

بررسی اثر عصاره الکلی گیاه ترشک (*Rumex*) بر روی لیشمانیوز پوستی ناشی از لیشمانیا ماژور (*Leishmania major*) در موش‌های BALB/c

فرزاد نور صباغی: کارشناس ارشد فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، دانشکده پیراپزشکی شرق گیلان، لنگرود، ایران. farzad.nuri@yahoo.com

محمود عابدین زاده: استادیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پیراپزشکی شرق گیلان، لنگرود، ایران. mahmoodabedinzadeh@yahoo.com

* ناهید جلال لو: استادیار، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی آجا، تهران، ایران (هنرمند مسئول). nahidjalallou@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۵/۵/۲۳

تاریخ دریافت: ۹۵/۱/۲۱

چکیده

زمینه و هدف: لیشمانیوز جلدی بیماری اندمیک در بسیاری از کشورها از جمله ایران است. از آنجا که استفاده از ترکیبات آنتی‌موان ۵ ظرفیتی در درمان این بیماری عوارض جانبی به همراه دارد، این مطالعه به منظور تعیین تاثیر عصاره الکلی گیاه ترشک بر روی زخم‌های تجربی حاصل از لیشمانیا ماژور در موش‌های BALB/c انجام گرفت.

روش کار: در این مطالعه تجربی، ۳۰ سر موش BALB/c به ۶ گروه ۵ تایی از A تا F تقسیم شدند، سپس در ناحیه قاعده دم هر موش ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون از فاز مایع محیط کشت محتوی 1×10^6 پروماستیگوت‌های زنده و فعال لیشمانیا ماژور سوش استاندارد (MRHO/IR/75/ER) به صورت زیرجلدی تزریق و ضایعات جلدی حدود ۳ هفته پس از تلقیح ایجاد شد. سه غلظت مختلف عصاره الکلی بذر گیاه ترشک (۳ و ۵ و ۹ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به گروه‌های D تا F تزریق شد. سه گروه دیگر به عنوان گروه‌های کنترل در نظر گرفته شدند، به طوری که گروه A هیچ ماده درمانی را دریافت نکرد و گروه‌های B و C به ترتیب الکل اتانول تنها و داروی گلوکانتیم را دریافت کردند. تزریقات به صورت ۲ بار در روز به مدت ۱۵ روز انجام گرفت و هر هفته قطر زخم‌ها در تمام گروه‌ها اندازه‌گیری شد. همچنین تعداد انگل در زخم موش‌ها پس از تهیه گسترش و رنگ آمیزی در زیر میکروسکوپ بررسی شدند. نتایج در فرم‌های اطلاعاتی ثبت شده و با استفاده از آزمون‌های آماری وان اوی - آنووا و توکی تست مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها: پنج هفته پس از تزریق انگل، میانگین قطر زخم‌ها در غلظت ۹ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، کاهش داشته و بهبود کامل زخم‌ها هم در این گروه مشاهده شد. همچنین بار انگلی در این گروه در مقایسه با گروه دریافت کننده گلوکانتیم به طور معنی‌داری ($p \leq 0.05$) کاهش نشان داد.

نتیجه‌گیری: نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که غلظت موثر این گیاه (۹ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) می‌تواند به عنوان جایگزین مناسب دارویی در درمان لیشمانوزیس پوستی انسان مورد استفاده قرار گیرد.

کلیدواژه‌ها: لیشمانیوز پوستی، لیشمانیا ماژور، ترشک، موش BALB/c

مقدمه

گرمسیری و نیمه گرمسیری در ۹۰ کشور دنیا معرفی می‌کند و بخش تحقیقات این سازمان در سال ۲۰۰۲ این بیماری را در گروه بیماری‌های کنترل نشده قرار داده است (۱). بر اساس آخرین اطلاعات سازمان بهداشت جهانی در سال ۲۰۰۵ حدود ۳۵۰ میلیون نفر در ۸۰ کشور جهان در معرض خطر این بیماری بوده که از این بین حدود ۱۲ میلیون نفر به این انگل مبتلا هستند و سالانه حدود ۲ میلیون مورد ابتلا جدید بروز می‌کند که ۱/۵ میلیون نفر از آن‌ها مربوط به لیشمانیوز جلدی بوده، به طوری که لیشمانیوز بعد از مالاریا در درجه دوم اهمیت قرار

