

بررسی اثر داروی ترکیبی زاج سیاه و سفید بر ضایعات ناشی از لیشمانیوز جلدی

علی محمد بهرامی^{1*}، افرا خسروی²، ناهید ماسپی²

(1)آموزشکده دامپزشکی، دانشگاه ایلام

(2)گروه علوم پایه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام

تاریخ پذیرش: 88/10/22

تاریخ دریافت: 88/6/15

چکیده

مقدمه: لیشمانیوز بیماری انگلی مشترک بین انسان و حیوان با تنوع بالینی گسترده می باشد، که تحقیقات زیادی درباره جنبه های مختلف آن توسط سازمان بهداشت جهانی انجام شده است. درمان لیشمانیوز انسانی هنوز بر پایه استفاده از ترکیبات آنتی موان 5 ظرفیتی که دارویی پرعارضه می باشد صورت می گیرد. علاوه بر عوارض کاربرد این ترکیب ها، مقاومت انگل نسبت به این ترکیب ها هم مشکلی رو به افزایش است و با توجه به مشکلات مذکور و از طرف دیگر اندمیک بودن بیماری در این منطقه، نیز از دیگر دلایل اجرای این تحقیق محسوب گردید.

مواد و روش ها: با استفاده از پرسش نامه های از قبل تهیه شده و همکاری معاونت بهداشت و درمان استان و درمانگاه های سطح شهر ایلام، 36 بیمار انتخاب گردید پس از دریافت رضایت کتبی به سه گروه 12 نفره تقسیم گردیدند. گروه 1 شاهد (تحت درمان با داروی شیمیائی آمفوتریسین B، گروه 2 (تحت درمان با داروی محلی فرمول بندی شده شماره 1) و گروه سوم (تحت درمان با داروی فرمول بندی شده محلی شماره 2) (شماره 1 با ترکیب درصد بالاتر بصورت جلدی) تحت نظر پزشک مورد درمان قرار گرفتند. جهت اطمینان از وجود آماسیگوت در بیماران از سه روش الف) بیویسی ب) محیط کشت Novy- Mac- Neal- Nivolle (NNN) ج) آسپیره کردن از لبه ضایعه استفاد گردید.

یافته های پژوهش: یافته های حاصل از این نشان داد که داروی محلی ترکیب شده در دو غلظت متفاوت اثر خوبی داشت و داروی شماره دو محلی می تواند در تسریع بهبود زخم ها با داروی شیمیایی قابل مقایسه باشد. در افرادی که با داروی محلی شماره دو درمان شده بودند احساس استرس و خارش در اطراف زخم ها وجود نداشت و در صورتی که در گروه شاهد این احساس استرس و خارش در دوران معالجه وجود داشت. در کنترل قطر هاله زخم ها نیز داروی تهیه شده محلی تأثیر بسزایی در کوتاه مدت از خود نشان داد که قابل مقایسه با داروی آمفوتریسین B می باشد.

بحث و نتیجه گیری: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که احتمالاً در ترکیب داروی محلی فرمول بندی شده با زاج سفید، زاج سیاه، کات کبود، کره، عوامل کنترل و مهار کننده بیماری لیشمانیوز جلدی وجود دارد.

