

Anti-Toxoplasma Effects of Artemisia Aucheri Extract in Vitro

Amir KarimiPour Saryazdi¹, Ali Dalir Ghaffari¹, Pooya Tavakoli¹, Fatemeh Ghaffarifar^{1*}, Mohammad Barati²,
Aliakbar Rasekhi³, Yeganeh KarimiPour Saryazdi⁴, Bahareh Siahkohy⁵

¹ Department of Parasitology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

² Infectious Diseases Research Center, AJA University of Medical Sciences, Tehran, Iran

³ Department of Biostatistics, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

⁴ Faculty of medicine, Tehran medical science, Islamic Azad University, Tehran, Iran

⁵ Department of Microbiology, Kerman Branch, Islamic Azad University, Kerman, Iran

Abstract

Introduction: Toxoplasma gondii (T. gondii) is a compulsive intracellular parasite of the Apicomplexa phylum that contaminates a wide range of vertebrates including humans, and it causes disease. The current study aimed to evaluate the anti-Toxoplasma gondii effects of Artemisia aucheri.

Methods and Materials: Tachyzoite assay was performed to evaluate the death rate of the parasite. Flow cytometry technique has been used in order to determine the possible induction of apoptosis in T. gondii tachyzoites. Furthermore, 50% inhibitory concentration (IC50) was obtained for macrophages by MTT assay.

Results: The IC50 values of autumn and spring extracts of A. aucheri was estimated about 136 µg/ml and 119 µg/ml, respectively, in treated T. gondii tachyzoites. After 24 hours of macrophage incubation, the highest rate of cytotoxicity was observed in high concentrations of spring and autumn A. aucheri extracts. Based on the flow cytometry results the rates of normal, necrotic, and apoptotic cells treated with autumn extract were 93.1%, 2.45%, and 4.49%, respectively, and when with spring extract was treated, the rates were 60.4%, 3.99%, and 35.54%, respectively.

Discussion and Conclusion: We concluded that the autumn and spring extracts of A. aucheri has lethal effect on T. gondii tachyzoites and also induces the apoptosis in parasites.

Keywords: Toxoplasma gondii, Artemisia aucheri, MTT, Flow cytometry, In vitro

*(Corresponding Author) Fatemeh Ghaffarifar, Department of Parasitology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran, P.O. Box 14115-331. Tel: +982182884553, Fax: +982182884555 E-mail: ghafarifar@modares.ac.ir
Amir KarimiPour Saryazdi and Ali Dalir Ghaffari contributed equally to this work.

اثرات ضد توکسوپلازما عصاره آرتیمیزیا اوچری در شرایط برون تنی

امیر کریمی پور سریزدی^۱، علی دلیرغفاری^۱، پویا توکلی^۱، فاطمه غفاری فر^{۱*}، محمد براتی^۲، علی اکبر راسخی^۳، یگانه کریمی پور سریزدی^۴، بهاره سیاه کوهی^۵

^۱ گروه انگل شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

^۲ مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی آجا، تهران، ایران

^۳ گروه آمار، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

^۴ دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

^۵ گروه میکروبیولوژی، واحد کرمان، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمان، ایران

چکیده

مقدمه: توکسوپلازما گوندی یک انگل داخل سلولی اجباری از شاخه اپی کمپلکسا می‌باشد که طیف گسترده‌ای از مهره داران از جمله انسان را آلوده می‌کنند و باعث بیماری می‌شوند. مطالعه حاضر با هدف ارزیابی اثرات آرتیمیزیا اوچری بر ضد توکسوپلازما گوندی انجام شد.

مواد و روش‌ها: به منظور ارزیابی میزان مرگ و میر انگل، آزمایش تاکی زوئیت انجام شد. به منظور تعیین القای احتمالی آپوپتوز (مرگ سلولی) در تاکی زوئیت‌های توکسوپلازما گوندی، از تکنیک فلوسیتومتری استفاده شد. علاوه بر این، غلظت مهار کننده ۵۰٪ (IC₅₀) با استفاده از روش تاکی زوئیت اسی برای انگل محاسبه شد.

