

اثرات ضدانگلی داوهای لوامیزول، نیکلوزامید و آلبندازول بر لیمناتیس نیلوتیکا

دکتر محمود بهمنی^{۱*}، دکتر کوروش ساکی^۲

تاریخ دریافت: 91/05/11 تاریخ پذیرش: 91/6/24

چکیده

پیش زمینه و هدف: زالو گرفتگی در انسان با خونریزی بینی، خونریزی واژینال، خونریزی رکتال، هماتمز و هموپتزی همراه بوده و موجب بروز آنمی می‌گردد. تاکنون داروی ضدانگلی در فارماکوپه ایران و سایر ملل دنیا برای زالو تولید نشده است لذا این مطالعه با هدف معرفی مداروی ضدانگلی موثر انجام شد.

مواد و روش کار: در این مطالعه تجربی اثر ضد لیمناتیس نیلوتیکا دوزهای متفاوت داروهای لوامیزول، نیکلوزامید و آلبندازول بر فاکتور فلجی و مرگ زالو با آزمایش ضد زالویی بررسی شد. داده‌ها توسط نرم افزار SPSS و آزمون آنالیز واریانس تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: نتایج نشان می‌دهد که میانگین زمان مرگ زالو برای داروهای لوامیزول با دوزهای مجزا ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم به ترتیب $10/22 \pm 2/22$ ، $8/33 \pm 1/93$ و $6/77 \pm 2/22$ دقیقه و برای دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم نیکلوزامید به ترتیب $32/22 \pm 6/03$ ، $26/33 \pm 9/19$ و $20/22 \pm 5/82$ دقیقه موجب مرگ زالو شد. تیمارهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم آلبندازول و گروه آب مقطر اثری کشندگی بر زالو نداشتند.

نتیجه گیری: لوامیزول و نیکلوزامید اثر ضد زالویی بالایی بر لیمناتیس نیلوتیکا داشته و می‌توانند در موارد زالو گرفتگی موثر واقع شوند.

کلید واژه‌ها: زالو، لیمناتیس نیلوتیکا، آزمایش ضد زالویی، لوامیزول، نیکلوزامید، آلبندازول

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و سوم، شماره پنجم، ص ۴۷۵-۴۷۱، آذر و دی ۱۳۹۱

آدرس مکاتبه: ارومیه، خیابان شهید دکتر قلیپور، مرکز تحقیقات سلامت مواد غذایی و آشامیدنی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه؛ تلفن: ۰۴۴۱۲۷۷۲۰۲۳

Email: mahmood.bahmani@gmail.com

مقدمه

زالو جانور بی مهره‌ای است از راسته آنالیدها و تیره هیروودئیده، به طول یک تا چند اینچ که در هر انتها یک بادکش مکنده دارد. این بادکش‌ها در امر تغذیه، حرکت و اتصال به میزبان دخالت دارند (۱). ۴۰۰ گونه زالو در علم جانور شناسی شناسایی شده‌اند و انواع آبی و دوزیست دارند که نوع آبی در آب چشمه، قنات، رودخانه و استخرهای آلوده زندگی می‌کنند (۱). زالو می‌تواند از طریق آب آلوده وارد دهان، بینی و دستگاه ژنیتال شود و به مخاط بچسبد که این چسبندگی بدون درد است (۲) و توسط بادکش مکنده مقدار زیادی خون بمکد و در چینه دان قابل اتساعی که دارد، ذخیره کند (۱). زالو گرفتگی در انسان با خونریزی بینی (۳-۴)، خونریزی واژینال (۵)، خونریزی رکتال (۶)، هماتمز (۷)، هموپتزی (۸) موجب بروز آنمی می‌گردد. در حیوانات نیز گزارش آلودگی در شتر (۹)،

گزارش آلودگی دهانی در گاو (۱۰)، آلودگی در گوسفند (۱۱) و گزارش آلودگی در گاو، گوسفند، سگ و الاغ (۱۲) نیز از ایران وجود دارد. منابع جدید از زالو و گونه لیمناتیس نیلوتیکا به عنوان بیماری انگلی زئونوز نام برده‌اند (۹). در مطالعات قبلی از دوزهای متفاوت و پراکنده داروهای لوامیزول، نیکلوزامید به عنوان داروهای موثر و به عنوان گروه شاهد استفاده گردید (۹، ۱۳، ۱۷، ۱۸). علی رغم آنکه گزارشات آلودگی انسان با زالو، موردی می‌باشد ولی مواردی از آلودگی داخلی و متعاقباً مرگ انسان گزارش شده است لذا این مطالعه تجربی با هدف بررسی اثر ضد زالو دوزهای متفاوت داروهای لوامیزول، نیکلوزامید و آلبندازول، جهت شناسایی منطقی‌ترین و مؤثرترین دوز داروهای بر زالو از گونه لیمناتیس نیلوتیکا انجام شد تا در موارد آلودگی با زالو بتوان آن‌ها را تجویز نمود.

