مقاله پژوهشی

تأثیر القای جریان مستقیم الکتریسیته همراه با نانوذره سلنیوم و نقره در بهبودی ضایعات ناشی از لیشمانیا ماژور در موش بالب سی

مهدی کریمی[۱]، عبدالحسین دلیمی[۲]، فرنوش جامعی[۳]، عباس دلیمی[٤]، فاطمه غفاری‌فر[٥]

تاریخ دریافت ۱۳۹۴/۰۶/۱۵ تاریخ پذیرش ۱۳۹۴/۰۸/۲۰

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: گونه‌های مختلف لیشمانیا می‌تواند سبب عفونت انسان شود و علائم بالینی مختلفی را ایجاد کند. ازآنجاکه درمان‌های حاضر چندان رضایت‌بخش نبوده و واکسنی هم وجود ندارد نیاز فوری برای شناسایی داروهای مؤثر بر عامل بیماری وجود دارد. در مطالعه حاضر تأثیر جریان مستقیم همراه با نانوذرات سلنیوم و نقره در کشندگی لیشمانیا ماژور در مدل حیوانی بررسی شده است.

مواد و روش کار: در این مطالعه تجربی، ۲۴ سر موش بالب سی در چهار گروه تقسیم و با انگل لیشمانیا ماژور به‌صورت تجربی آلوده شدند. سپس نانوذرات نقره با غلظت 250mg/kg و نانوذرات سلنیوم با غلظت 125 mg/kg در شرایط درون تنی به‌صورت داخل زخم تزریق و هم‌زمان ۰/۵ میلی‌آمپر جریان الکتریسیته مستقیم به زخم القا شد. پس از ۵ هفته درمان، تغییرات اندازه زخم و وزن موش‌ها اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها :در گروه تحت درمان با جریان الکتریسیته و نانوذره نقره ضایعه کوچک‌تری نسبت به گروه تحت درمان با جریان الکتریسیته و نانوذره سلنیوم مشاهده شد ($P<0.05$). گرچه هر دو گروه نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری داشتند ولی با گروه کنترل تحت درمان با گلوکانتیم نیز اختلاف داشتند ($P<0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری: اگرچه استفاده از نانوذره سلنیوم و نقره توأم با جریان مستقیم الکتریسیته در موش ضایعه پوستی را محدود کرده است ولی سبب بهبودی کامل زخم نگردید.

کلیدواژها: لیشمانیا ماژور، نانوذرات سلنیوم، نقره، جریان الکتریسیته مستقیم، موش

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و ششم، شماره دهم، ص ۸۳۵-۸۲۸، دی ۱۳۹۴

آدرس مکاتبه: تهران، تقاطع بزرگراه آل احمد- شهید چمران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه انگل‌شناسی، تلفن: ۸۲۸۸۳۸۳۸-۲۱

Email: dalimi_a@modares.ac.ir

مقدمه

لیشمانیوزیس جزء بیماری‌های عفونی مهم دنیاست که توسط تک‌یاخته‌های نسجی خونی داخل سلولی اجباری از جنس لیشمانیا از راسته کینتوپلاست داران در ماکروفاژهای ترجیحاً پوست، کبد، طحال، مغز استخوان ایجاد می‌شود. لیشمانیوز یکی از مهم‌ترین عوامل میرایی و ناخوشی در چندین کشور می‌باشد. تخمین زده‌شده که بیش از ۳۵۰ میلیون نفر در سراسر جهان مورد تهدید این بیماری قرار می‌گیرند. عوامل گوناگونی ازجمله گونه انگل، شدت آلودگی، محل ورود انگل، وضعیت دستگاه ایمنی و ژنتیک میزبان در ایجاد و عدم بروز آن مؤثر است. این انگل از طریق نیش پشه خاکی ماده آلوده به میزبان مهره‌دار منتقل می‌شود. بسته به گونه انگل به چهار فرم اصلی جلدی، جلدی مخاطی، جلدی منتشر و احشایی مشاهده می‌شود. لیشمانیوز جلدی شایع در ایران معمولاً موجب مرگ نمی‌شود ولی آسیب‌های روحی، اجتماعی، اقتصادی را به دلایل مختلف من‌جمله مزمن بودن دوره زخم، منظره جوشگاه ناپسند پوستی، بجای ماندن آثار زخم، احتمال عفونت ثانویه، بار سنگین اقتصادی درمان برای جامعه، طولانی بودن دوره درمان و عوارض ناشی از درمان را سبب می‌شود که می‌توان آن را از معضلات مهم