یافته‌ها: مقدار نصف غلظت مهار کننده عصاره بهاره و پاییزه آرتیمیزیا اوچری در تاکی زوئیت‌های توکسوپلازما گوندی به ترتیب حدود ۱۳۶ میکروگرم بر میلی لیتر و ۱۱۹ میکروگرم بر میلی لیتر بر آورد شد. بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون ماکروفاژها، بیشترین میزان سمیت سلولی در غلظت‌های بالای عصاره بهاری و پاییزی مشاهده شد. بر اساس نتایج فلوسیتومتری میزان سلول‌های طبیعی، نکروز شده و آپوپتوز شده با عصاره پاییزه تحت درمان قرار گرفته شده به ترتیب ۹۳/۱، ۲/۴۵ و ۴/۴۹ درصد، و با عصاره بهاره تحت درمان قرار گرفته شده به ترتیب ۶۰/۴، ۳/۹۹ و ۳۵/۵۴ درصد بود.

بحث و نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که عصاره‌های پاییزه و بهار آرتیمیزیا اوچری بر روی تاکی زوئیت‌های توکسوپلازما گوندی تاثیر کشنده داشته و باعث بروز آپوپتوز در انگل‌ها نیز می‌شود.

کلمات کلیدی: توکسوپلازما گوندی، آرتیمیزیا اوچری، MTT، فلوسیتومتری، برون تنی

مقدمه

طریق خوردن کیست توکسوپلازما گوندی در گوشت خام یا نپخته، میوه، سبزیجات و هم چنین نوشیدن آب آلوده، آلوده شوند. انتقال مادرزادی، انتقال خون و پیوند عضو از دیگر مسیرهای انتقال در نظر گرفته شده است (۲، ۴، ۵). علی رغم این واقعیت که عفونت در افراد سالم بدون علامت یا خفیف است، انتقال پیوند در هنگام

تقریباً یک سوم جمعیت جهان از نظر توکسوپلازما گوندی، یک انگل تک یاخته داخل سلولی، که همه مهره داران خونگرم از جمله انسان و غیره را آلوده می‌کند، مثبت هستند (۱، ۳). گریه سانان به عنوان میزبان قطعی و انسان به عنوان میزبان واسط می‌توانند از

* (نویسنده مسئول) فاطمه غفاری فر، گروه انگل شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

شماره تماس: ۰۲۱۸۲۸۸۴۵۵۳ آدرس الکترونیکی: ghafarif@modares.ac.ir

امیر کریمی پور سریزدی و علی دلیرغفاری به طور مساوی در این کار سهیم بودند.

عصاره موجود در برابر توکسوپلازما گوندی شناخته می شود، بیش از ۴۰۰ گونه از آن در آسیای میانه بومی است اما در سراسر جهان مورد استفاده قرار گرفته است. برگ و گل گیاه حاوی یک ترکیب مؤثر به نام آرتیمیسینین است (۱۶). براساس مطالعات آرتیمیسینین می تواند با آزاد کردن رادیکال های آزاد اکسیژن، سلول های انگلی را ویران کند و باعث شود که میتوکندری ها نتوانند عمل کنند (۱۷). عصاره های گوناگون آرتیمیزیا اوچری نشان داده است که می تواند تأثیر ضد لیشمانیایی و قارچی داشته باشند و همچنین بر روی بهبود زخم ها اثر می گذارند (۱۸). همچنین در مطالعات دیگر اثرات ضد لیشمانیایی این گیاه در شرایط برون تنی و درون تنی (با آزمایش بر روی موش BALB/c) اثبات شده است (۱۹)، (۲۰). با توجه به تظاهرات بالینی آشکار توکسوپلازما گوندی به خصوص در جنین و افزایش عوارض جانبی داروهای مصنوعی، نیاز به بررسی ترکیبات جدید ضد توکسوپلازما با کمک دانش جدید و اطلاعات دارویی، ضروری است. این داروی جدید باید دارای ویژگی هایی از جمله راندمان بالا، سمیت کم و قیمت پایین باشد (۲۱). در همین راستا، مطالعه حاضر با هدف ارزیابی اثرات ضد توکسوپلازما، آرتیمیزیا اوچری در شرایط برون تنی بر روی تک یاخته توکسوپلازما گوندی انجام شده است.

