

## تأثیر طب سوزنی بر سطح سرمی اینترفرون گاما در موش‌های BALB/c آلوده به انگل لیشمانیا ماژور

مهشید شکیبپور<sup>۱</sup>، دکتر شروین غفاری حسینی<sup>۲</sup>، محسن محمودی<sup>۳</sup>،  
فاطمه رستمی<sup>۴</sup>، دکتر سید حسین حجازی<sup>۵</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** لیشمانیوز جلدی یا سالک از جمله بیماری‌های بومی کشور ما است. بهبود ضایعات لیشمانیوز جلدی ارتباط مستقیم با پاسخ ایمنی سلولی با غلبه‌ی سلول‌های Th1 (T helper 1) و به خصوص تولید  $\gamma$ -IFN (Interferon- $\gamma$ ) دارد. در مطالعات قبلی تأثیر طب سوزنی بر تحریک سلول‌های Th1 دیده شده است. بنابراین در این مطالعه اثر طب سوزنی بر سطح سرمی  $\gamma$ -IFN به عنوان یکی از عوامل مؤثر در بهبود لیشمانیوز جلدی در مدل موشی بررسی شد.

**روش‌ها:** ۶۰ سر موش BALB/c به سه گروه ۲۰ تایی تقسیم شدند (شاهد یک، شاهد دو و آزمون) و به انگل (MRHO/IR/75/ER) *Leishmania major* آلوده شدند. موش‌های گروه آزمون با طب سوزنی ۱۰ جلسه‌ی نیم ساعته و ۲ بار در هفته درمان شدند. موش‌ها قبل از هر جلسه‌ی درمانی، جهت آرام‌سازی، ۰/۱ میلی‌لیتر دیازپام داخل صفاقی دریافت کردند. گروه شاهد دو نیز دیازپام را به همان صورت ولی بدون انجام طب سوزنی دریافت نمودند. سطح سرمی  $\gamma$ -IFN قبل از درمان، ۲۴ ساعت پس از پایان جلسه‌ی پنجم و جلسه‌ی دهم طب سوزنی اندازه‌گیری شد.

**یافته‌ها:** میانگین سطح سرمی  $\gamma$ -IFN قبل از درمان، یک روز پس از جلسه‌ی پنجم درمان و یک روز پس از پایان درمان در هیچ کدام از سه گروه و همچنین بین گروه‌ها از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشت.

**نتیجه‌گیری:** در این مطالعه استفاده از طب سوزنی تأثیری در سطح سرمی  $\gamma$ -IFN نداشت. همچنین مشخص شد که استفاده از دیازپام به عنوان عامل مداخله‌گر در این مطالعه بدون تأثیر بود. اندازه‌گیری سایر عوامل ایمنی (مانند NK cell، لنفوسیت‌های T و ماکروفاژها) و همچنین اندازه‌گیری سطح سرمی  $\gamma$ -IFN در هفته‌ی اول پس از درمان می‌تواند مؤید افزایش عملکرد ایمنی در فاز ابتدایی در این روش درمانی باشد.

**واژگان کلیدی:** لیشمانیوز، طب سوزنی، لیشمانیا ماژور، اینترفرون گاما

**ارجاع:** شکیبپور مهشید، غفاری حسینی شروین، محمودی محسن، رستمی فاطمه، حجازی سید حسین. تأثیر طب سوزنی بر سطح سرمی

اینترفرون گاما در موش‌های BALB/c آلوده به انگل لیشمانیا ماژور. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۲؛ ۳۱ (۲۴۵): ۱۰۸۵-۱۰۷۷

\* این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی (کارشناسی ارشد) به شماره‌ی ۳۹۲۲۰۱ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است.