^۱ دانش آموخته دکتری عمومی دامپزشکی، مرکز تحقیقات سلامت مواد غذایی و آشامیدنی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه (نویسنده مسئول)^۲ استادیار روانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

مواد و روش کار

تهیه زالو

در این مطالعه تجربی در مهرماه ۱۳۸۹ از آب چشمه‌های مناطق جنوبی استان ایلام تعداد ۷۰ عدد زالو از گونه لیمناتیس نیلوتیکا تهیه شد. زالو گونه لیمناتیس نیلوتیکا با داشتن رنگ سبز تیره، خطوط طولی نارنجی رنگ در طرفین بدن، بادکش قدامی کوچک، بادکش خلفی بزرگ و طول حدود ۱۰۰ میلی متر تشخیص داده می‌شود (۹). در این مطالعه از زالوهایی به طول ۸۰-۴۰ میلی متر استفاده شد.

تهیه داروی ضد انگل و گروه پلاسبو

از داروهای لوامیزول، نیکلوزامید و آلبندازول به عنوان داروی شاهد انتخاب و به شکل پودر میدل می‌شدند و از ۱۰ میلی لیتر آب مقطر به عنوان حلال استفاده شد. از ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر به عنوان تیمار پلاسبو استفاده شد.

آزمایش ضد زالو (Anti-leech assay)

میزان ۶۰۰ میلی لیتر از آب چشمه و یک عدد زالو به ظرف آزمایش اضافه شد و زمان دقیق فلجی و مرگ زالوها برای مدت ۷۲۰ دقیقه به دقت ثبت شد. برای هر تیمار دارویی ۹ تکرار در نظر گرفته شد (۹). اثرات ضد زالویی بر اساس فاکتور فلجی و مرگ مشخص می‌شود.

فلجی و مرگ: مرگ زالو با نشانه‌ی عدم حرکت زالو متعاقب تحریک بدن زالو با نوک نیدل است و در حین آزمایش بر حسب دقیقه ذکر می‌گردد و هرچه زالو در زمان کوتاه‌تری از زمان مواجهه با دارو دچار فلجی و مرگ شود، دارو مؤثرتر تلقی می‌گردد (۹).

شدت اثر داروها و تیمارهای دارویی: شدت اثر داروها بر اساس زمان به ۵ رنج تقسیم می‌شود که شامل: چهار مثبت (۴+): فلجی و مرگ زالو بین دقایق ۱ تا ۶۰ پس از اضافه نمودن دارو؛ سه مثبت (۳+): فلجی و مرگ زالو بین دقایق ۶۱ تا ۱۲۰ پس از اضافه نمودن دارو؛ دو مثبت (۲+): فلجی و مرگ زالو بین دقایق ۱۲۱ تا ۱۸۰ پس از اضافه نمودن دارو؛ یک مثبت (۱+): فلجی و مرگ زالو بین دقایق ۱۸۱ تا ۲۴۰ پس از اضافه نمودن دارو؛ منفی (-): فلجی و مرگ زالو بین دقایق ۲۴۱ تا ۷۲۰ پس از اضافه نمودن دارو (حتی در موارد مرگ زالو در این دقایق، از لحاظ شدت اثر، منفی محسوب می‌گردد). داروهایی که در بازه زمانی ۶۰-۱ (شدت اثر ۴+) موجب مرگ زالو گردد به عنوان داروهای پرقدرت و مؤثر بر زالوی گونه لیمناتیس نیلوتیکا در نظر گرفته می‌شود (۱۳).
آنالیز آماری از طریق نرم افزار SPSS و آزمون‌های آنالیز واریانس و آزمون تعقیبی توکی انجام گردید.