مواد و روش ها

۱- آماده سازی و تهیه عصاره ها

عصاره ها از گیاه آرتیمیزیا اوچری تهیه شده اند که طی یک سال در فصول بهار و پاییز دو بار جمع آوری شده است. تمام قسمت های گیاه از جمله بذر، برگ و سایر قسمت ها با یکدیگر ترکیب شده و سپس حرارت داده شدند. تقریباً ۵۰ گرم نمونه در ۵۰۰ سی سی آب مقطر حل شده و به مدت ۴۸ ساعت مکش انجام شد. به مدت ۳۰ دقیقه گرم می شود و پس از جوشیدن فیلتر می شود. نمونه تا زمان غلیظ شدن به حمام آب ۶۰ درجه سانتیگراد منتقل شد. برای خشکی کامل از اجاق گاز هوای گرم استفاده شده است. سپس عصاره به فریزر برده شد. رقت های مختلف عصاره بهار و پاییز آرتیمیزیا اوچری با افزودن ۱ میلی گرم پودر خشک به ۱ میلی لیتر دی متیل سولفوکسید تهیه شد. سپس رقت های ۱۲/۳، ۲۵/۶، ۵۰/۱۲، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر از محلول تهیه شد.

بارداری در اولین مواجهه می تواند بسیار فاجعه بار باشد و منجر به عوارض جدی آسیب شناختی (پاتولوژی) مانند: میکروسفالی، هیدروسفالی، کوری، سقط جنین و حتی مرگ شود. علاوه بر این، به عنوان یک انگل فرصت طلب و تهدید کننده زندگی در افراد دارای نقص ایمنی به ویژه در بیماران HIV، بیماران پیوند عضو و سرطان که تحت درمان سرکوب کننده سیستم ایمنی هستند شناخته شده است (۲، ۶، ۸).

امروزه ترکیبی از پیریمتامین و سولفادیازین به عنوان اولین خط درمانی برای پیشگیری و درمان توکسوپلازما سموز در کلینیک ها استفاده می شود. عارضه جانبی جدی این داروها اثبات شده است به طوری که، پیریمتامین باعث سرکوب مغز استخوان و سمیت خونی می شود. آزیترومایسین، اسپیرامایسین، کلاریترومایسین، داپسون، آتواکون و کوتریموکسازول به شکل ضعیف تحمل می شود و فاقد اثربخشی بر فرم برادی زوئیت انگل است (۹).

متأسفانه، در بیماری توکسوپلازما سموزیس، مقاومت در برابر داروهای ضد توکسوپلازما مانند سایر اپی کمپلکس ها مانند (گونه پلاسمودیوم) گزارش شده است (۹). صرف نظر از پیشرفت های چشمگیر در تحقیقات دارویی و ایمنی، اما جهت درمان توکسوپلازما سموز مزمن همچنان با عدم وجود داروی ایده آل و مؤثر مواجه هستیم. از طرف دیگر، تاکنون واکسن مؤثر و کارآمدی به صورت تجاری برای استفاده گسترده در انسان معرفی نشده است (۱۰، ۱۱). از این رو تهیه داروی جدید که دارای ویژگی هایی همچون مؤثر در نفوذ به جفت، عدم سمیت و اثرات انگلی در برابر تمام مراحل انگل به خصوص فرم کیستی ضروری به نظر می رسد (۹).

ویژگی درمانی بالقوه محصولات گیاهی به طور فزاینده ای مورد بررسی قرار گرفته و ثابت شده است که گیاهان دارویی به طور کلی بی خطر هستند و در مقایسه با داروهای مصنوعی، سمیت کمی دارند (۱۲). در موارد استفاده بالینی، بیشتر منشاء داروها به محصولات طبیعی ارجاع می شوند. توسعه ترکیبات مصنوعی جدید، بیشتر به گیاهان دارای فعالیت ضد میکروبی مانند فعالیت ضد یاخته، ضد باکتریایی و تعدیل کننده سیستم ایمنی بدن که ثابت شده است، بستگی دارد (۱۳، ۱۴). اولین استفاده از گیاهان دارویی به چین برمی گردد که آن ها به طور سنتی از گونه آرتیمیسینیا به عنوان یک ضد تب استفاده می کردند (۱۵). آرتیمیسینیا که به عنوان پرمصرف ترین

