

تأثیر اسانس زرین گیاه، *Dracocephalum kotschy*، بر کنترل عوارض ناشی از مالاریای القا شده در مدل موشی

بهاره بصیرپور^۱، فهام خامسی پور^۲، مصطفی قنادیان^۳، زهرا غیور نجف آبادی^۴، سیدحسین حجازی^۵

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: مالاریا، یکی از مهم‌ترین علل مرگ و میر در تعداد زیادی از کشورهای در حال توسعه است. تب، کم‌خونی و کاهش وزن از مهم‌ترین عوارض این بیماری می‌باشد به طوری که کم‌خونی ناشی از مالاریا از عوامل مهم مرگ افراد مبتلا محسوب می‌شود. در این راستا پژوهش حاضر، تأثیر اسانس زرین گیاه بر کنترل برخی از عوارض مالاریا در موش‌های آلوده به *Plasmodium berghei* را به عنوان مدل *in vivo* مالاریا مورد بررسی قرار داده است.

روش‌ها: *Plasmodium berghei* از دانشکده‌ی بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران تهیه شد. برای تکثیر و نگهداری، انگل به صفاق موش‌های Balb/c تزریق شد. در گروه‌های موشی آلوده به مالاریا پس از درمان با غلظت‌های مختلف اسانس گیاه و کلروکین به عنوان داروی کنترل مثبت، تغییرات دمایی رکتوم، وزن، تعداد گلبول‌های سفید و قرمز، هموگلوبین و میزان PCV (Packed cell volume) اندازه‌گیری و با گروه شاهد منفی بدون درمان، مقایسه شد.

یافته‌ها: در این مطالعه، در روز هفتم آزمایش، میانگین وزن بدن، هموگلوبین، تعداد گلبول‌های قرمز و PCV در گروه‌های درمان شده با غلظت‌های مختلف اسانس از گروه شاهد منفی بالاتر بود. همچنین در گروه‌هایی که با اسانس زرین گیاه درمان شده بودند، میانگین دمایی بدن در روز هفتم آزمایش به طور معنی‌داری کاهش یافته بود.

نتیجه‌گیری: از اسانس زرین گیاه می‌توان به عنوان یک عامل مؤثر کنترل عوارض حاد ناشی از مالاریا استفاده نمود.

واژگان کلیدی: انگل؛ زرین گیاه؛ کم‌خونی؛ مالاریا؛ عوارض

ارجاع: بصیرپور بهاره، خامسی پور فهام، قنادیان مصطفی، غیور نجف آبادی زهرا، حجازی سیدحسین. تأثیر اسانس زرین گیاه، *Dracocephalum kotschy*، بر کنترل عوارض ناشی از مالاریای القا شده در مدل موشی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۱؛ ۴۰ (۶۷۹): ۵۲۳-۵۱۷

مقدمه

بر اساس آمار اعلام شده از سوی سازمان جهانی بهداشت، در سال ۲۰۲۰، به طور تقریبی ۴۲۱ میلیون نفر در جهان به بیماری مالاریا مبتلا بوده‌اند که از این میان، حدود ۶۲۷ هزار نفر در اثر این بیماری جان خود را از دست داده‌اند (۱). این بیماری در نزدیک به ۱۰۰ کشور جهان شیوع دارد و به دلیل شیوع پاندمی ویروس کرونا، تعداد مبتلایان به مالاریا و همچنین میزان مرگ و میر ناشی از بیماری در سال ۲۰۲۰ به طور قابل توجهی افزایش پیدا کرده است (۲).

عامل بیماری مالاریا، ارگانسیم‌های تک‌سلولی یوکاریوتی هستند که به جنس *Plasmodium* تعلق دارند (۳). در حال حاضر پنج گونه *Plasmodium* شناسایی شده است که برای انسان بیماری‌زا می‌باشند که عبارتند از: *P. vivax*، *P. falciparum*، *P. malariae*، *P. ovale*، *P. knowlesi* (۳).

مالاریا، یک بیماری تب‌دار حاد است و در یک فرد غیر ایمن، طی مدت هفت روز یا بیشتر (معمولاً ۱۰-۱۵ روز) پس از آلوده شدن توسط گزش پشه‌ی آلوده، علائم ظاهر می‌شوند. اولین علائم (تب،

۱- گروه قارچ و انگل‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- استادیار، دانشکده‌ی دام‌پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد، شهرکرد، ایران

۳- دانشیار، گروه فارماکوکینوزی، دانشکده‌ی داروسازی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- استادیار، گروه قارچ و انگل‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۵- استاد، گروه قارچ و انگل‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: سیدحسین حجازی؛ استاد، گروه قارچ و انگل‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: hejazi.seyedhossein77@gmail.com

تهیه‌ی اسانس: به منظور تهیه‌ی اسانس، اجزاء گیاه خشک شده به وسیله‌ی آسیاب برقی خرد شد و ۱۲۰ گرم از پودر گیاه خشک به بالن تقطیر ۲ لیتری منتقل و ۱۲۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه اضافه گردید. با استفاده از دستگاه تهیه‌ی اسانس Clevenger به مدت ۳ ساعت اسانس‌گیری شد. برای تهیه‌ی اسانس به میزان کافی این عمل برای پنج بار و هر بار با پودر جدید گیاه، تکرار گردید. در ادامه، اسانس‌های جمع‌آوری شده را روی هم ریخته و با سولفات سدیم بدون آب، آبگیری گردید و سپس در ظرف دربسته تیره رنگ، دور از نور و در یخچال نگهداری شد.