[۱] دانش‌آموخته کارشناسی ارشد انگل‌شناسی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس

[۲] استاد انگل شناسی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس (نویسنده مسئول)

[۳] دانش آموخته کارشناسی ارشد انگل شناسی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس

[٤] دانشجوی کارشناسی ارشد برق قدرت دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه

[٥] استاد انگل شناسی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس

مناطق آندمیک من‌جمله ایران به‌حساب آورد. در استفاده از روش‌های درمانی مختلف به علت مواجهه شدن با مشکلاتی مانند عود بیماری، مقاومت به داروها، عوارض جانبی داروها، ایجاد عفونت ثانویه باکتریایی، هزینه بالا، گزارش چندین مورد اپیدمی بیماری بخصوص در افراد با نقص ایمنی، تحقیقات را در ایجاد و گسترش داروهای جدید ضد لیشمانیا یا یک واکسن مناسب پیش می‌برد (۵،۱). اصولاً درمان در لیشمانیوز به عواملی چون موضع زخم، تعداد زخم، اندازه گستره زخم، نو یا کهنه بودن زخم و همچنین احتمال انتشار مخاطی آن بستگی دارد. بیماری سالک غالباً خودبه‌خود بهبود می‌یابد ولی مزمن و پیش‌رونده شدن ضایعات و باقی ماندن جوشگاه‌های بدشکل، درمان ضایعات پوستی را به‌ویژه اگر ضایعات در صورت باشد، اجتناب‌ناپذیر می‌کند. مشکل درمانی لیشمانیوز پوستی از دیرباز موردتوجه بوده است. درمان‌های مختلفی برای این بیماری پیشنهادشده، ولی متأسفانه هیچ‌کدام به‌صورت کامل مؤثر نبوده است (۶،۹). به‌طورکلی برای درمان لیشمانیوز پوستی سه روش درمان فیزیکی، درمان موضعی، درمان سیستمیک پیشنهاد شده است (۱۰).

تزریق داخل ضایعه‌ای داروهای ضد لیشمانیایی روش درمانی است که برای دهه‌های طولانی استفاده شده است. در میان درمان‌های قدیمی می‌توان تزریق داخل زخم مپاکرین، امتین و سولفات اسید بربرین را نام برد که کاربرد این داروها به‌خصوص امتین در مناطق اندمیک توسط WHO توصیه شده است(۲) برای درمان ضایعه پوستی لیشمانیایی تاکنون از ابزارهای فیزیکی و ترکیبات مختلفی اعم از داروهای شیمیایی، گیاهی و حتی نانوذرات استفاده شده است. شواهد و مدارک زیادی وجود دارد که جریان الکتریکی می‌تواند رشد باکتری‌ها را مهار کند(۱۳-۱۱). از طرفی از سال‌های متمادی از جریان الکتریسیته جهت بهبود زخم نیز استفاده می‌شده است(۱۸-۱۳). علاوه بر این اثر جریان الکتریسیته بر روی پروماستیگوت و بهبودی زخم لیشمانیایی مورد ارزیابی قرار گرفته شده است(۲۰،۱۹). در مورد اثرات نانوذرات مختلف ازجمله سلنیوم و نقره بر روی پروماستیگوت و بهبودی زخم لیشمانیایی نیز مطالعاتی انجام شده است (۳۰-۲۱).

هدف از انجام این مطالعه بررسی تأثیر جریان‌های مستقیم همراه با نانوذره سلنیوم و نقره در بهبودی ضایعه لیشمانیایی در موش است.

مواد و روش کار

تهیه انگل لیشمانیا:

سویه استاندارد (MRHO.IR.75.ER) از انستیتو رازی تهیه و پاساژهای متوالی از آن تهیه شد.

کشت و نگهداری انگل:

جهت کشت و تکثیر انبوه انگل از محیط RPMI-1640 غنی‌شده با سرم جنین گوساله استفاده گردید. محیط آماده RPMI1640 همراه با ۲۰-۱۰ درصد سرم جنین گوساله (FCS) به مدت ۰/۵ساعت در دمای ۵۶ درجه سانتی‌گراد بن ماری حرارت و غیرفعال داده شد. برای اطمینان از عدم آلودگی، محیط به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری و سپس به داخل یخچال 4 درجه سانتی‌گراد منتقل شد. فلاسک‌های حاوی کشت انگل به انکوباتور 25±1 درجه سانتی‌گراد منتقل و هر روز با میکروسکوپ معکوس کنترل گردید. معمولاً پس از دو هفته انگل از فرم لگاریتمی به فرم ایستا تبدیل می‌شود.

