مقاله پژوهشی
(Original Article)

مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره پنجم ـ شماره اول ـ بهار ۹۰
صفحات ۸۳ الی ۸۹

اثر عصاره سیر بر میزان اینترلوکین-۱۲و اینترلوکین-۱۰ حاصل از ماکروفاژهای آلوده به لیشمانیا ماژور

فرشته فانی[۱]، محمد جواد غروی[۲]، ملیحه نوبخت[۳]،معصومه بخشایش[۴]، شهرام خادم وطن[۵]

[۱]دانشجوی داروسازی، مؤسسه مطالعات تاریخ پزشکی، طب اسلامی و مکمل دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران، تهران، ایران.
[۲]دانشیار انگل‌شناسی، مؤسسه مطالعات تاریخ پزشکی، طب اسلامی و مکمل دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
[۳]دانشیار انگل‌شناسی، مؤسسه مطالعات تاریخ پزشکی، طب اسلامی و مکمل، مرکز تحقیقات مقاومت‌های میکروبی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
[۴]مربی انگل‌شناسی، مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
[۵]استادیار انگل‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه جندی شاپور، اهواز، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: لیشمانیوزیس، بیماری است که به‌وسیله چندین گونه از تک‌یاخته‌های جنس لیشمانیا ایجاد می‌گردد. سیر نیز به‌عنوان یک عامل درمانی، جزء معمول‌ترین گیاهان مرسوم در پزشکی محسوب می‌شود. این مطالعه با هدف، بررسی اثر عصاره سیر در افزایش سیتوکین‌های اینترلوکین-۱۰ و اینترلوکین-۱۲ در محیط کشت از طریق ماکروفاژها برای دریافت و تخریب لیشمانیا صورت گرفت.

روش بررسی: بعد از پرولیفراسیون ماکروفاژها در محیط کشت و انکوباسیون با لیشمانیا طی مدت ۷۲ ساعت، عصاره آبی سیر با دوزهای (۱۴۸μg/ml ،۷۴ ،۳۷ ،۱۸/۵ ،۹/۲۵) به مدت ۱۸، ۲۴ و ۴۸ ساعت اضافه گردید. به‌منظور آزمون مصونیت عصاره‌ها و سلول‌های J744 تیمارشده عصاره و میزان زنده بودن سلول‌ها با استفاده از تریپان بلو، تست MTT انجام شد. سپس میزان ترشح اینترلوکین‌های-۱۰ و ۱۲ از ماکروفاژهای آلوده به لیشمانیا توسط تست ELISA ارزیابی گردید.

یافته‌ها: در این مطالعه، استفاده از عصاره سیر با دوز ۳۷μg/ml به مدت ۴۸ ساعت، باعث گردید که ماکروفاژها با ترشح اینترلوکین ۱۲، پروماستیگوت‌های موجود را تخریب کنند.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد اینترلوکین-۱۲ برای دفاع در مقابل پاتوژن‌های انگلی، کاربرد قطعی دارد. همچنین استفاده از اینترلوکین-۱۲ در مقابل حمله انگل لیشمانیا، یک پاسخ ایمنی قطعی محسوب می‌شود.

کلید واژه‌ها: لیشمانیای ماژور؛ سیر؛ اینترلوکین-۱۰؛ اینترلوکین-۱۲؛ ماکروفاژها.

نویسنده مسئول مکاتبات: مؤسسه مطالعات تاریخ پزشکی، طب اسلامی و مکمل، مرکز تحقیقات مقاومت‌های میکروبی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران؛

تلفن: ۸۸۰۵۸۶۸۹-۰۲۱ آدرس پست الکترونیکی: manob@iums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۹/۱/۲۵ تاریخ پذیرش: ۸۹/۷/۲۶

مقدمه

لیشمانیوز یک بیماری عفونی زنوتیک است که توسط انگل‌های تک‌یاخته‌ای متعلق به جنس لیشمانیا ایجاد می‌شود. در حال حاضر حدود ۱۲ میلیون نفر از مردم جهان به این بیماری مبتلا بوده و سالیانه ۲ میلیون مورد جدید از بیماری گزارش می‌شود که ۱/۵ میلیون آن از نوع جلدی است (۱). زخم‌های ایجادشده از نوع پوستی یا سالک برای مدت‌های مدید از چندماه تا چند سال باقی می‌مانند و علاوه بر ایجاد زخم‌ها و عفونت‌های باکتریایی ثانویه، موجب ایجاد بدشکلی و اسکار روی نقاط مختلف بدن به‌خصوص صورت می‌شوند. درمان رایج جهت لیشمانیوز پوستی ترکیبات ۵ ظرفیتی آنتیموان می‌باشد که اغلب توکسیک بوده و منجر به آسیب قلب، کبد، پانکراس و بافت‌های خون‌سازی می‌شود (۴-۲). به‌علاوه، دوره طولانی درمان،