پوست یکی از قسمت‌های حساس بدن بوده و نگهداری از آن در زیبایی انسان مؤثر است. بیماری‌های پوستی دارای دلایل متفاوت در منشأ بروزشان هستند. یکی از عوامل ایجاد بیماری‌های پوستی انگل‌ها بوده و در این میان لیشمانیا به عنوان یکی از عوامل بسیار شایع در ایجاد بیماری‌های پوستی (سالک) شناخته شده است. لیشمانیوز جلدی به عنوان یک مشکل بهداشتی-اقتصادی در جهان از اهمیت خاصی برخوردار است. سازمان بهداشت جهانی (WHO) این بیماری را در ردیف ۶ بیماری مهم مناطق



شکل ۱- گیاه ترشک

اثرات ضد میکروبی مؤثری بر روی میکروارگانیزم‌های مختلف نیز هستند (۸). اثرات این گیاه همچنین بر روی ترمیم زخم‌های دستگاه گوارش حیوانات آزمایشگاهی به اثبات رسیده است (۹). لذا این مطالعه به منظور تعیین تأثیر عصاره الکلی گیاه ترشک بر روی زخم‌های تجربی حاصل از لیشمانیا ماژور در موش‌های BALB/c انجام گرفت.

روش کار

نمونه گیاه و روش استخراج آن: بذر گیاه ترشک از بخش هرباریم مرکز تحقیقات کشاورزی استان گیلان تهیه شد. در این بررسی برای استخراج مواد مؤثره از روش خیساندن استفاده شد. ابتدا بذر ترشک با استفاده از آسیاب برقی به صورت کاملاً پودر درآمد. برای تهیه عصاره آبی - الکلی ترشک: ابتدا الکل اتیلیک ۹۶ درصد توسط ۷۰ میلی لیتر آب رقیق شد، سپس به ازای هر گرم پودر بذر ترشک ۵ میلی لیتر الکل اتیلیک ۷۰ درصد استفاده شد. در آغاز کار ۵۰۰ میلی لیتر از الکل اتیلیک به مدت ۳ روز به پودر بذر ترشک اضافه و محصول به دست آمده جدا و جمع‌آوری شد. مجدداً در مرحله دوم و سوم ۱۰۰ میلی لیتر از الکل به مدت ۲ روز به پودر اضافه و محلول به دست آمده در ظرف حاوی محلول قبلی جمع‌آوری شد. در انتها با استفاده از الکل باقی‌مانده پودر نیز شستشو داده شد. حاصل شستن نیز به ظرف حاوی محلول‌ها منتقل شد. محلول‌های جمع‌آوری شده توسط کاغذ صافی (واتمن شماره یک) صاف شده و سپس توسط دستگاه تقطیر در خلأ در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و سرعت چرخش ۷۰ دور در دقیقه تا حد خشک شدن تقطیر شد.

دارد. حدود ۹۰٪ از موارد لیشمانیوز جلدی جهان از کشورهای افغانستان، الجزایر، برزیل، ایران، عربستان، پرو و سوریه گزارش شده است که در این بین ایران و عربستان بیشترین سهم را دارند (۲). از جمله داروهای مطرح در درمان لیشمانیوز جلدی ترکیبات پنج ظرفیتی آنتی موان مانند گلوکانتیم هستند که از ۶۰ سال قبل تاکنون مورد استفاده بوده است (۳).

با توجه به این که مصرف داروهای شیمیایی با عوارض جانبی زیاد و مختلفی همراه هستند امروزه استفاده از داروهای گیاهی گسترده‌تر شده است. استفاده از فرآورده‌های دارویی با منشأ گیاهی به دلایل مختلفی مانند عوارض جانبی کمتر، پذیرش بهتر بیمار به علت توصیه طب سنتی و استفاده نسل‌های گذشته، قیمت کمتر گیاهان دارویی و سازگاری بیشتر با عملکرد فیزیولوژیک طبیعی بدن انسان، مورد توجه بوده‌اند.

