

## بررسی اثر عصاره‌ی الکلی بره موم بر توکسوپلاسموزیس حاد در مدل موشی

حبیب ایراندوست<sup>۱</sup>، دکتر علیرضا یزدی نژاد<sup>۲</sup>، دکتر اصغر فضائلی<sup>۳</sup>

نویسنده‌ی مسؤل: زنجان، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، دانشکده‌ی پزشکی، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی fazaali@zums.ac.ir

دریافت: ۹۳/۱۱/۲ پذیرش: ۹۴/۲/۷

### چکیده‌ها

**زمینه و هدف:** توکسوپلاسمای گوندی یکی از شایع‌ترین تک یاخته‌های انگلی انسان در سطح جهان با طیف وسیعی از میزبان‌های حیوانی است که درمان آن با مشکلاتی توأم است و ارزیابی ترکیبات جدیدی را علیه این انگل می‌طلبد. این مطالعه به منظور ارزیابی تأثیر عصاره‌ی الکلی بره موم بر توکسوپلاسموزیس حاد در مدل موشی طراحی و انجام شد.

**روش بررسی:** تعداد ۴۰ سر موش آزمایشگاهی نر BALB/c با میانگین وزن ۲۰ تا ۲۵ گرم انتخاب و به ۸ گروه ۵ تایی تقسیم شدند. سوسپانسیون انگلی حاوی حدود ۱۰۰۰۰۰ تاکی زوئیت توکسوپلاسمای سویه‌ی RH به‌طور داخل صفاقی به شش گروه از موش‌های آزمون تزریق شد. دو گروه موش به‌عنوان شاهد انتخاب شدند، گروه شاهد سالم و گروه شاهد بیمار (با تلقیح انگل بدون درمان). ۲۴ ساعت بعد از آلودگی، درمان آغاز شد و به شش گروه از موش‌ها به‌ترتیب ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره‌ی الکلی بره موم به‌مدت ۷ روز خوراندند. گروه شاهد بیمار بجای عصاره‌ی بره موم، سرم فیزیولوژی دریافت کردند.

**یافته‌ها:** میانگین زمان بقا در گروه‌های آزمون ۶/۷ تا ۷/۲ روز و در موش‌های گروه شاهد ۴/۶ روز به‌دست آمد که با برخی از گروه‌های آزمون اختلاف معنی‌داری داشت. میانگین تعداد تاکی زوئیت‌ها در موش‌های آزمون و شاهد متفاوت بود ( $P < 0/05$ ). در گروه ۳۰۰ میلی‌گرم با تعداد  $10 \times 10^4$  و در گروه شاهد بیمار با تعداد  $20/4 \times 10^4$  به‌ترتیب کمترین و بیشترین تاکی زوئیت شمارش گردید. بهترین دوز از نظر زمان بقای موش ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بود.

**نتیجه‌گیری:** نتایج مطالعه نشان داد که عصاره‌ی بره موم اثر مهارکنندگی نسبی بر عفونت توکسوپلاسموزیس در موش دارد.

**واژگان کلیدی:** توکسوپلاسموزیس، تاکی زوئیت، بره موم، موش

### مقدمه

در افراد با ضعف سیستم ایمنی، به‌خصوص در بیماران تحت شیمی درمانی، گیرندگان پیوند اعضا، افراد سرطانی و ایدزی می‌تواند باعث توکسوپلاسموز حاد و عوارض ناشی از آن

توکسوپلاسمای گوندی (*Toxoplasma gondii*) یکی از شایع‌ترین تک یاخته‌های انگلی با شیوع جهانی است که در افراد دارای سطح ایمنی طبیعی بدون علامت است. با این حال

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد انگل شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، گروه قارچ شناسی و انگل شناسی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان

۲- دکترای تخصصی فارماکولوژی، استادیار دانشکده‌ی داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان

۳- دکترای تخصصی انگل شناسی، دانشیار دانشکده‌ی پزشکی، گروه انگل شناسی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان

پروتوزوئرها از جمله تریپانوزومیازیس، لیشمانیازیس جلدی و احشایی پی‌بیرند (۱۵-۱۲). در مطالعه‌ای دوران و همکاران (۲۰۱۰) در ترکیه تاثیر معنی‌دار دو نمونه‌ی مختلف از بره موم را بر کاهش رشد پروماستیگوت‌های *Leishmania tropica* و *L. infantum* گزارش کردند (۱۶). اثر بره موم بر روی ژیا‌ردیا نیز توسط محققین در برزیل و مصر گزارش شده است (۱۷ و ۱۸). همچنین تاثیر این ماده طبیعی بر کاهش تکثیر *تری‌کوموناس وائرنالیس* و کمک در بهبودی عفونت ناشی از این انگل نیز موثر بوده است (۲۰ و ۱۹). با توجه به گزارشات و شواهدی از تاثیر بره موم بر برخی از عفونت‌های میکروبی و تک یاخته‌ای، این مطالعه به منظور بررسی تاثیر عصاره‌ی الکلی بره موم بر توکسوپلاسموزیس حاد در مدل موشی طراحی و انجام شد.

### روش بررسی

**الف - سویه‌ی انگل و حیوان مورد استفاده:** در این مطالعه‌ی تجربی تاکی زوئیت‌های سویه RH توکسوپلاسمای گوندی که در موش‌های سوری پاساژ داده و نگهداری می‌شدند مورد استفاده قرار گرفت. حیوان مورد استفاده در این تحقیق نیز موش‌های نر سفید آزمایشگاهی نژاد BALB/c با معدل وزن ۲۰ تا ۲۵ گرم و سن ۷ تا ۸ هفته‌گی بودند که از بخش پرورش حیوانات آزمایشگاهی انستیتو پاستور ایران خریداری و به بخش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده‌ی پزشکی زنجان منتقل و در شرایط استاندارد نگهداری شدند.

**ب - تکثیر و آماده سازی توکسوپلاسمای:** برای تکثیر توکسوپلاسمای به میزان کافی جهت استفاده در گروه‌های آزمون، انگل به تعدادی از موش‌ها تلقیح شد. به هر موش ۰/۵ میلی‌لیتر سوسپانسیون حاوی حدود  $2 \times 10^5$  تاکی زوئیت زنده توکسوپلاسمای به صورت داخل صفاق تلقیح شد. برای تعیین میزان زنده بودن انگل مشاهده‌ی نمونه بر روی لام نئوبار و در زیر میکروسکوپ فاز کنتراست صورت پذیرفت.

شود (۳-۱). در اغلب سویه‌های انگل، در فاز اولیه‌ی عفونت، تکثیر انگل به فرم تاکی زوئیت و در مراحل بعد به فرم برادی زوئیت تبدیل و در بافت‌های مختلف ایجاد کیست نسجی می‌کند (۴). در حال حاضر، درمان انتخابی توکسوپلاسموزیس ترکیبات سیزژیستیک پیریمتامین و یک سولفونامید است. البته این درمان مشکلاتی برای بیماران، به‌ویژه افراد مبتلا به اختلالات شدید سیستم ایمنی مانند بیماران ایدزی به وجود آورده است. تقریباً در ۵۰ درصد بیماران ایدزی تحت درمان با ترکیب پیریمتامین - سولفادیازین، علایم مسمومیت شدید بروز می‌کند که منجر به قطع درمان می‌شود. پیریمتامین باعث پوکی استخوان و مسمومیت خونی می‌گردد؛ همچنین به علت اثرات تراژژیک بر روی جنین در نیمه‌ی اول بارداری منع مصرف دارد؛ سولفادیازین نیز علاوه بر کریستالوری و هماچوری، ممکن است سبب ایجاد واکنش ازدیاد حساسیت در افراد شود (۵ و ۶).

یافتن داروهای جایگزین برای درمان توکسوپلاسموزیس از اهمیت زیادی برخوردار است. در این میان فرآورده‌های با منشأ طبیعی به خصوص موادی که خاصیت ضد انگلی آن‌ها در مطالعات دیگر مشخص گردیده است، توجه محققین را به خود جلب نموده است. یکی از این ترکیبات بره موم است. بره موم (*propolis*) یک فرآورده‌ی فرعی زنبور عسل است که طی قرون گذشته توسط انسان در طب سنتی مورد استفاده قرار گرفته است (۷). بره موم در کلنی زنبور عسل استفاده‌های زیادی دارد، از جمله ضد عفونی و صیقلی کردن سلول‌های پرورش نوزادان، پرکردن شیارها و درزها، تنگ کردن دریچه‌های خروجی کندو و همچنین برای مومیایی کردن سایر حشرات و حیوانات بزرگی مانند مارمولک و موش که به داخل کندو نفوذ کرده و کشته شده‌اند (۸). مطالعات متعدد نشان داده است که بره موم خواص ضد باکتریایی، ضد قارچی و ضد پروتوزوئری قابل توجهی دارد (۱۳-۹). محققین توانسته‌اند به نقش بره موم علیه بیماری‌های ناشی از