انگل *P. berghei* *P. berghei*: از دانشکده‌ی بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران هدیه گرفته شد. موش Balb/c آلوده به *P. berghei* با پارازیتی ۲۰-۳۰ درصد به عنوان موش donor انتخاب شد. از این موش با استفاده از روش خون‌گیری از چشم و با استفاده از پیپت پاستور شیشه‌ای آغشته به هپارین نمونه‌گیری انجام و خون جمع‌آوری شده تا قبل از تزریق به موش‌های گروه آزمایش در لوله‌های K2EDTA نگهداری شد. نمونه‌ی تهیه شده با سرم فیزیولوژی استریل رقیق شد به طوری که تعداد گلبول‌های قرمز آلوده تقریباً ۱۰^۷ در هر میلی‌لیتر برسد.

حیوانات مورد استفاده: موش‌های Balb/c ماده در سن ۶-۸ هفته‌گی با میانگین وزنی ۲۵ گرم از انستیتو پاستور تهران، ایران، تهیه شد. موش‌ها در قفس‌های استاندارد قابل اتوکلاو نگهداری و در شرایط دمایی ۲۴-۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد، رطوبت ۳۰ درصد و سیکل روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعت نگهداری می‌شدند.

نحوه‌ی آلوده‌سازی گروه‌های آزمایش و درمان: موش‌ها به ۵ گروه ۶تایی تقسیم شدند و هر موش با دریافت ۰/۲ میلی‌لیتر خون واجد گلبول‌های قرمز انگل‌دار، به صورت تزریق داخل صفاقی (Interperitoneally, IP) آلوده شد (۱۰). ۳ ساعت بعد از تزریق انگل، گروه‌های ۱ تا ۵ آزمایش به ترتیب غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ mg/kg از اسانس گیاه، DMSO به عنوان کنترل منفی و داروی کلروکین به عنوان داروی کنترل مثبت را به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. غلظت‌های اسانس استفاده شده در این مطالعه، بر اساس مطالعه‌ی Khamesipour و همکاران، تعیین گردید (۱۴) و درمان به مدت ۴ روز متوالی انجام شد (تست ۴ روزه). در این تست، در روزهای ۲، ۴ و ۷ پس از شروع درمان از دم موش‌ها خون‌گیری انجام شد، از خون آن‌ها گسترش نازک تهیه و در آخر، درصد پارازیتی و درصد مهار انگل محاسبه شد. علاوه بر آن، وزن موش‌ها به وسیله‌ی ترازوی دیجیتال و دمای رکتوم موش‌ها با استفاده از دماسنج دیجیتال تماسی اندازه‌گیری و نتایج یادداشت می‌شد. همچنین در روزهای ۲، ۴ و ۷ آزمایش، نمونه‌های خون از موش‌های هر گروه

سردرد، لرز و استفراغ) ممکن است خفیف باشند و در نتیجه تشخیص اولیه‌ی بیماری به عنوان مالاریا دشوار می‌باشد (۴).

یکی از عوارض ایجاد شده در مالاریای حاد، آنمی به دلیل برداشت گلبول‌های قرمز توسط طحال می‌باشد (۵). آنمی حاد ناشی از مالاریا عمدتاً به دلیل پاره شدن گلبول‌های قرمز آلوده در مرحله‌ی شیزوگونی خونی و یا به دلیل برداشت آن‌ها توسط طحال می‌باشد. همچنین شواهد زیادی وجود دارد که طی بیماری، گلبول‌های قرمز سالم هم عمرشان کوتاه می‌شود (۶). مطالعات نشان داده‌اند که آنمی طی بیماری مالاریا به صورت نورموکروم نورموسیتیک می‌باشد. در بیماران مبتلا به مالاریا، این نوع آنمی در پارازیتی‌های بالا مشاهده می‌شود و ممکن است به دلیل تجمع گلبول‌های قرمز آلوده در کبد و طحال و یا به طور ثانویه به دلیل ترشح سایتوکین TNF و همچنین لیز پیش‌سازهای گلبولی در مغز استخوان ایجاد شود (۷).

