt DK. Lyme disease: a look beyond antibiotics. *Explor Infect Dis* 2005; 14: 6-11.
- Scifo C, Cardile V, Russo A, Consoli R, Vancheri C, Capasso F, et al. Resveratrol and propolis as necrosis or apoptosis inducers in human prostate carcinoma cells. *Oncol Res* 2004; 14: 415-26.
- Chan-Bacab MJ, Peña-Rodríguez LM. Plant natural products with leishmanicidal activity. *Nat Prod Rep* 2001; 18: 674-88.
- Wichtl M. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals. Boca Raton, FL: CRC Press, 1994.
- Fournet A, Barrios AA, Muñoz V, Hocquemiller R, Cavé A. Effect of natural naphthoquinones in BALB/c mice infected with *Leishmania amazonensis* and *L. venezuelensis*. *Trop Med Parasitol* 1992; 43: 219-22.
- Savoia D. In vitro activity of different substances on the growth of *Leishmania major*. XIX Annual Meeting. Rome, Italy: Italian Section Society of Protozoologists, 1998.
- Sforzin JM, Kaneno R, Funari SRC. Absence of seasonal effect on the immunomodulatory action of Brazilian propolis on natural killer activity. *J Venom Anim Toxins* 2002; 8: 19-29.
- Mustonen AM, Nieminen P, Hyvarinen H, Asikainen J. Killing of Amastigotes of *Leishmania donovani* and release of nitric oxide and tumor necrosis factor alpha in macrophages in-vitro. *Zeitschrift Nature Forschung* 2001; 56: 437-43.
- Starzyk J, Scheller S, Szaflarski J, Moskwa M, Stojko A. Biological properties and clinical application of propolis. II. Studies on the antiprotozoan activity of ethanol extract of propolis. *Arzneimittelforschung* 1977; 27: 1198-9.
- Suchy H. Efficiency of propolis in the treatment of *Trichomonas vaginalis* in vitro and in vivo. The III International Symposium on Apitherapy. Porotoroz, Yugoslavia, 1978.
- Silici S, Koc AN. Comparative study of in vitro methods to analyse the antifungal activity of propolis against yeasts isolated from patients with superficial mycoses. *Lett Appl Microbiol* 2006; 43: 318-24.

The effectiveness of mix extracts of Thyme, Yarrow and Propolis on Cutaneous Leishmaniasis: a comparative study in animal model (Balb/c)

Received: May 01, 2008 Accepted: June 24, 2008

Abstract

Shirani-Bidabadi L.¹
Mahmoudi M.^{2*}
Saber S.³
Zolfaghari-Baghbaderani A.¹
Nilforoushzadeh M.A.⁴
Abdoli H.²
Moatar F.⁵
Hejazi S.H.³

1- Skin Diseases and Leishmaniasis Research Centre, Isfahan University of Medical Sciences

2- Research center of Training of Isfahan, School of Public Health and Institute of Public Health Research, Tehran University of Medical Sciences

3- Department of Medical Mycology & Parasitology, Isfahan University of Medical Sciences

4- Skin Diseases and Leishmaniasis Research Centre, Isfahan University of Medical Sciences, Research Center & Training of Leprosy and Skin Diseases, Department of Dermatology, Tehran University of Medical Sciences

5- Goldaroo Pharmacology Company, Pharmacology Faculty, Isfahan University of Medical Sciences

* Corresponding author: Research center of Training of Isfahan, School of Public Health and Institute of Public Health Research, Tehran University of Medical Sciences, P.O.Box:81465-334, Isfahan, IRAN
Tel: +98-21-311-5512955
email: mmahmoodi@sina.tums.ac.ir

Background: Though many therapeutic modalities have been suggested but still no definite treatment for Cutaneous Leishmaniasis is available. Many compounds including Alkaloid, Quinones, Iridoids, Terpenes, Indole analogue have been documented to have antileishmania activity invitro. On the other hand, the aforementioned compounds can be found in the herbs including Thyme, Yarrow. Propolis is a brown color substance that is collected by honey bee from plants. Regarding the lack of data about the possible efficacy of these herbs against leishmaniasis, we have decided to evaluate and compare the efficacy of herbal extract of Thyme, Yarrow, Propolis and systemic glucantime against cutaneous leishmaniasis in Balb/c, and to formulate drugs without harmful chemical material and without side effect.

Methods: During three weeks of inoculation of parasite in base tail of mice, lesions will appear in the inoculation site. The animals divided into seven groups. We used mix alcoholic extract solution two times a day, checked lesions weekly for six week and measured size of lesion in the base of tail with kulis- vernieh.

Results: We observed significant difference between mean of lesion diameter before and after treatment in control, Yarrow and Thyme groups ($p < 0.05$). Paired t test showed no significant difference between mean of lesion diameter after treatment between treatment and glucantime groups ($p > 0.05$).

Conclusion: Alcoholic extract to Thyme and Yarrow have good effect on lesions treatment, we suggest repeat of this study with Thyme and Yarrow extract in gel or cream base in first stage of lesions appearance.

Keywords: Cutaneous leishmaniasis, Balb/c, Thyme, Yarrow, propolis.