از محلول MTT که تهیه شده بود به کلیه چاهک‌ها افزوده شد و ۵ ساعت مجدد انکوباسیون انجام شد و پس از آن پلیت وارد دستگاه الیزاریدر با طول موج ۵۴۰ نانومتر شد تا جذب هر چاهک محاسبه شود (۲۳). تمام تست‌ها به صورت تریپلیکت انجام شد.

یافته‌ها

۱- تعیین غلظت IC₅₀ و شمارش تاکی زوئیت‌ها

در مطالعه حاضر تاثیر عصاره‌های آبی بهار و پاییز آرتیمیزی اوچری در برابر تاکی زوئیت توکسوپلازما گوندی را تجزیه و تحلیل گردید. سپس ۵۰٪ غلظت مهارکننده (IC₅₀) عصاره‌های پاییز و بهاری آرتیمیزی اوچری به ترتیب در حدود ۱۳۶ میکروگرم بر میلی لیتر و ۱۱۹ میکروگرم بر میلی لیتر برآورد شد. علاوه بر این، عصاره آرتیمیزی اوچری یک فعالیت وابسته به دوز و زمان را در برابر توکسوپلازما گوندی و در برابر انگل‌های آزمایشگاهی نشان داد. (شکل ۱)

نتایج میکروسکوپ نوری نشان داد که IC₅₀ عصاره‌های بهاره و پاییز آرتیمیزی اوچری باعث ایجاد تغییرات قابل توجه در تاکی زوئیت‌های مجاور شده با عصاره از جمله تراکم سیتوپلاسمی، انقباض سلول و عدم تحرک می‌شود.

به همین ترتیب، با توجه به این واقعیت که میانگین تعداد تاکی زوئیت‌ها در درمان اولیه (۰ ساعت) تقریباً ۱۰۴ سلول در میلی لیتر بود، روند کاهش میزان سلول‌های زنده تا ۲۴ ساعت واضح بود. از طرف دیگر، در گروه شاهد هیچ تغییری در مورفولوژی سلول‌ها و همچنین تکثیر تاکی زوئیت‌ها مشاهده نشده است.

۲- آزمایش MTT

بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون ماکروفاژها، بیشترین میزان سمیت سلولی در غلظت‌های بالای عصاره بهاری و پاییزی مشاهده شد که در شکل ۲ نشان داده شده است.

۳- آنالیز فلوسایتومتری

در مطالعه حاضر، از روش سنجش فلوسیتومتری برای ارزیابی نسبت سلول‌های نکروتیک، آپوپتوز شده و سلول‌های نرمال استفاده شده است. به این ترتیب، میزان سلول‌های مذکور پس از درمان