طبق بررسی‌های متون و تاریخچه‌ی موجود، گیاهان دارویی نقش مهمی در کشف ترکیبات ضد مالاریا داشته‌اند. به عنوان مثال، داروهای ضد مالاریا مانند کینین و آرتیمیسینین از این گیاهان مشتق شده‌اند و به طور گسترده‌ای در طب سنتی کاربرد دارند (۸). استفاده از گیاهان دارویی به طور سنتی در مناطق مالاریاخیز برای درمان تب ناشی از مالاریا که از مشخص‌ترین عوارض مالاریاست، از زمان‌های قدیم مرسوم بوده است، لذا تعیین خواص درمانی و بررسی علمی اثر آن‌ها در اولویت قرار دارند (۱۰).

زین گیاه از خانواده نعنائیان (*Labiatae or Lamiaceae*) است که از گیاهان دارویی با ارزش و انحصاری کشور ما ایران می‌باشد. در مطالعات انجام شده، نشان داده شده است که این گیاه ضد درد بوده و دارای خواص درمانی برای سردرد، اختلالات کبدی و تب می‌باشد (۹). با توجه به خواص یاد شده برای زین گیاه، مطالعه‌ی حاضر با هدف تعیین تأثیر درمانی اسانس این گیاه در کاهش عوارض ناشی از بیماری مالاریای حاد در موش‌های آلوده به *P. berghei* انجام شد.

روش‌ها

این مطالعه به صورت آزمایشگاهی از فروردین ۱۳۹۹ تا دی ماه ۱۴۰۰ در گروه قارچ و انگل‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان و طبق مراحل زیر انجام شد:

تهیه‌ی گیاه مورد مطالعه و شناسایی آن: اندام هوایی زین گیاه زمانی که گیاه کاملاً به گل نشسته بود، از شهرستان فریدونشهر واقع در استان اصفهان تهیه شد و توسط استاد همکار طرح در گروه فارماکوتوزی، شناسایی و با نمونه‌ی بایگانی هرباریوم شماره ۱۵۱۹ صمصام شریعت، دانشکده‌ی داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان مقایسه گردید و مورد شناسایی و تأیید قرار گرفت.

آزمایش در گروه شاهد منفی ایجاد شد. همان طور که در جدول ۲ مشاهده می شود، میانگین میزان هموگلوبین در گروهی که با غلظت ۱۵۰ mg/kg اسانس گیاه درمان شده بودند، در روز چهارم آزمایش برابر با $14/30 \pm 33$ mg/dL بود که در مقایسه با گروه شاهد منفی، این عدد برابر با $13/67 \pm 65$ mg/dL و به طور معنی داری بیشتر بود ($P < 0/05$). به طور کلی در این روز، میانگین مقدار هموگلوبین در گروه شاهد منفی به طور معنی داری از گروه های دریافت کننده ی غلظت های مختلف اسانس کمتر بود ($P < 0/05$).

جدول ۱. درصد مهار انگل توسط غلظت های مختلف اسانس گیاه و گروه

شاهد منفی و شاهد مثبت در روزهای ۲ و ۴ پس از درمان

گروه	زمان	
	روز ۲ پس از درمان	روز ۴ پس از درمان
۱	۵/۹۵ درصد	۲۷/۵۹ درصد
۲	۱۰/۲۳ درصد	۳۳/۸۴ درصد
۳	۱۱/۴۸ درصد	۴۴/۸۵ درصد
۴	۰ درصد	درصد ۰
۵	۲۳/۴۸ درصد	۶۶/۱۲ درصد

تعداد گلبول های قرمز در گروهی که با غلظت ۱۵۰ mg/kg درمان شده بودند در روز دوم آزمایش ($10^6 \times 0/35 \pm 6/26$) بود (جدول ۲) که در مقایسه با گروه شاهد منفی، این عدد برابر با ($10^6 \times 0/41 \pm 0/89$) و به طور معنی داری بیشتر بود ($P < 0/05$)، اما در مقایسه با گروه شاهد مثبت که این عدد برابر با ($10^6 \times 0/11 \pm 0/47$) به طور معنی داری کمتر بود ($P < 0/05$). میانگین تعداد گلبول های قرمز در روز چهارم آزمایش در گروه ۳ برابر با $7/06 \pm 0/42$ بود که به طور معنی داری از میانگین تعداد گلبول های قرمز در گروه شاهد منفی در این روز بیشتر بود ($P < 0/05$).

جدول ۲. تغییرات در میانگین تعداد گلبول های قرمز، میانگین مقدار هموگلوبین و میزان PCV در گروه های مختلف آزمایش پس از درمان با غلظت های مختلف

