

تأثیر عصاره اتانولی گیاه درمنه سنبله‌ای آرتمی‌زیا اسپسیجرا بر آلودگی کرمی دستگاه گوارش در موش سوری

پریسا شهبازی*^۱، ساناز ارشدی^۲

مقاله پژوهشی

مقدمه: داروهای شیمیایی علیه آلودگی‌های انگلی موثر هستند، ولی مشکلاتی مانند به روز مقاومت دارویی، بقایای دارویی و عوارض جانبی ناخواسته، باعث شده است که مطالعه بر روی درمان‌های موثر دیگر به خصوص ترکیبات گیاهی در اولویت‌های تحقیق قرار گیرد. با در نظر گرفتن گزارشات مبنی بر تأثیر ضد میکروبی و ضد انگلی عصاره گونه‌های مختلف گیاه درمنه (آرتمی‌زیا)، این مطالعه با هدف بررسی اثر عصاره الکلی گیاه آرتمی‌زیا اسپسیجرا و هم چنین تأثیر سرکوب ایمنی بر میزان آلودگی کرمی در موش سوری صورت گرفته است.

روش بررسی: در مطالعه تجربی حاضر، از ۳۰ سر موش سوری ماده نژاد NMRI استفاده شد. حیوانات به ۵ گروه شامل دو گروه شاهد و سه گروه تیمار دریافت کننده عصاره با غلظت‌های ۰/۲mg/ml، ۲mg/ml و ۲۰mg/ml تقسیم شدند. تجویز عصاره از روز اول آغاز و هر ۱۲ ساعت تا ۶ روز ادامه یافت. مدفوع موش‌ها روزانه جمع‌آوری گردیده و تعداد تخم در یک گرم مدفوع (EPG) با استفاده از روش کلیتون لین محاسبه گردید. هم چنین مطالعات هیستوپاتولوژی با استفاده از مقاطع روده موش‌ها انجام شد. آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ (SPSS Inc, Chicago, IL) انجام گرفت. نرمال بودن توزیع داده‌ها بر اساس روش کلموگروف-اسمیرنوف ارزیابی گردید و جهت مقایسه گروه‌های مختلف از روش Oneway Anova استفاده شد.

نتایج: نتایج نشان دهنده تأثیر عصاره الکلی آرتمی‌زیا با غلظت‌های ۲ و ۲۰ میلی گرم در میلی لیتر بر آلودگی کرمی در موش سوری است، به طوری که در گروه تیمار سوم (دریافت کننده آرتمی‌زیا با غلظت ۲۰mg/ml میانگین تخم در هر گرم مدفوع (Egg per gram) شامل تخم‌های هیمنولپیس نانا، آسپیکولاریس تتراپتیرا و سیفاسیا ابولاتا در روز آخر بررسی به طور مشخص و معنی دار کاهش یافت ($p=0/002$). در بررسی میکروسکوپی مقاطع روده نیز بین گروه‌های شاهد و تیمار تفاوت دیده شد. هم چنین نتایج موید تأثیر سرکوب سیستم ایمنی بر افزایش آلودگی به این انگل بود.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه اثر وابسته به دز و وابسته به طول دوره مصرف عصاره الکلی آرتمی‌زیا اسپسیجرا بر آلودگی کرمی در موش را نشان داد.

واژه‌های کلیدی: کرم‌های انگلی، آرتمی‌زیا اسپسیجرا، موش سوری

ارجاع: شهبازی پریسا، ارشدی ساناز. تأثیر عصاره اتانولی گیاه درمنه سنبله‌ای آرتمی‌زیا اسپسیجرا بر آلودگی کرمی دستگاه گوارش در موش سوری. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۳۹۷؛ ۲۶ (۲): ۵۰-۱۴۱.

۱- گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

۲- گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

* (نویسنده مسئول): تلفن: ۰۹۱۴۳۰۶۰۹۶۳، پست الکترونیکی: p.shahbazi56@gmail.com، کد پستی: ۵۱۶۶۶۱۶۴۷۱

مقدمه

برخی از آلودگی‌های کرمی دستگاه گوارش موش قابل انتقال به انسان است و از این رو دارای اهمیت بهداشتی می‌باشد. از جمله همینولپیزیس توسط سستودی به نام همینولپیزیس نانا در انسان و جوندگان ایجاد می‌شود و جزو بیماری‌های مشترک است. این بیماری یکی از مشکلات کشورهای در حال توسعه و جهان سوم است که باعث زیان‌های اقتصادی و اجتماعی فراوانی در جامعه می‌شود (۱). رخدادهای سالانه ۲۰ میلیون مورد عفونت که سال‌ها پیش تخمین زده شده است بی‌شک هنوز هم صادق است. توانایی آلوده‌کنندگی مستقیم تخم این سستود باعث بی‌نیازی انگل به میزبان واسط می‌شود. این موضوع احتمال انتقال عفونت به شکل انسان به انسان را افزایش داده و در نتیجه باعث گسترش آلودگی می‌گردد. به طور طبیعی عفونت با همینولپیزیس نانا کشنده نیست مگر در شرایط خاصی مثل آلودگی شدید در کودکان کم سن و سال و افراد دارای نقص سیستم ایمنی که در اغلب موارد به صورت خودآلودگی‌های مکرر، عفونت اتفاق افتاده و باعث مرگ فرد می‌شود (۲-۱). هم چنین سیفاسیا آبولاتا، یکی دیگر از کرم‌های دستگاه گوارش موش نیز قابل انتقال به انسان است (۴). از آن جا که داروهای ضدانگل دارای عوارض جانبی مختلف هستند با وجود موثر بودن درمان‌های شیمیایی بر ضد اکثر آلودگی‌های انگلی، امروزه گیاه درمانی به شکل استفاده از عصاره‌ها و روغن‌های گیاهی در سراسر دنیا رایج شده است. حتی در کشورهای پیشرفته به علت وجود عوارض جانبی نامطلوب داروهای شیمیایی، تمایل به مصرف داروهای گیاهی رو به افزایش است (۵). درمنه و افسنتین‌ها نامی است که در زبان فارسی به اغلب قریب به اتفاق گیاهان جنس *Artemisia* که در ایران می‌روید گفته می‌شود. این گیاهان از خانواده کامپوزیته تیره فرعی رادیه هستند. دارای گونه‌های مختلف با نام‌های متفاوت می‌باشند که اغلب آنها دارای برگ‌های تلخ و معطر و خواص دارویی کم و بیش مشابه هم می‌باشند. این جنس دارای ۳۴ گونه گیاهی علفی یک ساله و چند ساله است که در سراسر ایران پراکنده‌اند (۶). از جمله درمنه سنبله ای با

نام علمی *Artemisia specigera* در شمال و شمال غرب ایران (۷) درمنه خزری *Artemisia anua* به طور وسیع در ساحل دریای خزر (۸)، *Artemisia abrotanum* در استان‌های چهارمحال و بختیاری و کرمان (۹) می‌رویند. گونه‌های انحصاری آن در ایران عبارتند از *A. A. Melanolepis*، *A. A. Khorassanica*، *Kermanensis* و درمنه دشتی با نام علمی *Artemesia herba alba* *A. Sieberi* که با ارزش‌ترین آنها از نظر تغذیه دام و از گیاهان بردبار مناطق بیابانی و نیمه بیابانی ایران است (۶). گونه‌های مختلف گیاه درمنه (*Artemisia spp.*) دارای خواص ضدباکتریایی، ضد تک یاخته‌ای، ضد کرمی، ضد قارچی، ضد دیابت و آنتی‌اکسیدان (ضد سرطان) است. به علاوه اثرات ضد نفخ، رفع سرفه و سردرد، ضد عفونی‌کنندگی و حشره‌کشی نیز برای آن توصیف شده است. ترکیبات شیمیایی موجود در جنس آرتیمیزیا را می‌توان به گروه مونوترپن‌ها، سزکویی‌ترین‌ها و به ویژه سزکویی‌ترین‌لاکتون‌ها، فلاونوئیدها، فنیل پروپانوئیدها، پلی‌استیلن‌ها و کومارین‌ها طبقه بندی نمود. خواص آرتیمیزیا به دلیل داشتن ترکیبات شیمیایی خاص آن بوده و از این رو آرتیمیزیا در تهیه مواد دارویی و صنایع غذایی (به عنوان نگهدارنده طبیعی) و در طب سنتی هم کاربرد دارد. طبق بررسی‌های انجام شده در مورد عصاره گونه‌های مختلف گیاه آرتیمیزیا، ماده موثره در گونه‌های مختلف متفاوت است. از جمله اثرات ضد مالاریایی گیاه آرتیمیزیا را به سزکویی‌ترین‌لاکتون‌ها مانند آرتیمیزینین مرتبط دانسته‌اند در حالی که در برخی گونه‌ها از جمله گونه مورد مطالعه، سایر ترکیبات مانند ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها ماده موثره هستند (۷، ۱۰). تا به حال از عصاره و اسانس گونه‌های مختلف گیاه آرتیمیزیا برای درمان بیماری‌های باکتریایی (۱۱)، قارچی (۱۲) و انگلی از جمله تریپانوزومیازیس (۱۳، ۱۴)، لیشمانیازیس (۱۵)، مالاریا (۱۶) و کوکسیدیوز (۱۷، ۱۸) استفاده شده است و برخی گونه‌های گیاه آرتیمیزیا به عنوان ضدانگل شناخته شده‌اند (۱۹) ولی با وجود این که گیاه درمنه سنبله‌ای (آرتیمیزیا اسپسیجرا) در شمال و شمال غربی ایران شناخته شده و فراوان است و بومی منطقه محسوب می‌شود،

موش‌ها از قست حیوانات آزمایشگاهی موسسه پاستور واقع در کرج تهیه گردید). در روز صفر قبل از گروه بندی موش‌ها، کلیه قفس‌ها و آب آشامیدنی و پلت‌های تغذیه‌ای موش‌ها اتوکلاو شد. همه موش‌ها توزین شدند که توزین روزانه تکرار گردید. هم‌چنین از همه موش‌ها نمونه مدفوع گرفته شده و بررسی شد. پس از شناسایی موش‌های آلوده بر اساس مشاهده تخم کرم‌ها در مدفوع و محاسبه تعداد تخم در هر گرم مدفوع (Egg Per Gram)، گروه بندی صورت گرفت. بدین منظور دو گروه شاهد و ۳ گروه تیمار در نظر گرفته شد به ترتیب شامل:

گروه شاهد ۱: بدون درمان، با سرکوب ایمنی

گروه شاهد ۲: بدون درمان، بدون سرکوب ایمنی

گروه تیمار ۱: دریافت کننده عصاره الکلی آرتمیزیا با غلظت ۰/۲ mg/ml

گروه تیمار ۲: دریافت کننده عصاره الکلی آرتمیزیا با غلظت ۲ mg/ml

گروه تیمار ۳: دریافت کننده عصاره الکلی آرتمیزیا با غلظت ۲۰ mg/ml

به این ترتیب هر گروه شامل ۶ سر موش بود. در دوره نگهداری شرایط مناسب دمایی و محیطی با استفاده از تهویه و تنظیم دما در ۲۴ درجه سانتی‌گراد برقرار شد. هم‌چنین برنامه روشنایی و خاموشی متناوب هر ۱۲ ساعت اعمال گردید (۲۰). برای ایجاد سرکوب ایمنی در موش‌های گروه اول مطابق روش میلر و همکاران (۲۰۰۷) عمل شد به این ترتیب که به صورت یک روز در میان دگزامتازون و تتراسیکلین در آب آشامیدنی موش‌ها مخلوط گردیده و در اختیار آن‌ها قرار گرفت (۲۱). بر این اساس، ۷/۲ ml از محلول ۱٪ دگزامتازون در ۲۵۰ ml آب مقطر استریل مخلوط شده و برای هر موش ۵۰ ml از این محلول، در ظرف آب خوری ریخته شد. تتراسیکلین نیز به میزان ۲۸۰ mg در یک لیتر آب مقطر استریل تهیه شده و به میزان ۵۰ ml در اختیار هر موش قرار گرفت. تجویز دگزامتازون از روز صفر در آب آشامیدنی موش‌ها آغاز شده و به صورت یک روز در میان تجویز دگزامتازون و تتراسیکلین تا روز آخر بررسی

تاکنون در مورد اثر بر آلودگی به هیمنولپیازیس که دارای اهمیت زئونوتیک است و سایر آلودگی‌های کرمی در موش سوری بررسی انجام نشده است. در این مطالعه به امید یافتن دارویی با عوارض کمتر و اثر بیشتر، تاثیر عصاره الکلی این گیاه بر آلودگی کرمی دستگاه گوارش موش، مورد بررسی قرار داده شد.

روش بررسی

تهیه عصاره الکلی:

در این مطالعه ابتدا گیاه درمنه از کوه‌های اطراف تبریز جمع‌آوری گردید و گونه آن توسط هرباریوم دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تبریز شناسایی شد که آرتمیزیا اسپسیجرا (TBZFPH 716) بود. سپس عصاره اتانلی این گیاه تهیه گردیده و به روش GC-MS (Gass chromatography) آنالیز شد. برای تهیه عصاره اتانلی از روش پرکولاسیون استفاده شد. ابتدا برگ‌ها و ساقه گیاه را پس از تمیز کردن در اتاق تاریک در جریان هوا خشک نموده و جهت تهیه عصاره از اتیل الکل ۸۰٪ استفاده شد. به این ترتیب که به ۵۰ گرم از قسمت‌های خشک شده گیاه، اتانل ۸۰٪ گرم افزوده شد و در دستگاه پرکولاتور (ساخت کشور انگلستان) به مدت ۷۲ ساعت انکوبه شد سپس الکل باقی مانده به وسیله دستگاه تقطیر در خلا خارج شد (۵). عصاره تهیه شده تا انجام آزمایشات در ظرف تیره رنگ در یخچال نگهداری شد. در زمان مصرف غلظت‌های مورد نظر از این عصاره تهیه گردیده (۲،۲۰ mg/ml و ۰/۲) و مورد استفاده قرار گرفت. با توجه به غلظت اولیه عصاره تهیه شده که ۵۰ میلی‌گرم / میلی‌لیتر بود و با استفاده از آب مقطر غلظت‌های نهایی مورد استفاده تهیه شد.

حیوانات مورد مطالعه

مطالعه حاضر از نوع تجربی-مداخله‌ای بود که در سال ۹۶ در دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز انجام شد. برای بررسی تاثیر این عصاره بر آلودگی کرمی، از ۳۰ سرموش سوری ماده ۴-۶ هفته از نژاد NMIR، که به طور طبیعی آلوده به کرم‌های دستگاه گوارش شامل هیمنولپیس نانا، سیفاسیا ابولاتا و آسپیکولاریس تتراپترا بودند استفاده گردید (این

ادامه یافت. مطابق روش جنکینز و همکاران (۱۹۹۸)، تجویز عصاره مورد مطالعه به میزان $200 \mu\text{l}$ با غلظت های تهیه شده در گروه های تیمار از روز اول مطالعه آغاز شد و هر ۱۲ ساعت تا پایان تحقیق تکرار گردید. مدت زمان تیمار ۶ روز در نظر گرفته شد. در گروه های شاهد نیز با الگوی مشابه از آب مقطر استفاده شد (۲۲). جهت تجویز عصاره و آب مقطر به موش ها از گاوژ شماره ۲۰ استفاده شد. مدفوع موش ها روزانه جمع آوری گردیده و تعداد تخم در یک گرم مدفوع (EPG) تعیین گردید.

شمارش تخم ها در مدفوع (تعیین EPG)

جهت شمارش روزانه تخم ها از هر موش میزان ۱g مدفوع پس از توزین و صاف کردن به لوله آزمایش منتقل شده و روی آن آب مقطر ریخته شد سپس با دور ۳۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ شده و عمل شستشو انجام شد. در مرحله بعد با استفاده از محلول شیتور و روش کلیتون لین شمارش تخم انجام گردید (۲۳).

توزین روزانه موش ها

در روز صفر قبل از شروع بررسی، همه موش ها با استفاده از ترازوی دیجیتالی وزن شدند که وزن موش ها در بازه ۱۵ تا ۲۰ گرم بود. پس از گروه بندی، میانگین وزن همه گروه ها مشخص شد که تقریباً یکسان بود ($Mean \pm SEM: 17/46 \pm 1$). توزین موش ها تا پایان تحقیق، روزانه تکرار شد. چون در اکثر آلودگی های انگلی کاهش وزن وجود دارد، شاخص وزن در بررسی سرکوب ایمنی و تاثیر داروی ضدانگل مهم است. در صورت تاثیر داروی ضدانگل بهبود وزن گیری مورد انتظار است.

بررسی هیستوپاتولوژی

جهت بررسی هیستوپاتولوژی، در پایان دوره درمان یک موش، از هر گروه به روش انسانی با استفاده از کلروفرم آسان کشی شده (۲۰) و از روده آنها نمونه برداری گردید که پس از تثبیت در فرمالین ۱۰٪ و تهیه بلوک های پارافینی و مقاطع و رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین (H&E)، لام های تهیه شده از برش های روده با میکروسکوپ نوری (شرکت Olympus، ژاپن) بررسی گردید.

تجزیه و تحلیل آماری: پس از پایان دوره عروزه جمع آوری مدفوع، تمامی داده های جمع آوری شده شامل وزن موش ها و

میزان تخم در یک گرم مدفوع (EPG) بررسی آماری شد. نتایج در گروه های مختلف به صورت میانگین روزانه تعداد تخم در هر گرم مدفوع و انحراف خطای معیار ($Mean \pm SEM$) گزارش و ارزیابی شد. ابتدا نرمال بودن توزیع داده ها بر اساس روش کلموگروف-اسمیرنوف ارزیابی گردید سپس جهت مقایسه گروه های مختلف از روش Oneway Anova استفاده گردید. مقدار $P < 0/05$ بین گروه های مورد آزمایش از نظر آماری معنی دار تلقی شده است. آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ (SPSS Inc, Chicago, IL) انجام گرفت.

ملاحظات اخلاقی

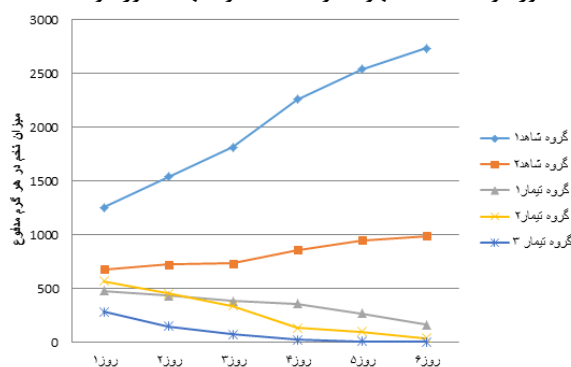
این تحقیق منطبق با ضوابط بین المللی تحقیقات در ارتباط با حیوانات انجام گرفته و پروپوزال این تحقیق توسط دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز تایید شده است (کد اخلاق شماره ۴۳/۸۶۶۰)

نتایج

بررسی میکروسکوپی مدفوع، دفع میزان زیاد تخم کرم ها را در گروه های شاهد طی دوره ۶ روزه جمع آوری مدفوع نشان داد (تصویر ۱). ضمن این که میزان دفع تخم در گروه شاهد اول که داروی دگزامتازون را دریافت کرده بود به طور معنی داری از گروه شاهد ۲ بدون سرکوب ایمنی بیشتر بود ($P=0/013$). هم چنین بررسی های آماری تفاوت معنی دار در میزان دفع تخم را بین هر سه گروه تیمار و گروه شاهد ۱ نشان داد ($P=0/013$). ولی میانگین دفع تخم در گروه شاهد دوم بدون سرکوب ایمنی فقط با گروه تیمار ۲ و ۳ در روزهای چهارم تا ششم تفاوت معنی دار داشت ($P=0/013$). نتایج نشان دهنده تاثیر عصاره الکلی آرتمیسیجرا با غلظت های ۲ و ۲۰ میلی گرم در میلی لیتر بر آلودگی کرمی در موش سوری است، به طوری که در گروه تیمار ۳ (دریافت کننده آرتمیسیجرا با غلظت 20 mg/ml) میانگین EPG در روز آخر بررسی، به ۵ تخم در هر گرم مدفوع کاهش یافت. ضمناً بیشترین اثر عصاره در کاهش دفع تخم در گروه تیمار ۲ و ۳، در روز ششم درمان دیده شد (نمودار ۱). در مقایسه وزن موش ها، با وجود بیشتر بودن میانگین وزن در گروه های تیمار، تفاوت معنی داری بین گروه های شاهد و تیمار دیده نشد ($P=0/69$). در

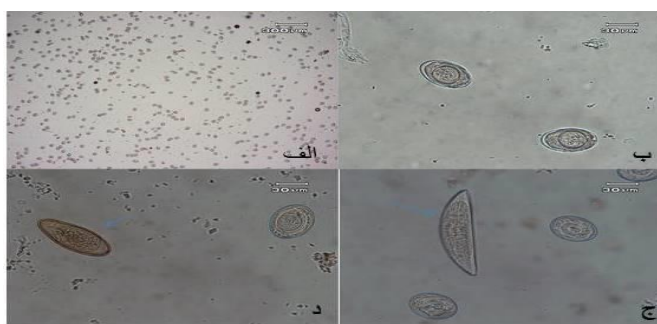
(تصویر ۲) در حالی که در موش های گروه های درمان مقطع کرم و التهاب ائوزینوفیلیک مشاهده نگردید.

بررسی هیستوپاتولوژی روده موش های گروه های شاهد، مقاطع کرم و هم چنین تا حدودی التهاب ائوزینوفیلیک مشهود بود



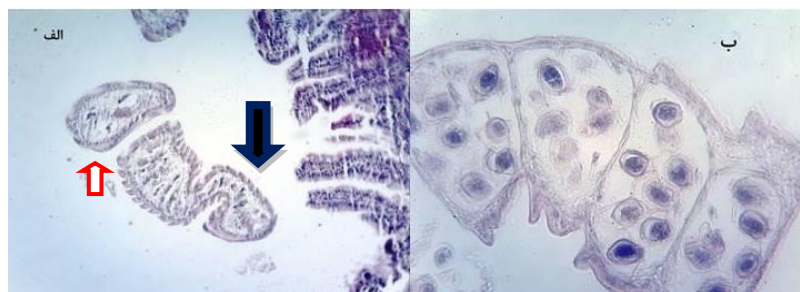
شکل ۱: مقایسه میانگین روزانه تعداد تخم در هر گرم مدفوع (Egg per gram) در گروه های شاهد و تیمار

نمودار بر اساس (EPG) \pm خطای معیار برای هر گروه بر اساس روش Oneway Anova ترسیم شده است. در روز ۴ تا ۶ در میانگین دفع تخم بین همه گروه ها اختلاف معنی دار وجود دارد ($P < 0.05$) گروه شاهد ۱: بدون درمان، با سرکوب ایمنی؛ گروه شاهد ۲: بدون درمان، بدون سرکوب ایمنی؛ گروه تیمار ۱: دریافت کننده عصاره الکلی آرتمیزیا با غلظت ۲۰ mg/ml؛ گروه تیمار ۲: دریافت کننده عصاره الکلی آرتمیزیا با غلظت ۴۰ mg/ml؛ گروه تیمار ۳: دریافت کننده عصاره الکلی آرتمیزیا با غلظت ۲۰ mg/ml



تصویر ۱: تخم کرم های آلوده کننده دستگاه گوارش موش های مورد مطالعه

- الف) میزان زیاد دفع تخم هیمنولپیس در گروه شاهد ۱ (بزرگنمایی ۸۰)
- ب) تخم هیمنولپیس نانا (بزرگنمایی ۸۰۰)
- ج) تخم سیفاسیا ابولاتا (فلش سیاه) (بزرگنمایی ۸۰۰)
- د) تخم اسپیکولاریس تتراپترا (فلش سفید) (بزرگنمایی ۸۰۰)



تصویر ۲: مقاطع هیستوپاتولوژی روده موش های گروه شاهد

- الف) اسکولکس (فلش بزرگ) و بندهای نابالغ (فلش کوچک) کرم هیمنولپیس نانا (بزرگنمایی ۲۰۰)
- ب) بندهای بارور کرم هیمنولپیس نانا (بزرگنمایی ۸۰۰)

بحث

نتایج این بررسی نشان دهنده تأثیر عصاره الکی آرتیمیزیا اسپسیجرا با غلظت‌های ۲ و ۲۰ mg/ml بر آلودگی کرمی در موش سوری است. این نتایج مشابه بررسی اثر گونه‌های دیگری از آرتیمیزیا بر آلودگی کرمی در موش سوری می‌باشد. در تحقیقی یوسفی و همکاران (۲۰۱۲) تأثیر غلظت‌های ۰/۲، ۰/۵ و ۱/۰ عصاره الکی آرتیمیزیا ابسینتیوم را بر روی انگل سیفاسیا درموش، بررسی کرده و مشاهده کرده‌اند که این عصاره با غلظت‌های ۰/۵ و ۱/۰ بر روی انگل موثر بوده و باعث کاهش دفع تخم انگل می‌شود. نتایج این تحقیق مشابه بررسی حاضر اثر افزایش غلظت عصاره را در کاهش دفع تخم نشان داده است (۲۴). هم‌چنین در بررسی امیرمحمدی و همکاران (۲۰۱۴) عصاره اتانولی آرتیمیزیا ابروتانوم نیز باعث کاهش تعداد تخم در هر گرم مدفوع گردید و نتایج نشان دهنده کاهش عمده و معنی دار دفع تخم توسط کرم‌های هیمنولپیس نانا، سیفاسیا ابولاتا و آسپیکولاریس تتراپترا بود. هم‌چنین در این تحقیق مشابه بررسی حاضر بیشترین اثر عصاره گیاه در کاهش دفع تخم مربوط به روز آخر تحقیق بود که موید اثر طول دوره درمان است یعنی با افزایش طول دوره تیمار و پیشرفت روزهای درمان، اثر عصاره افزایش یافته است (۴). نتایج مطالعه طارق و همکاران (۲۰۰۹) نیز اثر عصاره آرتیمیزیا ابسینتیوم را به عنوان یک داروی موثر بر نماتودهای دستگاه گوارش در گوسفند نشان داده است (۲۵). هم‌چنین رحیمی و همکاران (۱۳۹۱) تأثیر عصاره هیدروالکی گیاه آرتیمیزیا آنوا را بر روی مرحله کیستی انگل ژیا ردیا لامبلیا در شرایط آزمایشگاهی بررسی کرده‌اند که از غلظت‌های ۱، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر استفاده نموده‌اند و نتایج حاصل بیانگر آن بوده که غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر عصاره هیدروالکی آرتیمیزیا، بیشترین تأثیر کشندگی را بر روی کیست ژیا ردیا در شرایط آزمایشگاهی داشته است (۲۶). ایلدیز و همکاران (۲۰۱۱) نیز تأثیر ضد انگلی آرتیمیزیا ابسینتیوم را بر روی توکسوکارا کتی در گربه‌هایی که به طور طبیعی آلوده شده بودند بررسی نموده و مشاهده کرده‌اند که دفع تخم از مدفوع، در گروه تحت درمان

کاهش یافته اما تأثیری بر روی لارو داخل تخم نداشته است (۲۷). این تحقیقات مشابه بررسی حاضر نشان داده‌اند که عصاره گونه‌های مختلف آرتیمیزیا بر کاهش آلودگی‌های انگلی موثر است و با افزایش دز مصرفی عصاره، اثر ضد انگلی افزایش یافته است. تحقیقاتی در مورد اثر سایر عصاره‌های گیاهی بر آلودگی به هیمنولپیس نانا نیز صورت گرفته است. مراغی و همکاران (۲۰۰۴) تأثیر عصاره زیره کوهی و نیکلوزاماید را مقایسه کرده و مشاهده کردند که عصاره در غلظت ۷/۸۳ mg/ml پس از ۱ هفته درمان باعث ۶۰٪ بهبودی و نیکلوزاماید باعث ۷۳/۳٪ بهبودی و پس از ۲ هفته درمان عصاره باعث ۶۶/۶٪ بهبودی و نیکلوزاماید باعث ۹۰٪ بهبودی می‌شود ولی عصاره با غلظت ۱۱/۷۵ mg/ml، باعث ۸۳٪ بهبودی پس از ۲ هفته درمان می‌گردد و نتیجه گرفتند که با افزایش غلظت، عصاره می‌تواند تأثیری مشابه دارو داشته باشد (۱). در بررسی حاضر نیز، پس از ۴ روز درمان در دو گروه تیمار ۲ و ۳ به ترتیب ۶۰/۲۹ و ۶۷/۵۴٪ کاهش در میانگین دفع تخم مشاهده شد. هرچند پس از دوره درمان ۷ روزه علیرغم کاهش میانگین دفع تخم در گروه‌های تیمار میزان دفع به صفر نرسید ولی روند رو به کاهش دفع تخم به خصوص در گروه‌های تیمار ۲ و ۳ می‌تواند نشانگر موثر بودن عصاره باشد و می‌توان انتظار داشت که با افزایش دوره مصرف دارو به توان به درمان کامل رسید.

هم‌چنین مراغی و همکاران موثر بودن عصاره گیاهان دیگری شامل آنغوزه، پوست ساقه انار و دانه خاکشیر بر آلودگی به هیمنولپیس نانا را نشان داده‌اند. در یک بررسی با تجویز خوراکی عصاره پوست ساقه انار با غلظت mg/ml ۳۶۰ به تنهایی و همراه با یک مسهل (سولفات منیزیم) نشان دادند که تجویز بدون مسهل این عصاره به مدت یک هفته ۷۰٪ و به همراه مسهل ۹۰٪ موش‌های آلوده را بهبود بخشید (۱). همین محققین اثر عصاره دانه خاکشیر را بر روی هیمنولپیس نانا در دو حالت برون تنی (*In vitro*) و درون تنی (*In vivo*) مورد بررسی قرار داده و عنوان کرده‌اند که تجویز عصاره هیدروالکی دانه خاکشیر با غلظت mg/ml ۶۳/۵۱، روزانه و به صورت تک دوز می‌تواند موش‌های آلوده به هیمنولپیس نانا را درمان کند (۱). در مطالعه دیگری اثر

شاهد دوم که ایمنی کامل داشتند تفاوت معنی دار میانگین EPG مشاهده شد. در این رابطه برتولتی و همکاران (۱۹۹۲) نقش سیستم ایمنی را در آلودگی به هیمنولپیس نانا در موش بررسی کرده و برنقش سیستم ایمنی هومورال و سلولی در مهار آلودگی تاکید کرده‌اند (۱۶).

نتیجه گیری

نتایج این تحقیق موثر بودن عصاره الکلی آرتمیزا اسپسیجرا را بر آلودگی کرمی در موش سوری نشان داد و مشخص شد که این عصاره با غلظت‌های ۲ mg/ml و ۲۰ mg/ml و طی مدت حداقل یک هفته می‌تواند در درمان این آلودگی موثر باشد. از آن جا که طی دوره ۶ روزه این تحقیق آلودگی به طور کامل در هیچ یک از گروه‌ها حذف نگردید، پیشنهاد می‌شود طول دوره درمان با این عصاره افزایش یابد.

سپاسگزاری

هزینه‌های این تحقیق از محل اعتبار گرنت دانشگاه تبریز تامین شده است. بدین وسیله از معاونت پژوهشی وقت دانشگاه و کارشناس مربوطه قدردانی می‌گردد. از همکاران محترم هرباریوم دانشکده داروسازی و جناب آقای دکتر رزاق محمودی که زحمت تهیه عصاره را بر عهده داشتند سپاسگزاری می‌گردد. تعارض در منافع: وجود ندارد.

عصاره آنگوزه را به صورت بالینی و آزمایشگاهی مورد بررسی قرار داده و گزارش کرده‌اند که تجویز عصاره با غلظت mg/ml ۸/۱۷ به مدت دوهفته باعث بهبودی ۹۰ درصد موش‌ها گردید (۱). همگی این یافته‌ها نشان می‌دهند که اثر عصاره‌های گیاهی وابسته به دوز و دوره مصرف بوده و با افزایش غلظت عصاره و افزایش دوره مصرف، اثر ضدانگلی آن افزایش می‌یابد که در بررسی حاضر نیز به خوبی این نکته قابل رویت بود و در نمودار ۱ نیز مشاهده می‌شود.

طبق نتایج بررسی بافت روده در موش‌های گروه‌های شاهد، مقاطع کرم و هم‌چنین تا حدودی التهاب ائوزینوفیلیک مشهود بود. در حالی که در موش‌های گروه‌های درمان مقطع کرم و التهاب ائوزینوفیلیک مشاهده نگردید که این خود نیز می‌تواند دلیل دیگری بر موثر بودن درمان باشد. همان‌طور که ابوشادی و همکاران (۲۰۱۴) اثر پرازیکوانتل (با دز ۲۵ mg/kg bw) و عصاره آبی خام دانه‌های خشک خربزه درختی (با دز ۱/۲ mg/kg bw) را در عفونت هیمنولپیس نانا در موش با استفاده از میکروسکوپ الکترونی بررسی کرده و مشاهده کرده‌اند که هر دو درمان باعث کاهش قابل توجهی از بار کرم و تولید تخم و نیز کاهش اندازه مرحله سیستمی سرکونید می‌شود. و بر این اساس عنوان کرده‌اند که عصاره پاپایا دارای خواص ضد سستود قابل توجهی است و می‌تواند جایگزین بسیار مناسبی برای دارو باشد (۲۸).

هم‌چنین یافته دیگر این تحقیق نشانگر نقش سیستم ایمنی در مهار آلودگی کرمی است. زیرا در طی دوره جمع‌آوری مدفوع در گروه شاهد اول که سرکوب ایمنی صورت گرفته بود با گروه

References:

- 1- Sharif M, Daryani A, Kia E, Rezaei F, Nasiri M, Nasrolahei M. *Prevalence of intestinal parasites among food handlers of sari, northern iran*. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 2015; 57(2): 139-44
- 2- Bortoletti B, Gabriele F, Palmas C. *Mechanisms of protective immunity in Hymenolepis nana/mouse model*. Parasitology 1992; 34: 17-22
- 3- Maki J, Yana G T. *Anthelmintic effects of Bithionol, Paramomycin sulfate, Flubendazole on mature and immature Hymenolepis nana in mice*. J Helminthol 1985; 59: 211-6.
- 4- Riley WA. *A Mouse Oxyurid, Syphacia obvelata, as a Parasite of Man*. J Parasitol 1919; 6(2): 89-93.

- 5- Maraghi Sh, Ardakani H, Jelodar A. *Comparative Effects of Bunium Persicum and Niclosomide on Hymenolepis nana*. ZUMS 2004; 12(49): 9-15.
- 6- Mozaffarian V. *A Dictionary of Iranian Plant Names*. Farhang Moaser press. Tehran, Iran 1996; 56 - 8.
- 7- Heshmati A F, Delazar A, Nazemiyeh H, Khodaie L, Bamdad M S. *Phenolic derivatives of Artemisia spicigera C. Koch growing in Iran*. Iran J Pharm Res 2015; 14(4): 1241-46.
- 8- Zargari A. *Medicinal plants*. 1989. University of Tehran press, Tehran. [persian]
- 9- Amirmohammadi M, Khajoenia S, Bahmani M, Rafieian- Kopaei M, Eftekhari Z, Qorbani M. *In vivo evaluation of antiparasitic effects of Artemisia abortanum and Salvia officinalis extracts on Syphacia obvelata, Aspicularis tetrapetra and Hymenolepis nana parasites*. Asian Pac J Trop Dis 2014; 4(1): 250-54.
- 10- Schwabe T, Ferreira MJP, Alvarenga SAV, Emerenciano VP. *Neural Networks for Secondary Metabolites Prediction in Artemisia Genus (Asteraceae)*. IEJMD 2005; 4: 9-16
- 11- Ramezani, M, Fazli-Bazzaz B S, Saghafi-Khadem F, Dabaghian A. *Antimicrobial activity of four Artemisia species of Iran*. Fitoterapia 2004; 75: 201-3.
- 12- Kolodziejczyk PP, Lopes-Lutz D, Alviano DS, Alviano CS. *Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of Artemisia essential oils*. Phytochemistry 2008; 69: 1732-38.
- 13- Mishina YV, Krishna S, Haynes RK, Meade JC. *Artemisinin Inhibit Trypanosoma cruzi and Trypanosoma brucei rhodesiense In Vitro Growth*. Antimicrob Agents Ch 2007; 51(5): 1852-54.
- 14- Nibret E, Wink M. *Volatile components of four Ethiopian Artemisia species extracts and their in vitro antitrypanosomal and cytotoxic activities*. Phytomedicine 2010; 17(5): 369-74
- 15- Ma Y, Lu D M, Lu X, Liao L, Hu X S. *Activity of dihydroartemisinin against Leishmania donovani both in vitro and in vivo*. Chin Med J 2004; 117: 1271-73.
- 16- Valecha N, Biswas S, Badoni V, Bhandari KS, Sati OP. *Antimalarial activity of Artemisia Japonica, Artemisia Maritima and Artemisia Nilegarica*. Indian J Pharmacol 1994; 26(2): 144-6.
- 17- Almeida GF, Thamsborg SM, Madeira AM, Ferreira JF, Magalhaes PM, Dematte Filho LC, et al. *The effects of combining Artemisia annua and Curcuma longa ethanolic extracts in broilers challenged with infective oocysts of Eimeria acervulina and E. maxima*. Parasitology 2014; 141(3): 347-55.
- 18- Del Cacho E, Gallego M, Francesch M, Quilez J, Sanchez-Acedo C. *Effect of artemisinin on oocyst wall formation and sporulation during Eimeria tenella infection*. Parasitol Int 2010; 59(4): 506-11.
- 19- Ghasemi-pirbouali A. *Third listens: plants, traditional medicine and ethnoveterinary, medicinal and aromatic plants*. Shahrekord. Saman-Danesh 2008; 158-90.
- 20- Omidian Z, Ebrahimzadeh E, Shahbazi P, Asghari Z, Shayan P. *Application of recombinant Cryptosporidium parvum P23 for isolation and prevention*. Parasitol Res 2014; 113(1): 229-37.

- 21- Miller TA, Schaefer FW. *Changes in mouse circulating leukocyte numbers in C57BL/6 mice immunosuppressed with dexamethasone for Cryptosporidium parvum oocyst production*. Vet Parasitol 2007; 149: 147-66.
- 22- Jenkins MC, Brien C, Trout J, Guidry A, Fayer, R. *Hyperimmune bovine colostrum specific for recombinant Cryptosporidium parvum antigen confers partial protection against cryptosporidiosis in immunosuppressed adult mice*. Vaccine 1998; 17: 2523-2460.
- 23- Eslami A, Bahadori SH. *Diagnostic helminth infections*. 2005. Azad University of Garmsar press, Garmsar. [persian]
- 24- Youssefi MR, Abuhosseini TM, Sadeghi HG, Kouhi MK. *Antiparasitic efficacy of worm wood (Artemisia absinthium) alcoholic extract on syphacia obvolata*. Iran J Vet Med 2012; 6(1): 47-50.
- 25- Tariqa KA, Chishtia MZ, Ahmada F, Shawl AS. *Anthelmintic activity of extracts of Artemisia absinthium against ovine nematodes*. Vet Parasitol 2009; 160(1-2): 83-8.
- 26- Rahimi-Esboei B, Gholami Sh, Azadbakht M, ziaei H. *Effect of Hydroalcoholic extract of Artemisia annua on cysts of Giardia lamblia in Invitro*. JMUMS 2012; 22(90): 72-80
- 27- Yildiz K, Basalan M, Duru O, Gokpinar S. *Antiparasitic efficiency of Artemisia absinthium on Toxocara cati in naturally infected cats*. Turkey Parazitol Derg 2011; 35(1): 10-4.
- 28- Abou Shady OM, Basyoni MM, Mahdy OA, Bocktor NZ. *The effect of praziquantel and Carica papaya seeds on Hymenolepis nana infection in mice using scanning electron microscope*. Parasitol Res 2014; 113(8): 2827-36.

Effect of *Artemisia specigera* ethanol extract on digestive system parasitic worms in mice

Parisa Shahbazi^{*1}, Sanaz Arshadi²

Original Article

Introduction: Chemical drugs against parasites are beneficial, but this method has some problems such as drug resistance, residue and unwanted side effects associated. Therefore, study on alternative therapies especially herbal compounds are research priorities. According to antimicrobial and anti-parasitic effects of *Artemisia* spp. extracts, this work aimed to study the effect of *Artemisia specigera* (AS) ethanol extract on digestive system parasitic worms in mice and immunosuppressive effect on infection.

Methods: The study was performed on 30 NMRI female mice were divided into five groups. Two control groups and three treatment groups that received *Artemisia specigera* ethanol extract with 0/2mg/ml, 2mg/ml and 20mg/ml concentrations. Administration of herbal extract has been performed at the first day and was continued every 12h for the next 6 days. The fecal pellets from each group were collected every day and EPG was counted by Lynn Clayton egg counting technique.

Results: Our results indicated that *Artemisia specigera* ethanol extract had protective effects against parasitic worms in mice with 2 and 20 mg/ml concentration. So that, in the third treatment group the mean of egg counts that included eggs of *Hymenolepis nana*, *Aspicularis tetrapetra* and *Syphacia obvelata* was severely reduced at the last day of treatment. . In addition, the results showed that immunosuppression was effective on infection increase.

Conclusion: The effect of AS extract on parasitic worms' infection was related to dose and period of use.

Keywords: Parasitic worms, *Artemisia spicigera*, mice

Citation: Shahbazi P, Arshadi S. **Effect of *Artemisia specigera* ethanol extract on digestive system parasitic worms in mice.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2018; 26(2): 141-50.

¹Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran

²Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran

*Corresponding author: Tel: 09143060963, email: p.shahbazi56@gmail.com