یافته‌ها

نتایج و اطلاعات تکمیلی در جدول شماره ۱ مشخص شده است. نتایج این مطالعه مشخص کرد که با افزایش دوز داروهای لوامیزول و نیکلوزامید، میانگین زمان مرگ زالو کاهش می‌یابد. نتایج مطالعه فوق موید این مسئله است که دوز ۱۰۰ میلی گرم لوامیزول و نیکلوزامید با میانگین زمانی مناسب و شدت اثر ۴+ و جهت پیشگیری از وقوع و بروز مقاومت دارویی، مناسب‌ترین دوز پیشنهادی است.

جدول شماره (۱): تیمار، دوز، انحراف استاندارد و میانگین و شدت اثر برای تیمارهای مختلف دارویی

شدت اثر	انحراف استاندارد \pm میانگین	دوز (میلی گرم)	تیمار
۴+	۲/۲۲ \pm ۱۰/۲۲	۱۰۰	لوامیزول
۴+	۱/۹۳ \pm ۸/۳۳	۲۰۰	لوامیزول
۴+	۲/۲۲ \pm ۶/۷۷	۳۰۰	لوامیزول
-	۰ \pm ۷۲۰	۱۰۰	آلبندازول
-	۰ \pm ۷۲۰	۲۰۰	آلبندازول
-	۰ \pm ۷۲۰	۳۰۰	آلبندازول
۴+	۶/۰۳ \pm ۳۲/۲۲	۱۰۰	نیکلوزامید
۴+	۹/۱۹ \pm ۲۶/۳۳	۲۰۰	نیکلوزامید
۴+	۵/۸۲ \pm ۲۰/۲۲	۳۰۰	نیکلوزامید
-	۰ \pm ۷۲۰	۱۰۰	آب مقطر

بحث

نتایج نشان می‌دهد که تیمارهای لوامیزول و نیکلوزامید در همه تیمارها از لحاظ شدت اثر (+۴) می‌باشند و به عنوان داروهای پر قدرت و موثر علیه زالو گونه لیمناتیس نیلوتیکا هستند که در دوزهای پایین هم اثر ضد زالویی مناسبی اعمال می‌کنند. تیمار آلبندازول و آب مقطر به عنوان گروه بی اثر با شدت اثر منفی (-) مشخص شد.

مطالعه بهمنی و همکاران (۱۳۸۹) نشان می‌دهد عصاره متانولی تنباکو (۶۰۰ میلی گرم) با میانگین زمانی $6/11 \pm 17$ دقیقه موجب مرگ زالو می‌گردد. داروهای لوامیزول، نیکلوزامید، تریکلاندازول، مترونیدازول به ترتیب با میانگین زمانی $3/6 \pm 7$ ، $5/70 \pm 18/66$ ، $11/11 \pm 54/1$ ، $11/8 \pm 10/5$ ، $11/8 \pm 10/5$ دقیقه موجب مرگ زالو لیمناتیس نیلوتیکا می‌شود ولی مبندازول و سوکسینیل کولین بی اثر مشخص شدند (۹). مطالعه فرخنده و همکاران (۱۳۸۹) نشان داد که لوامیزول با میانگین زمانی ۷ دقیقه موجب مرگ زالو از گونه لیمناتیس نیلوتیکا شد. در این مطالعه قرص سیر با دوزهای ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۲۰۰ هیچ اثری بر مرگ زالو نداشت (۱۳). مطالعه بهمنی و همکاران (۱۳۸۹) که به بررسی اثر ضد لیمناتیس نیلوتیکا چند داروی ضد کرم پهن، نواری، لوله‌ای و ضد تک یاخته‌ای پرداخت، مشخص گردید که داروهای کلوزانتل، لوامیزول، آیورمکتین، نیکلوزامید با شدت اثر +۴ مشخص گردید. تریکلاندازول با شدت اثر +۳، آلبندازول با شدت اثر +۲ و داروهای مبندازول و مترونیدازول با شدت اثر منفی (-) مشخص گردید (۱۴). مطالعه افتخاری و همکاران (۲۰۱۱) که به بررسی اثر ضد لیمناتیس نیلوتیکا عصاره متانولی سیر بر فرم بالغ لیمناتیس نیلوتیکا پرداخته بود مشخص گردید که این عصاره با میانگین زمانی $144,55 \pm 57,21$ دقیقه موجب مرگ زالو می‌شود (۱۵). بهمنی و همکاران (۲۰۱۱) در مطالعه دیگری که به بررسی اثر لیمناتیس نیلوتیکا عصاره متانولی سیر بر فرم نابالغ لیمناتیس نیلوتیکا پرداختند مشخص شد عصاره فوق با میانگین زمانی $68,44 \pm 28,39$ موجب مرگ فرم نابالغ زالو می‌گردد (۱۶). مطالعه بهمنی و همکاران (۱۳۹۱) نشان داد که عصاره‌های هیدروالکلی بلوط، بومادران، گل میمونی بیابانی (۶۰۰ میلی گرم) و عصاره‌های متانولی درمنه و افسنتین (۶۰۰ میلی گرم) هیچ اثری بر مرگ لیمناتیس نیلوتیکا ندارند ولی عصاره متانولی افسنتین با دوزهای ۱۲۰۰، ۱۸۰۰ و ۲۴۰۰ میلی گرم به ترتیب (بی اثر، ۶۰۰ دقیقه و ۶۰۱ دقیقه) و عصاره متانولی درمنه با دوزهای ۱۲۰۰، ۱۸۰۰ و ۲۴۰۰ میلی گرم به ترتیب با میانگین زمانی (بی اثر، ۶۳۵ و ۱۸۸