ترشک گیاهی شبیه اسفناج بوده و بومی قاره اروپا است. به طور وحشی در چمن‌زارها، کشت زارها، کنار رودخانه‌ها و جاده‌ها رشد می‌کند (شکل ۱). کربوهیدرات‌ها، فیبر، چربی، پروتئین، ویتامین B1، B2، B3، ویتامین C، کلسیم، آهن، پتاسیم و روی از جمله ترکیبات این گیاه هستند. این گیاه عملکرد قلب و کبد و معده را تقویت می‌کند. دم کرده آن کاهش‌دهنده قند، کلسترول و تری‌گلیسیرید خون است. با افزایش تولید ادرار در پایین آوردن وزن مؤثر بوده، منبع ویتامین A و B و C است. آنتی‌اکسیدان موجود در آن با پیری و چین‌وچروک پوست مقابله می‌کند. خاصیت سم‌زدایی داشته و سموم مضر بیماری‌زا و عامل عفونت را از بدن دفع کرده و همچنین دارای خواص مؤثر دیگری نیز می‌باشد (۴، ۵).

در طب سنتی برای درمان موضعی دمل‌ها از برگ، دانه له‌شده، پخته‌شده یا جوشانده این گیاه استفاده می‌شد (۶) همچنین برای درمان کوفتگی، سوختگی، گزیدگی و به عنوان خنثی‌کننده زهر نیز کاربرد داشته است (۶). ترکیبات فلاونوئیدی موجود در گیاه به عنوان مهارکننده قوی سیتوکین‌های التهابی شناخته شده است (۷). این ترکیبات علاوه بر خواص آنتی-اکسیدانی دارای



شکل ۲- زخم ناشی از لیشمانیا ماژور در قاعده دم موش سه هفته پس از تزریق

را دریافت نکرد و گروه‌های B و C به ترتیب الکل اتانول تنها و داروی گلوکانتیم به میزان ۰/۰۲ میلی گرم به ازای هر گرم وزن بدن را دریافت کردند. تزریقات به صورت ۲ بار در روز به فاصله ۸ ساعت، به مدت ۱۵ روز انجام گرفت و هر هفته قطر زخم‌ها در تمام گروه‌ها به کمک کولیس (Vernire-caliper) اندازه‌گیری شد و میانگین آن‌ها ثبت شد. همچنین تعداد انگل در زخم موش‌ها پس از تهیه گسترش روی لام و رنگ آمیزی با گیمسا با استفاده از بزرگنمایی $\times 40$ میکروسکوپ شمارش شد.

تمامی داده‌ها در برنامه SPSS ۱۶ وارد شده و با استفاده از آزمون آنووا - وان اوی و توکی تست مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

یافته‌ها

سه هفته پس از تزریق انگل لیشمانیا به موش‌های BALB/c زخم‌های حاوی انگل لیشمانیا ایجاد شده و اندازه‌گیری شدند. سپس در هفته ۴ و ۵ پس از تزریق دوزهای ۳،۵ و ۹ میلی گرم در میلی لیتر عصاره الکلی ترشک و داروی گلوکانتیم، اندازه زخم‌ها مجدداً مورد بررسی قرار گرفتند. در پایان هفته پنجم گروهی که عصاره ترشک با دوز ۹ میلی گرم در میلی لیتر را دریافت کرده بودند، نسبت به سایر گروه‌ها اندازه زخم کاهش بیشتری را نشان می‌داد. همچنین میانگین اندازه زخم‌ها در گروه شاهد و گروهی که فقط الکل دریافت نموده

عصاره بدست آمده تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۱۰).