پس از گذشت ۴ الی ۵ روز مایع صفاقی موش‌های آلوده بعد از کشتن از طریق بیهوشی، به‌وسیله‌ی سرنگ‌های ۵ یا ۱۰ میلی‌لیتری جمع‌آوری گردید و توسط لام نئوبار تعداد انگل شمارش و آماده‌ی تلقیح به موش‌های گروه تست شد.

**ج- تهیه عصاره‌ی الکلی بره موم:** بره موم مورد استفاده در این پژوهش از کندوی زنبور عسل واقع در شهرستان ارومیه جمع‌آوری و به آزمایشگاه انگل‌شناسی دانشکده‌ی پزشکی زنجان منتقل و تا زمان عصاره‌ی‌گیری در دمای ۱۰ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. برای تهیه‌ی عصاره‌ی الکلی از روش پرکولاسیون استفاده گردید (پرکولاسیون روش عصاره‌گیری به کمک خیساندن است، در این روش بدون استفاده از حرارت، و در سایه با کمک حلال‌های مشخص عمل عصاره‌ی‌گیری انجام می‌شود تا تاثیر فرآیندهایی مانند اکسیداسیون و هیدرولیز شدن مواد موثره به علت استفاده از حرارت به وجود نیاید). ابتدا قطعات بزرگ بره موم به قطعات ریز تبدیل شد، سپس به نسبت ۲۵ گرم از بره موم با ۲۵ میلی‌لیتر محلول اتانول ۷۰ درصد در داخل قیف دکانتور ریخته و مخلوط شد و به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق قرار گرفت. این کار سه بار تکرار شد. سپس عصاره‌ی الکلی حاصل توسط کاغذ صافی نمره ۴۲ واتمن (Whatman) دو بار صاف شد و به کمک دستگاه روتاری الکال آن تبخیر شد. پس از طی فرایندهای عصاره‌گیری، عصاره‌ی خالص توزین و تا زمان استفاده در ظرف شیشه‌ای تیره و دمای چهار درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد (۱۷). در زمان استفاده غلظت‌های مورد نظر از عصاره تهیه گردید.

**د- درمان موش‌ها با عصاره:** تعداد ۴۰ سرموش BALB/c به‌طور تصادفی به ۸ گروه ۵ تایی تقسیم شدند. از سوسپانسیون انگلی حاصل از صفاق موش آلوده پس از شمارش انگل تقریباً تعداد ۱۰۰۰۰ تاکی‌زوئیت به‌صورت داخل صفاقی به هر یک از موش‌های گروه‌های آزمون و شاهد بیمار تلقیح گردید. دو گروه موش به‌عنوان شاهد

انتخاب شدند، گروه شاهد سالم که به جای تلقیح انگل حجم مساوی از سرم فیزیولوژی دریافت کردند و گروه شاهد بیمار که به آن‌ها انگل تلقیح شد اما دارو دریافت نکردند. این گروه صرفاً به این دلیل انتخاب و نگهداری شدند که در صورت هرگونه اتفاق غیر از شرایط آزمون که بتواند بر بقای موش‌ها تاثیر بگذارد مشخص گردد.

۲۴ ساعت بعد از شروع آلودگی، درمان آغاز شد، بدین‌صورت که به شش گروه موش‌های مورد آزمون به‌ترتیب ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره‌ی بره موم روزانه به‌صورت خوراکی به‌وسیله‌ی سوزن تغذیه خوراندند و تا زمان مرگ آن‌ها ادامه یافت. گروه شاهد بیمار به‌جای عصاره‌ی بره موم، همزمان سرم فیزیولوژی دریافت کردند. زمان بقای موش‌ها از لحظه تلقیح انگل تا زمان مرگ آن‌ها به‌صورت روزانه ثبت گردید.