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه انگل‌شناسی و فارغ‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- کارشناس ارشد، گروه انگل‌شناسی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۴- کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

۵- دانشیار، مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک و گروه انگل‌شناسی و فارغ‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: hejazi@med.mui.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر سید حسین حجازی

## مقدمه

زخم‌های پوستی یکی از علل معمول مراجعه‌ی بیماران به بخش‌های درماتولوژی می‌باشد (۱). لیشمانیوز جلدی (Cutaneous leishmaniasis یا CL) یکی از بزرگ‌ترین مشکلات سلامت جهانی است که به وسیله‌ی سازمان جهانی بهداشت جزء ۶ بیماری مهم عفونی نواحی گرمسیری طبقه‌بندی شده است و از اکثر نقاط جهان گزارش شده است (۲). لیشمانیوز در حال حاضر ۳۵۰ میلیون نفر را در بیش از ۸۸ کشور جهان تهدید می‌کند. شیوع جهانی این بیماری بیش از ۱۲ میلیون و وقوع سالانه آن ۱ تا ۱/۵ میلیون مورد CL و پانصد هزار مورد لیشمانیوز احشایی (Visceral leishmaniasis یا VL) می‌باشد (۲). اکثریت موارد بیماری مربوط به کشورهای افغانستان، برزیل، ایران، پرو، عربستان سعودی و سوریه است. از این میان برزیل، افغانستان، ایران و سودان دارای بالاترین آمار شیوع در سطح جهان می‌باشند (۳). میزان بروز بیماری در ایران ۲۸ در هر هزار نفر جمعیت تخمین زده می‌شود و اصفهان یکی از مهم‌ترین کانون‌های سالک در ایران است (۴).

تظاهرات بالینی متنوع بیماری به گونه‌ی Leishmania و پاسخ ایمنی میزبان وابسته است و به سه فرم اصلی لیشمانیوز جلدی، جلدی-مخاطی و احشایی دیده می‌شود (۵). در حال حاضر داروهای شیمیایی مختلفی جهت درمان بیماری به کار می‌روند که از آن جمله می‌توان از ترکیبات آنتی‌موان ۵ ظرفیتی، یعنی مگلو مین آنتی‌مونات، آمفوتریسین B، سدیم استیوگلوکونات، داروهای ضد مالاریا (کلروکین و کیناکرین)، امتین، ملتی فوسین و پاروموایسین نام برد. داروهای فوق به علت تکرار

عمل تزریق و دوز بالا علاوه بر تحمیل خسارت‌های اقتصادی بر سیستم‌های بهداشتی و بیماران، منجر به بروز عوارض جانبی چون اختلالات کبدی، قلبی، کلیوی، بیوشیمیایی و اثرات سیستماتیک بر بیمار می‌شوند؛ ولی به دلیل عدم وجود جایگزین مناسب، استفاده از آن‌ها به شدت معمول است. به علاوه، این داروها دارای محدودیت‌هایی از قبیل طولانی بودن دوره‌ی درمان و عدم پاسخ‌دهی در ۱۰ تا ۱۵ درصد موارد می‌باشند (۶). در مطالعه‌ی حاضر از روش سنتی درمان با طب سوزنی به عنوان درمان این بیماری استفاده شد.

طب سوزنی، به عنوان یک روش درمانی سنتی-شرقی، از دیر باز تاکنون مورد توجه قرار گرفته است. مطالعات مختلف طیف وسیعی از اثرات طب سوزنی شامل اثرات نوروفیزیولوژیک (۷)، اثرات ایمنومودولاتور (۸-۹)، اثرات التیام زخم (۱۰-۱۱) و اثرات ضد باکتری (۱۲) را نشان داده‌اند. در بررسی‌های مختلف اثرات ایمنومودولاتور این طب در افزایش میزان سلول‌های CD2، CD4، CD8، CD11، CD16، CD19، CD56 و برخی از سلول‌های دفاعی بدن نشان داده شده است. این مشاهدات نشان داد که طب سوزنی می‌تواند سیستم ایمنی بدن را تنظیم کند و فعالیت ایمنی سلول‌ها را افزایش دهد (۹، ۱۳). با جستجویی که در منابع اطلاعاتی انجام شد، با وجود بررسی‌های انجام‌شده در درمان یا کنترل بسیاری از بیماری‌ها، مطالعه‌ی اثرات طب سوزنی در بیماری‌های انگلی بسیار نادر بود و تنها در مورد تعدادی اندک از این عفونت‌ها صورت گرفته بود، به طوری که بر اساس اطلاعات ما به نظر می‌رسد هنوز مطالعه‌ای در خصوص این روش

اصلی‌ترین عامل حذف *Leishmania* از بدن موجودات مهره دار و در نتیجه التیام ضایعه ی ناشی از حضور انگل با استفاده از مدل حیوانی بود. در صورت دسترسی به نتایج مطلوب آزمون‌های انسانی قابل طرح و بررسی است.