آماده‌سازی نانوذره سلنیوم:

نانوذره سلنیوم مورداستفاده تولید کشور آمریکا، به‌صورت محلول و به رنگ قرمز بوده و از شرکت جهان ثانی طوس مشهد خریداری شد. برای ارزیابی نانوذره در شرایط درون تنی از تزریق نانوذره با غلظت 125mg/kg به‌صورت داخل زخم در سه‌نقطه استفاده شد. میانگین وزن موش‌های موردمطالعه ۲۵ گرم بود.

آماده‌سازی نانوذره نقره:

در این مطالعه از محلول نانوسیلور 3000 ppm که توسط شرکت US Research Nanomaterials آمریکا تولید می‌گردد و توسط شرکت پیشگامان نانومواد ایرانیان مشهد توزیع می‌شود، استفاده شد، اندازه ذرات نقره در این محلول ۲۰ نانومتر می‌باشد که درصد خلوص آن بنابر گفته شرکت سازنده ۹۹/۹۹ درصد می‌باشد. این ترکیب دارای ویژگیهای ضد عفونی کنندگی (ضد قارچ، باکتری و ضد ویروس) می‌باشد.

نانوذره نقره مورد استفاده به‌صورت محلول و به رنگ سیاه می‌باشد. در این پژوهش برای ارزیابی نانوذره در شرایط درون تنی از تزریق نانوذره با غلظت 250mg/kg به‌صورت تزریق داخل زخم استفاده شد.

تولید جریان مستقیم DC:

برای تبدیل جریان AC به DC از دستگاه واریاک استفاده شد این دستگاه به‌عنوان ترانسفورماتور جهت کاهش یا افزایش ولتاژ استفاده می‌شود. برای اندازه‌گیری دقیق‌تر ولتاژ، از دستگاه مولتی متر استفاده شد. در مطالعه حاضر پس از بهینه سازی جریان‌های مختلف الکتریسیته از لحاظ تولید گرما و تغییر pH محیط در شرایط برون تنی، جریان مستقیم ۰/۵ میلی‌آمپر به‌مدت ۱۰ دقیقه انتخاب شد.

حیوان آزمایشگاهی مورد استفاده:

در این مطالعه موش‌های Balb/c ۶-۴ هفته‌ای ماده مورد استفاده قرار گرفت. حیوانات مذکور، از مرکز تولید و پرورش

حیوانات آزمایشگاهی، واقع در مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی خریداری شده و در حیوان خانه دانشگاه نگهداری شد.

آلوده کردن موش‌ها به انگل:

برای آلوده نمودن موش‌ها ۰/۱ میلی لیتر محلول حاوی $۲*۱۰^{۶}$ پروماستیگوت لیشمانیا ماژور در فاز stationary توسط سرنگ انسولین به قاعده دم موش‌ها و به‌صورت زیر جلدی تزریق شد. لازم به ذکر است که در فاز ایستایی رشد انگل کند می‌شود. پس از گذشت ۲ هفته از تزریق انگل، گره کوچک سفتی در محل تزریق پدید آمد که پس از حدود ۲ هفته به زخم تبدیل شد. از روش نمونه‌برداری و مشاهده با لام مستقیم در زیر میکروسکوپ برای اطمینان از حضور انگل لیشمانیا در زخم استفاده شد.

گروه‌بندی موش‌ها:

مجموعاً ۲۴ سر موش بالب سی با استفاده از روش رنگ آمیزی اسید پیکریک، علامت گذاری شده و در قفس‌های جداگانه قرار داده شدند. موش‌ها به چهار گروه (گروه شاهد آلوده بدون درمان، گروه شاهد آلوده تحت درمان با گلوکانتیم، گروه آلوده تحت درمان با جریان الکتریسیته مستقیم و نانوذره سلنیوم، گروه آلوده تحت درمان با جریان الکتریسیته مستقیم و نانوذره نقره) تقسیم شدند و در هر گروه ۶ موش قرار داده شد.