اسانس زین گیاه در روزهای ۲، ۴ و ۷ پس از درمان

پارامتر	میزان PCV			میانگین تعداد گلبول های قرمز ($10^6 \times$)			میانگین مقدار هموگلوبین (g/dL)		
	روز			روز			روز		
	۲	۴	۷	۲	۴	۷	۲	۴	۷
۱	۴۸/۵۵ ± ۰/۳	۴۹/۳۶ ± ۹/۲۱	۴۴/۳۳ ± ۰/۹۹	۶/۳۱ ± ۰/۱۴	۵/۴۹ ± ۰/۶۶	۴/۸۰ ± ۰/۵۳	۱۴/۵۲ ± ۰/۴۰	۱۳/۹۶ ± ۰/۴۶	۱۳/۶۲ ± ۰/۴۶
۲	۴۸/۵۹ ± ۰/۴	۴۵/۶۴ ± ۱/۸۴	۴۵/۱۵ ± ۱/۹	۶/۴۴ ± ۰/۱۵	۵/۸۹ ± ۰/۲۸	۴/۸۲ ± ۰/۴۹	۱۴/۴۵ ± ۰/۷۳	۱۴/۶۶ ± ۰/۲۶	۱۳/۸۱ ± ۰/۳۵
۳	۴۸/۰۲ ± ۰/۳	۴۷/۳۰ ± ۰/۷۴	۴۵/۱۵ ± ۱/۱۲	۶/۲۶ ± ۰/۳۵	۶/۰۶ ± ۰/۴۲	۴/۷۶ ± ۰/۴۶	۱۴/۶۱ ± ۰/۵۳	۱۴/۳۳ ± ۰/۳۳	۱۳/۷۱ ± ۰/۴۲
۴	۴۷/۶۱ ± ۰/۳۸	۴۵/۶۴ ± ۰/۷۲	۴۴/۶۶ ± ۱/۱۸	۵/۸۹ ± ۰/۴۱	۶/۰۶ ± ۰/۲۲	۴/۶۸ ± ۰/۵۲	۱۴/۸۸ ± ۰/۳۸	۱۳/۶۷ ± ۰/۶۵	۱۳/۳۷ ± ۰/۳۹
۵	۵۸/۴۱ ± ۰/۷	۴۷/۱۶ ± ۰/۷۳	۴۶/۰۶ ± ۰/۷۴	۶/۴۷ ± ۰/۱۱	۵/۷۴ ± ۰/۴۷	۴/۹۳ ± ۰/۳۸	۱۴/۸۷ ± ۰/۷۷	۱۴/۳۷ ± ۰/۲۷	۱۴/۰۵ ± ۰/۴۵

نتایج با استفاده از آزمون های آماری واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) و آزمون تعقیبی Tukey تجزیه و تحلیل شدند. $P < 0/05$

در لوله ی K2EDTA نگهداری شدند و برای شمارش تعداد RBC (Red blood cell)، WBC (White blood cell) و مقدار هموگلوبین از دستگاه Cell counter استفاده و PCV هر گروه نیز محاسبه شد.

ملاحظات اخلاقی: در تمام مدت آزمایش، اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی طبق پروتکل های مصوب هندلینگ حیوانات آزمایشگاهی که مورد تأیید کمیته ی اخلاق حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می باشد، رعایت شد و مطالعه ی حاضر با کد اخلاق IR.MUI.MED.REC.۱۳۹۹.۱۱۰۹ به انجام رسید.

آنالیز آماری:

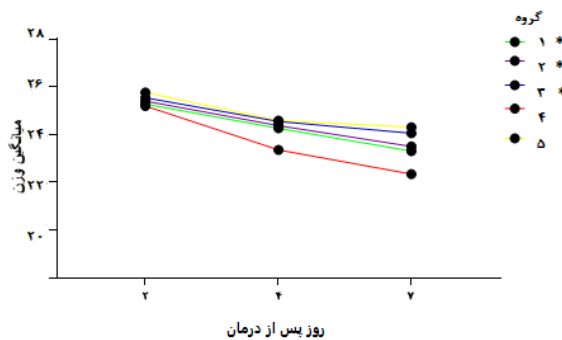
مقایسه ی نتایج حاصل از آزمایشات در گروه موش های آلوده به انگل *P. berghei* (مورد) و گروه های شاهد، توسط نرم افزار SPSS نسخه ی ۲۲ (IBM Corporation, Armonk, NY) و آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) و آزمون تعقیبی Tukey تجزیه و تحلیل شدند. $P < 0/05$ به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

یافته ها

درصد مهار انگل: در جدول ۱، داده های مربوط به درصد مهار انگل توسط ۳ غلظت اسانس، ۲۵ mg/kg کلروکین و DMSO ۰/۱ درصد آورده شده است. همان طور که در این جدول مشاهده می شود، در روز چهارم آزمایش بالاترین درصد مهار انگل پس از گروه دریافت کننده ی کلروکین، متعلق به گروهی است که غلظت ۱۵۰ mg/kg اسانس گیاه را دریافت کرده است.