واژه های کلیدی: لیشمانیوز، سالک، زاج سفید، کات کبود

*نویسنده مسئول: آموزشکده دامپزشکی، دانشگاه ایلام

Email : am_bahram2002@yahoo.com

مقدمه

عامل مولد بیماری لیشمانیوز جلدی در ایران لیشمانیا ماژور (*Leishmania major*)، مولد فرم روستائی یا مرطوب بیماری، و لیشمانیا تروپیکا (*Leishmania tropica*)، مولد فرم خشک یا شهری، می باشد، (1-2)، علایم بالینی بیماری لیشمانیوز جلدی بسته به گونه و سویه انگل ایجاد کننده، متفاوت می باشد که از یک زخم کوچک پاپولی فاقد ترشحات تا فرم های با زخم وسیع، بادرخی و فرم های مزمن لوپوئید یا توپر کلئید متغیر می باشد. تفاوت در نوع ضایعات ناشی از تفاوت در گونه انگل، ویرو لانس متفاوت آن ها و پاسخ های میزبان در مقابل انگل می باشد، (3-4)، در زمینه کشف داروهای ضد لیشمانیا تاکنون مطالعات گسترده ای صورت گرفته و مواد مختلفی به عنوان دارو پیشنهاد گردیده است که از جمله آن ها می توان به عصاره اتیل استات از گیاه پودوکالیکس اشاره نمود که علیه پروماستیگوت های لیشمانیا مکزیکانا اثر نسبی دارد، (5)، روغن لینالول که از برگ های *Croton-Cajucara* گرفته می شود علیه لیشمانیا آمازونیس استفاده شده است، (6)، با توجه به یافت نشدن پاسخ بالینی صحیح (7)، عوارض بالقوه جدی داروهای شیمیایی لیشمانیوز از جمله عوارض کبدی، قلبی، پانکراسی، عضلانی و اسکلتی (8-9)، تزریق های دردناک طولانی مدت، هزینه های هنگفت برای سیستم بهداشتی و درمانی برای تهیه و وارد کردن دارو از مشکلات و نقاط ضعف داروهای شیمیایی در درمان لیشمانیوز جلدی می باشد. با توجه به نقاط ضعف یاد شده هدف از انجام این سری آزمایشات تلاش برای یافتن درمان کم عارضه، مؤثر، ارزان قیمت، قابل دسترس، کاهش دادن عارضه ضایعه باقی مانده از زخم پاپول ها (اسکارها) جهت دستیابی به داروئی برای التیام پایول های لیشمانیوز جلدی با استفاده از دو ترکیب متفاوت از داروی محلی می باشد.

مواد و روش ها

از بین بیماران مشکوک به لیشمانیوز جلدی مراجعه کننده به درمانگاه های سطح شهر ایلام، با مجوز از معاونت بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام،

36 نفر از بیماران پس از انجام آزمایش و مثبت بودن نتیجه آن یعنی تایید لیشمانیوز جلدی به صورت داوطلبانه با آگاهی از ترکیب داروی محلی و با اخذ رضایت کتبی انتخاب گردیده، تحت نظر پزشک مورد درمان قرار گرفتند. ابتدا در مواردی که زخم بیمار مشکوک به بیماری ثانویه بود با تجویز داروی آنتی بیوتیک مناسب به مدت یک هفته عفونت مورد درمان قرار گرفت. از تعداد 36 نفر بیمار، 22 نفر زن و 14 نفر مرد بودند. این تعداد که بین 20 تا 30 سال سن داشتند به سه گروه 12 نفری تقسیم شدند. گروه اول به عنوان گروه شاهد تحت درمان داروی شیمیایی آمفوتریسین B سه روز اول 0/25 میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن (از راه وریدی) و بعد از سه روز دوز دارو به میزان 0/5 میلی گرم بر کیلوگرم افزایش یافت و درمان به مدت 6 تا 12 هفته با مراجعه روزانه افراد تحت درمان، به درمانگاه ادامه داشت. گروه دوم تحت درمان ترکیب فرمول بندی شده داروی محلی شماره یک، و گروه سوم تحت درمان ترکیب فرمول بندی شده داروی محلی شماره 2 قرار گرفتند (جدول شماره 1). هر هفته یک بار معاینات بالینی بر روی بیماران صورت گرفت و قطر هاله زخم ها از ابتدای شروع تجویز دارو تا زمان توقف رشد زخم اندازه گیری گردید.

قبل از شروع درمان جهت اطمینان از وجود یا عدم وجود آماستیگوت با سه روش تشخیص آزمایشگاهی ذیل لیشمانیوز جلدی تایید گردید.

الف-روش آسپیره کردن از لبه ضایعه: ابتدا لبه ضایعه مشخص گردید و سپس توسط یک سرنگ 2 میلی لیتری میزان 0/1 الی 0/2 میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل به داخل لبه ضایعه تزریق گردید. سر سوزن 2 الی 4 بار داخل پوست چرخانده شد. این کار موجب تشکیل قطعاتی از بافت در محل ورود سوزن می گردد و مایعات داخل بافت به وسیله سرنگ کشیده شد و از این مایع برای محیط کشت و تهیه گسترش جهت رنگ آمیزی استفاده گردید، (10). یک قطره کوچک از محتویات داخل سرنگ بر روی لام قرار گرفت و پس از خشک شدن در دمای اتاق با متانول فیکس گردید. لام ها با استفاده از محلول گیمسا به مدت 12 دقیقه رنگ آمیزی شدند و

سپس با بزرگنمایی $100\times$ و استفاده از روغن ایمرسیون در زیر میکروسکوپ مورد مطالعه قرار گرفتند.