### روش‌ها

پروتکل اجرایی این طرح در زمینه ی کار با حیوانات آزمایشگاهی به تصویب کمیته ی اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اصفهان رسید.

#### تزریق انگل

سویه ی استاندارد *Leishmania major* (MRHO/IR/75/ER)، که در شرایط سرما (Cryo) در ازت مایع در آزمایشگاه تحقیقاتی گروه انگل و قارچ‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان نگهداری می‌شد، آماده گردید. به منظور تکثیر انگل به مقدار کافی، اشکال پروماستیگوت در محیط‌های N.N.N کشت داده شد و سپس به محیط RPMI 1640 غنی‌شده با ۱۵ درصد FCS (Fetal calf serum)، دارای ۲۰۰ واحد در میلی‌لیتر پنی‌سیلین و ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر استرپتومایسین پاساژ داده شد. سپس در انکوباتور ۲۴ تا ۲۶ درجه ی سانتی‌گراد نگهداری شد. لوله‌های کشت هر دو تا سه روز یک بار بررسی شدند و پس از گذشت حداقل یک هفته از پاساژ انگل، اشکال پروماستیگوت که به مرحله ی ایستایی (Stationary phase) رسیده بودند، به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردیدند. محلول رویی به آرامی دور ریخته شد و رسوب حاصله توسط ورتکس همگن شد. پس از افزودن ۱۵ میلی‌لیتر PBS استریل عمل شستشو، تا سه بار

در درمان سالک انجام نشده است. در پژوهش حاضر بررسی یکی از عوامل ایمنی با اثر قاطع در درمان بیماری لیشمانیوز جلدی از نوع روستایی یعنی سیتوکین  $\gamma$ -IFN (Interferon gamma) پس از اعمال روش طب سوزنی مورد آزمایش قرارگرفت. در مورد  $\gamma$ -IFN و سیتوکین‌های دیگر که در دوره ی یک عفونت ترشح می‌شوند و اثرات تنظیمی متقابل در تولید و عملکرد یکدیگر دارند، مشاهدات فراوانی در دست است (۱۴). به عنوان نمونه اثبات شده است که موش‌های C57BL/6 که از نظر ژنتیکی در مقابل عفونت *Leishmania* بسیار مقاوم هستند، در صورت ایجاد نقص در تولید  $\gamma$ -IFN، فوق‌العاده نسبت به عفونت *L. major* حساس می‌شوند که این حساسیت همراه با توسعه ی پاسخ‌های نوع Th2 می‌باشد (۱۵). مشاهداتی از این قبیل حاکی از آن است که  $\gamma$ -IFN برای کنترل عفونت *L. major* لازم است و می‌تواند توسعه ی سلول‌های Th2 را که آسیب‌زا هستند مهار کند. در بررسی مجموع مطالعات انجام‌شده، می‌توان اظهار کرد که  $\gamma$ -IFN نقش‌های مهمی در توسعه و کنترل بعدی عفونت‌های *Leishmania* دارد. این سیتوکین همراه با سیتوکین‌ها و کموکین‌های دیگر با تأثیر متقابل بر یکدیگر در دوره ی عفونت تأثیر دارند. انگل‌های *Leishmania* به طور ماهرانه عوامل تعدیل‌کننده ی القای فعالیت‌های  $\gamma$ -IFN را به کار می‌گیرند (۱۴). پیش‌بینی می‌شود که نتایج بیشتری در این تداخلات متقابل در مطالعاتی که در آینده بر روی *Leishmania* و ضایعات حاصل از آن در سطح سلولی انجام می‌گیرند، به دست آید. هدف از این طرح ارزیابی کاربرد طب سوزنی و بررسی تأثیر آن بر سطح سرمی  $\gamma$ -IFN یعنی

ادامه یافت. با استفاده از لام نئوبار، انگل‌ها در واحد حجم شمارش و محاسبه گردیدند. سپس مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون انگلی آماده‌شده حاوی یک صد هزار پروماستیگوت متاسیکلیک به صورت داخل جلدی به قاعده‌ی دم موش‌های انتخاب‌شده در تمام گروه‌ها (۶۰ موش) تزریق شد. پس از ۳ تا ۴ هفته در محل تزریق هر موش، ندولی حاصل شد که به تدریج به مرحله‌ی اولسر پیشرفت کرد.