تغییرات پارامترهای هماتولوژیک: به طور کلی در مقایسه با موش های سالم، بیماری مالاریا منجر به کاهش تعداد گلبول های قرمز، میزان هموگلوبین و PCV در موش های آلوده می شود. کاهش در موارد فوق، در بیشترین میزان خود به طور معنی داری در روز هفتم

چهارم تعداد گلبول‌های سفید به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد. **تغییرات وزن بدن:** در روز هفتم آزمایش، کاهش وزن در تمامی گروه‌های آزمایش مشاهده شد. میانگین وزن بدن در گروهی که با غلظت ۱۵۰ mg/kg اسانس زین گیاه درمان شده‌اند در روز هفتم برابر با $0/31 \pm 26/06$ گرم بود که این مقدار در مقایسه با گروه شاهد منفی که میانگین وزن بدن $0/18 \pm 25/36$ گرم بود به طور معنی‌داری بیشتر بود ($P < 0/001$). همچنین در مقایسه با سایر گروه‌های آزمایش، در این گروه، میانگین وزن بدن به طور قابل توجهی از گروه شاهد منفی و گروه‌های درمان شده با غلظت‌های پایین‌تر، بیشتر بود ($P < 0/001$) (شکل ۱).



شکل ۱. مقایسه‌ی تغییرات میانگین وزن بدن موش‌ها در گروه‌های مختلف آزمایش پس از درمان با غلظت‌های مختلف اسانس زین گیاه در روزهای ۲، ۴ و ۷ پس از آغاز درمان. * ($P < 0/001$)

تغییرات دمای بدن: در روز چهارم آزمایش، میانگین دمای بدن موش‌ها در یک روند وابسته به غلظت، در گروه‌هایی که با غلظت‌های مختلف اسانس زین گیاه درمان شده بودند، کاهش یافته بود. کم‌ترین میانگین دمای بدن با مقدار $0/50 \pm 37/07$ درجه‌ی سانتی‌گراد متعلق به گروه ۳ آزمایش بود که به طور معنی‌داری از میانگین دمای بدن در سایر گروه‌ها پایین‌تر بود ($P < 0/001$). همچنین طبق شکل ۲، در روز هفتم آزمایش میانگین دمای بدن در گروه‌های درمان شده با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ mg/kg به طور قابل توجهی از گروه شاهد منفی پایین‌تر بود ($P = 0/002$). میانگین دمای بدن در این گروه‌ها به ترتیب برابر با $0/32 \pm 36/64$ ، $0/48 \pm 36/5$ و $0/41 \pm 36/48$ بود. میانگین دمای بدن در گروه شاهد منفی در روز هفتم آزمایش $0/12 \pm 37/88$ بود که به طور چشمگیری از سایر گروه‌های درمان بالاتر بود ($P = 0/002$).

بحث

استفاده از گیاهان دارویی در کنترل بیماری‌های عفونی، تب، التهاب و

میانگین میزان PCV در گروهی که با غلظت ۱۵۰ mg/kg اسانس گیاه درمان شده بودند در روز چهارم آزمایش برابر $0/74 \pm 47/30$ بود که به طور معنی‌داری از میانگین میزان PCV در گروه شاهد منفی بالاتر بود ($P < 0/05$).

در روز هفتم آزمایش، میزان PCV در گروه ۳، برابر با $1/12 \pm 45/15$ بود که در مقایسه با گروه شاهد منفی به طور معنی‌داری بیشتر بود ($P < 0/001$) اما در مقایسه با گروه شاهد مثبت که این عدد برابر با $0/74 \pm 47/06$ بود، به طور معنی‌داری کمتر نشان داد ($P < 0/001$). میانگین میزان PCV در گروهی که با غلظت ۱۰۰ mg/kg اسانس گیاه درمان شده بودند، در روز هفتم آزمایش برابر $1/90 \pm 45/45$ بود که در مقایسه با گروه شاهد منفی به طور معنی‌داری بیشتر بود ($P < 0/05$). خلاصه‌ی نتایج در جدول ۲ آورده شده‌اند.

طبق جدول ۳، در تمامی گروه‌های آزمایش، میانگین تعداد گلبول‌های سفید در روز دوم آزمایش، به طور معنی‌داری افزایش یافته بود ($P < 0/001$). به طور کلی، آلودگی با انگل *P. berghei* منجر به افزایش تعداد گلبول‌های سفید می‌شود (۱۱). در گروه دریافت‌کننده‌ی غلظت ۵۰ mg/kg، میانگین تعداد گلبول‌های سفید در روز چهارم پس از شروع آزمایش نسبت به روز دوم، به طور معنی‌داری افزایش یافته بود. طبق جدول ۳، در گروهی که با غلظت ۱۰۰ mg/kg درمان شده بودند، همانند گروه قبل، تعداد گلبول‌های سفید در روز چهارم نسبت به روز دوم افزایش معنی‌داری پیدا کرده بود اما در روز هفتم نسبت به روز چهارم میانگین تعداد گلبول‌های سفید به طور معنی‌داری کاهش یافته بود ($P = 0/012$).