کشت انگل: انگل لیشمانیا ماژور سویه استاندارد (MRHO/IR/75/ER) از دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران تهیه شد. به‌منظور تکثیر انگل به مقدار کافی اشکال پروماستیگوت از محیط‌های NNN (Navy Mack Neal Nicole Sigma) به محیط RPMI-1640 (Aldrich) غنی شده با ۱۰ درصد سرم جنین گوساله (Fetal calf serum) (Bovogen, Australia) $292 \mu\text{g/ml}$ و دارای ۱۰۰ واحد در میلی لیتر پنی‌سیلین و ۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر استرپتومایسین (DIFCO BACTO, USA) پاساژ داده شد. لوله‌های کشت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده و هر ۲ روز یک بار مورد بررسی قرار گرفتند. زمانی که اشکال پروماستیگوت به مرحله ایستایی (Stationary phase) رسیدند محتوی لوله‌های کشت را سانتریفیوژ نموده و انگل‌های رسوب داده شده را چند بار با بافر PBS (Phosphate buffered saline) استریل شست و شو داده و سپس مقداری PBS به آن افزوده و با استفاده از لام نئوبار انگل‌ها در واحد حجم شمارش و محاسبه شدند. در نهایت تعداد 1×10^6 پروماستیگوت در هر ۱۰۰ میکرولیتر محلول تنظیم شد.

تزریق به موش‌های BALB/c در این مطالعه ۳۰ سر موش نر از نژاد BALB/c با سن حدود ۸ تا ۱۰ هفته از انستیتو پاستور آمل تهیه شدند. مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون محتوی 1×10^6 پروماستیگوت‌های زنده و فعال لیشمانیا ماژور سوش استاندارد (MRHO/IR/75/ER) به صورت زیر جلدی در ناحیه قاعده دم موش‌ها تزریق شد. پس از سه هفته زخم‌های حاوی انگل لیشمانیا ایجاد شد (شکل ۲). موش‌ها به ۶ گروه ۵ تایی از A تا F تقسیم شدند. سه غلظت مختلف عصاره الکلی بذر گیاه ترشک (۳ و ۵ و ۹ میلی گرم در میلی لیتر) (۱۰) به میزان ۰/۸ میلی لیتر به صورت داخل صفاقی به گروه‌های D تا F تزریق شد. سه گروه دیگر به عنوان گروه‌های کنترل در نظر گرفته شدند، به طوری که گروه A هیچ ماده درمانی

جدول ۱- مقایسه میانگین اندازه قطر زخم های ناشی از لیشمانیا ماژور در موش های BALB/c، تحت درمان با عصاره الکلی ترشک و گروه های شاهد، بر حسب میلی متر

گروه ها	قبل از تزریق	پایان هفته چهارم	پایان هفته پنجم
A	۰/۰۷±۵/۱۶	۰/۱۴±۶/۲۷	۰/۰۸±۷/۴۷
B	۰/۰۷±۵/۶۶	۰/۰۹±۶/۵۲	۰/۰۹±۷/۲۴
C	۰/۰۵±۵/۶۳	۰/۰۹±۶/۱۰	۰/۱۰±۶/۳۸
D	۰/۲۴±۵/۳۷	۰/۰۹±۶/۰۱	۰/۱۰±۶/۳۲
E	۰/۱۱±۵/۸۰	۰/۰۸±۶/۰۱	۰/۱۰±۶/۱۶
F	۰/۱۲±۵/۷۲	۰/۰۸±۵/۴۱	۰/۰۶±۵/۱۱

A: گروه شاهد، B: گروهی که فقط الکل دریافت کردند، C: گروهی که داروی شیمیایی گلوکانتیم را دریافت نموده اند، D: گروهی که عصاره الکلی ترشک با دوز ۳ میلی گرم در میلی لیتر را دریافت نموده اند، E: گروهی که عصاره الکلی ترشک با دوز ۵ میلی گرم در میلی لیتر را دریافت نموده اند، F: گروهی که عصاره الکلی ترشک با دوز ۹ میلی گرم در میلی لیتر را دریافت نموده اند. $P \leq 0/05$ اختلاف معنی دار است.