اندازه‌گیری قطر زخم:

پس ظاهر شدن، زخم هر سه روز یکبار قطر زخم، بااستفاده ازکولیس دیجیتال بطورهفتگی اندازه‌گیری شد. بدین نحو که حاصل جمع طول و عرض قطر زخم بر عدد ۲ تقسیم و به‌عنوان عدد مربوط به قطر زخم در نظر گرفته شد.

شروع درمان:

زخم‌ها پس از ۱۴ روز کاملاً نمایان بودند. سلنیوم و نقره هر روز، روزی یک مرتبه به‌صورت داخل زخم و در سه نقطه تزریق شد. گروه‌های مربوط به جریان الکتریسیته یک روز در میان انجام شد، بدین صورت که جریان الکتریسیته مستقیم به میزان ۰/۵ میلی‌آمپر اعمال شد. لازم به ذکر است که ۱۰ دقیقه قبل از اعمال جریان الکتریسیته موش‌ها با λ ۱۵۰ کتامین و زایلوزین (به نسبت ۱ به ۱۰) بی‌هوش می‌شدند.

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS ویراست ۱۶ استفاده شد و سطح معنی‌داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. از روش آنالیز واریانس یک طرفه جهت مقایسه میانگین متغیرهای مورد مطالعه در گروه‌های مختلف و برای تشخیص تفاوت‌های معنی‌دار به‌صورت دو به دو بین گروه‌های مختلف از آزمون T-test استفاده گردید. لازم به ذکر است که برای بررسی فرض نرمال بودن متغیرهای مورد بررسی از آزمون کولموگوروف- اسمیرنوف یک نمونه‌ای استفاده شد.

یافته‌ها

بررسی قطر زخم موش‌ها در طول درمان:

در تمام گروهای مورد آزمایش و شاهد میانگین قطر زخم در هفته‌های اول الی پنجم پس از شروع درمان اندازه‌گیری شد. در گروه تحت درمان با جریان الکتریسیته و نانوذره نقره ضایعه کوچک‌تری نسبت به گروه تحت درمان با جریان الکتریسیته و نانوذره سلنیوم مشاهده شد ($P<0.05$). گرچه هر دو گروه نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری داشتند ولی با گروه کنترل تحت درمان با گلوکانتیم نیز اختلاف داشتند ($P<0.05$). نتایج میانگین قطر زخم تا پایان هفته پنجم در جدول (۱) و شکل زخم در گروه‌های مختلف پس از ۵ هفته درمان در شکل ۱ آورده شده است. پس از ۵ هفته، اندازه زخم در گروه شاهد بدون درمان ۱/۳۶ برابر گروه تحت درمان با نانوذره سلنیوم و جریان مستقیم، ۱/۶۹ برابر گروه تحت درمان با نانوذره نقره و جریان مستقیم و ۲/۷۹ برابر گروه تحت درمان با گلوکانتیم بوده است.

جدول (۱): مقادیر میانگین و انحراف معیار اندازه‌زخم درگروه‌های تست و شاهد بر حسب میلی‌متر

زمان (هفته)	کنترل بدون درمان (گروه ۱)	نانوذره سلنیوم و جریان مستقیم (گروه ۲)	نانوذره نقره و جریان مستقیم (گروه ۳)	کنترل مثبت (گلوکانتیم) (گروه ۴)
۱	۸/۶۰±۲/۱۲	۶/۴۸±۲/۳۲	۶/۹۶±۲/۰۱	۵/۰۲±۱/۲۴
۲	۹/۴۴±۲/۷۵	۷/۵۱±۱/۸۸	۸/۱۸±۲/۵۱	۵/۰۸±۱/۰۸
۳	۱۰/۰۱±۴/۸۷	۸/۲۱±۳/۵۲	۹/۰۹±۳/۱۷	۵/۱۰±۱/۴۶
۴	۱۱/۶۹±۵/۱۴	۹/۵۸±۱/۶۱	۸/۸۱±۳/۴۳	۵/۱۶±۱/۳۵
۵	۱۴/۵۷±۷/۰۱	۱۰/۷۱±۲/۹۲	۸/۶۲±۴/۰۴	۵/۲۱±۱/۹۵
اختلاف آماری معنی‌دار با گروه	۴ ،۳ ،۲	۴،۳ ،۱	۴ ،۲ ،۱	۳،۲ ،۱

مقادیر به‌صورت Mean ± SD آورده شده است.