**مدل حیوانی مورد استفاده**

در این مطالعه از موش‌های سفید و ماده از نژاد BALB/c در سنین ۶ تا ۸ هفتگی تحت شرایط یکسان (سن، جنس، شرایط فیزیکی و محیطی) استفاده شد. موش‌های تلقیح‌شده به ۳ گروه ۲۰ تایی تقسیم شدند: ۱- گروه آزمون، دریافت‌کننده‌ی دیازپام به عنوان ماده‌ی آرام‌کننده و درمان با روش طب سوزنی، ۲- گروه شاهد یک، بدون دریافت درمان طب سوزنی و دیازپام و ۳- گروه شاهد دو، دریافت‌کننده‌ی ماده‌ی آرام‌بخش دیازپام. هدف از انتخاب این گروه مقایسه با گروه آزمون برای بررسی اثر درمان طب سوزنی و سیر طبیعی بیماری و همچنین بررسی مداخله‌ی دیازپام در درمان ضایعات CL در موش‌ها و سطح سرمی IFN- $\gamma$  بود. در پایان مطالعه همه‌ی موش‌ها به روش بی درد معدوم گردیدند.

### درمان طب سوزنی

موی موش‌ها در محل‌های مورد استفاده برای طب سوزنی تراشیده شد. محل‌های مذکور با اتانول ۷۰ درصد ضد عفونی گردیدند. سوزن‌های مخصوص (مارک خوان تیائو با قطر ۰/۲۵ و طول ۱۵ میلی‌متر) در محل‌های خاص Acu Points



شکل ۱. طب سوزنی در موش و جایگاه‌های قرار گرفتن سوزن‌ها

تعیین سطح سرمی IFN- $\gamma$ 

قبل از شروع طب سوزنی و ۲۴ ساعت پس از میان دوره (جلسه‌ی پنجم) و نیز ۲۴ ساعت پس از پایان دوره‌ی درمان (جلسه‌ی دهم) از سینوس Retro-orbital چشم موش‌های آزمون و شاهد یک و دو خون‌گیری شد. پس از قرار گرفتن خون به مدت ۲ ساعت در دمای محیط برای ایجاد لخته، سانتریفوژ در دور ۳۰۰۰ و به مدت ۱۰-۵ دقیقه انجام شد و پس از جداسازی سرم، سطح IFN- $\gamma$  در گروه‌های سه‌گانه به روش ELISA و بر اساس پروتکل کیت (شرکت تکنولوژی زیستی Boster، شماره‌ی EK0375) با دامنه‌ی استاندارد ۲۰۰۰/۳۱/۲ پیکوگرم در میلی‌لیتر و حساسیت کمتر از ۵ پیکوگرم در میلی‌لیتر انجام شد. اساس سنجش در این کیت روش Sandwich ELISA بود.

## تجزیه و تحلیل آماری

برای تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۸ (version 18, SPSS Inc., Chicago, IL) استفاده شد. آزمون‌های غیر پارامتری Mann-Whitney برای مقایسه‌ی سطح سرمی IFN- $\gamma$  بین گروه‌ها و آزمون Wilcoxon برای مقایسه‌ی داخل گروه‌ها استفاده گردید و مقادیر P کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

ندول‌ها حداکثر ۴ هفته پس از تلقیح اشکال

پروماستیگوت در قاعده‌ی دم موش‌ها مشاهده گردیدند و به تدریج با گذشت زمان اندازه‌ی آن‌ها گسترش یافت. گسترش‌های تهیه‌شده از ضایعات به وجود آمده در همه‌ی گروه‌ها و مشاهده‌ی میکروسکوپی آن‌ها، اشکال اماستیگوت Leishmania را نشان داد و تأیید نمود که همه‌ی زخم‌ها در اثر تلقیح انگل به وجود آمده‌اند.