جدول ۲- توزیع فراوانی بار انگلی لیشمانیا ماژور در زخم موش های BALB/c پایان هفته پنجم

گروه ها	فاقد انگل	۱-۱۰	۱۰-۱۰۰	۱۰۰-۱۰۰۰	ملاحظات ($P \leq 0/05$)
A	۰	۰	۰	۵	C اختلاف معنی دار با گروه
B	۰	۰	۱	۴	A و C اختلاف معنی دار با گروه
C	۰	۰	۳	۲	A اختلاف معنی دار با گروه
D	۰	۰	۲	۳	A اختلاف معنی دار با گروه
E	۰	۱	۳	۱	A و C اختلاف معنی دار با گروه
F	۱	۳	۱	۰	A و C اختلاف معنی دار با گروه

A: گروه شاهد، B: گروهی که فقط الکل دریافت کردند، C: گروهی که داروی شیمیایی گلوکانتیم را دریافت نموده اند، D: گروهی که عصاره الکلی ترشک با دوز ۳ میلی گرم در میلی لیتر را دریافت نموده اند، E: گروهی که عصاره الکلی ترشک با دوز ۵ میلی گرم در میلی لیتر را دریافت نموده اند، F: گروهی که عصاره الکلی ترشک با دوز ۹ میلی گرم در میلی لیتر را دریافت نموده اند. $P \leq 0/05$ اختلاف معنی دار است.

نشد ولی در هیچ یک از گروه های مورد مطالعه دیگر اجسام آماستیگوت به طور کامل حذف نشده بودند (جدول ۲).

بحث و نتیجه گیری

لیشمانیوز جلدی در ایران به صورت اندمیک بوده و تاکنون درمان های متعددی برای آن پیشنهاد شده است، از مهم ترین داروهای موضعی در درمان لیشمانیوز جلدی می توان به کیناکرین، مایکونازول، کلوتریمازول، پارومومایسین و ترکیب آمفوتریسین B اشاره نمود. همچنین داروهای سیستمیک مورد استفاده شامل: آنتی موآن های ۵

بودند، در پایان هفته ۵ به طور چشمگیری افزایش یافته و تغییری در کاهش اندازه زخم ها مشاهده نشد (جدول ۱).

در پایان هفته ۵ پس از تزریق انگل، از زخم ها گسترش تهیه شده و رنگ آمیزی گیمسا شد و در زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی $\times 40$ تعداد آماستیگوت ها مورد شمارش قرار گرفتند که نتایج زیر بدست آمد.

گروهی که عصاره الکلی ترشک با دوز ۹ میلی گرم در میلی لیتر را دریافت کرده بودند دارای بیشترین کاهش تعداد بار انگلی بوده به طوری که در یک سر از موش ها هیچ آماستیگوتی مشاهده

ظرفیتی (گلوکانتیم و پنتوستام)، پنتامیدین، کلروکین، فلوکونازول، کتوکونازول و آمفوتریسین B هستند (۱۲، ۱۳). عوارض جانبی فراوان ناشی از بسیاری از این داروها، تمایل به استفاده از فرآورده‌های دارویی با منشأ گیاهی و با عوارض کمتر را در درمان بیماری‌ها افزایش داده است. امروزه مطالعات مختلفی در زمینه تأثیر عصاره‌های گیاهی بر روی لیشمانیوز جلدی در ایران و جهان انجام گرفته به طوری که عصاره گیاهی و یا ترکیبات مشتق از گیاهان منبع با ارزشی برای یافتن داروهای جدید ضد لیشمانیوزی می‌باشد.

گیاه ترشک منبع ویتامین A و B و C بوده و آنتی‌اکسیدان موجود در آن با پیری و چین‌وچروک پوست مقابله می‌کند. همچنین خاصیت سم‌زدایی داشته و سموم مضر بیماری‌زا و عامل عفونت را از بدن دفع می‌کند. همچنین از ترشک به عنوان یک گیاه دارویی با خواص ضد التهابی، سم‌زدا و تقویت کننده سیستم ایمنی بدن نام برده شده است و اثرات ضد باکتریال و ضد ویروسی این گیاه نیز ثابت شده است (۱۴). ترکیبات فلاونوئیدی موجود در گیاه به عنوان مهارکننده قوی سیتوکین‌های التهابی شناخته شده است تحقیقات نشان داده است که پلی فنل‌هایی همچون تانن‌ها، آنتراکینون‌ها و ترکیبات فلاونوئیدی علاوه بر خواص آنتی‌اکسیدانی دارای اثرات ضد میکروبی مؤثری بر ضد میکروارگانیزم‌های مختلف می‌باشند (۸).