دقیقه) موجب مرگ لیمناتیس نیلوتیکا می‌شود (۱۷). لوامیزول از طریق مهار آنزیم‌های فومارات ردوکتاز و سوکسینات دهیدروژناز باعث فلج کرم‌های انگلی می‌گردد (۱۸). نیکلوزامید با وقفه در جذب و جفت شدن مرحله فسفوریلاسیون اکسیداتیو در میتوکندری سلول‌های کرم و به واسطه متوقف کردن سیکل کربس، موجب تجمع اسید لاکتیک در بدن انگل شده و باعث مرگ انگل می‌گردد (۱۸). آلبندازول فعالیت آنزیم فومارات ردوکتاز را در سستوها مهار می‌کند، بدون اینکه تأثیر سوئی بر میزبان داشته باشد در نتیجه اعمال متابولیکی و تولید انرژی را در انگل مختل می‌نماید (۱۸). تأیید مکانیسم اثر ضد زالویی داروهای لوامیزول و نیکلوزامید بر گونه لیمناتیس نیلوتیکا باعث می‌شود تا در مواقع زالو گرفتن بتوان جهت درمان فرد با دوز استاندارد لوامیزول و نیکلوزامید استفاده نمود. مطالعه دیگر بهمنی و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد که عصاره متانولی گیاه تنباکو در مقایسه با سولفات مس و کلرید آمونیوم دارای اثر گندزایی علیه زالو گونه لیمناتیس نیلوتیکا دارد (۱۹). مطالعه غلامی آهنگران و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد که عصاره متانولی انگور اثر ضد زالویی بر فرم نابالغ لیمناتیس نیلوتیکا دارد (۲۰). به نظر می‌رسد داروهای شیمیایی و گیاهی به واسطه ترکیبات و مکانیسم اثر اثبات شده‌شان اثر ضد لیمناتیس نیلوتیکا نشان می‌دهند. همچنین تیمارهای مختلف بر فرم‌های نابالغ و بالغ از نظر مدت زمان مرگ زالو اثر متفاوتی دارند که احتمالاً یک دلیل آن مقاومت کمتر فرم نابالغ زالو در مواجهه با تیمارهای دارویی است. نتایج این مطالعه و مطالعات قبلی نگارنده (۹-۱۱) مطابقت دارد. این مطالعه در قیاس با مطالعات قبل نشان می‌دهد که تیمارهای نیکلوزامید و لوامیزول در دوزهای پایین تر از ۶۰۰ میلی گرم اثرات مشابه و مناسب ضد زالویی نشان می‌دهد در صورتی که آلبندازول در دوزهای کمتر از ۶۰۰ میلی گرم هیچ گونه اثر کشندگی بر زالو ندارد و آلبندازول به عنوان یک داروی ضدانگل وسیع الطیف با افزایش دوز اثرات ضد زالویی، اعمال می‌کند. این مطالعه مشخص کرد که دوز ۱۰۰ میلی گرم از لوامیزول و نیکلوزامید به عنوان کمترین دوز و مؤثرترین دوز می‌باشد و مانع از ایجاد مقاومت دارویی می‌شود.

با توجه به اثرات مناسب کشندگی زالو توسط داروهای نیکلوزامید و لوامیزول بر لیمناتیس نیلوتیکا، پیشنهاد می‌گردد اثرات ضد انگلی این داروها بر سایر گونه‌های مهم زالو بررسی گردد تا در موارد آلودگی با گونه‌های متفاوت زالو بتوان از آن‌ها استفاده موثری نمود.