از تمامی موش‌های گروه شاهد و تست بعد از مرگ مایع صفاقی، مغز، کبد و طحال جداسازی و مورد بررسی قرار گرفت. برای تهیه‌ی گسترش از مایع صفاقی، قطره‌ای از سوسپانسیون انگلی را بر روی لام ریخته و به‌طور یکنواخت پخش نموده و برای تهیه نمونه از کبد، طحال و مغز، از آن‌ها گسترش لکه‌ای (Impression Smear) تهیه و سپس به‌روش گیمسا رنگ آمیزی شد. تعداد تاکی‌زوئیت‌های به‌دست آمده از صفاق موش‌ها با استفاده از لام نئوبار شمارش و ثبت گردید.

#### یافته‌ها

در این پژوهش تعداد تاکی‌زوئیت‌های موجود در مایع صفاقی موش‌های مورد مطالعه تحت تاثیر دوزهای مختلف عصاره‌ی الکلی بره موم متفاوت بود (جدول ۱). به‌طوری‌که در دوزهای بالاتر عصاره، تعداد تاکی‌زوئیت‌ها با کاهش بیشتری همراه بود. بیشترین کاهش در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دیده شد.

جدول ۱؛ میانگین تعداد تاکی زوئیت‌های توکسوپلازما گوندی جدا شده از صفاق موش‌های BALB/c تحت درمان با غلظت‌های مختلف عصاره‌ی بره موم

| تعداد تاکی زوئیت‌ها در هر میلی‌لیتر مایع صفافی (×۱۰ <sup>۴</sup> ) |              |       |        | گروه‌های موش‌ها برحسب دریافت دوز دارو* (mg/kg) |
|--------------------------------------------------------------------|--------------|-------|--------|------------------------------------------------|
| میانگین                                                            | انحراف معیار | حداقل | حداکثر |                                                |
| ۱۰                                                                 | ۵/۱          | ۴     | ۱۶     | ۳۰۰                                            |
| ۱۱/۶                                                               | ۶/۱          | ۵     | ۱۹     | ۲۰۰                                            |
| ۱۵/۶                                                               | ۴/۲          | ۹     | ۲۰     | ۱۵۰                                            |
| ۱۶/۸                                                               | ۱/۹          | ۱۴    | ۱۹     | ۱۰۰                                            |
| ۱۶/۶                                                               | ۵/۸          | ۷     | ۲۲     | ۵۰                                             |
| ۱۵/۸                                                               | ۲/۳          | ۱۲    | ۱۸     | ۲۵                                             |
| ۲۰/۴                                                               | ۸/۳          | ۱۰    | ۳۲     | گروه شاهد بیمار                                |

\* دوز تزریقی بره موم (میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن موش)

آزمون ANOVA نشان داد که میانگین تعداد تاکی زوئیت‌های جدا شده از صفاق در گروه‌های تحت درمان با عصاره‌ی بره موم نسبت به گروه شاهد بیمار کاهش پیدا کرده است ( $P < ۰/۰۰۵$ ). متعاقباً با آزمون چندگانه Duncen مشخص گردید که این کاهش معنی‌دار مربوط به گروه‌های دریافت کننده‌ی دوز ۲۰۰ میلی‌گرم و بالاتر است. بر این اساس گروه ۳۰۰ میلی‌گرم با ۱۰×۱۰<sup>۴</sup> و گروه شاهد بیمار با ۲۰/۴×۱۰<sup>۴</sup> عدد تاکی زوئیت در هر میلی‌لیتر مایع صفافی

به ترتیب کم‌ترین و بیش‌ترین تعداد تاکی زوئیت را داشتند. نتایج این تحقیق نشان داد اکثر موش‌های آزمون به‌طور متوسط شش تا هفت روز زنده بودند. همچنین با بالا رفتن دوز عصاره‌ی الکلی بره موم زمان بقای موش‌ها افزایش پیدا کرد (جدول ۲). در گروه شاهد سالم همه‌ی موش‌ها تا ۲۰ هفته پیگیری زنده بودند اما تا پایان روز پنجم همه موش‌های گروه شاهد بیمار مردند. مرگ در گروه‌های تحت درمان با عصاره‌ی الکلی بره موم بعد از روز پنجم اتفاق افتاد است.