نتایج حاصل از بررسی سطح سرمی IFN- $\gamma$  به روش ELISA، در جدول ۱ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود میانگین سطح سرمی IFN- $\gamma$  بین هیچ کدام از سه گروه در زمان‌های قبل از درمان و ۲۴ ساعت پس از پایان جلسه‌ی پنجم و دهم درمان تفاوت معنی‌داری نداشت. میانگین سطح سرمی IFN- $\gamma$  در مقایسه‌ی بین گروه‌های شاهد دو و آزمون با استفاده از آزمون Mann-Whitney قبل از درمان، ۲۴ ساعت پس از پایان جلسه‌ی پنجم و دهم نیز تفاوت معنی‌داری نداشت. همچنین مقایسه‌ی میانگین سطح سرمی IFN- $\gamma$  در گروه شاهد دو و آزمون بر اساس آزمون Wilcoxon نیز تفاوت معنی‌داری در این دو گروه نشان نداد.

میانگین سطح سرمی IFN- $\gamma$  بین گروه‌های شاهد یک با شاهد دو بر اساس آزمون Mann-Whitney در تمام جلسات تفاوت معنی‌داری نداشت.

جدول ۱. سطح سرمی IFN- $\gamma$  (برحسب پیکوگرم بر میلی‌لیتر) در گروه‌های شاهد ۱، شاهد ۲، و آزمون

گروه درمانی	تعداد	قبل از درمان	جلسه‌ی پنجم	جلسه‌ی دهم
شاهد یک	۲۰	۳۱۶/۷۷ ± ۱۱/۶۶	۴۸۶/۵۶ ± ۱۵/۶۳	۲۲۶/۰۳ ± ۱۱/۸۳
شاهد دو	۲۰	۳۸۶/۹۷ ± ۱۶/۹۶	۵۸۹/۶۷ ± ۲۵/۳۶	۲۴۶/۰۸ ± ۱۷/۶۵
آزمون	۲۰	۴۳۱/۵۶ ± ۱۴/۲۲	۳۴۴/۷۷ ± ۹/۶۸	۲۹۶/۰۲ ± ۲۶/۸۳

## بحث

لیشمانیوز از جمله بیماری‌های بومی کشور ما است که متأسفانه زندگی برخی از هم وطنان را در ابعاد مختلف روحی، جسمی و مادی تحت تأثیر سوء خود قرار داده است. بنابراین مطالعه و تلاش برای دستیابی به یک روش درمانی مؤثر که بتواند بخشی از مشکلات بیماران را بر طرف سازد، باعث ارتقای سطح بهداشت و اقتصاد مردم مناطق درگیر می‌گردد. در حال حاضر درمان‌های شیمیایی، فیزیکی و سنتی برای این بیماری به کار گرفته می‌شود. از عمده‌ترین ترکیبات دارویی موجود برای درمان، ترکیبات ۵ ظرفیتی آنتی‌موان و آمفوتریسین B می‌باشند که درمان با آن‌ها از یک سو گران و دارای عوارض جانبی و نیازمند به تکرار عمل تزریق است و از سوی دیگر با افزایش طول دوره‌ی درمان مقاومت بالینی گزارش شده است (۱۶). همچنین درمان‌های فیزیکی گران، مشکل و زمان‌بر می‌باشند. داروهای گیاهی به همراه درمان‌های شیمیایی، باعث بهبود روند درمان می‌شوند، اما اکثر این داروها نتوانسته‌اند جایگزین قاطعی برای داروهای شیمیایی محسوب گردند. این روش‌ها مدت مدیدی است که برای درمان لیشمانیوز به کار رفته‌اند اما به دلیل معایب ذکر شده هیچ کدام روش درمانی قاطعی نیستند. در مطالعه‌ی حاضر روش سنتی درمان با طب سوزنی هیچ یک از عوارض ذکر شده را نداشت و علاوه بر کوتاه بودن طول دوره‌ی درمان، مقرون به صرفه نیز بود. بررسی عواملی که در نحوه‌ی شکل‌گیری پاسخ ایمنی میزبان علیه انگل *Leishmania* مؤثر است و همچنین در بیماری‌زایی آن نقش محوری ایفا می‌نمایند، از ضرورت‌هایی است که هم اکنون سازمان جهانی