گروه ۴ گروه ۳ گروه ۲ گروه ۱

شکل ۱: مقایسه شکل و اندازه‌زخم در گروه‌های مختلف پس از ۵ هفته درمان. گروه ۱: شاهد آلوده بدون درمان، گروه ۲: آلوده تحت درمان با جریان الکتریسیته مستقیم و نانوذره سلنیوم، گروه ۳: آلوده تحت درمان با جریان الکتریسیته مستقیم و نانوذره نقره، گروه ۴: شاهد آلوده تحت درمان با گلوکانتیم.

بررسی وزن موش‌ها در طول درمان:

وزن موش‌ها در طول دوره درمان (۳۵ روز) پنج بار اندازه‌گیری شد. مقادیر میانگین و انحراف معیار وزن موش‌ها در گروه‌های مختلف در سطوح مختلف زمان در جدول (۲) نمایش داده شده است.

جدول (۲): مقادیر میانگین و انحراف معیار وزن درگروه‌های تست و شاهد بر حسب میلی گرم

زمان (هفته)	کنترل بدون درمان (گروه ۱)	نانوذره سلنیوم و جریان مستقیم (گروه ۲)	نانوذره نقره و جریان مستقیم (گروه ۳)	کنترل مثبت (گلوکانتیم) (گروه ۴)
۱	۲۱/۷۴±۲/۱۳	۲۵/۲۶±۳/۳۱	۲۳/۷۴±۱/۰۱	۲۴/۸۵±۲/۶۹
۲	۲۵/۰۵±۲/۹۳	۲۵/۳۵±۲/۴۲	۲۳/۸۹±۰/۹۳	۲۴/۸۹±۲/۴۴
۳	۲۵/۵۴±۳/۶۸	۲۵/۵۳±۲/۸۳	۲۴/۱۷±۰/۶۲	۲۵/۸۰±۲/۵۱
۴	۲۵/۷۹±۳/۳۷	۲۵/۵۷±۲/۸۰	۲۴/۵۱±۰/۵۸	۲۶/۱۹±۳/۰۹
۵	۲۵/۸۶±۴/۴۰	۲۷/۳۰±۳/۴۹	۲۵/۲۱±۱/۱۲	۲۸/۱۱±۳/۲۳
اختلاف آماری معنی‌دار با گروه	۲.۴	۱.۳	۲.۴	۱.۳

مقادیر به‌صورت Mean ± SD آورده شده است.

بحث

لیشمانیازیس پوستی یکی از مهم‌ترین علل ضایعات پوستی اولسراتیو مزمن است. از نظر بالینی بیماری به اشکال مختلف دیده می‌شود. لیشمانیازیس پوستی حاد، لیشمانیازیس پوستی مزمن، لیشمانیازیس پوستی عود کننده و لیشمانیازیس پوستی منتشر. گونه‌های لیشمانیا شامل L.major، L.tropica و L.aethiopica در دنیای قدیم و چندین گونه از L.braziliensis و L.mexicana در دنیای جدید عوامل ایجاد کننده لیشمانیا هستند. بعضی از اشکال بیماری دارای ضایعات خفیف، خودبه‌خود محدود شونده ایجاد می‌کنند درحالیکه سایر گونه‌ها اشکال پوستی مخاطی مخربی ایجاد می‌کنند که عامل آن‌ها L.braziliensis و L.panamensis است (۲). معمولاً شیمی درمانی به‌عنوان بهترین راه درمانی لیشمانیازیس استفاده می‌شود. گرچه ترکیبات دارویی سمی هستند و خطر عود و اثرات جانبی نیز وجود دارد. به همین دلیل از درمانهای جایگزین از قبیل روشهای فیزیکی، داروهای گیاهی و سنتی و نانوذرات استفاده می‌شود. درمان فتودینامیکی ازجمله درمان‌های جدیدی است که سبب تخریب سریع و موضعی ضایعات بدون اثرگذاری بر بافت مجاور می‌شود و می‌تواند جایگزین مناسبی برای داروهای ضدلیشمانیایی باشد (۳۱).