درد فراوان و دیگر مشکلات، محققین را بر آن داشته که داروهای گیاهی جدید را با مشکلات و عوارض کمتری بررسی کنند. مکانیسم دفاعی بدن برای کنترل انگل داخل سلولی لیشمانیا وابسته به عملکرد سلول‌های Th1 است. این سلول‌ها با فعال کردن ماکروفاژها، موجب ترشح مقدار زیادی از سایتوکاین‌هایی می‌شوند که در افزایش فعالیت ایمنی سلولی نقش اساسی دارند. ماکروفاژها نقش مهمی را در آغاز و تنظیم پاسخ‌های ایمنی بدن و نیز در محیط کشت ایفا می‌کنند. از طرفی، عوامل انگل و مکانیسم میزبان نیز ارتباط نزدیکی با بیماری‌زایی دارد. لذا در ابتدا برای ایجاد یک عفونت اولیه، پروماستیگوت‌ها به آرامی وارد ماکروفاژها می‌شوند؛ تا با فرار از پاسخ‌های ایمنی میزبان، بسته به‌وجود ماکروفاژهای ساکن، عفونت داخل سلولی (اماستیگوت‌ها) را مجدداً فعال کنند (۵)، که در همان زمان پاسخ‌های ایمنی میزبان با مکانیسم‌های ایمنی غیراختصاصی (ذاتی) و ایمنی اکتسابی (ایمنی سلولی و حساسیت تأخیری) به این واکنش پاسخ می‌دهند، و تحت شرایط مطلوب ماکروفاژها به‌طور گسترده فعالیت نابودسازی لیشمانیا را تحت هدایت پاسخ سلول‌های T-Helper به انجام می‌رسانند (۹-۶). منبع تولید اینترلوکین-۱۲، ماکروفاژها و سلول‌های دندریتیک می‌باشند و روند فعال شدن مجدد ماکروفاژها بدین صورت:

$\rightarrow$ IFN γ $\rightarrow$ انرژی Th_1, NK $\rightarrow$ اینترلوکین-۱۲$\rightarrow$

ماکروفاژ را پیش برده و در نهایت بیگانه‌خواری رخ می‌دهد. اینترلوکین-۱۲ تولید شده توسط ماکروفاژها از طریق اثر بر Th_1 در ایمنی اکتسابی و با اثر بر NK (Natural Killers) در ایمنی ذاتی نقش ایفا می‌کند، در نهایت با تحریک ترشح IFN γ باعث فعال شدن مجدد ماکروفاژها می‌شود. لمفوسیت‌های T به ۲ شاخه تحریکی و مهاری تقسیم می‌شوند که Th_2 Cell رده مهاری و Th_1 Cell رده تحریکی می‌باشد. Th_2 Cell شامل: TGF-β، اینترلوکین-۴ اینترلوکین-۵، اینترلوکین-۱۰ و اینترلوکین-۱۳ بوده و Th_1 Cell شامل: TNF, IFN γ، اینترلوکین-۱، اینترلوکین-۲، اینترلوکین-۱۲ می‌باشد. مکانیسم ذاتی خصوصاً ترشح اینترلوکین-۱۲ کمک به القای ایمنی سلولی می‌کند. پاسخ‌های Th1 با اینترفرون گاما که منجر به فعال شدن ماکروفاژها می‌شود؛ بیانگر پاسخ اینترلوکین-۱۲ است، همچنین اینترلوکین-۲ و TNF و سایتوکاین‌های دیگر نیز مشارکت می‌کنند (۱۱،۱۰،۸،۶). در اثر التهاب ناشی از لیشمانیوز، سایتوکاین‌های مهاری با ایجاد مکانیسم‌های متعادل‌کننده، عمل می‌کنند. اینترلوکین-۴، اینترلوکین-۱۰ و اینترلوکین-۱۳ توانایی مهار پاسخ سلول‌های Th1 و مهار فعال شدن مجدد ماکروفاژها را دارند. بنابراین در ترمیم بافت دخالت نموده، اما عفونت داخل سلولی را تقویت می‌کنند (۸). سیر دارای فعالیت ضد انگلی قوی است. در گزارشاتی نیز تأثیر درمانی عصاره آبی سیر بر هیمنولیپس نانا و ژیاردیا نشان داده شده است (۱۲). از دیگر اثرات سیر مهار رشد لیشمانیای ماژور است. در یک مطالعه، اثر غلظت‌های (۲۵۰، ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۰ µl/ml) عصاره سیر در محیط کشت بر روی لیشمانیای ماژور بررسی شد. نتایج به دست آمده نشان داد کمترین غلظت مورد استفاده در این مطالعه توانسته رشد انگل را در محیط مهار نماید و منحنی رشد انگل را به صفر برساند. در یک تحقیق دیگر نیز گزارش گردید که فراکشن R10 سیر دارای خاصیت ایمنومدولاتوری است که یک گلیکوپروتئین با وزن مولکولی ۱۴ کیلو دالتون می‌باشد و در درمان زخم‌های ناشی از سالک مؤثر است. در مطالعه حاضر نیز تأثیر سیر بر افزایش سایتوکاین INFγ و فعال شدن نیتریک اکسید سینتاز القایی (Inducible Nitric Oxide Synthase) به اثبات رسید. تحقیقات نشان داده‌اند اثرات ایمونومدولاتوری سیر شامل تقویت پاسخ‌های سلولی و افزایش ازدیاد حساسیت تأخیری، تمایل پاسخ‌های سایتوکاینی به سمت TH_1 در مدل لیشمانیوز، افزایش فعالیت سلول‌های کشنده طبیعی در مقابل تومور، افزایش ماکروفاژ و تقویت بلع و هضم انگل لیشمانیا ماژور می‌باشد (۱۳). هدف مطالعه حاضر، تعیین اثر سیر بر میزان سایتوکاین‌هایی چون اینترلوکین-۱۰ و اینترلوکین-۱۲ در ماکروفاژهای آلوده به انگل لیشمانیا ماژور بوده است که در این راستا، به بررسی تعیین میزان C50 با روش MTT، تعیین تأثیر عصاره سیر بر میزان ترشح سایتوکاین اینترلوکین-۱۰ از سلول‌های آلوده به لیشمانیا ماژور و تعیین تأثیر عصاره سیر بر میزان ترشح سایتوکاین اینترلوکین-۱۲ از سلول‌های آلوده به لیشمانیا ماژور پرداخته شد.