ب-روش بیوپسی: ضایعه و لبه کناری آن برای نمونه برداری با الکل کاملاً تمیز گردید. در موارد ضروری و با درخواست بیمار بی حسی موضعی صورت گرفت و سپس از لبه ضایعه با اسکالپل کاملاً استریل شده نمونه برداری صورت گرفت.

ج-روش محیط کشت Navy- mac- Neal- (NNN) Nivolle

ترشحات از اطراف زخم گرفته شد و داخل محیط NNN یا محیط های دو فازی با پایه آگار انتقال داده شد و پروماستیگوت ها مشاهده گردید.

روش تهیه و استعمال داروی محلی

زاج سفید، زاج سیاه، کات کبود 0/1 داده شده در جدول (1) با یکدیگر مخلوط نموده و با حرارت کم سوزانده شد سپس آن را به خوبی بمدت 5 دقیقه سائیده با کره گاوی به خوبی مخلوط نموده تا به صورت خمیر یا پماد مانند در آید. پماد تهیه شده در دمای یخچال دور از حرارت و نور نگهداری شد و این پماد در دو نوبت صبح و عصر روی زخم ها (بدون وارد نمودن فشار) به حدی که تمام سطح زخم را پوشاند مالیده شد، بایست توجه داشته باشیم که فشار باعث انتشار آماستیگوت می گردد.

جدول 1. فرمول مقدار مواد استفاده شده جهت تهیه پماد داروی محلی

فرمول تهیه شده داروی محلی شماره 1		فرمول تهیه شده داروی محلی شماره 2	
زاج سفید	5 گرم	زاج سفید	10 گرم
زاج سیاه	5 گرم	زاج سیاه	10 گرم
کات کبود 0/1	2/5 گرم	کات کبود 0/1	5 گرم
کره	10 گرم	کره	20 گرم
		زردچوبه بعنوان ماده اضافی	1 گرم

یافته های پژوهش

قبل از درمان زخم های بیماران در هر 3 گروه از وجود آماستیگوت اطمینان حاصل گردید و پس از شروع درمان، افراد تیمار شده با داروی شیمیائی آمفوتریسین B در 8 مورد زخم ها بین 46-61 روز، 3 مورد بعد از 141 روز و 1 مورد بعد از 168 روز زخم به طور کامل بهبود یافت. در گروه دوم از 12 نفری که از داروی محلی شماره یک استفاده شده بود، زخم ها در 7 مورد پس از 62-83 روز، 3 مورد پس از 164 روز و 2 مورد پس از 196 روز به طور کامل بهبود یافتند. در

گروه سوم (بیمارانی که از داروی محلی شماره دو با درصد قوی تری و زردچوبه به عنوان ماده اضافه شده به پماد استفاده شده بود)، زخم های 9 مورد بین 39-53 روز و 3 مورد پس از 146 روز بطور کامل بهبود یافتند (جدول شماره 2). در مقایسه بین گروهی میانگین بهبود زخم های بیماران به ترتیب گروه یک تا سه، 85، 116 و 71 روز به طول انجامید. انحراف معیار بین گروهی نیز آورده شده است (جدول شماره 3).

جدول شماره 2. تفکیک روزهای بهبودی زخم ها با استفاده از داروهای مصرفی

عنوان دارویی	روزهای بهبود								جمع
	46-68	141	168	62-83	164	196	39-53	146	
B آمفوتریسین	8	3	1	—	—	—	—	—	12
داروی بومی 1	—	—	—	7	3	2	—	—	12
داروی بومی 2	—	—	—	—	—	—	9	3	12

جدول شماره 3. مقایسه بین گروهی بهبود یافتن زخم‌ها و انحراف معیار سه گروه

مقایسه ها	No (تعداد)	میانگین روزهای بهبود	Std. Deviation (انحراف معیار)
گروه اول (شاهد)	12	85	47
گروه دوم	12	116	55
گروه سوم	12	71	45