References:

- Will RB. Hirudin and the role thrombin: lessons from leeches. Trends Pharm Sci 1988; 9: 425-7.
- Hong SJ, Kang KW, Purification of granulin-like polypeptide form the blood-sucking leech. J Protein Expr Purif 1999; 16(2): 340-6.
- Gol A, Zohar S, Avraham S, Joachims HZ, Danino J, Menbach D. Epistaxis caused by leeches. Harefuah 1989; 117: 141-43.
- Keegan HL, Radke MG, Murphey DA. Nasal leech infestation in man. Am J Trop Med Hyg 1970; 19 (6): 1029-30.
- Hernandez M, Ramirez GR. Vaginal bleeding resulting from leech bite. J Gincol Obstet Mex 1998; 66: 248-46.
- Raj SM, Radzi M, Tee MH. Sever rectal bleeding due to leech bite. Am J Gastroentrol 2000; 95 (6): 1607-09.
- Mekasha A. Post menopausal vaginal bleeding due to vaginal wall leech infestation. Ethiop Med J 1995; 33 (4): 271-73.
- Estambale BB, Knight R, Chung R. Haematemesis and severe anaemia due to a pharyngeal leech (*Myxobdella Africana*) in a Kenyan child: a case report. Trans R Soc Trop Med Hyg 1992; 86 (4): 458-60.
- Bahmani M, Avijgan M, Hosseini SR, Qorbani M. Evaluating the anti *limnatis nilotica* effects of tobacco methanol extract compared with succinyl choline and some other anti-parasite drugs. Shahrekord J Med Sci 2010; 12(3): 53-9.
- Al-Ani FK, Al-Shareefi MR. Observation on medical leech (*Limnatis nilotica*) in camel in Iraq. J Camel Pract Res 1995; 2(2): 145.
- Bahmani M, Zamani P, Meshgi B, Abdi Zadeh R. The first reported infestation in sheep at *Limnatis nilotica* in Iran. Karaj: Sixth National Conference and the first Regional Congress of Parasitology and Parasitic Diseases; 2010. P. 384.
- Mehrzadi S, Razi Jalali MH, Bahmani M, Rahbar A. Reports infestation of *Limnatis nilotica* (leech) in sheep, cattle, dogs and donkeys in the city of Dehloran. Tabriz: Sixth National Conference Veterinar Clin Sc; 2009. P. 648.
- Farkhondeh T, Sadighara P, Bahmani E, Gholami-Ahangaran M, Moghtadaee E. The anti-parasite effect of garlet tablets on *Limnatis nilotica*. J Herbal Drugs 2011; 2: 69-71.
- Bahmani M, Avijgan M, Hosseini SR, Gholami Ahangaran M, Sadighara P. The comparison of anti-*Limnatis nilotica* effect of several anti-nematode, anti-trematodes and anti-cestodes drugs. Vet Res Bull 2010; 1: 51-4.
- Eftekhari Z, Bahmani M, Mohsenzadegan A, Gholami Ahangaran M, Abbasi J, Alighazi N. Evaluating the anti-leech (*Limnatis nilotica*) activity of methanolic extract of *Allium sativum L.* at compared with levamisole and metronidazole. Comp Clin Pathol 2011; DOI. 10.1007/s00580-0111268-6.
- Bahmani M, Abbasi J, Mohsenzadegan A, Sadeghian S, Gholami-Ahangaran M. *Allium sativum L.*: the anti-ammature leech (*Limnatis nilotica*) activity compared to Niclosomide. Comp Clin Pathol 2011; DOI. 10.1007/s00580-011-1380-7.
- Bahmani M, Avijgan M, Gholami-Ahangaran M, Rafieian M. The comparison of anti- *Limnatis nilotica* effets of albendazole and some of the Iranian Medicinal Plants. Boushehr Med Sci J 2012; 15(1): 201-6.
- Adib A, GHafghazi T, Hajhashemi VA. Medicinal pharmacology, Tehran: Mani Pub 1998. P. 1-730.

19. Bahmani M, Farkhondeh T, Sadighara P. The antiparasite effects of *Nicotina tabacum* on leeches. *Comp Clin Pathol* 2012; DOI 10.1007/s00580-012-1413-x.
20. Gholami-Ahangaran M, Bahmani M, Zia-Jahromi N. In-vitro anti-leech effects of *Vitis vinifera* L., Niclosamide and Ivermectin on mature and immature forms of leech *Limnatis nilotica*. *Global Veterinaria* 2012; 8 (3): 229-32.