جدول ۳. میانگین تعداد گلبول‌های سفید در گروه‌های مختلف آزمایش پس از درمان با غلظت‌های مختلف اسانس زین گیاه در روزهای ۲، ۴ و ۷ پس از آغاز درمان ($10^3/\mu\text{L}$)

گروه	زمان	
	۲	۴
۱	$11/42 \pm 0/73$	$44/45 \pm 0/67$
۲	$11/20 \pm 0/98$	$47/30 \pm 1/28$
۳	$12/71 \pm 1/67$	$49/36 \pm 0/65$
۴	$11/11 \pm 0/61$	$45/64 \pm 0/58$ *
۵	$11/65 \pm 0/92$	$47/16 \pm 0/68$

نتایج با استفاده از آزمون‌های آماری واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) و آزمون تعقیبی Tukey تجزیه و تحلیل شدند. * ($P < 0/001$)

موش‌هایی که با غلظت ۱۵۰ mg/kg درمان شده بودند همانند دو گروه بالا، تعداد گلبول‌های سفید در روز چهارم نسبت به روز دوم افزایش معنی‌داری پیدا کرده بود؛ اما در روز هفتم نسبت به روز

درد ناشی از آن‌ها از زمان‌های گذشته مرسوم بوده است (۹). زین گیاه، یکی از گیاهان دارویی بومی کشور ایران می‌باشد که به طور گسترده، همراه با داروهای مدرن برای درمان بسیاری از بیماری‌های عفونی و همچنین پیشگیری از گسترش تومور در سراسر جهان مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۱).

در این مطالعه، به منظور بررسی تأثیر اسانس زین گیاه بر کنترل آنمی ناشی از مالاریای حاد در مدل‌های موشی سه با غلظت ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ mg/kg اسانس گیاه که سمی نبودن آن‌ها در مطالعات گذشته‌ی ما به دست آمده بود، به صورت داخل صفاقی به موش‌های گروه‌های ۱ تا ۳ تزریق شد و کلروکین نیز به عنوان داروی کنترل مثبت استفاده گردید.

روز چهارم آزمایش، درصد مهار انگل در گروه‌های درمان شده با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ mg/kg از اسانس، به ترتیب برابر با ۲۸/۵۹، ۳۳/۸۴ و ۴۴/۸۵ درصد بود که نشان دهنده‌ی آن است که اسانس در یک روند وابسته به غلظت می‌تواند پارازیتمی را کاهش دهد و رشد انگل را مهار کند.

به دلیل این‌که آنمی و کاهش وزن و همچنین افزایش دمای بدن از عوارض ابتلا به بیماری مالاریا می‌باشند، در یک تست ۴ روزه، وزن بدن، دمای رکتال و برخی از پارامترهای خونی مانند تعداد گلبول قرمز، تعداد گلبول سفید، میزان PCV و مقدار هموگلوبین در موش‌های گروه‌های مختلف درمان اندازه‌گیری شد تا تأثیر درمان با غلظت‌های مختلف اسانس بر تعدیل علائم بیماری نیز بررسی گردد.

در بررسی این موارد مشاهده شد که میانگین پارامترهای یاد شده در تمامی گروه‌های آزمایش حتی آن‌هایی که با کلروکین درمان شده بودند نسبت به موش‌های گروه شاهد سالم به طور قابل توجهی کاهش یافته بود، اما در نهایت میانگین موارد یاد شده در موش‌هایی که با غلظت‌های مختلف اسانس درمان شده بودند به طور معنی‌داری از موش‌های گروه شاهد منفی بیشتر بود. بالاترین میانگین تعداد گلبول‌های قرمز، میانگین میزان PCV و همچنین میانگین مقدار هموگلوبین، در گروه شاهد مثبت مشاهده شد و در رتبه‌های بعدی پس از آن، به ترتیب گروه‌های درمان شده با غلظت‌های ۱۵۰ و ۱۰۰ mg/kg بالاترین میانگین تعداد گلبول‌های قرمز و همچنین میانگین مقدار هموگلوبین را نشان دادند. به عبارت دیگر، اسانس زین گیاه در یک روند وابسته به غلظت، در کاهش پارامترهای یاد شده مؤثر بوده است. روند کاهشی پارامترهای هماتولوژیک از جمله تعداد گلبول‌های قرمز، می‌تواند به دلیل از دست رفتن غیرقابل جبران گلبول‌های قرمز در طول بیماری مالاریا باشد؛ همان‌طور که در مطالعه‌ی White پیشنهاد شده، در بیماران مبتلا به مالاریا، انتقال خون در کنار استفاده از درمان‌های شیمیایی یک راهکار درمانی برای جبران

آنمی ناشی از مالاریا محسوب می‌شود (۱۲).

تأثیر قابل توجه اسانس زین گیاه بر پارامترهای خونی می‌تواند به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه و ترکیبات موجود در اسانس آن باشد، همان‌طور که در مطالعه‌ی Khare و همکاران، توانایی عصاره‌ی گیاه گزنه بر افزایش تعداد گلبول‌های قرمز، میزان هموگلوبین و میزان هماتوکریت به علت خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن بوده است (۱۳). از طرف دیگر، طبق مطالعه‌ی Khamesipour و همکاران، اسانس زین گیاه با تأثیر بر میتوکندری سلول، می‌تواند در مهار برخی از انگل‌ها نظیر *Toxoplasma gondii* نقش داشته باشد (۱۴).