6 تا 9 روز به طول انجامید. داروی محلی شماره 1 که بر روی گروه دوم تست گردید دارای اثر ضعیف‌تری نسبت به داروی محلی شماره 2 از خود نشان داد. در 7 نفر از بیماران گروه دوم توقف رشد و گسترش پاپول‌ها پس از 9 روز از شروع درمان صورت گرفت و در 5 نفر باقی مانده این گروه 16 روز تا توقف گسترش پاپول‌ها به طول انجامید. زخم‌های بیماران گروه شاهد (1) در 9 نفر از آن‌ها بعد از 8 روز استفاده از دارو و در 3 نفر دیگر باقی مانده این گروه بعد از گذشت 12 روز توقف گسترش زخم‌ها مورد مشاهده قرار گرفت. (جدول شماره 4)

یافته دیگر این تحقیق این که در دو مورد از بیماران گروه‌های 2 و 3 و به صورت خیلی خفیف از خارش اطراف زخم‌های خود شکایت داشتند در صورتی که تمام افراد گروه یک (گروه شاهد) از خارش در اطراف زخم‌های خود کاملاً گله مند و دچار استرس در دوره درمان بودند. قطر پاپول‌ها در هر سه گروه اندازه‌گیری و با یکدیگر مقایسه گردید. داروی محلی شماره 2 که بر روی گروه سوم بیماران آزمایش گردید دارای اثر قابل توجهی بود، در 6 نفر از بیماران این گروه رشد پاپول‌ها به تدریج پس از 5 روز از استعمال داروی محلی متوقف گردید. در 6 نفر باقی مانده این گروه مدت زمان لازم برای توقف رشد تدریجی پاپول‌ها

جدول شماره 4. مقایسه بین قطر هاله ایجاد شده تا زمان فیکس شدن (به میلی متر)

عنوان دارویی	قطر هاله ایجاد شده تا زمان فیکس شدن (به میلی متر)			جمع
	10 تا 15	16 تا 25	26 تا 36	
Amphotericine B	0	1	11	12
داروی بومی 1	1	9	1	12
داروی بومی 2	1	11	0	12
جمع کل	2	21	12	36
درصد	5.6	58.3	33.3	100

مقایسه با دو گروه دیگر نتیجه قابل توجه و موثری حاصل گردید. این داروی ترکیبی رشد و تکثیر انگل را متوقف نمود. در فرمول‌بندی داروی ترکیبی شماره 2 که از زردچوبه به عنوان ماده اضافی استفاده شده است، نتیجه بهتری حاصل شد که یکی از دلایل آن را می‌توان جذب رنگ در داخل سلول که آماستیگوت وجود داشت برشمرد. احتمالاً عامل رنگی می‌تواند به عنوان یکی از عوامل ممانعت از گسترش زخم عمل

بحث و نتیجه گیری

یکی از اهداف این پژوهش جمع‌آوری اطلاعاتی در مورد تأثیر ترکیبی از زاج سفید، زاج سیاه، کات کبود 1 درصد و کره گاوی در دو درصد متفاوت جهت دستیابی به داروی ترکیبی برای درمان بیماری لیشمانیوز جلدی انجام گرفت. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد در گروهی که از داروی محلی فرمول‌بندی شده شماره 2 استفاده کرده بودند، در

نماید. این گفته در حد یک تئوری است، همچنان که در بعضی از مطالعات پراکنده کماکان به آن اشاره شده است و نیاز به تحقیقات دقیق‌تری دارد.