به علت دارا بودن خواص ضد میکروبی و ضد التهابی و نقش ترمیم‌کنندگی این گیاه در درمان زخم‌ها، در مطالعه حاضر برای اولین بار از عصاره الکلی دانه گیاه ترشک در درمان لیشمانیوز جلدی استفاده شد. میانگین قطر زخم‌های ایجاد شده در اثر تلقیح انگل و تعداد انگل موجود در زخم‌ها در بررسی میکروسکوپی به عنوان میزان تأثیر دارو در نظر گرفته شد. دارو در این بررسی به صورت تزریق داخل صفاقی استفاده شد که از این نظر از مطالعات مشابه قبلی متمایز است در اکثر مطالعات، داروها به صورت موضعی مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۱۵، ۱۶). از آنجاکه حیوان عادت به لیسیدن ناحیه زخم دارد می‌تواند در نتایج آزمایش

اختلال ایجاد شود.

نتایج حاصل نشان داد که با افزایش غلظت عصاره الکلی ترشک از ۳ تا ۹ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، تفاوت معنی‌دار ($p \leq 0.05$) در کاهش میانگین قطر زخم‌ها و تعداد آماستیگوت‌های موجود در زخم در مقایسه با گروه کنترل A، مشاهده می‌شود. این نتایج با مطالعات برخی از محققان که از عصاره‌های گیاهی مانند زرشک (*Berberis vulgaris*) (۱۸، ۱۷) استفاده کرده بودند مطابقت دارد. همچنین در مطالعه دیگری اسدی و همکاران مشخص نمودند که با افزایش غلظت عصاره هیدروالکلی چای کوهی و برگ ازگیل بر روی پروماستیگوت لیشمانیا ماژور در شرایط آزمایشگاهی تعداد پروماستیگوت‌ها کاهش می‌یابد (۱۹)؛ اما این سؤال مطرح است که آیا با افزایش بیشتر غلظت عصاره ترشک می‌توان انتظار داشت که تأثیرات آن هم بیشتر شود؟ پاسخ به این سؤال نیازمند تحقیقات بیشتری است زیرا با توجه به اسید اگزالیک موجود در گیاه ترشک استفاده زیاد و مداوم آن می‌تواند باعث تولید سنگ کلیه و مثانه شود. همچنین این گیاه با افزایش تولید ادرار در پایین آوردن وزن بدن مؤثر است که این کاهش وزن در بیماری‌های انگلی باعث مرگ و میر حیوانات می‌شود (۲۰، ۱۴).

در مطالعه ما گروه‌های دریافت کننده غلظت‌های ۵ و ۹ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره ترشک، نسبت به گروه گیرنده داروی گلوکانتیم اختلاف معنی‌داری در کاهش میانگین قطر ضایعات را نشان دادند، اما در مطالعه حجازی و همکاران که در تحقیق مشابهی اثر گیاهان آویشن و بومادران را بررسی کردند، این اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد (۲۱) که می‌تواند مؤید اثربخشی بیشتر عصاره ترشک بر روی زخم‌های لیشمانیایی باشد.

گرچه گزارشات متعددی در ایران در رابطه با اثرات مفید عصاره‌های گیاهی همچون آویشن شیرازی، سیر، بومادران (۲۱)، زرشک (۱۷)، شنبلیله (۲۲)، فلوس (۲۳) بر روی کاهش قطر زخم‌های ناشی از لیشمانیا ماژور وجود دارد اما برخی از مطالعات از بی‌اثر بودن گیاهان مورد بررسی حکایت دارند. برای مثال درودگر و

59(2):147-149.