۲- سنجش تاکی زوئیت‌ها

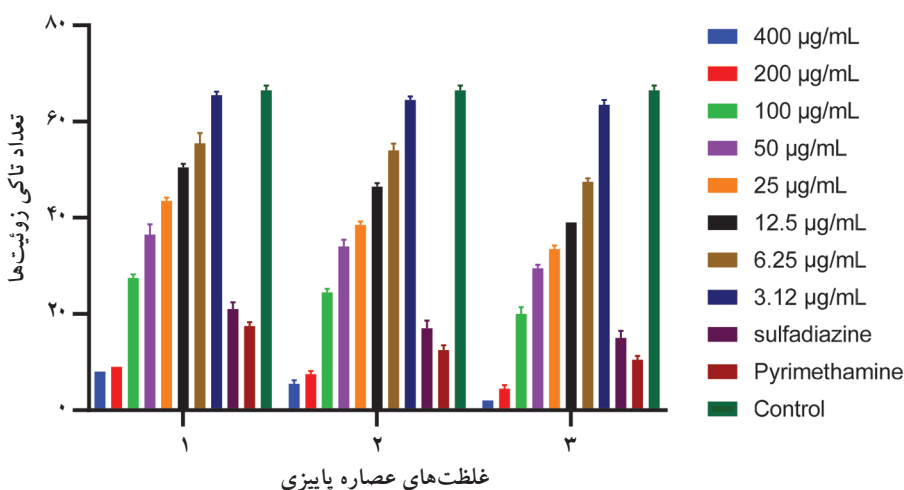
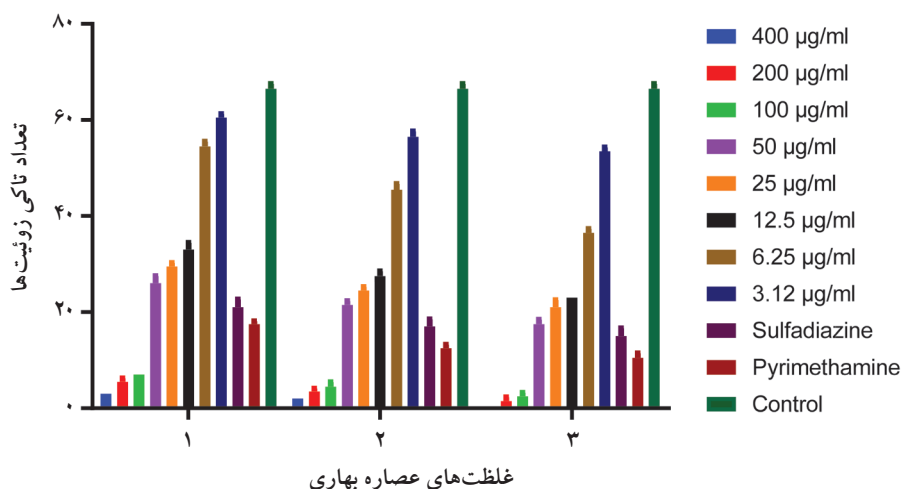
برای ارزیابی میزان مرگ و میر انگل، سنجش تاکی زوئیت انجام شد. به دنبال دوره انکوباسیون ۳، ۶ و ۲۴ ساعته، تاکی زوئیت‌ها در ۱۰۰۰ g به مدت ۳ دقیقه سانتریفیوژ شدند و در محلول نمک سولفات با خاصیت بافری معلق شدند. سپس سلول‌ها توسط میکروسکوپ نوری شمارش شدند. تاکی زوئیت‌های مجاور شده و مجاور نشده با عصاره دستخوش برخی از تغییرات مورفولوژیکی از جمله انقباض سلولی و تحرک قرار گرفتند و در زمان‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفتند.

۳- روش فلوسایتومتری

تمایز تاکی زوئیت‌های زنده، آپوپتوز و نکروز شده پس از درمان با عصاره یا بدون عصاره با روش فلوسیتومتری مورد بررسی قرار گرفتند. از رنگ آمیزی آنکسین وی و پروپیدیوم یدید استفاده شد و با این رنگ‌ها بین سلول‌های نکروز و آپوپتوز و زنده افتراق ایجاد شد. در این راستا، پائل مثبت پروپیدیوم یدید نشانگر سلول‌های نکروتیک (بالا سمت چپ) و آنکسین نشانگر آپوپتوز اولیه (پایین سمت راست) می‌باشد. پروپیدیوم یدید در اواخر آپوپتوز (بالا سمت راست) مثبت می‌شود. سلول‌هایی که در کل رنگ نگرفتند همان سلول‌های زنده بودند (پایین سمت چپ) (۲۲). براساس دستورالعمل کیت، پس از شستن تاکی زوئیت مجاور شده و مجاور نشده با عصاره (۱۰۴ انگل در میلی لیتر) با محلول نمک سولفات با خاصیت بافری سرد دو بار و سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۴۰۰ g، آنها را در یک مکان تاریک و دمای اتاق به مدت ۱۵ دقیقه انکوبه کرده و سپس ۵ میکرولیتر آنکسین وی و ۵ میکرولیتر پروپیدیوم یدید به نمونه‌ها اضافه کردیم و آنها را در دستگاه فلوسایتومتری (FACS Calibur) قرار دادیم.