بر اساس نتایج این تحقیق، داروی تهیه شده ترکیبی بر روی ضایعات کوچک‌تر از 1/5 سانتیمتر مربع اثر بهبودی نسبتاً کاملی (94 درصد) داشت و در مقایسه با داروی شیمیائی فاقد واکنش حساسیت به شکل قرمزی پوست، تورم و خارش در اطراف ضایعه می باشد. وجود احساس خارش، تورم و حساسیت توسط داروهای شیمیائی در بیماران لیشمانیوز جلدی به وسیله تعدادی از محققین گزارش شده است، (11-15). اسکار، باقی مانده در پوست افراد مبتلا به بیماری لیشمانیوز جلدی حتی با گذشت سالیان متمادی همچنان نمایان است و ظاهری نامطلوب همراه با احساس ناخرسندی به شخص دست می‌دهد چون معمولاً نواحی باز و در معرض دید از جمله صورت و دست‌ها و پاها گرفتار می‌شوند، و از نظر ظاهر و زیبایی به خصوص در دختران و زنان جوان مشکلاتی را ایجاد می‌کند. استفاده از داروهای کاملاً شیمیائی این ضایعه اسکار را کاملاً از میان نمی‌برد و از طرف دیگر در بعضی موارد به دلیل پیدایش مقاومت داروئی عامل بیماری، درد، طولانی بودن دوره درمان، مراجعه ممتد و

روزانه بیماران به پزشک جهت دریافت تزریق دارو، نتیجه چندان مطلوبی حاصل نشده است، (11-13-16). نتیجه حاصل از استفاده داروی ترکیبی این تحقیق نشان می‌دهد که مقاومت دارویی به دلیل اثر مثبت آن در بهبود بیماران را می‌توان منفی تلقی نمود و از طرف دیگر اسکارهای باقی‌مانده در افرادی که از داروی ترکیبی استفاده نموده اند به دلیل جلوگیری از گسترش زخم‌ها در ابتدای بیماری به مراتب برای بیماران قابل قبول‌تر و با استرس کمتر، نسبت به داروی شیمیائی بود و رضایت مندی نیز به همراه داشت. (عکس های 6-1) با توجه به نتیجه بدست آمده از این تحقیق و پاسخ قابل قبول علمی در برابر ترمیم ضایعات بیماری لیشمانیوز جلدی، این ترکیب داروی محلی فرمول‌بندی شده را می‌توان به عنوان یک داروی ترکیبی ارزان، قابل دسترس و مؤثر با مشورت پزشکان متخصص به صورت داروی درمانی جایگزین مورد استفاده بیماران جلدی با مطالعات و تحقیقات بیشتر پیشنهاد نمود. توصیه می‌شود به منظور تکمیل این تحقیق پژوهش‌های دیگری بر روی اثرگذاری واکنش رنگ در جلوگیری و پیشرفت آماستیگوت در بیماران طراحی گردد.



شکل (2،1) بهبودی لیشمانیوز بعد از استفاده از داروی محلی



شکل (3،4) اسکارهای باقی مانده بعد از بهبودی کامل با استفاده از داروی محلی



شکل (5،6) اسکارهای باقی مانده از لیشمانیوز جلدی بعد از استفاده از داروی شیمیایی



شکل (7) نمونه‌ای از مخازن پشه خاکی و چونده در محیط‌های زندگی



شکل (8) محیط زندگی همراه با احشام شرایطی مناسب (سیاه چادر) برای جذب پشه خاکی

References

- 1-Motazadian H, Noamanpoor B, Ardehali S. [Characterization of leishmania parasites isolated from the Islamic Republic of Iran]. *East Meditera Health J* 2002; 8(2-3): 338-344.
- 2-Sarkari B, Razanejad H, Hatam GHR, Motazadian MH, Mirjalili A. [An in vitro study on virulence of leishmaniosis parasites isolated from cutaneous leishmaniosis patients]. *Environmental of Armaghan-e- Danesh* 2005; 10(3) 17-24.(Persian)
- 3-Ardehali S, Rezai H, Nadim A. [Leishmaniasis and leishmania parasites]. 2nd ed. Tehran: Tehran University publi. 1984; p. 27-42.(Persian)
- 4-WHO. Report of working scientific group on leishmaniasis[on line][cited Feb.2004]. Available from: URL [http:// www. Who. int/ publications/ swg/ leish](http://www.who.int/publications/swg/leish).
- 5-Ormazdi H. [Medical Parasitology (protozoa)]. 6nd Ed. Tehran: Hayan publi 1988; 23-25.(Persian)
- 6-Hatam GH, Ardehali S, Sajavy SM, Motezadian MH, Fakorzyba MR. [Technique of isolation and identification of leishmaniosis parasites]. Shiraz: Shiraz University of Medical Sciences Publi 1989; 38-39. (Persian)
- 7-Lawn SD, Yardley V, Watson J, et al. South American cutaneous leishmaniasis in returned travelers treatment failures using intravenous sodium stibogluconate. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 2003; 97: 443-5.
- 8-Vega Lopez, Hey RJ. Parasitic worms and protozoa: Leishmaniosis. In: Burns T, Breathnach S, Cox N, Griffiths G, (editors). *Rook's Textbook of Dermatology*. Oxford Blackwell Science 2004.p. 32: 47.
- 9-Pehoushek JF, Quinn DM, Crum WP. Cutaneous leishmaniasis in Iraqi soldiers. *J Am Acad Dermatology* 2004; 41: S125.
- 10-Erns DA. Handbook on isolations, characterization and cry preservation of Leishmania. Geneva, Switzer land. UNDP/ World Bank / WHO Special Programmer for Research and Training in Tropical Disease (TDR) 1989; 1211.
- 11-Shamsi M, Bahrami AM. [The concepts of Arthropods in veterinary]. Ilam University publi 2009.p. 211-13.(Persian)
- 12-Nylfroshzadeh MA, Raeeszadeh MR, Jafari F. [Local treatment of wet cutaneous leishmaniosis with chloro stick nazy acid in comparison with intralesional glucantim]. *Clin Exp Dermatology* 2003; 6(2): 36-9.(Persian)
- 13-Sadeghian K, Nylforoshzadeh MA, Motavali Emami M. [Comparison of hyper tonic sodium chloride solution effects or interalesional Meglumine antimonite in treatment of cutaneous wet leishmaniosis]. *Clin Exp Dermatology* 2005; 8(4): 251-55.(Persian)
- 14-Ardehali S, Razaee H, Nadeem A. [Leishmaniosis and leishmania parasites]. 2nd Ed. Tehran: Tehran University publi 1984.p. 208.(persian)
- 15-Zaeem M, Sayadi Rashti SM, Saebi E. [The concepts of medical entomology]. 1st ed, Tehran: Tehran University publi 1983; 72-5.(Persian)
- 16-Faghihi G, Tavakoli Kia R. Treatment of cutaneous Leishmaniasis with either topical paromomycine or intralesional meglumine antimonite. *Clin Exp Demerol* 2003; 28:13-16.



Effects of Drug Combined of Black And White Alum on Cutaneous Leishmaniasis Lesion

Bahrami AM^{1*}, Khosravi A², Maspi N²

(Received: 6 Sep, 2009

Accepted: 12 Jan, 2010)

Abstract

Introduction: Leishmaniosis is a parasitic disease of man and animal with different clinical performance. WHO has suggested the disease to be investigated and supported from different points of view. The treatment of leishmaniosis is still based on using different compounds of antimonite drugs which cause variety of side-effects. Furthermore, resistance of parasites to this type of drug is an increasing problem. This is one reason along with being an epidemic disease in Ilam for our research to be accomplished.

Materials & Methods: In this study, 36 patients with their own written agreements, were divided into 3 groups, each group included 12 cases. The first group was studied as the control part-taker receiving treatment with amphotericin B, the 2nd group were treated with local formulated drug (no 1), and the 3rd group received treatment with local made drug of more concentration (no2) under consultation of a physician. To confirm the presence of amastigotes in patients, we used three different methods as follows: biopsy, culture media (NNN) and Smear.

Findings: Both the local made formulated drugs with two different concentration compounds showed different positive effects on leishmaniosis wounds; However, the 2nd local made drug showed better results in comparison with that of amphotericin B. Regarding the drug complications, in comparison with amphotericin B, the itching around wounds in patients who had used local made formulated drugs did not experience stresses and feelings of itching, but those patients who had used chemical drug had suffered lot of itching in the area as well as a lot of stresses during treatment. Regarding the control of the wound diameter in the patients, the local made drug proved more effective than amphotericin B.

Discussion & Conclusion: In compound made local drug of black and white alum, sulphate of cooper %1 and butter, there is an effective factor for controlling cutaneous leishmaniosis.

Keywords: leishmaniosis, lesion, alum, sulphate of cooper

1. School of Veterinary, Ilam University, Ilam, Iran (corresponding author)

2. Dept of Basic Sciences, Faculty of Medicine, Ilam University of Medical Science, Ilam, Iran