از نانوذرات مختلف نیز در درمان ضایعات لیشمانیایی استفاده شده است. در مطالعه بهشتی و همکاران (۲۲) در سال ۲۰۱۳ که تأثیر غلظت‌های مختلف سلنیوم بیوژنیک تولید شده توسط باکتری باسیلوس گونه MSH-1 بر روی لیشمانیا ماژور در شرایط درون تنی و برون تنی ارزیابی شد، نتایج in vivo آن‌ها نشان داد که زخم موش‌هایی که سلنیوم با دوز ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۱۴ روز قبل از تزریق انگل به موش به‌صورت داخل صفاقی دریافت کرده‌اند کوچکتر از بقیه بود و زخم موش‌هایی که سلنیوم را با دوز ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۱۴ روز بعد از تزریق انگل به موش به‌صورت داخل صفاقی دریافت کرده‌اند کاملاً حذف شد.

نتایج مطالعه حجازی و همکاران نشان داد که اعمال ولتاژ ۳ دریافتی از منبع تغذیه، در محل تماس الکترود با پوست موش

هیچگونه زخمی ایجاد نکرد درحالیکه پس از اعمال ولتاژ ۶ و ۹ در محل تماس الکترود با پوست موش زخم ایجاد شد؛ بنابراین از آزمایشات مشخص شد که ولتاژ ۳ دریافتی از منبع تغذیه برای موش یکی از مناسبترین ولتاژهای درمانی می‌باشد زیرا حیوان هم رفلکس عضلانی کم‌تری نشان می‌دهد و هم می‌تواند بدون ایجاد زخم روی پوست موش برای درمان مورد استفاده قرار گیرد. در مطالعه حجازی و همکاران ولتاژ متغیر بوده ولی در مطالعه ما جریان متغیر است (۱۹). در مطالعه حاضر پس از بهینه سازی جریان، جریان ۰/۵ و ۱ میلی‌آمپر برای شرایط In vivo استفاده شد. نتایج این مطالعه نشان داد که جریان الکتریسیته به همراه نانوذره سبب بهبودی کامل زخم موش نشد. در مطالعه ترابی و همکاران که تأثیر دو غلظت ۰/۴ و ۴۰ میکروگرم بر میلی لیتر عصاره متانولی نانوذره طلا تولید شده توسط Eucalyptus camaldulensis در درمان لیشمانیوز پوستی ارزیابی شد نتایج نشان داد که تعداد آماستیگوت ها در ضایعه کاهش یافت، در حالیکه تعداد آنها در گروه کنترل افزایش یافت (۲۸). در مطالعه سفلایی و همکاران که تأثیر ضد انگلی غلظت‌های مختلف آنتی موان سولفید تولید شده توسط باکتری Serratia marcescens بر لیشمانیا اینفانتوم در شرایط برون تنی ارزیابی شد، نتایج نشان داد که اثرات ضد انگلی نانوذره سلنیوم وابسته به غلظت نانوذره می‌باشد و در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر نانوذره درصد کشندگی بیشتر است (۲۴). در مطالعه الهوردیف و همکاران که تأثیر نانوذره نقره به همراه نور ماورا بنفش، بر ضد لیشمانیوز پوستی ارزیابی گردید نشان داد که ترکیب نانوذره نقره به همراه نور ماورا بنفش سبب ممانعت از تکثیر و فعالیت‌های متابولیکی پروماستیگوت می‌شود. همچنین پروماستیگوت هایی که تحت تأثیر نانوذره نقره همراه با نور UV قرار گرفته بودند غشای خود را از دست دادند و آنهایی که تأثیر نانوذره نقره در شرایط تاریکی قرار گرفتند شکل و ارگانل های داخلیشان مشخص نبود ولی در گروه کنترل شکل و ارگانل های داخلی حفظ شده بود (۲۵).

نتیجه گیری

تأثیر توأم نانوذرات سلنیوم و نقره با جریان مستقیم برای اولین بار در ایران انجام گرفت. نتایج نشان داد استفاده از نانوذره سلنیوم و نقره توأم با جریان مستقیم الکتریسیته در موش با اینکه زخم را محدود کرده است ولی سبب بهبودی کامل زخم نگردید. در گروه تحت درمان با جریان الکتریسیته و نانوذره نقره ضایعه کوچک‌تری نسبت به گروه تحت درمان با جریان الکتریسیته و نانوذره سلنیوم مشاهده شد ($P<0.05$).