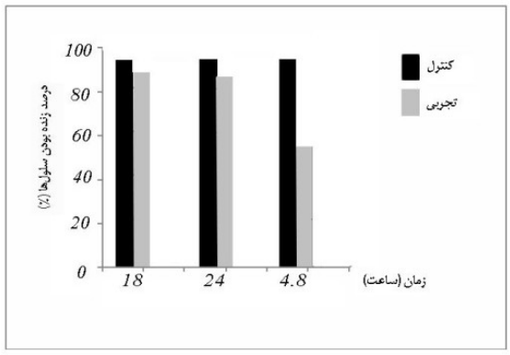
روش بررسی

در این مطالعه از رده سلولی j744 سلول‌های (۱۴) ماکروفاژ مشتق از موش نژاد BALB/C، که از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران تهیه شده بود، استفاده گردید. این سلول‌ها در محیط RPMI 1640 رشد

می‌یابند و این محیط به‌عنوان محیط پایه، دارای اسید آمینه، گلوکز، نمک‌ها و ویتامین‌های مختلف می‌باشد. برای کامل کردن این محیط، به آن سرم گاوی ۱۰٪ (FBS) و آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین-استرپتومایسین نیز اضافه شد. برای تحمل تغییرات pH در این محیط از بافر بی‌کربنات استفاده گردید و سلول‌ها در فلاسک‌های ۵۰ml در دمای ۳۷°c و فشار ۵٪ CO2 کشت داده شدند. پس از اینکه سلول‌ها کف ظرف را کاملاً پر کردند، از کف ظرف جدا شده و به ظرف دیگر منتقل شدند، سپس به نسبت ۱ واحد سلول، ۵ واحد انگل اضافه گردید، و در دمای ۳۷°c به مدت ۷۲ ساعت انکوبه شدند؛ تا انگل وارد ماکروفاژ شود. ماکروفاژهای آلوده با انگل پس از جداسازی از فلاسک به‌وسیله محیط کشت RPMI سرد به نسبت ۱ به ۱ با آلبومین ۵٪ مخلوط شده و اسمیر بر روی لام تهیه شد. بعد از خشک شدن اسمیر با متانول فرآیند ثابت‌سازی انجام گردید، سپس به مدت ۱۵ دقیقه با رنگ گیمسا رنگ‌آمیزی شد. پس از زمان ۲۰ دقیقه لام با آب شسته شده و توسط میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۱۰۰ مشاهده گردید. سلول‌های ماکروفاژی کشت داده شده در فلاسک به‌وسیله محیط کشت RPMI 1640 سرد جدا شده و در پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای در هر well۵۰۰۰ سلول ماکروفاژ ریخته شدند. انگل لیشمانیایی کشت داده شده نیز بعد از ۲ ساعت برای چسبیدن سلول‌های ماکروفاژ، به نسبت ۵ برابر سلول‌های ماکروفاژ، انگل اضافه شد. از این رو تست MTT بر روی ۵ غلظت از عصاره سیر به ترتیب: ۱۴۸µg/ml، ۷۴، ۳۷، ۱۸/۵، ۹/۲۵) انجام شد. پس از گذشت زمان‌های ۱۸، ۲۴، ۴۸ ساعت پلیت‌ها را به رنگ MTT آغشته نموده و پس از ۴ ساعت انکوباسیون