جدول ۲؛ مقایسه میانگین روزهای بقاء در موش‌های BALB/c تحت درمان با غلظت‌های مختلف عصاره بره موم

| گروه موش‌ها برحسب دریافت دوز دارو (mg/kg) |     |      |   | میانگین روزهای بقاء | انحراف معیار | حداقل روزهای بقاء | حداکثر روزهای بقاء |
|-------------------------------------------|-----|------|---|---------------------|--------------|-------------------|--------------------|
| ۳۰۰                                       | ۷   | ۱/۴۰ | ۶ | ۹                   |              |                   |                    |
| ۲۰۰                                       | ۶/۸ | ۱/۱۰ | ۶ | ۸                   |              |                   |                    |
| ۱۵۰                                       | ۷/۲ | ۰/۸۴ | ۶ | ۸                   |              |                   |                    |
| ۱۰۰                                       | ۶/۶ | ۰/۵۵ | ۶ | ۷                   |              |                   |                    |
| ۵۰                                        | ۶/۴ | ۰/۵۵ | ۶ | ۷                   |              |                   |                    |
| ۲۵                                        | ۶/۸ | ۰/۴۵ | ۶ | ۷                   |              |                   |                    |
| گروه شاهد بیمار                           | ۴/۶ | ۰/۵۵ | ۴ | ۵                   |              |                   |                    |

آزمون ANOVA نشان داد که میانگین زمان بقا بین گروه شاهد بیمار و گروه‌های تحت درمان با عصاره‌ی اختلاف معنی‌داری دارد ( $P < 0.05$ ) به طوری که مرگ در گروه‌های تحت درمان با عصاره‌ی بره موم (پروپولیس) بعد از روز پنجم اتفاق افتاد. آزمون مقایسه‌ی چندگانه‌ی دانکن نشان داد که فقط گروه شاهد بیمار با میانگین بقای  $4/6$  روز با کمترین زمان بقا، با سایر گروه‌های آزمایشی اختلاف معنی‌داری دارد، ولی بقیه‌ی گروه‌ها با همدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند. گروه  $150$  میلی گرم با مدت زمان متوسط  $7/2$  روز بیشترین متوسط زمان بقا را دارا بود. در هیچ یک از گروه‌های تحت درمان تاکی زوئیت در مغز و کبد مشاهده نگردید اما در طحال محو نگردیده بود. اگرچه تعداد تاکی زوئیت‌ها بسیار کم بود.

## بحث

مطالعه‌ی حاضر نشان داد که برخی از غلظت‌های عصاره‌ی الکلی بره موم بر مهار رشد و تکثیر تاکی زوئیت‌های توکسوپلاسمای گوندی در موش BALB/c و در نتیجه بقای موش‌ها در مقایسه با موش‌های گروه شاهد تاثیر دارد. با وجود همه‌ی تلاش‌های انجام شده در درمان توکسوپلاسموزیس هنوز مشکلاتی وجود دارد و استفاده از داروهای شیمیایی موجود با محدودیت‌هایی از جمله ممنوعیت مصرف داروهای اصلی در مادران باردار و بعضاً حساسیت دارویی همراه است. از طرفی تاکنون در خصوص تاثیر بره موم (Propolis) علیه توکسوپلاسمای گوندی اطلاعاتی منتشر نشده است و به نظر می‌رسد مطالعه‌ی حاضر اولین تجربه در این زمینه باشد. بره موم در طب سنتی دنیا به طور گسترده‌ای استفاده شده است. در پزشکی تجربی نیز از آن در درمان تومورهای بدخیم، پینه‌ها و زخم‌ها استفاده می‌کردند. علاوه بر برخی از تک یاخته‌ها که در ادامه بحث

مورد اشاره قرار خواهند گرفت، عصاره‌ی بره موم تاثیراتی را بر درمان سایر عفونت‌ها از جمله درماتوفیت‌های عامل کچلی نیز نشان داده است (۱۱). در این مطالعه، تمامی موش‌های گروه شاهد سالم تا ۲۰ هفته پیگیری، سالم باقی ماندند. تا پایان روز پنجم همه موش‌های گروه شاهد بیمار مردند، در حالی که مرگ در گروه‌های تحت درمان با عصاره‌ی الکلی بره موم بعد از روز پنجم اتفاق افتاد. در این پژوهش آزمون ANOVA نشان داد که اختلاف آماری معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی و موش‌های شاهد چه از نظر تعداد تاکی زوئیت و چه از نظر زمان بقا وجود دارد ( $P < 0.05$ ). سالوما و همکارانش نیز نتایج مشابهی در بررسی تاثیر درمانی بره موم علیه تریپانوزوما کروزوی در موش آزمایشگاهی به‌دست آوردند (۱۲).