بهداشت و محققان بر آن تأکید دارند. تصور بر این است که برای حذف *Leishmania* از ماکروفاژها، به دلیل جایگزینی درون سلولی آن در میزبان، مکانیسم‌های Cell mediated به جای Humoral برای ایجاد مقاومت نسبت به عفونت اهمیت بیشتری دارند. عفونت ایجاد شده توسط *Leishmania* به طور معمول به وسیله‌ی پاسخ ایمنی سلول‌های کمکی Th1 کنترل می‌شود (۱۷). شواهد بسیاری مبنی بر دستکاری پاسخ‌های ایمنی توسط سیستم عصبی اوتونومیک و نیز تحریک اعصاب پاراسمپاتیک به وسیله‌ی طب سوزنی وجود دارد (۲۰-۱۸). با توجه به مطالعات انجام‌شده در خصوص این که طب سوزنی می‌تواند باعث تقویت مکانیسم سیستم ایمنی شود احتمال آن می‌رفت که این روش بتواند عفونت‌های پوستی لیشمانیوز (سالک) را نیز سرکوب نماید. با توجه به جدول ۱، میانگین سطح  $IFN-\gamma$  سرمی در مقایسه‌ی داخل و بین گروه‌های شاهد دو با آزمون قبل از درمان، ۲۴ ساعت پس از پایان جلسه‌ی پنجم و دهم تفاوت معنی‌داری نداشت. در تحقیقی که توسط Yamaguchi و همکاران بر روی خون محیطی انسان و آنالیز آن با فلوسایتومتری قبل و بعد از طب سوزنی انجام شد، نتایج نشان داد که مارکر  $CD16^+$  و  $CD56^+$  (مارکرهای Natural killer cell یا NK cell) در ۱، ۲ و ۸ روز پس از درمان، به تدریج به طور چشمگیری افزایش داشت و این افزایش تا پایان مطالعه (یک ماه) ادامه داشت، ولی سطوح  $IL-4$  (Interlukin 4) و  $IFN-\gamma$  در روزهای ۱ و ۲ افزایش داشت و حداکثر آن در روز هشتم بود و پس از آن تا ۳۰ روز بعد از درمان به سطح طبیعی اولیه بازگشت (۱۳). توضیح احتمالی این افزایش می‌تواند

پیشنهاد می‌شود برای به دست آوردن نتایج قطعی، سایر عوامل و سلول‌های ایمنی (NK cell، لنفوسیت‌های T، ماکروفاژها و غیره) و همچنین سطح سرمی IFN- $\gamma$  در هفته‌ی اول پس از درمان بررسی شود.

### نتیجه‌گیری

اگر چه در این مطالعه طب سوزنی با روش ذکرشده اثری بر سطح سرمی IFN- $\gamma$  نشان نداد ولی ممکن است با مکانیسم‌های دیگری باعث بهبود زخم *Leishmania* شود. در ضمن این مطالعه نشان داد که استفاده از دیاپام برای آرام‌سازی موش‌ها مداخله‌ای در سطح سرمی IFN- $\gamma$  ندارد. امید است در آینده، مطالعات بیشتری به منظور بر طرف نمودن این معضل بهداشتی و جایگزینی روش‌های سنتی با روش‌های شیمیایی انجام پذیرد.

### تشکر و قدردانی

بدینوسیله از کلیه‌ی اعضای محترم هیأت علمی و کارکنان مؤسسه‌ی ملی تحقیقات سلامت (ایستگاه تحقیقات سلامت اصفهان) که در انجام این تحقیق ما را یاری نمودند کمال تشکر را داریم. همچنین از معاونت‌های محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه‌های علوم پزشکی اصفهان و تهران که این طرح را حمایت مالی نمودند، تشکر می‌گردد.