10. Moradi A, Ebrahimpour G, Karkhane M, Marzban A. [Surveying the Antioxidant and the Antimicrobial Effects of Aqueous and Ethanolic Extract of *Rumex Alveollatus* L. on In-vitro Indicator Microorganisms]. *J Fasa Univ Med Sci*; 2015. 4(4):418-426. (Persian)

11. Samsam Shariat SH. [Extraction and derivation of medicinal plant effective materials and their assessment methods]. 2nd ed. Esfahan: Mani; 1386. p.1212-20. (Persian)

12. Lerner EA, Grevelink SA. Leishmaniasis. In: Arndt K A, LeBoil PE, Robinson JK, et al (eds). *Cutaneous medicine and surgery*. Philadelphia W.B. Saunders, 1996, p: 1163 - 70.

13. Vardy D, Baranhol ZYC. Topical amphotericin B for cutaneous leishmaniasis. *Arch Dermatol*; 1997. 135: 856 - 7.

14. Sorrel KJ. (*Rumex acetosa* L.). The Longwood Herbal Task Force, Revised July 15, 1999.

15. Doroodgar A, Arbabi M, Razavi MR, Mohebbali M, Sadr F. Treatment of Cutaneous Leishmaniasis in Murine Model by Hydro Alcoholic Essence of *Artemisia sieberi*. *J Arthropod-Borne Dis*; 2008. 2(2): 42-47.

16. Hooshyar H, Talari S, Feyzi F. Therapeutic Effect of *Hedera helix* Alcoholic Extract Against Cutaneous Leishmaniasis Caused by *Leishmania major* in Balb/c Mice. *Jundishapur J Microbiol*; 2014. April 7(4): e9432.

17. Fata A, Rakhshandeh H, Berenji F, Jalalianfard A. Treatment of Cutaneous Leishmaniasis in murine Model by Extract of *Berberis vulgaris*. *Iranian J P*; 2006. 1(1): 39-42.

18. Salehabadi A, Karamian M, Farzad MH, Namaei MH. Effect of root bark extract of *Berberis vulgaris* on *Leishmania major* on BALB/c mice. *Parasitol Res*; 2014. 113: 953-957.

19. Asadi M, Bahrami S, Ansari Samani R, Pakniat N. [Effect of hydroalcoholic extracts of *Stachys lavandulifolia* Vahl and *Mespilus germanica* leaves on *Leishmania major* in vitro]. *Hormozgan Med J*; 2011. 4:279-284. (Persian)

20. Moattar F, Shams Ardakani MR. [Guid to plant health academy]. 4th ed. Tehran: Farhangestan Oloum; 1378. p: 65-66. (Persian)

21. Hejazi H, Bidabadi L, Zolfaghari A, Saberi S, Nilforooshzadeh MA, Moradi Sh, et al. [Comparing the efficacy of hydroalcoholic extracts of thyme, yarrow, henna and garlic on cutaneous lesions caused by *Leishmania major* in animal models]. *J Med Plants*; 2009. 2(30):129-136. (Persian)

22. Jarallah HM. Effects of *Trigonella Foenum-Graecum* seeds extracts on promastigote of *Leishmania major*. *Basrah J. Agric. Sci*; 2005. 18(2): 9-16

23. Jafari F, Moradi S, Nilfroshzadeh M, Derakhshan R, Aansari N. Comparison effect of concentrated decoction extract and hydroalcoholic

همکاران، اثر غلظت‌های ۱، ۳ و ۵ درصد عصاره گیاه *Artemisia sieberi* را بر روی زخم‌های ناشی از لیشمانیا ماژور در موش‌های BALB/c بررسی کردند، پس از ۳۰ روز مشاهده شد که قطر زخم‌ها و تعداد انگل موجود در آن‌ها نه تنها کاهش نیافته بلکه افزایش نیز یافته است (۱۵).

در آخر باید یادآور شد که برای دانستن اینکه کدام جزء از این گیاه باعث کاهش بار انگلی و بهبود نسبی زخم‌ها می‌شود، نیاز به شناخت ساختار و اجزاء کامل گیاه ترشک دارد. همچنین پیشنهاد می‌شود، این گیاه به صورت ترکیبی با سایر گیاهان مؤثر استفاده شود تا اثرات ترکیباتی آن نیز مشخص شود.