در انکوباتور ۳۷°، ۵٪ CO_2 و DMSO افزوده شد، پس از نیم‌ساعت ODها با Elisa Reader خوانده شدند. در زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت سوپ ماکروفاژهای بدون انگل و بدون سیر، در زمان‌های ۱۸، ۲۴ و ۴۸ ساعت سوپ ماکروفاژهای آلوده با انگل بدون سیر و ماکروفاژهای آلوده با انگل و تیمارشده با سیر را داخل ویال‌های ۱/۵ml ریخته و در ۸۰°- فریز شدند؛ تا برای مراحل بعدی آزمایشات استفاده شوند. بعد از تعیین غلظت اینترلوکین سوپ‌های جمع‌آوری‌شده به‌وسیله کیت‌های سنجش اینترلوکین-۱۰ و اینترلوکین-۱۲ شرکت Med Bender کالیفرنیا- امریکا، عمل آنالیز انجام شد. این روش جهت سنجش میزان کمّی اینترلوکین‌ها به کار می‌رود. کیت‌ها برای نمونه‌های سرمی و سوپ‌های سلولی انسان، موش و میمون قابل استفاده هستند. دریچه‌های کیت با آنتی‌اینترلوکین‌ها پوشیده شده است، که با قرار گرفتن در معرض نمونه استاندارد و در ادامه اتصال بیوتین و استرپتاویدین (Streptavidin Biotin) و در نهایت تشکیل کمپلکس رنگی، جذب آنها در طول موج ۴۵۰nm دستگاه ELISA خوانده می‌شود. نتایج با استفاده از آزمون تی تجزیه و تحلیل شدند و سطح معنی‌داری اختلاف‌ها ($p<0/05$) در نظر گرفته شد.

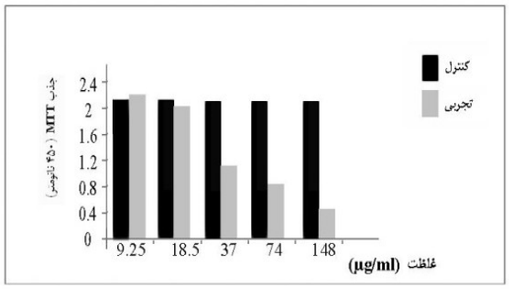
یافته‌ها

در نمودار ذیل نتایج به دست آمده از سنجش MTT در زمان‌های ۱۸، ۲۴ و ۴۸ ساعت که برای هرکدام از سلول‌ها گروه کنترل در نظر گرفته شده است، بیانگر این می‌باشد که در گروه ۴۸ ساعت توان حیاتی سلول‌های تحت تیمار با سیر (نمودار تیره) نسبت به گروه کنترل (نمودار روشن) کاهش معنی‌داری را با ($p<0/05$) نشان می‌دهد.



نمودار شماره ۱: نتایج حاصل از سنجش MTT در سلول‌های ماکروفاژ در زمان‌های ۱۸، ۲٤ و ٤٨ ساعت در مقایسه با گروه کنترل

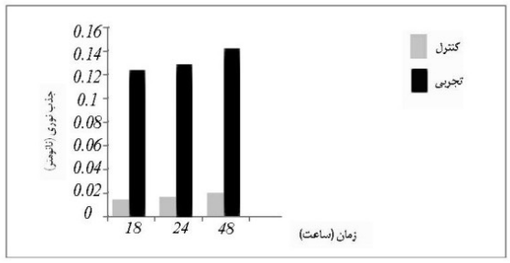
نمودار شماره ۲، بیانگر مقایسه نمونه‌های آلوده با انگل و تیمارشده با غلظت‌های مختلف سیر (نمودار تیره) نسبت به گروه کنترل (نمودار روشن) با سطح معنی‌داری ($p<0/05$) می‌باشد.