به علت فعالیت واسطه‌های شیمیایی در گردش و یا قسمت اوتونومیک سیستم عصبی باشد (سیستم عصبی پاراسمپاتیک)، اگر چه جزییات آن هنوز ناشناخته است و نیاز به تحقیقات بیشتری برای درک آن می‌باشد. در مطالعه‌ی ما نیز شاید بتوان گفت اگر اندازه‌گیری سطح سرمی IFN- $\gamma$  در آغاز مطالعه (هفته‌ی اول) و نه ۱۷ روز پس از شروع مطالعه (جلسه‌ی پنجم) انجام می‌گرفت، ممکن بود افزایش IFN- $\gamma$  به طور معنی‌دار مشاهده می‌شد. در طب سوزنی برخی عوامل ناشناخته ممکن است در تحریک سیستم عصبی پاراسمپاتیک و تغییرات الگوی لکوسیت‌ها مؤثر باشد (۲۱، ۱۹). همچنین دست‌کاری سیستم ایمنی به وسیله‌ی طب سوزنی از طریق تحریک سیستم عصبی اوتونومیک توسط Mori و همکاران نیز نشان داده شده است (۲۰). این مطالعه بر روی ۴۰ داوطلب جوان در سه گروه: ۱- گرانولوسیت بالا و لنفوسیت پایین، ۲- گرانولوسیت پایین و لنفوسیت بالا و ۳- گروه طبیعی از نظر تعداد گرانولوسیت و لنفوسیت، انجام شد. نتایج این بررسی مشخص ساخت که با کاربرد طب سوزنی الکتریکی الگوی لکوسیت‌ها از نظر تعداد در گروه ۱ به گروه ۲ و بالعکس آن در طول و پس از درمان تغییر پیدا کرد. به عبارت دیگر طب سوزنی تمایل به طبیعی‌سازی الگوی لکوسیت‌ها دارد و می‌تواند از این طریق نیز بر بهبود زخم‌های *Leishmania* مؤثر باشد.

### References

1. Zeegelaar JE, Faber WR. Imported tropical infectious ulcers in travelers. *Am J Clin Dermatol* 2008; 9(4): 219-32.
2. den BM, Argaw D, Jannin J, Alvar J. Leishmaniasis impact and treatment access. *Clin Microbiol Infect* 2011; 17(10): 1471-7.



3. Hotez PJ, Savioli L, Fenwick A. Neglected tropical diseases of the Middle East and North Africa: review of their prevalence, distribution, and opportunities for control. *PLoS Negl Trop Dis* 2012; 6(2): e1475.
4. Askarian M, Mansour GR, Karimi A, Habibzadeh F. Infectious diseases in Iran: a bird's eye view. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18(11): 1081-8.
5. Dowlati Y. Cutaneous leishmaniasis: clinical aspect. *Clin Dermatol* 1996; 14(5): 425-31.
6. Khatami A, Firooz A, Gorouhi F, Dowlati Y. Treatment of acute Old World cutaneous leishmaniasis: a systematic review of the randomized controlled trials. *J Am Acad Dermatol* 2007; 57(2): 335-29.
7. Lundeberg T, Eriksson SV, Theodorsson E. Neuroimmunomodulatory effects of acupuncture in mice. *Neurosci Lett* 1991; 128(2): 161-4.
8. Kim SK, Bae H. Acupuncture and immune modulation. *Auton Neurosci* 2010; 157(1-2): 38-41.
9. Johnston MF, Ortiz SE, Vujanovic NL, Li W. Acupuncture may stimulate anticancer immunity via activation of natural killer cells. *Evid Based Complement Alternat Med* 2011; 2011: 481625.
10. Lee JA, Jeong HJ, Park HJ, Jeon S, Hong SU. Acupuncture accelerates wound healing in burn-injured mice. *Burns* 2011; 37(1): 117-25.
11. Park SI, Sunwoo YY, Jung YJ, Chang WC, Park MS, Chung YA, et al. Therapeutic Effects of Acupuncture through Enhancement of Functional Angiogenesis and Granulogenesis in Rat Wound Healing. *Evid Based Complement Alternat Med* 2012; 2012: 464586.
12. Zhou WY, Zhao JG, Han YY, Hong Z, Gao Y. Clinical study of acupuncture and moxibustion for preventing nosocomial infection in the patient with acute cerebrovascular disease. *Zhongguo Zhen Jiu* 2008; 28(2): 91-4. [In Chinese].
13. Yamaguchi N, Takahashi T, Sakuma M, Sugita T, Uchikawa K, Sakaiharu S, et al. Acupuncture regulates leukocyte subpopulations in human peripheral blood. *Evid Based Complement Alternat Med* 2007; 4(4): 447-53.
14. Kima PE, Soong L. Interferon gamma in leishmaniasis. *Front Immunol* 2013; 4: 156.
15. Pinheiro RO, Rossi-Bergmann B. Interferon-gamma is required for the late but not early control of *Leishmania amazonensis* infection in C57Bl/6 mice. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2007; 102(1): 79-82.
16. Pourmohammadi B, Motazedian MH, Handjani F, Hatam GH, Habibi S, Sarkari B. Glucantime efficacy in the treatment of zoonotic cutaneous leishmaniasis. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2011; 42(3): 502-8.
17. Mansueto P, Vitale G, Di LG, Rini GB, Mansueto S, Cillari E. Immunopathology of leishmaniasis: an update. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2007; 20(3): 435-45.
18. Nishijo K, Mori H, Yosikawa K, Yazawa K. Decreased heart rate by acupuncture stimulation in humans via facilitation of cardiac vagal activity and suppression of cardiac sympathetic nerve. *Neurosci Lett* 1997; 227(3): 165-8.
19. Toyabe S, Iiai T, Fukuda M, Kawamura T, Suzuki S, Uchiyama M, et al. Identification of nicotinic acetylcholine receptors on lymphocytes in the periphery as well as thymus in mice. *Immunology* 1997; 92(2): 201-5.
20. Mori H, Nishijo K, Kawamura H, Abo T. Unique immunomodulation by electroacupuncture in humans possibly via stimulation of the autonomic nervous system. *Neurosci Lett* 2002; 320(1-2): 21-4.
21. Suzuki S, Toyabe S, Moroda T, Tada T, Tsukahara A, Iiai T, et al. Circadian rhythm of leucocytes and lymphocytes subsets and its possible correlation with the function of the autonomic nervous system. *Clin Exp Immunol* 1997; 110(3): 500-8.