مقایسه‌ی بین گروه‌های دریافت کننده‌ی غلظت‌های متفاوت عصاره از نظر متوسط زمان بقا، تفاوت معنی‌داری نشان نداد اگر چه گروه  $150$  میلی گرم با مدت زمان متوسط  $7/2$  روز بیشترین زمان بقا و گروه  $50$  میلی گرم با مدت زمان متوسط  $6/4$  روز کمترین متوسط زمان بقا را دارا بودند. گروه‌های دریافت کننده‌ی غلظت‌های مختلف عصاره از نظر تعداد تاکی زوئیت در مایع صفاقی با یکدیگر اختلاف آماری نداشتند، ولی گروه شاهد بیمار با گروه‌های  $300$  میلی گرم و  $200$  میلی گرم اختلاف آماری داشتند. براساس تعداد تاکی زوئیت در هر میلی لیتر مایع صفاقی موش‌های تست، گروه  $300$  میلی گرم با تعداد  $10 \times 10^4$  و گروه  $100$  میلی گرم با تعداد  $16/8 \times 10^4$  تاکی زوئیت به ترتیب کمترین و بیشترین تعداد تاکی زوئیت را دارا بودند. همچنین در بررسی بافت‌های کبد و مغز، در گروه‌های تست که با غلظت‌های بالاتری از عصاره الکلی بره موم درمان شده بودند، تاکی زوئیت مشاهده نشد و فقط در طحال تاکی زوئیت‌ها آن هم به تعداد کم قابل مشاهده بود. یکی دیگر از اهداف این مطالعه، بررسی تعیین

است عمدتاً متمرکز بر تاکی زوئیت‌های سویه RH بوده است. این سویه برای موش BALB/c بسیار کشنده است و این مهم است که ماده‌ی دارویی جدید بتواند تاکی زوئیت‌های توکسوپلازما را نابود کند و زمان بقای حیوان را افزایش دهد. در مطالعه‌ی حاضر، عصاره‌ی الکلی بره موم اگرچه باعث بهبودی کامل موش‌های آلوده نشد، اما زمان بقای آن‌ها را افزایش داد و مرگ در گروه‌های تحت درمان با عصاره‌ی بعد از روز پنجم اتفاق افتاد. در صورتی که همه موش‌های گروه شاهد تا روز پنجم تلف شده بودند و در گروه ۳۰۰ میلی گرم تا روز نهم هم موش زنده وجود داشت. اما عصاره‌ی الکلی بره موم قادر به نابودی کامل انگل از احشاء موش نبود و اگر چه تاکی زوئیت‌های توکسوپلازما در کبد و مغز موش‌ها یافت نشد ولی اثبات این موضوع نیازمند روش‌های دقیق‌تر مانند روش‌های ایمنوهیستوشیمی یا PCR است. همچنین در طحال موش‌های شاهد بیمار در مقایسه با موش‌های تحت درمان تعداد تاکی زوئیت‌های توکسوپلازما بیشتر مشاهده شد. همان‌طور که اشاره شد بنا به اطلاعات موجود، این پژوهش اولین مطالعه بررسی اثرات ضد توکسوپلاسمایی عصاره‌ی الکلی بره موم روی انگل توکسوپلازما (سویه RH) بود و هیچ‌گونه منبعی دال بر انجام مطالعه مشابه جهت مقایسه یافت نشد.

### نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه نشان داد که غلظت‌هایی از عصاره‌ی بره موم بر تکثیر و انتشار انگل توکسوپلازما در موش‌های آلوده اثر بازدارندگی نسبی داشته و سبب افزایش نسبی بقای موش‌های درمان شده نسبت به موش‌های گروه شاهد گردید. با توجه به نتایج مثبت به‌دست آمده، لازم است مطالعات دقیق‌تر فارماکولوژیک بر روی ماده‌ی موثره، نحوه‌ی سنتز و تولید و ارزیابی تأثیرات آن در آینده انجام شود تا شاید بتوان به دارویی موثرتر و کم عارضه‌تری علیه توکسوپلاسموزیس