References:

1. Ardehali S. Leishmania and leishmaniasis. Tehran: Tehran University Press Center; 2000. P.50-100. (Persian)
2. Garcia Lynne S. Diagnostic Medical Parasitology. 5th ed. ASM Press, Washington, DC; 2007. P.123-30.
3. Nadim A. Cutaneous leishmaniasis around Tehran. General Medicine J 1996; 272-4. (Persian)
4. Asilian A. Cutanous leishmaniasis, treatment and prevention. Isfahan: Isfahan Medical University Press; 1992.P. 40-52. (Persian)
5. Momeni A, Javaheri A, imam jomeh M. A survey on treatment and side effect of Glucantime in cutaneous leishmaniasis. Nabz J 1993; 2: 5-10. (Persian)
6. Yordley V, Graft SL. Activity of liposomal Amphotericin B against experimental cutaneous leishmaniasis. Antimicrob Agents Chemother 1997; 41(4): 752-6.
7. Sundar S, Agrawal NK, Sinha PR, Horwith GS, Murray HW. Short – course, low dose amphotericin B lipid complex therapy for visceral leishmaniasis unresponsive to antimony. Ann Intern Med 1997; 127: 133-7.
8. Thakur CP, Kumar M, Pandey AK. Comparision of regimens of treatment of antimony resistant Kala- azar patients: A randomized study. Am J Trop Med Hyg 1991; 45:435-41.
9. Velaz I, Agudelo S, Hendrickx E. Inefficacy of Allopurinol as Monotherapy for Colombian Cutaneous Leishmaniasis A Randomized, Controlled Trial. Ann Intern Med 1997; 126: 232-6.
10. Berman DY, Ksionski G, Chapman WL, Waits VB, Hanson WL. Activity of amphotericin B cholesterol dispersion in experimental visceral

leishmaniasis. Antimicrob Agents Chemother 1992; 36(9): 1978-80.

11. Rowley BA, McKenna JM. Chase GR. Wolcott LE. The influence of electrical current an infecting microorganism in wounds. Ann N.Y.Aced Sci 1974; 238:543-52.
12. Barranco SD, Spadro JA, berfer TJ, Becker RO. In Vitro effect of weak direct current on staphylococcus aureus. Clin. Orthop rel Ress 1974; 2:13-6.
13. Szuminsky NJ, Albers AC, Unger P, Eddy JG. EVect ofnarrow, pulsed high voltages on bacterial viability. Phys Ther 1994; 74, 660–7.
14. Alvarez OM, Mertz PM, Smerbeck RV, Eaglstein WH. The healing of superficial skin wounds is stimulated by external electrical current. J Invest Dermatol 1983;81: 144–8.
15. Wolcott LE, Wheeler PC, Hardwicke HM, Rowley BA. Accelerated healing of skin ulcers by electrotherapy. South Med J 1969;62:795–801.
16. Gaulth WR, Gatens PF. Use of low intensity direct current in management of ischemic skin ulcers. Phys Ther 1976; 70:37–40.
17. Carley, P.J. Wainapel, S.F. 1985. Electrotherapy for acceleration of wound healing: Low intensity direct current. Arch Phys Med Rehabil; 66: 443–6.
18. Gentzkow GD, Pollack SV, Kloth LC, Stubbs HA. Improved healing of pressure ulcers using dermapulse, a new electrical stimulation device. Wounds 1991; 3(5):158-70.
19. Hejazi H, Eslami G, Dalimi A. The parasiticidal effect of electricity on Leishmania major, both in vitro and in vivo. Ann Trop Med Parasitol 2004; 98(1): 37-42.
20. Sharquie K.E, al-Hamamy H, el-Yassin D, Treatment of cutaneous leishmaniasis by direct current electrotherapy: The Baghdadin device. J Dermatol 1998; 25, 234–7.
21. Soflaei S, Dalimi A, Abdoli A, Kamali M, Nasiri V, Shakibaie M, et al. Anti-leishmanial activities of selenium nanoparticles and selenium dioxide on Leishmania infantum. Comp Clin Pathol 2014;23(1):15–20.
22. Beheshti N, Soflaei S, Shakibaie M, Yazdi MH, Ghaffarifar F, Dalimi A, et al. Efficacy of biogenic selenium nanoparticles against Leishmania major In vitro and in vivo studies. J Trace Elem Med Biol 2013; 27: 203–7.
23. Baiocco P, Ilari A, Ceci P, Orsini S, Gramiccia M, Di Muccio T, Colotti G. Inhibitory Effect of Silver Nanoparticles on Trypanothione Reductase Activity and Leishmania infantum Proliferation. ACS Med Chem Lett 2011; 2: 230–3.
24. Soflaei S, Dalimi A, Ghaffarifar F, Shakibaie M, Shahverdi AR, Shafiepour M. In Vitro Antiparasitic and Apoptotic Effects of Antimony Sulfide Nanoparticles on Leishmania infantum. J Parasitol Res 2012;2012:756568.
25. Allahverdiyev A M, Sefik Abamor E, Bagirova M, Ustundag CB, Kaya C, Kaya F, et al. Antileishmanial effect of silver nanoparticles and their enhanced antiparasitic activity under ultraviolet light. Int J Nanomedicine 2011; 6: 2705–14.
26. Elmi T, Gholami Sh, Fakhar M, Azizi F. A review on the use of nanoparticles in the treatment of parasitic infections. J Mazand Univ Med Sci 2013; 23(102); 127-34.
27. Jebali A, Kazemi B. Nano-based antileishmanial agents: A toxicological study on nanoparticles for future treatment of cutaneous leishmaniasis. Toxicol Vitro 2013; 27: 1896-904.
28. Torabi N, Mohebali M, Shahverdi AR, Rezayat SM, Edrissian Gh, Esmaeili J, et al. Nanogold for the treatment of zoonotic cutaneous leishmaniasis caused by Leishmania major (MRHO/IR/75/ER): An animal trial with methanol extract of