## Effect of Acupuncture Treatment on Level of Serum Interferon (IFN)- $\gamma$ in BALB/c Model of *Leishmania Major* Infection

Mahshid Shakibapour MSc<sup>1</sup>, Shervin Ghaffari Hoseini MD PhD<sup>2</sup>, Mohsen Mahmoodi MSc<sup>3</sup>, Fatemeh Rostami MSc<sup>4</sup>, Seyed Hossein Hejazi PhD<sup>5</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Cutaneous leishmaniasis (CL) is an endemic parasitic disease in Iran. Current treatments for the disease are not satisfying, have many side effects and are expensive. The healing effect of T-helper 1 (Th1) immune response, especially interferon (IFN)- $\gamma$  secretion in CL has been previously documented. It has been shown that acupuncture, a traditional Chinese medicine, also might activate Th1 immune response. In this study, the effect of acupuncture on serum level of IFN- $\gamma$  in experimental CL of BALB/c mice was investigated.

**Methods:** 60 BALB/c mice were experimentally infected with *Leishmania major* and assigned randomly in to three groups: acupuncture treatment group which were given the acupuncture (thirty minutes daily, two days a week for 10 sessions) and intra-peritoneal diazepam, as a sedative agent; control group for diazepam which only received the diazepam; and a control group without any intervention. Serum level of IFN- $\gamma$  was measured by means of ELISA at the beginning of the study and at sessions 5 and 10 of acupuncture treatment in three groups.

**Findings:** The mean serum level of IFN- $\gamma$  was not significantly different between and within the groups at the beginning and at the sessions 5 and 10 of the therapy.

**Conclusion:** This investigation showed that acupuncture may not affect the serum level of IFN- $\gamma$  in BALB/c model of CL. Moreover, diazepam does not interfere with the serum level of IFN- $\gamma$  in such a study. Analysis of other immune factors and early measurement of IFN- $\gamma$  in the course of treatment possibly may display the activated protective immune response against leishmaniasis by acupuncture.

**Keywords:** Leishmaniasis, Acupuncture, *Leishmania major*, Interferon- $\gamma$

**Citation:** Shakibapour M, Ghaffari Hoseini Sh, Mahmoodi M, Rostami F, Hejazi SH. **Effect of Acupuncture Treatment on Level of Serum Interferon (IFN)- $\gamma$  in BALB/c Model of *Leishmania Major* Infection.** J Isfahan Med Sch 2013; 31(245): 1077-85

\* This paper is derived from a MSc thesis No. 392201 in Isfahan University of Medical Sciences.

1- MSc Student, Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Infectious Diseases and Tropical Medicine Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

3- Department of Parasitology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4- Department of Biology, School of Science, University of Isfahan, Isfahan, Iran

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

**Corresponding Author:** Seyed Hossein Hejazi, Email: hejazi@med.mui.ac.ir