نمودار شماره ۲: نتایج حاصل از سنجش MTT در سلول‌های ماکروفاژ در غلظت‌های (۱٤٨µg/ml، ۷٤، ۳۷، ۱۸/۵، ۹/۲۵) عصاره سیر در مقایسه با گروه کنترل

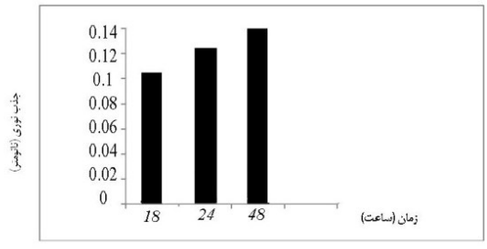
در مطالعه حاضر، پس از استفاده غلظت‌های (۱۴۸µg/ml، ۷۴، ۳۷، ۱۸/۵، ۹/۲۵) عصاره آبی سیر، مشخص گردید که غلظت ۳۷µg/ml بهترین غلظتی است که با تأثیر بر ماکروفاژهای آلوده با لیشمانیا ماژور به مدت ۴۸ ساعت، منجر به تخریب بیش از نیمی از سلول‌ها می‌شود. بنابراین، غلظت مؤثر عصاره سیر بر انگل لیشمانیا ۳۷µg/ml به دست آمد. نمودار شماره ۲ نتایج حاصل را نشان می‌دهد.

نمودار ستونی زیر مقایسه تغییرات اینترلوکین-۱۰ در نمونه‌های بدون سیر در ماکروفاژهای آلوده با انگل و بدون آلودگی می‌باشد. محور عمودی بیانگر جذب و محور افقی بیانگر زمان با (p<۰/۰۵) است.



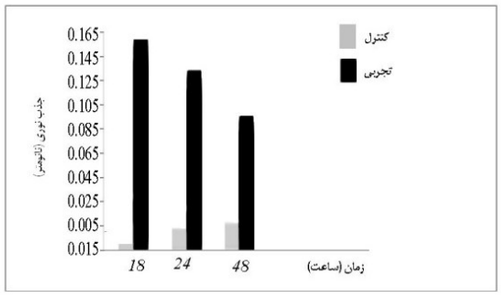
نمودار شماره ۳: نتایج حاصل از کیت اینترلوکین-۱۰ در ماکروفاژهای آلوده با انگل بدون عصاره سیر و نمونه‌های بلانک در زمان‌های ۱۸، ۲٤، ٤۸ ساعت

نمودار شماره ۴، مقایسه نمونه‌های تیمارشده با سیر را در ماکروفاژهای آلوده با انگل نشان می‌دهد. محور عمودی بیانگر جذب و محور افقی بیانگر زمان با p<۰/۰۵ می‌باشد.



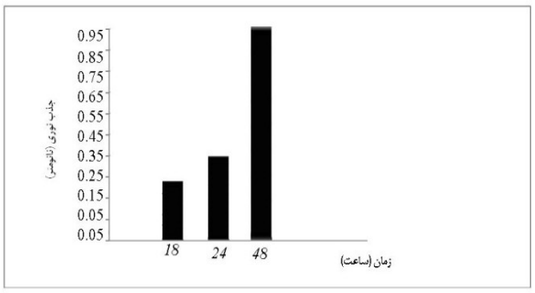
نمودار شماره ٤: نتایج حاصل از کیت اینترلوکین-۱۰ در ماکروفاژهای آلوده با انگل تیمار شده با سیر در زمان‌های ۱۸، ۲٤، ٤۸ ساعت

نمودار شماره ۵، مقایسه تغییرات اینترلوکین-۱۲ در نمونه‌های بدون سیر در ماکروفاژهای آلوده با انگل و بدون آلودگی است. محور عمودی بیانگر جذب و محور افقی بیانگر زمان با p<۰/۰۵ می‌باشد.



نمودار شماره ۵: نتایج حاصل از کیت اینترلوکین-۱۲در ماکروفاژهای آلوده با انگل و نمونه‌های بلانک در زمان‌های ۱۸، ۲٤، ٤۸ ساعت

نمودار شماره۶، مقایسه نمونه‌های تیمارشده با سیر را در ماکروفاژهای آلوده با انگل نشان می‌دهد. محور عمودی بیانگر جذب و محور افقی بیانگر زمان با p<۰/۰۵ می‌باشد.



نمودار شماره ٦: نتایج حاصل از کیت اینترلوکین-۱۲ در ماکروفاژهای آلوده با انگل تیمارشده با سیر در زمان‌های ۱۸، ۲٤، ٤۸ ساعت

بحث

در سال‌های اخیر وجود مواد ایمونومدولاتور در سیر توسط محققین متعددی گزارش شده است. یافته‌ها نشان می‌دهد عصاره سیر قادر است پاسخ‌های ایمنی سلولی را تحریک نموده و باعث فعال شدن ماکروفاژها و سلول‌های NK شود (۱۶،۱۵). با توجه به اهمیت سایتوکاین‌های حاصل از سلول در توسعه و ایجاد پاسخ‌های ایمنی سلولی و با توجه به یافته‌های فوق، نتایج مطالعه حاضر نشان داد عصاره آبی سیر با مکانیسم افزایش اینترلوکین-۱۲ و سایتوکاین INFγ و فعال شدن iNOS بر ایمنی سلول مؤثر می‌باشد. با توجه به اینکه ماکروفاژها با ترشح سایتوکاین‌ها قادر به کنترل عفونت داخل سلولی و پیشرفت بیماری می‌باشند، طبیعی است که این سلول‌ها با دریافت سیگنال مناسب INFγ چه از طریق اتوکرین و یا پاراکرین، می‌توانند انگل را تخریب و یا حذف نمایند (۱۷). مطالعات متعدد In Vivo و In Vitro نشان می‌دهد که INFγ نقش

بسیار اساسی در فعال‌سازی ماکروفاژها به‌عهده دارد. اگر ژن‌های INFγ و گیرنده آن در موش‌های مقاوم به لیشمانیا ماژور تخلیه و مهار شوند در این موش‌ها عفونت به‌صورت کشنده بروز می‌کند (۱۸،۱۹). مطالعات In Vitro نشان داده است که اضافه شدن INFγ به ماکروفاژهای آلوده به لیشمانیا ماژور که از موش‌های مقاوم یا حساس جدا شده‌اند، باعث فعال‌سازی این سلول‌ها در کشتن و حذف انگل می‌شود (۲۰). در این مطالعه، به‌منظور تعیین غلظت مناسب سیر جهت تأثیر بر فعال شدن ماکروفاژها و از بین بردن انگل‌های لیشمانیا، از تست MTT استفاده گردید. نتایج نشان داد از بین غلظت‌های (۱۴۸µg/ml ،۷۴ ،۳۷ ،۱۸/۵ ،۹/۲۵) بهترین غلظت از عصاره سیر که در آن نیمی از سلول‌ها تخریب می‌شوند، غلظت ۳۷µg/ml پس از گذشت ۴۸ ساعت تیمار شدن با عصاره سیر می‌باشد. بررسی میزان اینترلوکین‌ها نیز افزایش قابل توجه اینترلوکین-۱۲ را در مدت ۴۸ ساعت پس از افزودن عصاره سیر نشان داد. گرچه نمونه‌های حاوی عصاره سیر در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت، افزایش میزان اینترلوکین-۱۲ را به میزان کمتری دارند، ولی افزایش ترشح میزان اینترلوکین-۱۲ با افزودن عصاره سیر منجر به القای ایمنی سلولی می‌شود. نتایج مطالعه حاضر با انطباق بر نتایج سایر تحقیقات تأیید می‌کند عصاره سیر با افزایش ترشح INFγ و در نتیجه فعال شدن iNOS منجر به برانگیختگی مجدد ماکروفاژها می‌شود که این خود موجب فعال شدن ایمنی سلولی و در نتیجه مهار لیشمانیا ماژور می‌گردد. مطالعات فراوانی نیز در سال‌های اخیر بر روی اثرات عصاره سیر بر زخم لیشمانیوز انجام شده است (۲۱، ۲۲، ۲۳)، که محققین معتقدند تأثیر آن بر انگل لیشمانیا از طریق تقویت سیستم ایمنی صورت می‌گیرد. در مطالعه‌ای که احمدی و همکارانش در دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله ایران انجام دادند اثر عصاره سیر در بهبود زخم‌های ناشی از لیشمانیای ماژور از موش‌های آلوده از طریق افزایش نیتریک اکساید تأیید گردید که پس از آلوده کردن موش‌ها با ۳×۱۰^{۷} عدد پروماستیگوت، زخم ایجادشده را با عصاره سیر تیمار نمودند و قطر زخم‌ها را در روزهای اول، دهم، سی‌ام و چهل و پنجم اندازه‌گیری کردند. نتایج نشان داد درمان ۳۰ روزه عصاره سیر باعث کاهش قطر زخم می‌شود. این محققین درمان مؤثر سیر را از طریق اثر بر افزایش نیتریک اکساید بیان کردند (۲۵،۲۴). Unlun و همکارانش (سال ۲۰۰۷) در یک تحقیق نشان دادند سیر در درمان زخم‌های ناشی از لیشمانیای ماژور در انسان اثر مثبت واضحی دارد؛ به‌طوری‌که بیماران شرکت‌کننده در مطالعه که تحت تأثیر عصاره سیر قرار گرفته بودند، ۹۰٪ موارد به درمان با عصاره سیر پاسخ مثبت نشان دادند که از این تعداد ۳۶٪ بهبودی کامل حاصل کردند و ۵۴٪ از موارد هم به بهبودی نسبی دست یافتند. همچنین Rodríguez-Villamizar و همکارانش در سال ۲۰۰۶ با مطالعه اثر عصاره سیر بر رشد انگل لیشمانیا و بهبود زخم گزارش نمودند که این مکانیسم از طریق افزایش سایتوکاین‌های مترشح توسط سلول‌های Th1 صورت می‌گیرد (۲۸-۲۶). در مطالعه‌ای دیگر در سال ۲۰۰۰ غضنفری گزارش نمود اثر عصاره سیر با افزایش INFγ از Th1 و سوییچ سیستم ایمنی به سمت ایمنی سلولی صورت می‌پذیرد (۱۶). در بررسی که توسط Ohkusuk و همکارانش نیز در سال ۲۰۰۰ انجام گردید، نشان داده شد بهبود ناشی از لیشمانیا در مدل حیوانی، ناشی از افزایش فعالیت ماکروفاژها و تولید نیتریک اکساید می‌باشد (۲۹). لذا شناسایی داروی مؤثر در درمان لیشمانیوز جلدی در تأیید روش درمان نقش به سزایی دارد. داروهای رایج نظیر گلوکانتیم، اثرات جانبی فراوانی به همراه آسیب مستقیم سلولی به همراه دارند. بنابراین، استفاده از داروهای گیاهی مانند سیر که قادر به از بین بردن انگل لیشمانیا از طریق تقویت و فعال کردن سیستم ایمنی است، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

نتیجه‌گیری

براساس یافته‌های این مطالعه، عصاره آبی سیر با غلظت ۳۷µg/ml به مدت ۴۸ ساعت، با تأثیر بر ترشح اینترلوکین-۱۲ از ماکروفاژها، موجب تخریب پروماستیگوت‌های موجود در ماکروفاژ می‌شود. بنابراین اینترلوکین-۱۲ برای دفاع در مقابل پاتوژن‌های انگلی کاربرد قطعی دارد. استفاده از اینترلوکین-۱۲ در مقابل حمله انگل لیشمانیا، یک پاسخ ایمنی قطعی نیز محسوب می‌شود.

تشکر و قدردانی

این پروژه از حمایت مالی مؤسسه مطالعات تاریخ پزشکی، طب اسلامی و مکمل، دانشگاه علوم پزشکی تهران با کد ۳۰۴ برخوردار بوده است. نویسندگان ضمن تشکر از مسئولین دست‌اندر کار مؤسسه، از پشتیبانی‌های علمی و اجرایی کارشناسان محترم مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی و بخش پزشکی اجتماعی دانشگاه علوم پزشکی تهران و سرکار خانم دکتر فرنوش داوودی در اجرای این طرح صمیمانه قدردانی می‌نمایند.

References:

1. Herwaldt BL. Leishmaniasis. Lancet 1999;354:1191-1199.

2. Berman JD. Human Leishmaniasis: Clinical, Diagnostic and Chemotherapeutic Developments in the Last 10 Years. Clin Infect Dis 1997;24:684-703.

3. Arevalo I, Ward B, Millrer R, Meng TC, Najar E, Matlashewski G, Llanos-Guentas A. Successful Treatment of Drug Resistant Cutaneous Leishmaniasis u=in Humans by Use of Imiquimod, an Immunomodulator. Clin Infect Dis 2001;33:1847-1851.

4. Herwaldt BL, Berman JD. Recommendations for Treating Leishmaniasis with Sodium Stibogluconate (Pentosam) and Review of Protienent Clinical Studies. Am J Trop Med Hyg 1992;46:296-306.

5. Kolodziej H, Burmeister A, Wtrun W, Radtke OA, Kiderlen AF, Ito H, Hatano T, Yoshida and Yeap Foo L. Tannins and Related Compounds Induce Nitric Oxide Synthase and Cytokines Gene Expressions in Leishmania Major-Infected Macrophage-Like RAW-264.7 Cells. Bio Med Chem 2005;13:2470-6476.

6. Engwerda CR, Ato M, Kaye PM. Macrophage Pathology and Parasite Persistence in Experimental Visceral Leishmaniasis. Trends Parasitol 2004;20:524-530.

7. Sacks D, Sher A. Evasion of Innate Immunity by Parasitic Protozoa. Nat Immunol 2002;3:1041-1047.

8. McMahon-Pratt D, Alexander J. Does the Leishmania Major Paradigm of Photogenesis and Protection Hold for New World Cutaneous Leishmaniases or the Visceral Disease? Immunol Rev 2004;201:206-224.

9. Gharavi MG. Proteozology. Teymorzadeh; 2004. p. 190-245.

10. Von Stebut E , Udey MC. Requirements for Th1-Dependent Immunity Against Infection with Leishmania Major. Microbes Infect 2004;6:1102-1109.

11. Murray HW. Tissue Granuloma Structure-Function in Experimental Visceral Leishmaniasis. Int J Exp Pathol 2001;82:249-276.

12. Soffar SA. Mokhtar GM, Evaluation of the Antiparasitic Effect of Aqueous Garlic (Allium Sativum) Extract in Hymenolepiasis and Giardiasis. Y Egypt Soc Parasitol 1991;21:497-502.

13. Edrisian GA, Rezayian M, Gorbani M, Keshavarz H, Mohebali M. Medical Proteozology Tehran: Tehran Medical University; 2007. p. 251-277(V_1). [Text in Persian]

14. Yuhas Y, Kaminsky E, Mor M, Ashkenazi S. Induction of Nitric Oxide Production in Mouse Macrophages by Shiga Toxin. J Med Microbiol 1996;45:97-102.

15. Lua BH, Yamasaki T, Gridley DS. Garlic Compounds Modulate Macrophage and T-Lymphocyte Function. Mol Biother 1991;3:103-107.

16. Ghazanfari T, Hassan ZM, Ebtekar M, Ahmadiani A, Naderi G, Azar A. Garlic Induces a Shift in Cytokine Pattern in Leishmania Major-Infected BALB/c Mice. Scand J Immunol 2000;52:491-495.

17. Kyo E, Uda N, Kasuga S, Itakura Y. Immunomodulatory Effects of Aged Garlic Extract. J Nutr 2001;131:1075S-9SD.

18. Dirsch VM, Kiemer AK, Wagner H, Vollmar AM. Effect of Allicin and Ajoene, Two Compounds of Garlic, on Inducible Nitric Oxide Synthase. Atherosclerosis 1998;139:333-339.

19. Colasanti M, Gradoni L, Mattu M, Persichini T, Salvati L, Ventorini G, Ascenzi P. Molecular Bases for the Anti Parasitic Effect of NO (Review). Inter J Molecul Med 2002;9:131-134.

20. Morihara N, Sumioka I, Moriguchi T, Uda N, Kyo E. Aged Garlic Extract Enhances Production of Nitrid Oxide. Life Scl 2002;71:509-517.

21. Schubach A, Cuzzi-Maya T, Oliveira AV, Sartori A, de Oliveira-Neto MP, Mattos MS, Araújo ML, Souza WJ, Haddad F, Perez Mde A, Pacheco RS, Momen H, Coutinho SG, de Almeida Marzochi MC, Marzochi KB, da Costa SC. Leishmanial Antigens in the Diagnosis of Active Lesions and Ancient Scars of American Tegumentary Leishmaniasis Patients. Mem Inst Oswaldo Cruz 2001;96(7):987-996.

22. Castellucci L, Jamieson SE, Miller EN, Menezes E, Oliveira J, Magalhães A, Guimarães LH, Lessa M, de Jesus AR, Carvalho EM, Blackwell JM. CXCR1 and SLC11A1 Polymorphisms Affect Susceptibility to Cutaneous Leishmaniasis in Brazil: A Case-Control and Family-Based Study. BMC Med Genet 2010;20:11:10-18.

23. Nobakht M, Shafiee M, Tabatabaee P, Rastegar T. Assessment of Tamoxifen Effects on Nitric Oxide Synthase (NOS) in Rat's Developing Hippocampus. Iran University of Medical Science 2009;15(59):190.

24. Ghazanfari T, Yaraee R, Farahnejad Z, Rahmati B, Hakimzadeh H. Macrophages Activation and Nitric Oxide Alterations in Mice Treated with Pleurotus Florida. Immunopharmacol Immunotoxicol 2010;32(1):47-50.

25. Nobakht M, Majidzadeh S, Fattahi M. Tabatabaeei P. Expression of Neuronal Nitric Oxide Synthase During Embryonic Development of the Rat Optic Vesicle. PJBS 2007;(7):1078-1082.

26. Unlü RE, Altun S, Ssensöz O. Leishmania Scar: A Risk Factor for the Development of Basal Cell Carcinomas. J Craniofac Surg 2007;18(3):708-710.

27. Del Giudice P. Milia and Cutaneous Leishmaniasis. Br J Dermatol 2007;156(5):1088.

28. Rodríguez-Villamizar LA, Orozco-Vargas LC, Muñoz-Mantilla G. The Basic Health Plan's Impact on Preventing Cutaneous Leishmaniasis in Rural Areas of Santander, Colombia. Rev Salud Publica Bogota 2006;8 Suppl 1:116-128.

29. Ohkusuk K, Yoshimoto T, Takeda K, Ogura T, Kashiwamura S, Iwakura Y, Akira S, Okamura H, Nakanishi K. Potentiality of Interleukin-18 as a Useful Reagent for Treatment and Prevention of Leishmania Major Infection. Infect Immunun 2000;68(5)2449-2456.

This document was created with Win2PDF available at http://www.daneprairie.com.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.