مناسب‌ترین غلظت عصاره‌ی پروپولیس در مهار کردن رشد و تکثیر تاکی زوئیت‌های توکسوپلازما در احشاء موش بود که مشخص شد گروه ۳۰۰ میلی گرم از نظر تعداد تاکی زوئیت کمترین میانگین را داشت با این حال اختلاف معنی‌داری با سایر گروه‌های دریافت کننده‌ی عصاره نداشت. در حالت کلی نتایج نشان دهنده‌ی تأثیر مثبت عصاره پروپولیس در مهار کردن رشد و تکثیر تاکی زوئیت‌های توکسوپلازما در احشاء موش BALB/c بود. همان‌گونه که قبلاً اشاره شد، مطالعه‌ی مشابهی جهت ارزیابی تأثیر ضد توکسوپلاسمایی بره موم صورت نگرفته است، اما در مطالعات مشابهی، اثرات این ماده علیه برخی عفونت‌های تک یاخته‌ای دیگر از جمله لیشمانیازیس در موش ارزیابی و گزارش شده است. برای مثال دوران و همکارانش در ترکیه اثر دو نمونه مختلف از بره موم را بر کاهش رشد پروماستیگوت‌های *Leishmania tropica* و *L. infantum* در شرایط برون تنی مورد بررسی قرار دادند که در بررسی آن‌ها نیز بره موم موجب کاهش تکثیر پروماستیگوت‌های لیشمانیا گردید (۱۶). مطالعه‌ی دیگری نیز در این زمینه توسط شیرانی و همکارانش انجام شد؛ ایشان با به کارگیری عصاره الکلی بره موم در پایه‌ی ژل و پماد تأثیر آن‌را در درمان لیشمانیازیس جلدی بررسی نمودند و اختلاف معنی‌داری بین میانگین قطر زخم‌ها قبل و پس از درمان گزارش کردند (۱۳). همچنین ساویا و همکاران، تأثیر غلظت‌های مختلف بره موم را بر رشد لیشمانیا ماژور در شرایط *in vitro* بررسی و اثر کشندگی قابل توجهی را بر جسم لیشمن (لیشمانیا ماژور) مشاهده و گزارش کردند (۱۴). تأثیر عصاره‌ی پروپولیس بر روی ژیا‌ردیا نیز توسط فریتاس در برزیل (۱۷) و عبدالفتاح و همکارانش در مصر (۱۸) و همچنین تأثیر آن بر *تریکوموناس واژینالیس* (۲۱-۱۹) مورد بررسی قرار گرفت و کمک آن در بهبودی عفونت ناشی از این انگل‌ها تأیید شد. مطالعات دیگری که به منظور ارزیابی تأثیر مواد دارویی بر روی توکسوپلازما گون‌دی انجام شده

(حبیب ایراندوست) می‌باشد. بودجه‌ی این مطالعه از محل اعتبارات پژوهشی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی زنجان تامین گردیده است. نویسندگان مقاله از آقای منصور شمسی‌پور کارشناس ارشد اپیدمیولوژی و آمار که زحمت آنالیز آماری داده‌های تحقیق را به‌عهده داشتند صمیمانه سپاسگزاری می‌نمایند.

دست پیدا کرد. همچنین پیشنهاد می‌شود به علت اینکه این بیماری در مدل حیوانی Rat شباهت زیادی به انسان دارد مطالعات In vivo در ارزیابی تاثیر عصاره‌ی الکلی بره موم بر روی سویه RH در Rat صورت گیرد.

### تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل نتایج پایان نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد

### References

- 1- Montoya JG, Liesenfeld O. Toxoplasmosis. *Lancet*. 2004; 363: 1965-76.
- 2- Macpherson CN. Human behavior and the epidemiology of parasitic zoonoses. *Int J Parasitol*. 2005; 35: 1319-31.
- 3- Velimirovic B. Toxoplasmosis in immunosuppression and AIDS. *Infection*. 1984; 12: 315-7.
- 4- Weiss LM, Dubey JP. Toxoplasmosis: A history of clinical observations. *Int J Parasitol*. 2009; 39: 895-901.
- 5- John DT, Petri WA. Markell and Voge's Medical Parasitology. 9<sup>th</sup> ed. U.S: Saunders; 2006. P. 140-9.
- 6- Georgiev VT. Opportunistic nosocomial infections. Treatment and developmental therapeutics. Toxoplasmosis. *Med Res Rev* 1993; 13: 529-68.
- 7- Paul C, Geary W. Honeybee propolis: prospects in medicine. *Bee World*. 1996; 77: 8-15.
- 8- Tosi B, Donini A, Romagnoli C, Bruni A. Antimicrobial activity of some commercial extracts of propolis prepared with different solvents. *Phytother Res*. 1996; 10: 335-6.
- 9- Sforcin 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.
- 10- De Vecchi E, Drago L. Propolis' antimicrobial activity: what's new? *Infez Med*. 2007; 15: 7-15.
- 11- Koc AN, Silici S, Ayangil D, Ferahbas A, Can kaya S. Comparison of in vitro activities of antifungal drugs and ethanolic extract of propolis against *Trichophyton rubrum* and *T. mentagrophytes* by using a micro dilution assay. *Mycoses* 2005; 48: 205-10.
- 12- Salomão K, de Souza EM, Henriques-Pons A, Barbosa HS, de Castro SL. Brazilian green propolis: Effects in vitro and in vivo on *Trypanosome cruzi*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Med*. 2011; 185918: 1-11.
- 13- Shirany Bidabadi L, Mahmoudi M, Saberi S, et al. The effectiveness of mix extracts of Thyme, Yarrow and Propolis on cutaneous leishmaniasis:

- a comparative study in animal model (Balb/c). *Tehran Univ Med J*. 2009; 66: 785-79.
- 14- 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. p. 27-8.
- 15- 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.
- 16- Duran N, Muz M, Culha G, Duran G, Ozer B. GC-MS analysis and antileishmanial activities of two Turkish propolis types. *Parasitol Res*. 2011; 108: 95-105.
- 17- Freitas SF, Shinohara L, Sforcin JM, Guimarães S. In vitro effects of propolis on *Giardia duodenalis* trophozoites. *Phytomed* 2006; 13: 170-5.
- 18- Abdel-Fattah NS, Nada OH. Effect of propolis versus metronidazole and their combined use in treatment of acute experimental giardiasis. *J Egypt Soc Parasitol*. 2007; 37: 691-710.
- 19- Monzote Fidalgo L, Sariego Ramos I, García Parra M, et al. Activity of Cuban propolis extracts on *Leishmania amazonensis* and *Trichomonas vaginalis*. *Nat Prod Commun*. 2011; 6: 973-6.
- 20- Xu BH, Shi MZ. An in vitro test of propolis against *Trichomonas vaginalis*. *Chi J Parasitol* 2006; 24: 477-8.
- 21- Georgiev VS. Management of toxoplasmosis. *Drugs*. 1994; 48: 179-88.

## The Effects of Ethanol Extract of Propolis on Acute Toxoplasmosis in Mouse Model

Irandoost H<sup>1</sup>, Yazdinezhad AR<sup>2</sup>, Fazaeli A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Medical Parasitology & Mycology Faculty of Medicine, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

<sup>2</sup>Dept. of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran.

**Corresponding Author:** Fazaeli A, Dept. of Medical Parasitology & Mycology Faculty of Medicine, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

***E-mail:*** fazaeli@zums.ac.ir

**Received:** 22 Jan 2015      **Accepted:** 27 Apr 2015

**Background and Objective:** *Toxoplasma gondii* is one of the most prevalent human parasites globally distributed with a wide range of hosts including humans and animal species. The available anti-toxoplasma treatments have faced several problems. To deal with these issues new drugs and compounds are required to be evaluated. This study was aimed to evaluate the inhibitory effect of ethanol extracts of propolis on acute toxoplasmosis in mouse model.

**Materials and Methods:** A total of 40 BALB/c mice with average weight of 20-25 gr, were divided into 8 groups of 5. Each mouse was inoculated intraperitoneally with parasitic suspension of approximately 10,000 tachyzoites of *T.gondii* RH strain. Two groups of mice, including a non-infected group and an infected but not treated group were used as control. Twenty-four hours after the infection, treatment was initiated for six groups, inoculating 25, 50, 100, 150, 200, and 300 mg/kg of propolis extracts orally for 7 days.

**Results:** The average survival time was 6.4 to 7.2 days in the propolis treated groups of mice and 4.6 days in the control group, that was significantly different. The number of *Toxoplasma* tachyzoites in the test groups was significantly lower than the control group ( $P < 0.05$ ). It was  $10 \times 10^4$  in the group of 300mg and  $20.4 \times 10^4$  in the control group with minimum and maximum parasite numbers, respectively. The most effective dose of propolis extract on survival time of the infected mice was 150 mg/kg.

**Conclusion:** The results indicated that the propolis ethanol extracts can relatively inhibit *Toxoplasma* infection development in mouse model.

**Key words:** *Toxoplasmosis, Tachyzoites, Propolis, Mouse*