تقدیر و تشکر

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی آجا و دانشکده پیراپزشکی شرق گیلان که ما را در انجام این طرح یاری نمودند کمال سپاس و قدردانی را داریم.

منابع

1. WHO. Report by the secretariat. Control of leishmaniasis. EBook; 2006. 118(4):1- 7.
2. <http://www.who.int/gho/neglected-diseases/leishmaniasis>
3. Croft SL, Coombs GH. Leishmaniasis current chemotherapy and recent advances in the search for novel drugs. *Trends Parasitol*; 2003.19: 502-08.
4. Kubitzki K. The families and genera of vascular plants. Springer; 1993. 2.
5. Kaul MK. Medicinal plants of Kashmir and Ladakh, temperate and cold-arid Himalaya. New Delhi: Indus Publishing Co; 1997. p: 173.
6. Rao KNV, Sunitha C, David B, Sandhya S, Mahesh V. Study on the nutraceuticals from the genus *Rumex*. *Hygeia J D Med*; 2011. 3(1):76 -88.
7. Joo Ye. Natural product –derived drugs for the treatment of inflammatory Bowel Diseases. *Intest res*; 2014. 12(2):103-109.
8. Sokmen M, Angelova M, Krumova E, Pashova S, Ivancheva S, Sokmen A, et al. In vitro antioxidant activity of polyphenol extracts with antiviral properties from *Geranium sanguineum* L. *Life sciences*; 2005.76(25):2981-2993.
9. Suleyman H, Demirezer Lo, Kuruuzum-uz A. Effect of patientia root extracttia root extract on indomet on indomethacine and ethanol induced gastric damage in rats. *Die pharmazie*; 2004.

fruit extract of cassia fistula with local injection of glucantim of cutaneous leishmaniasis. *Skin disease*; 2006. 9: 211-216.

Evaluation the effect of rumex alcoholic extract against cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania major* in BALB/c mice

Farzad Nursabaghi, Msc of Physiology, Department of Physiology, School of Paramedicine, East of Gilan University, Langerood, Iran.

Mahmood Abedinzade, Assistant Professor of Physiology, Department of physiology, School of Paramedicine, East of Gilan University, Langerood, Iran.

***Nahid Jalallou**, Assistant Professor of Parasitology, Department of Laboratory Science, School of Paramedicine, AJA University, Tehran, Iran (*Corresponding author). nahidjalallou@yahoo.com

Abstract

Background: Cutaneous leishmaniasis is an endemic disease in many countries, including Iran. Pentavalent antimony compounds used to treat this disease is associated with adverse effects for patients. The aim of this study was to evaluate the effectiveness of the alcoholic extract of Rumex on experimental lesion of *Leishmania major* in BALB/c mice.

Methods: In this study, thirty mice were divided into 6 groups A to F, 5 mice in each group, and then inoculated subcutaneously at the base of the tail with 100 micro liter liquid phase culture containing promastigotes (1×10^6) of active *Leishmania major* promastigotes standard strain (MRHO/IR/75/ER). Cutaneous lesions were appeared approximately after 3 weeks. Three different concentrations of Rumex seeds alcoholic extract (0.3, 0.5 and 0.9) were used as an injection to Group D-F. Three other groups were considered as control; group A received no treatment, groups B and C were received ethanol alone and glucantime, respectively. All injections were performed 2 times a day for 15 days and every week the lesion diameter was measured in all groups. The number of parasites in the lesions stained smears were examined under a microscope. Information were recorded and analyzed using one – away ANOVA and post-hoc Tukey's test.

Results: The mean diameter of lesions decreased in concentration of 9mg/ml after 5 week and complete healing was observed in this group. Also the parasitic load was decreased significantly in comparison with glucantime injected group ($p \leq 0.05$).

Conclusions: The results suggest that the effective concentration of the herbs mentioned in this article (9mg/ml) could be used as an appropriate alternative medicine on human cutaneous leishmaniasis.

Keywords: Cutaneous Leishmaniasis, *Leishmania major*, Rumex, Mice BALB/c