Tchatat Tali و همکاران در سال ۲۰۲۰، تأثیر ضدپلاسمودیومی عصاره‌ی آبی گیاه *Terminalia mantaly* را بر روی موش‌های سوئیس آلپینو ماده‌ی آلوده به *P. berghei* بررسی کردند (۱۵). در مطالعه‌ی اشاره شده، در روز هفتم پس از آزمایش تمامی غلظت‌های امتحان شده توانستند از کاهش وزن موش‌ها جلوگیری کنند. به طور کلی، یکی از عوارض آلوده شدن موش‌ها با *P. berghei* کاهش وزن در موش‌ها می‌باشد و وزن موش‌ها در گروه شاهد منفی در روز هفتم پس از آزمایش به طور قابل توجهی کاهش یافته بود، ولی در گروه‌های درمان شده با غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/kg عصاره‌ی مورد بررسی آن‌ها، موش‌ها دچار کاهش وزن نشده بودند. در مطالعه‌ی حاضر، وزن موش‌ها در تمامی گروه‌ها، در روز هفتم آزمایش، به طور معنی‌داری کاهش یافته بود. علت این امر می‌تواند در روش درمان موش‌ها باشد. در مطالعه‌ی Tchatat Tali و همکاران، موش‌ها به صورت خوراکی غلظت‌های مختلف عصاره‌ی ریشه‌ی گیاه *T. mantaly* را دریافت کرده بودند (۱۵). احتمالاً هنگامی که عصاره‌ها به صورت خوراکی به موش‌ها داده شوند به دلیل وجود مواد قندی و مواد مغذی در عصاره‌ی گیاه و جذب آن‌ها از طریق سیستم گوارش، از کاهش وزن موش‌ها جلوگیری می‌شود. اما هنگامی که عصاره یا اسانس گیاهان به صورت داخل صفاقی تزریق شوند، این مواد قندی سیر گوارشی ندارند و در نتیجه همان‌طور که کاهش وزن در گروه شاهد مثبت که ۲۵ mg/kg کلروکین دریافت کرده بودند مشاهده شد، در سایر گروه‌های آزمایش هم موش‌ها دچار کاهش وزن شده بودند؛ با این تفاوت که میانگین وزن بدن در گروه‌های درمان شده با غلظت‌های مختلف اسانس به طور معنی‌داری از میانگین وزن بدن در گروه شاهد منفی بالاتر بود. به طوری که میانگین وزن بدن در گروه درمان شده با غلظت ۱۵۰ mg/kg اسانس گیاه، به طور معنی‌داری از میانگین وزن بدن در سایر گروه‌ها بیشتر بود.

تب و بالا رفتن دمای بدن، یکی از علائم مهم بیماری مالاریا می‌باشد که ناشی از واکنش‌های التهابی سیستم ایمنی به منظور حذف

این، به علت خاصیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه، کاهش پارامترهای خونی مانند میانگین تعداد گلبول‌های قرمز، میانگین میزان PCV و همچنین میانگین مقدار هموگلوبین در موش‌های مبتلا به مالاریا کنترل شده است. با توجه به مطالب فوق، اسانس زرین گیاه می‌تواند با کنترل عوارض ناشی از بیماری مالاریا، در روند درمان بیماری مالاریا کمک‌کننده باشد.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر برگرفته از پایان‌نامه‌ی مقطع کارشناسی ارشد انگل‌شناسی با شماره‌ی ۳۹۹۱۰۰۹، مصوب دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد و تحت حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان قرار گرفته است. بدین‌وسیله از معاونت محترم پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

انگل از بدن می‌باشد. درمان با اسانس زرین گیاه در روز هفتم آزمایش به طور قابل توجهی توانسته بود دمای بدن موش‌های آلوده به *P. berghei* را متعادل سازد و در یک روند وابسته به غلظت، منجر به کنترل دمای بدن موش‌ها گردد. همچنین گروهی که غلظت ۱۵۰ mg/kg اسانس گیاه را دریافت کرده بودند در روز هفتم آزمایش، به طور معنی‌داری کم‌ترین میانگین وزن بدن را داشتند که نشان‌دهنده‌ی توانایی اسانس گیاه در تعدیل واکنش‌های ایمنی و التهاب می‌باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که اسانس زرین گیاه می‌تواند در کنترل تب در موش‌های مبتلا به مالاریا مؤثر باشد. همچنین قادر است از کاهش وزن ناشی از مالاریا در موش‌ها جلوگیری کند. علاوه بر

References

1. World Health Organization. World malaria report 2020. Geneva, Switzerland: WHO Press; 2020.
2. Snow RW, Gilles HM. The epidemiology of malaria. Essential malariology. Boca Raton, FL: CRC Press; 2017. p. 85-106.
3. Lüthi B, Schlagenhauf P. Risk factors associated with malaria deaths in travellers: a literature review. Travel Med Infect Dis 2015; 13(1): 48-60.
4. Milner DA Jr. Malaria pathogenesis. Cold Spring Harb Perspect Med 2018; 8(1): a025569.
5. Moxon CA, Gibbins MP, McGuinness D, Milner Jr DA, Marti M. New insights into malaria pathogenesis. Annu Rev Pathol 2020; 15: 315-43.
6. Rivera-Correa J, Rodriguez A. Autoimmune anemia in malaria. Trends Parasitol 2020; 36(2): 91-7.
7. Saburi E, Rajaii T, Behdari A, Nasiri Mansour R, Seyedtabaei S. Blood disorders caused by malaria: a systematic review [in Persian]. Clin Exc 2016; 4(2): 42-55.
8. Bahar M, Deng Y, Fletcher JN, Kinghorn AD. Plant-derived natural products in drug discovery and development: an overview. In: Ikan R. editor. Selected topics in the chemistry of natural products. Singapore: World Scientific Publishing Company; 2007. p. 11-48.
9. Heydari P, Yavari M, Adibi P, Asghari G, Ghanadian S-M, Dida GO, et al. Medicinal properties and active constituents of *Dracocephalum kotschyi* and its significance in Iran: a systematic review. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 2019; 2019: 14.
10. Nardos A, Makonnen E. In vivo antiplasmodial activity and toxicological assessment of hydroethanolic crude extract of *Ajuga remota*. Malar J 2017; 16(1): 25.
11. Ounjaijean S, Sukati S, Somsak V, Sarakul O. The Potential Role of *Gymnema inodorum* Leaf Extract Treatment in Hematological Parameters in Mice Infected with *Plasmodium berghei*. J Trop Med 2021; 2021: 7.
12. White NJ. Anaemia and malaria. Malar J 2018; 17(1): 371.
13. Khare V, Kushwaha P, Verma S, Gupta A, Srivastava S, Rawat AKS. Pharmacognostic evaluation and antioxidant activity of *Urtica dioica* L. Chin Med 2012; 3(3).
14. Khamesipour F, Razavi SM, Hejazi SH, Ghanadian SM. In vitro and in vivo Anti-Toxoplasma activity of *Dracocephalum kotschyi* essential oil. Food Sci Nutr 2021; 9(1): 522-31.
15. Tchatah Tali MB, Jiatsa Mbouna CD, Yamthe Tchokouaha LR, Tsouh Fokou PV, Tsakem Nangap JM, Keumoe R, et al. In vivo antiplasmodial activity of terminalia mantaly stem bark aqueous extract in mice infected by plasmodium berghei. J Parasitol Res 2020; 4580526.

The Effect of *Dracocephalum Kotschy* Essential Oil on Controlling the Malaria Complications in Mice Model

Bahare Basirpour¹, Faham Khamesipour², Mustafa Ghanadian³,
Zahra Ghayour Najafabadi⁴, Seyed Hossein Hejazi⁵

Original Article

Abstract

Background: Malaria is one of the leading causes of death in many developing countries. Fever, anemia, and weight loss are the most important complications, and anemia is the main cause of death in patients. In this regard, the present study investigated the effect of *Dracocephalum kotschy* essential oil on the control of some malaria complications in mice infected with *Plasmodium berghei* acting as an *in vivo* model of malaria.

Methods: *P. berghei* strain was donated by the Institute of Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran, and injected into the peritoneum of Balb/c mice for proliferation and maintenance. In malaria-infected mouse groups, after treatment with different concentrations of plant essential oil and chloroquine as a positive control drug, changes in rectal temperature and weight of mice, white and red blood cell count, hemoglobin, and packed cell volume were measured and compared with the positive and negative control groups.

Findings: On the seventh day of the experiment, the mean percentage of parasite suppression in the groups which received this essential oil was significantly higher than negative control. Also, the mean number of red blood cells and the mean levels of hemoglobin, and packed cell volume were noticeably higher in the groups which received different doses of essential oil.

Conclusion: The essential oil of *D. kotschy* can be used as an effective agent to control the complications of acute malaria.

Keywords: Anemia; Complications; *Dracocephalum kotschy*; Parasites, Malaria

Citation: Basirpour B, Khamesipour F, Ghanadian M, Ghayour Najafabadi Z, Hejazi SH. **The Effect of *Dracocephalum Kotschy* Essential Oil on Controlling the Malaria Complications in Mice Model.** J Isfahan Med Sch 2022; 40(679): 517-23.

1- Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Department of Veterinary Medicine, Islamic Azad University Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran

3- Associate Professor, Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Pharmaceutical Sciences Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

4- Assistant Professor, Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

5- Professor, Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Skin Diseases and Leishmaniasis Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Seyed Hossein Hejazi, Professor, Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Skin Diseases and Leishmaniasis Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran;

Email: hejazi.seyedhossein77@gmail.com