Eucalyptus camaldulensis. J Pharm Health Sci 2012; 1 (1): 13-6.

29. Delavari M, Dalimi A, Ghafarifar F, Sadraei J. In vitro study on cytotoxic effects of ZnO nanoparticles on promastigote and amastigote forms of Leishmania major (MRHO/IR/75/ER). Iran J Parasitol 2014; 9(1): 6-13.
30. Andreadou M, Liandris E, Gazouli M, Taka S, Antoniou M, Theodoropoulos G, et al. A novel non-amplification assay for the detection of Leishmania spp. in clinical samples using gold nanoparticles. J Microbiol Methods 2014;96:56–61.
31. Ghaffarifar F. Leishmania major: In vitro and in vivo anti-leishmanial effect of cantharidin. Exp Parasitol 2010; 126: 126–9.

Original Article

HEALING EFFECT OF INDUCTION OF DIRECT ELECTRIC CURRENTS PLUS SELENIUM AND SILVER NANOPARTICLE ON SKIN LESIONS CAUSED BY *LEISHMANIAL MAJOR* IN BALB/C MICE

Mehdi Karimi[1], Abdolhossein Dalimi*[2], Farnoosh Jameie[3], Abas Dalimi[4], Fatemeh Ghafarifar[5]

Received: 6 Sep , 2015; Accepted: 11 Nov , 2015

Abstract

***Background & Aims*:** Various *Leishmania* species can cause human infection with a spectrum of clinical manifestations. The current treatments are unsatisfactory; and in absence of a vaccine there is an urgent need for effective drugs to replace those currently in use. In the present study, the effect of direct current electricity in combination with selenium and silver nanoparticles on the healing of leishmanial lesions has been investigated.

***Materials & Methods*:** In this experimental study, 24 Balb/c mice were divided into four groups and infected experimentally with *L.major*. Then silver nanoparticles with a concentration of 250 mg/kg and selenium nanoparticle with a concentration of 125 mg/kg were injected inter-lesion, and simultaneously 0.5 mA DC induction was applied directly into the wound. Finally, the lesion size and mice body weight changes were measured during five weeks.

***Results*:** The lesions were found to be smaller in the group treated with DC and silver nanoparticles than the group treated with DC and selenium nanoparticles ($P < 0.05$). Two treated groups showed significant differences with both negative control group and the group treated with Glucantime ($P < 0.05$).

***Conclusion*:** The results showed that selenium and silver nanoparticles with direct current electricity promotes wound healing in mice.

Keywords: *Leishmania major*, Selenium and silver nanoparticles, Direct electricity, Mice

Address: Department of Parasitology and Entomology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Tel: +982182883838

E-*mail*: dalimi_a@modares.ac.ir

SOURCE: URMIA MED J 2016: 26(10): 835 ISSN: 1027-3727

[1] *MSc, Parasitology Department, Medical Sciences Faculty, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran*
[2] *Professor, Parasitology Department, Medical Sciences Faculty, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran (Corresponding Author)*
[3] *MSc, Parasitology Department, Medical Sciences Faculty, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran*
[4] *MSc Student in Power Electric Electrical Power Engineering, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran*
[5] *Professor, Parasitology Department, Medical Sciences Faculty, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran*