بررسی مقایسه‌ای عصاره آبی و الکلی پنیرک و خارخاسک با مترونیدازول بر دو ساب تایپ تریکوموناس واژینالیس در شرایط آزمایشگاهی

فریبا ریوندی[۱]، دکتر جاوید صدرایی[۲*]، دکتر زهره مؤمنی[۳]، دکتر مجید پیرستانی[۴]

۱. کارشناس ارشد انگل‌شناسی پزشکی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.
۲. دانشیار گروه انگل‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.
۳. استادیار گروه میکروبیولوژی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران.
۴. استادیار گروه انگل‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۰۶ **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۲/۰۴/۰۷

خلاصه

مقدمه: تریکوموناس واژینالیس که پاتوژن دستگاه تناسلی انسان است، عامل بیماری تریکومونیازیس می‌باشد. مترونیدازول داروی انتخابی جهت درمان این بیماری است که عوارضی مانند سرگیجه، سرطان‌زایی و مقاومت دارویی را به همراه دارد. از این رو یافتن دارویی جایگزین ضروری به‌نظر می‌رسد، لذا مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات عصاره-های آبی و الکلی پنیرک و خارخاسک بر دو ساب تایپ تریکوموناس واژینالیس در شرایط آزمایشگاهی انجام شد.

روش‌کار: در این مطالعه عصاره‌های آبی و الکلی پنیرک و خارخاسک در رقت‌های ۱/۲۵، ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و نیز مترونیدازول با رقت‌های ۰/۷۸، ۱/۵۶، ۳/۱۲۵، ۶/۲۵، ۱۲/۵ و ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بر انگل تریکوموناس واژینالیس تایپ i و g در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت مجاورت داده شد. انگل‌های زنده با لام نئوبار شمارش و سپس سمّیت سلولی عصاره‌ها و مترونیدازول با روش MTT بر روی رده سلولی Hela ارزیابی شد. اطلاعات با روش TWO WAY ANNOVA GRAPHPAD آنالیز گردید.

یافته‌ها: شاخص‌های Ic_{50}، CC_{50} و SI محاسبه شد که کاهش درصد حیات انگل‌ها در تمامی غلظت‌ها و در هر دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار بود (p=۰/۰۰۰۱). عصاره اتانولی خارخاسک و پنیرک دارای SI بالاتری نسبت به عصاره آبی خارخاسک و پنیرک بودند، ولی تفاوت بسیار زیادی با شاخص SI مترونیدازول داشتند. این دو عصاره اثر بازدارندگی‌شان بر انگل خوب بود، ولی سمّیت‌شان بالا بود. چون اثر سلول‌کشی این عصاره‌ها بر رده سلولی Hela بالا بود، پیشنهاد می‌شود مطالعه‌ای برای اثر این عصاره‌ها در درمان سلول‌های سرطانی صورت گیرد.

نتیجه‌گیری: عصاره اتانولی خارخاسک اثر مهاری خوبی بر هر دو تایپ تریکوموناس واژینالیس به‌ویژه تایپ g داشت، ضمن اینکه اتانولی پنیرک در ۴۸ ساعت اثر مهاری بسیار خوبی بر تایپ i انگل گذاشت. عصاره‌های آبی و الکلی پنیرک و خارخاسک SI کمتری نسبت به مترونیدازول دارند، بنابراین تأثیرگذاری عصاره‌ها نسبت به مترونیدازول کمتر می‌باشد.

کلمات کلیدی: پنیرک، تریکومونیازیس، خارخاسک، درمان، مترونیدازول

* **نویسنده مسئول مکاتبات:** دکتر جاوید صدرایی؛ دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران. **تلفن:** ۸۲۸۸۳۸۴۱-۰۲۱؛ **پست الکترونیک:** sadraeij@modares.ac.ir

مقدمه

تریکوموناس واژینالیس[1] انگل تک‌یاخته‌ای است که در واژن، غدد پروستات و مجرای پیشاب مستقر می‌شود. حدود ۸۵٪ زنان مبتلا شده و ۷۷٪ مردان مبتلا بی‌علامت هستند. در مردان، تریکومونیازیس می‌تواند با عوارضی مانند ترشحات چرکی مجرای پیشاب و سوزش هنگام دفع ادرار همراه باشد و در زنان شامل ترشحات چرکی و بدبو که به رنگ زرد مایل به سبز می‌باشد. تریکومونیازیس، خطر کسب (HIV)[2] را از ۱/۵ تا ۲/۷ مرتبه بیشتر می‌کند. این عفونت به‌طور معمول از طریق تماس جنسی انتقال می‌یابد و محدود به ناحیه تناسلی است (۱). آلودگی به این انگل باعث به‌وجود آمدن محیط قلیایی در واژن می‌شود (۲). تشخیص عفونت در مرحله اول با مشاهده علائم بالینی توسط پزشک انجام می‌شود. تهیه گسترش مرطوب از مجرای تناسلی و مشاهده انگل در زیر میکروسکوپ بهترین راه برای تأیید آلودگی می‌باشد. مترونیدازول، داروی انتخابی تریکومونیازیس می‌باشد، ولی این دارو اثرات تراتئوژنیک بر جنین و سرطان‌زایی دارد. در سال‌های اخیر موارد زیادی از مقاومت دارویی انگل به مترونیدازول گزارش شده است، لذا یافتن داروی جایگزین با اثرات جانبی کمتر امروزه مدنظر محققین می‌باشد (۳). برای ارزیابی داروهای جایگزین تریکومونیازیس، در این مطالعه اثرات عصاره‌های آبی و الکلی دو گیاه پنیرک[3] و خارخاسک[4] بر دو ساب تایپ تریکوموناس واژینالیس در شرایط برون‌تنی مورد بررسی قرار گرفت. گیاه پنیرک با نام علمی .Malva sylvestris L از خانواده مالواسه[5] با کد هرباریوم 7194-IMPH است که در طب سنتی و صنعت داروهای گیاهی، از جایگاه ویژه و مهم برخوردار است (۴). این گیاه برای درمان ناراحتی‌های دستگاه ادراری یا دستگاه گوارش نیز مصرف می‌شود (۵). در ایران گونه نگلکتا[6] وجود دارد که گونه‌ای بسیار نزدیک به سیلوستریس می‌باشد (۶). این گیاه منبعی سرشار از ویتامین‌های A، B، C بوده و مقدار زیادی ترکیبات مهم ضدباکتریایی نظیر آنتوسیانین (مالون آ:۲- متیل ۳- متوکسی ۵ و۶- دهیدروکسی، ۱ و ۴- ناپاتوکوئی نون) می‌باشد (۷، ۸). ترکیبات اصلی گیاه پنیرک، ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی هستند و وجود مالوین، دلفینیدین، مالویدین، بتاکاروتن، سیانین، تانن‌ها، ساپونین‌ها، آلکالوئیدها، موسیلاژ و به‌ویژه آنتی‌اکسیدان‌هایی که در این گیاه هستند، عامل خواص ضداکسیدانی، ضدمیکروبی، ضدویروسی و ضددردی و اثر بر بهبود التهاب است (۹). گیاه خارخاسک با نام علمی Tribulus terrestris اولین بار توسط کارلوس لینه تشخیص داده شد. خارخاسک گیاهی علفی از خانواده زیگوفیلاسه[7] و کد هرباریوم آن 4539-IMPH می‌باشد. بخش‌های مختلف خارخاسکی که در ایران و ترکیه رویش دارد، دارای فعالیت ضدمیکروبی هستند. این گیاه دارای ساپونین، آلکالوئید و فلاونوئید می‌باشد که این مواد توانسته‌اند خاصیت ضدمیکروبی، ضدقارچی و ضدانگلی را به این گیاه بدهند (۱۰، ۱۱). این گیاه از دیرباز به‌عنوان تحریک کننده جنسی شناخته شده است، ولی موارد کاربردی دیگر آن در عفونت‌ها و التهابات مجاری ادراری است. از اسپیروستانولی که در گیاه خارخاسک وجود دارد، در درمان ولوواژینیت نیز استفاده شده است. اسپیروستانول ترکیبی است که در درمان بیماری‌های پوستی ویروسی، قارچی، انگلی و باکتریایی در قسمت‌های مختلف بدن از جمله چشم، گوش و پوست نواحی جنسی به کار می‌رود (۱۲، ۱۳). مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات عصاره‌های آبی و الکلی پنیرک و خارخاسک بر دو ساب تایپ تریکوموناس واژینالیس در شرایط آزمایشگاهی انجام شد.

روش‌کار

در این مطالعه دو ساب تایپ i و g (انگل بر اساس ژن ACTIN و PFOB تایپ‌بندی شده که برای این مطالعه از این دو سایپ تایپ استفاده شد) از آرشیو گروه انگل‌شناسی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت

[1] Trichomonas vaginalis
[2] Human Immunodeficiency virus
[3] Malva
[4] Tribulus
[5] Malvaceae
[6] neglecta
[7] Zygophyllaceae

مدرس تهیه گردید (۱۴). انگل در محیط کشت TYM[1] کامل، کشت داده شد تا زمانی‌که تعداد انگل‌ها بیش از ۶×۱۰^{۵} گردید. کنترل تعداد انگل‌ها با رنگ‌آمیزی حیاتی تریپان بلو و لام نئوبار انجام شد. دو گیاه پنیرک و خارخاسک تهیه شده و بعد از آسیاب کردن، عصاره‌گیری به روش ماسراسیون انجام گردید (۱۵، ۱۶). در مورد عصاره‌های الکلی، ابتدا الکل‌زدایی شده و سپس مورد استفاده قرار گرفتند. عصاره‌ها در رقت‌های ۱۲۵۰، ۲۵۰۰، ۵۰۰۰، ۱۰۰۰۰ و ۲۰۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر آماده‌سازی شدند. غلظت‌های مترونیدازول به‌میزان۰/۷۸، ۱/۵۶، ۳/۱۲۵، ۶/۲۵، ۱۲/۵ و ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر توسط PBS[2] استریل تهیه شد. آزمایشات در میکروپلیت‌های ۲۴ خانه‌ای به‌صورت تریپلیکت انجام شد. در هر چاهک غلظت‌های مختلف از عصاره‌ها و دارو اضافه شد و سپس ساب تایپ‌های i و g به‌صورت جداگانه با عصاره‌ها و دارو مجاورت داده شد و بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت با شمردن تعداد انگل‌های زنده توسط لام نئوبار، میزان تأثیر دارو و عصاره‌ها بررسی شده و مقادیر در جداول ۱ تا ۶ درج گردید. برای سنجش سمّیت سلولی آزمون MTT انجام شد و برای بررسی سمّیت سلولی عصاره‌ها و مترونیدازول از رده سلولی Hela استفاده شد و درصد حیات سلول‌ها در غلظت‌های مختلف از عصاره‌ها و مترونیدازول سنجیده شد.

برای تست MTT نیز تعداد ۲۰۰۰۰ سلول در هر چاهک پلیت ۹۶ خانه‌ای کشت داده شدند، سپس به هر چاهک غلظت‌های مختلف از ۴ عصاره و داروی مترونیدازول در تحقیق به‌صورت سه‌تایی اضافه شد. چاهک‌های دور تا دور پلیت توسط PBS پر شد تا از تبخیر چاهک‌های حاوی سلول جلوگیری کند. پس از گذشت ۲۴ و ۴۸ ساعت انکوباسیون، مایع رویی به آرامی با سمپلر جمع شده سپس ۲۰۰ میکرولیتر محیط کشت به همراه MTT به ۱۸ چاهک اضافه شد (عصاره‌ها و داروی مترونیدازول به همراه کنترل که هیچ ماده مؤثره‌ای ندارد، به‌صورت تریپلیکت برای آزمون MTT گذاشته شد که مجموع این‌ها ۱۸ چاهک شد). بعد از این کار، پلیت فویل کشیده شد تا تاریک باشد و بعد پلیت به‌مدت ۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه انکوبه شد. به هر چاهک مقدار ۲۰۰ میکرولیتر DMSO[3] اضافه و پیپتینگ انجام شد. جذب حاصل در طول موج ۵۷۰ نانومتر توسط دستگاه الایزاریدر خوانده شد و با استفاده از فرمول زیر درصد حیات سلول‌های Hela در غلظت‌های مختلف دارو به‌دست آمد.

(AT-AB).(AC-AB)= درصد حیات

در این مطالعه ۳ چاهک حاوی محیط کشت و سلول به‌عنوان کنترل و ۳ چاهک حاوی DMSO به‌تنهایی به‌عنوان بلانک در نظر گرفته شد. اطلاعات با روش TWO WAY ANNOVA GRAPHPAD آنالیز گردید.

یافته‌ها

در این مطالعه شاخص‌های (IC_{50})[4]، (CC_{50})[5] و (SI)[6] (شاخص IC_{50} بدین‌منظور است که ۵۰٪ از غلظت عصاره و دارو که برای مهار رشد انگل مناسب است؛ CC_{50} هم ۵۰٪ غلظت کشندگی عصاره و دارو بر سلول می‌باشد و شاخص SI به‌عنوان شاخص انتخابی دارو یا عصاره مناسب برای جایگزینی داروی کنترل است که از تقسیم CC_{50} به IC_{50} به‌دست می‌آید). برای عصاره‌ها و داروی مترونیدازول محاسبه شد. درصد حیات انگل‌ها بعد از مواجهه با عصاره‌ها و دارو پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت بررسی گردید. هر ۴ عصاره که بر تریکوموناس واژینالیس تایپ i و g اثر داده شد، با هم مقایسه گردید و از طرفی نتایج داروی مترونیدازول که بر این دو تایپ بررسی شد نیز با هم مقایسه گردید. کاهش درصد حیات انگل‌ها در تمامی غلظت‌ها و در هر دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت در مقایسه با گروه کنترل، معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). مقایسه تأثیر عصاره‌ها و مترونیدازول بر تریکوموناس واژینالیس تایپ i و g در ۲۴ و ۴۸ ساعت در جدول ۳-۱ ذکر شده است.

[1] Trypticase, yeast extract, maltose
[2] phosphate buffered saline
[3] dimethyl sulfoxide
[4] Inhibition $concentration_{50}$
[5] $cytotoxicity\ concentration_{50}$
[6] Slective Index

جدول ۱- مقایسه تأثیر عصاره‌ها بر تریکوموناس واژینالیس تایپ i[1] در ۲۴ و ۴۸ ساعت

زمان	غلظت µg/ml	آبی خارخاسک	آبی پنیرک	اتانولی خارخاسک	اتانولی پنیرک	سطح معنی‌داری
در ۲۴ ساعت	۱۲۵۰	۸۸/۱۴	۸۹/۴۲	۸۰/۶۹	۹۱/۳۴	<۰/۰۵
	۲۵۰۰	۷۶/۲۹	۸۰/۵۵	۵۸/۶۲	۷۶/۵۹	<۰/۰۵
	۵۰۰۰	۶۴/۴۴	۷۱/۰۳	۴۶/۸۹	۶۶/۹۲	<۰/۰۵
	۱۰۰۰۰	۴۹/۶۳	۶۴/۹	۴۱/۳۷	۴۵/۵۴	<۰/۰۵
	۲۰۰۰۰	۴۲/۲۲	۵۹/۸۳	۲۲/۰۶	۳۰/۲۸	<۰/۰۵
	کنترل	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	
در ۴۸ ساعت	۱۲۵۰	۵۷/۳	۹۴/۹۲	۳۷/۱۲	۲۰	<۰/۰۵
	۲۵۰۰	۳۳/۷	۹۲/۲۸	۲۴/۵۵	۱۸/۸۱	<۰/۰۵
	۵۰۰۰	۲۶/۴	۸۷/۵۶	۱۸/۵۶	۱۷/۳۸	<۰/۰۵
	۱۰۰۰۰	۲۰/۷۸	۸۰/۵۱	۱۵/۵۶	۱۲/۸۵	<۰/۰۵
	۲۰۰۰۰	۱۶/۸۵	۶۳/۴۲	۱۱/۳۷	۸/۸۱	<۰/۰۵
	کنترل	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	

(داده‌ها درصد حیات انگل می‌باشد)

جدول ۲- مقایسه تأثیر عصاره‌ها بر تریکوموناس واژینالیس تایپ g[2] در ۲۴ و ۴۸ ساعت

زمان	غلظت µg/ml	آبی خارخاسک	آبی پنیرک	اتانولی خارخاسک	اتانولی پنیرک	سطح معنی‌داری
۲۴ ساعت	۱۲۵۰	۹۰/۴۷	۸۴/۵۶	۵۶/۹	۸۱/۴۱	<۰/۰۵
	۲۵۰۰	۸۳/۶۷	۷۱/۶	۵۱/۳۸	۶۶/۶۶	<۰/۰۵
	۵۰۰۰	۷۰/۷۴	۶۲/۳۴	۴۸/۰۶	۵۸/۳۳	<۰/۰۵
	۱۰۰۰۰	۶۱/۲۲	۵۴/۹۳	۴۱/۴۳	۴۶/۷۹	<۰/۰۵
	۲۰۰۰۰	۵۳/۰۶	۴۸/۱۴	۲۳/۷۵	۳۰/۱۲	<۰/۰۵
	کنترل	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	
۴۸ ساعت	۱۲۵۰	۴۱/۷۹	۶۶/۱۱	۳۴/۷۶	۵۹/۶۷	<۰/۰۵
	۲۵۰۰	۳۴/۳۹	۵۶/۱۱	۳۰/۹۵	۴۵/۶۹	<۰/۰۵
	۵۰۰۰	۳۰/۱۵	۵۰/۵۵	۲۰/۴۷	۳۶/۰۲	<۰/۰۵
	۱۰۰۰۰	۲۰/۶۳	۴۴/۴۴	۱۵/۷۱	۲۹/۵۷	<۰/۰۵
	۲۰۰۰۰	۱۷/۴۶	۳۵/۵۵	۱۲/۸۵	۱۶/۶۶	<۰/۰۵
	کنترل	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	

(داده‌ها درصد حیات انگل می‌باشد)

[1] Accession number by Actin gen:KP400514
[2] Accession number by Actin gen:KF747377

جدول ۳- مقایسه تأثیر مترونیدازول بر تریکوموناس واژینالیس تایپ i و g در ۲۴ و ۴۸ ساعت

زمان	غلظت µg/ml	مترونیدازول تایپ i	مترونیدازول تایپ g
۲۴ ساعت	۰/۷۸	۳۲/۹۴	۳۷/۲۷
	۱/۵۶	۱۹/۲۹	۲۸/۹۹
	۳/۱۲۵	۱۵/۲۹	۱۶/۵۶
	۶/۲۵	۲/۸۲	۷/۶۹
	۱۲/۵	۰/۲۳	۲/۹۵
	۲۵	۰	۰
	کنترل	۱۰۰	۱۰۰
۴۸ ساعت	۰/۷۸	۸/۴۹	۲۲/۴
	۱/۵۶	۴/۳	۱۱/۴۷
	۳/۱۲۵	۳/۲	۷/۱
	۶/۲۵	۰/۹۹	۲/۱۸
	۱۲/۵	۰	۰
	۲۵	۰	۰
	کنترل	۱۰۰	۱۰۰

در تایپ i عصاره اتانولی پنیرک در ۴۸ ساعت اثر بسیار خوبی داشت؛ به‌طوری‌که تأثیر آن از اتانولی خارخاسک هم در زمان ۴۸ ساعت بیشتر شده بود. همچنین عصاره آبی پنیرک بر تایپ i در ۴۸ ساعت تأثیر چندانی نداشت و انگل توانست به رشد خود ادامه دهد، ولی با افزایش غلظت، باز هم اثر کشندگی خود را داشت؛ به‌عبارتی تأثیر آبی پنیرک بر تریکوموناس واژینالیس تایپ i، ۲۴ ساعته بود. در تایپ g، عصاره اتانولی خارخاسک در هر دو زمان تأثیر خوبی بر انگل داشته و عصاره آبی خارخاسک در زمان ۴۸ ساعت تأثیر بهتری نسبت به ۲۴ ساعت گذاشت. تأثیر عصاره آبی و اتانولی پنیرک بر تایپ g تریکوموناس واژینالیس چندان مناسب نبود. با توجه به مقایسه انجام شده بر اساس تأثیر مترونیدازول در جدول ۳، مشخص شد که تایپ g به‌عنوان سویه مقاوم تریکوموناس واژینالیس می‌باشد.

عصاره اتانولی پنیرک درصد بازدارندگی رشد بیشتری بر انگل تریکوموناس واژینالیس تایپ i در ۴۸ ساعت و عصاره اتانولی خارخاسک درصد بازدارندگی رشد بیشتری در هر دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت بر انگل تریکوموناس واژینالیس تایپ g داشت، ولی هیچ‌کدام اثر بازدارندگی رشد بیشتری نسبت به مترونیدازول در هیچ یک از غلظت‌ها نداشتند.

بعد از ۲۴ ساعت تیمار سلول‌ها با این عصاره‌ها و مترونیدازول، به‌وسیله روشMTT، تأثیر آنها بر سلول-های هلا در مقایسه با گروه کنترل بررسی و مقدار CC_{50} برای هر کدام با استفاده از نرم‌افزار Graphpad prism9 محاسبه گردید (جدول ۴). مؤثر بودن هر ترکیب دارویی به ایندکس درمانی آن بستگی دارد؛ بدین‌معنی که دارو باید انگل را از بین برده و یا مهار کند و از طرفی فاقد سمّیت یا سمّیت کمتری برای سلول داشته باشد. بدین‌منظور شاخص SI بدین‌صورت محاسبه گردید: $SI=CC_{50}$ Cell/IC_{50} *Trichomonas vaginalis*

جدول ۴- مقدار CC_{50} عصاره‌های آبی و الکلی پنیرک،خارخاسک و مترونیدازول بر رده سلولی Hela

ترکیب نام و نوع ترکیب	µg/ml
مترونیدازول	۷۴/۱۱
آبی خارخاسک	۱۱۴۰
اتانولی خارخاسک	۱۰۵۰
آبی پنیرک	۲۸۸۰
اتانولی پنیرک	۱۵۷۰

جدول ۵ مقدار شاخص SI عصاره‌ها و دارو را بر هر دو تایپ انگل نمایش می‌دهد. بر اساس نتایج، عصاره اتانولی خارخاسک و پنیرک دارای SI بالاتری نسبت به عصاره آبی خارخاسک و پنیرک بودند، ولی تفاوت بسیار زیادی با شاخص SI مترونیدازول داشتند. این دو دارو اثر بازدارندگی‌شان بر انگل خوب بود، ولی سمّیت‌شان بالا بود؛ در نتیجه باید از غلظت‌های پایین‌تر این داروها برای درمان استفاده کرد.

جدول ۵- مقدار شاخص SI مربوط به مترونیدازول، عصاره آبی خارخاسک، عصاره اتانولی خارخاسک، عصاره آبی پنیرک و عصاره اتانولی پنیرک با تریکوموناس واژینالیس تایپ i و تایپ g در ۲۴ ساعت

ترکیب	Ic_{50} (µg/ml)		SI	
	تایپ i	تایپ g	تایپ i	تایپ g
مترونیدازول	۰/۴	۰/۴۹	۱۸۵/۲۷	۱۵۱/۲
آبی خارخاسک	۱۱۴۳۰	۲۱۰۲۰	۰/۰۹	۰/۰۵
اتانولی خارخاسک	۴۹۳۰	۲۹۷۰	۰/۲۱	۰/۳۵
آبی پنیرک	۳۴۹۰۰	۱۴۹۹۰	۰/۰۸	۰/۱۹
اتانولی پنیرک	۸۸۹۰	۷۴۴۰	۰/۱۷	۰/۲۱

بحث

طبق نتایج به‌دست آمده، عصاره اتانولی خارخاسک در مجموع در مقایسه با عصاره آبی خارخاسک، عصاره اتانولی پنیرک و عصاره آبی پنیرک، اثر بهتری در بازدارندگی رشد تریکوموناس واژینالیس تایپ i و g در همه زمان‌ها داشت؛ البته عصاره اتانولی پنیرک در زمان ۴۸ ساعت بر تریکوموناس واژینالیس تایپ i تأثیر بیشتری گذاشت و اثر آن حتی از عصاره اتانولی خارخاسک هم بیشتر بود، اما به‌طور کلی چون تایپ g سویه مقاوم انگل تریکوموناس واژینالیس در این مطالعه شناخته شد و در ۲۴ و ۴۸ ساعت عصاره اتانولی خارخاسک نیز بر این تایپ هم تأثیر زیادی داشت، بنابراین با توجه به IC_{50} در کل عصاره اتانولی خارخاسک اثر بهتری داشت. در بسیاری از مطالعات تأثیر عصاره‌های گیاهان دارویی مختلف بر انگل تریکوموناس واژینالیس و نیز خارخاسک و پنیرک بر عوامل میکروبی دیگر بررسی شده است که به‌طور خلاصه شرح داده می‌شود. در مطالعه دسریوت و همکاران (۲۰۰۷) که اثر ۲۲ عصاره گیاه دارویی را بر لیشمانیا دنووانی، تریپانوزوما بروسئی و تریکوموناس واژینالیس در شرایط آزمایشگاهی بررسی کردند، از بین عصاره‌های تست شده، فقط عصاره گیاه Scaevola balansae با IC_{50} ۲۹/۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر دارای اثر متوسطی بر تریکوموناس واژینالیس بود (۱۷). مو پاک و همکاران (۲۰۰۸) فعالیت ضدتریکومونایی ۲۵ نوع جلبک دریایی شامل ۵ نوع فائوفیت، ۹۲ نوع رادوفیت و نوع کلروفیت را در شرایط آزمایشگاهی مورد سنجش قرار دادند. مقدار IC_{50} گزارش شده در این تحقیق بین ۱۳-۱/۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود که نشان‌دهنده فعالیت ضدتریکومونایی قوی عصاره گونه‌های مورد بررسی، در این مطالعه بود. IC_{50} مترونیدازول در این پژوهش، ۰/۰۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود (۱۸). مهران و

همکاران (۲۰۱۸) اثرات ضدباکتریایی عصاره‌های آبی و متانولی پنیرک را بر عامل پوسیدگی دندان یعنی استرپتوکوک موتانس ارزیابی کردند که نتایج حاصل نشان داد عصاره‌های آبی و متانولی پنیرک در غلظت‌های ۲، ۴، ۶ و ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر فعالیت ضدمیکروبی اثرگذاری بر استرپتوکوک موتانس دارد (۱۹). نتایج مطالعه رضوی و همکاران (۲۰۱۱) که آزمایش ضدقارچی و ضدباکتریایی توسط عصاره متانولی پنیرک انجام دادند، نشان داد عصاره متانولی گل‌های گیاه، نشان‌دهنده فعالیت ضدقارچی متوسطی است. این عصاره رشد قارچ Sclerotinia sclerotiorum، یک قارچ بیماری‌زای گیاهی و برخی قارچ‌های بیماری‌زای انسانی مانند C. kefyr و C. albicans را با محدوده ۸۰۰-۶۴۰ MIC میکروگرم در میلی‌لیتر مهار کرد. نتایج سنجش آنتی‌باکتریال نشان داد که گل و برگ عصاره متانولی M. sylvestris فعالیت باکتری‌کشی بالایی دارد. مشخص شد که عصاره‌ها دارای اثرات ضد باکتریایی قوی علیه Erwinia carotovora، یک باکتری بیماری‌زای رایج گیاهی با مقدار ۲۵۶ و ۱۲۸ MIC میکروگرم بر میلی‌لیتر برای عصاره گل و برگ هستند. عصاره متانولی گل گیاه دارای اثرات ضد باکتریایی بالایی بر روی برخی باکتری‌های پاتوژن انسانی مانند استاف اورئوس، استرپتوکوک آگالاکتیه، انتروکوک فکالیس با مقدار MIC به‌ترتیب ۱۹۲، ۲۰۰ و ۲۵۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود (۲۰). ژانگ و همکاران (۲۰۰۵) ساپونین‌های خارخاسک را بررسی کرده و دریافتند که ساپونین‌های TTS-12 و TTS-15 از Tribulus terrestris فعالیت ضد قارچی قابل‌توجهی در شرایط آزمایشگاهی در برابر قارچ‌های مقاوم به فلوکونازول دارند، به‌ویژه TTS-12 نیز در شرایط in vivo فعالیت ضدقارچی در برابر C. albicans مقاوم به فلوکونازول نشان داد (۲۱). حاکمی و همکاران (۲۰۱۴) عصاره آبی گیاه خارخاسک را بر اشریشیا کلی، سودوموناس آئروژینوزا و باسیلوس سوبتیلیس اثر دادند نتایج نشان داد که عصاره آبی اثر ضد باکتریایی بیشتری دارد، ولی B. subtilis حساسیت کمی به عصاره آبی این گیاه دارد (۲۲). تاکنون مطالعه‌ای بر روی تأثیر عصاره‌های آبی و اتانولی پنیرک و خارخاسک بر تریکوموناس واژینالیس تایپ i و g انجام نشده و این تحقیق برای اولین بار انجام گرفت. بنابراین استفاده از این گیاهان برای درمان تریکومونیازیس نیازمند بررسی‌های بیشتری می‌باشد. از محدودیت‌های مطالعه حاضر، عدم انجام بررسی دوزهای پایین‌تر این عصاره‌ها به‌ویژه اتانولی خارخاسک و اتانولی پنیرک بر مهار انگل و بررسی ویژگی سمّیت سلولی آن‌ها در دوزهای کمتر بود. پیشنهاد می‌شود که تأثیر عصاره‌ها در شرایط In vivo بررسی گردد، همچنین توجه شرکت‌های دارویی به تهیه فرآورده‌های دارویی از گیاه خارخاسک (به شرط استفاده از غلظت‌های کمتر) جلب گردد.

نتیجه‌گیری

عصاره اتانولی خارخاسک اثر ضد تریکوموناسی بهتری دارد؛ ضمن اینکه عصاره اتانولی پنیرک نیز در ۴۸ ساعت بر تایپ i انگل اثر مهاری بسیار خوبی داشت، اما با توجه به اینکه SI عصاره‌ها کمتر از کنترل بود؛ بنابراین شاخص درمانی‌شان نسبت به مترونیدازول پایین بود. لذا باید غلظت‌های پایین‌تر از این عصاره‌ها را به جهت سمّیت کمتر برای میزبان در حین درمان تریکومونیازیس استفاده کرد. همچنین به‌دلیل اینکه اثر سلول‌کشی این عصاره‌ها بر رده سولی هلا بالا بود، می‌توان برای کشندگی سلول‌های سرطانی استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد انگل‌شناسی پزشکی (با شماره ثبت: ۲۸۳۴۹۹۲) می‌باشد که در دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس تصویب شد. بدین‌وسیله از مسئولین دانشگاه تربیت مدرس خصوصاً اساتید دانشکده علوم پزشکی گروه انگل‌شناسی به‌خاطر حمایت مالی و راهنمایی‌های ارزنده آنها تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1. Kashan ZF, Delavari M, Arbabi M, Hooshyar H. Therapeutic effects of Iranian herbal extracts against Trichomonas vaginalis. Iranian Biomedical Journal 2017; 21(5):285-93.
2. Valadkhani Z, Sharma S, Harji K, Gupta I, Malla N. Role of Lactobacillus acidopidlus on adhesion of Trichomonasvaginalis isolated from symptomatic and asymptomatic women to vaginal epithelial cells. The Journal of Urmia University of Medical Sciences 2006; 17(3):236- 241. (persian)
3. Bahadoor S, Hadisa T, Shahrbanoo A, Elahm F, Mehrangiz A. In Vitro anti-Trichomonas activity of Freula assafoetida and garlic extracts. Journal of Gorgan University of Medical Sciences 2009; 11(3):13-17.
4. Hassanpour A, Zakhireh S, Ebadi A. The study of antibacterial activity of non-polar extract of Malva silvestris L., using well diffusion and tube dilution method. Veterinary Clinical Pathology The Quarterly Scientific Journal 2015; 8(4 (32) Winter):645-51.
5. Jafari-Sales A, Jafari B, Sayyahi J, Zohoori-Bonab T. Evaluation of antibacterial activity of ethanolic extract of malva neglecta and althaea officinalis l. On antibiotic-resistant strains of staphylococcus aureus. J Biol Today World 2015; 4(2):58-62.
6. Mustafa A, Ali M. New steroidal lactones and homomonoterpenic glucoside from fruits of Malva sylvestris L. L. Acta Pol Pharm 2011; 68(3):393-401.
7. Valizadeh ZV, Sarkaki A, Nasri S. Evaluation of the effect of Malva parviflora hydro-alcoholic extract on pain in male rat. Jundishapur Scientific Medical Journal 2018; 17(1):95-105.
8. Mohammad Eini A. Comparison of Antibacterial Effect of Malva Sylvestris L.(Aerial and Root Organs) by MIC. SSU_Journals 2014; 21(6):816-22.
9. Shokrollahi S, Heshmati GA. Diffrent aspect of Mallow (Malva sylvestris) and results of new research findings:a review. Journal of Neyshabur university of medical sciences 2016; 4(1):1-8.
10. Naseri L, Khazaei M. A review on therapeutic effects of tribulus terrestris. Journal of Medicinal Plants 2019; 18(72):1-22.
11. Al-Bayati FA, Al-Mola HF. Antibacterial and antifungal activities of different parts of Tribulus terrestris L. growing in Iraq. Journal of Zhejiang University Science B 2008; 9:154-9.
12. Esfandiari A, Dehghan A, Sharifi S, Najafi B, Vesali E. Effect of Tribulus terrestris extract on ovarian activity in immature Wistar rat: a histological evaluation. Journal of Animal and Veterinary Advances 2011; 10(7):883-6.
13. Huang YL, Kou JP, Ma L, Song JX, Yu BY. Possible mechanism of the anti-inflammatory activity of ruscogenin: role of intercellular adhesion molecule-1 and nuclear factor-κB. Journal of pharmacological sciences 2008; 108(2):198-205.
14. Momeni Z. Molecular typing of Trichomonas vaginalis isolates by PFOB and Actin genes; 2015
15. Gholami T, Samih MA. The lethal effects of fineleaf fumitory, Fumaria parviflora (Lam.)(Fumariaceae) extracted by several methods on Bemisia tabaci (Genn.). IAU Entomological Research Journal 2017; 9(2):197-211.
16. Mozdastan S, Ebrahimzadeh MA, Khalili M. Comparing the impact of different extraction methods on antioxidant activities of myrtle (Myrtus communis L.). Journal of Mazandaran University of Medical Sciences 2015; 25(127):10-24.
17. Desrivot J, Waikedre J, Cabalion P, Herrenknecht C, Bories C, Hocquemiller R, et al. Antiparasitic activity of some New Caledonian medicinal plants. Journal of Ethnopharmacology 2007; 112(1):7-12.
18. Moo-Puc R, Robledo D, Freile-Pelegrin Y. Evaluation of selected tropical seaweeds for in vitro anti-trichomonal activity. Journal of Ethnopharmacology 2008; 120(1):92-7.
19. Mehran M, Ahmadi R, Kazemi MS, Takzaree N. Comparative evaluation of antibacterial effect of Malva sylvestris L. extract and chlorohexidine on Streptococcus mutans in vitro study. Tehran University Medical Journal TUMS Publications 2018; 76(9):602-7.
20. Razavi SM, Zarrini G, Molavi G, Ghasemi G. Bioactivity of Malva sylvestris L., a medicinal plant from Iran. Iran J Basic Med Sci 2011; 14(6):574-9.
21. Zhang JD, Cao YB, Xu Z, Sun HH, An MM, Yan L, et al. In vitro and in vivo antifungal activities of the eight steroid saponins from Tribulus terrestris L. with potent activity against fluconazole-resistant fungal. Biological and pharmaceutical bulletin 2005; 28(12):2211-5.
22. Hakemi VM, Makhmor M, Kobarfard F, Kamalinejad M, Heidary M, Khoshnood S. Investigation of antimicrobial effect of Tribulus terrestris L. against some gram positive and negative bacteria and candida spp. Novel Biomed 2014; 2(3):85-90.