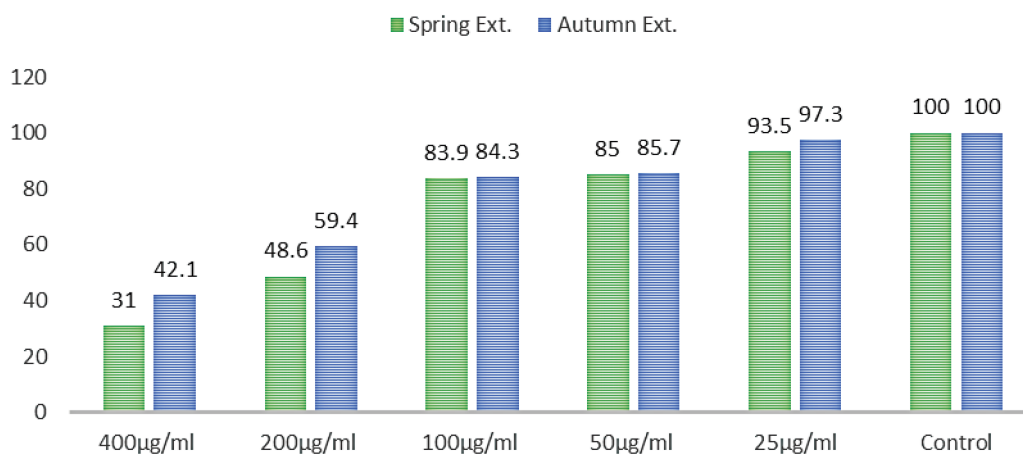
۴- تست MTT

برای آماده سازی محلول MTT، ۵ میکروگرم از پودر MTT (نمک تترازولیوم) را در ۱ میلی لیتر از محلول PBS در مکان تاریک حل کردیم. سلول‌های ماکروفاژ را به پلیت کشت ۹۶ خانه اضافه کردیم که دارای غلظت‌های مختلف از عصاره‌ها بودند. بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، مقدار ۲۰ میکرولیتر

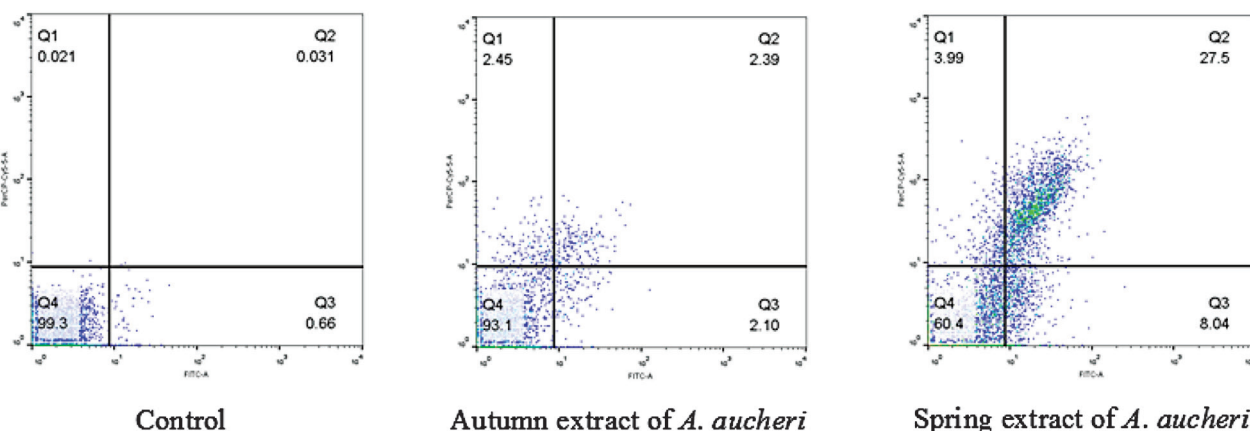


شکل ۱- میانگین و انحراف معیار شمارش تکی زوئیت‌های کشت شده در ۳، ۶ و ۲۴ ساعت بعد از مواجه با غلظت‌های مختلف عصاره بهاری و پاییزی آرتیمیزیا اوچری و مقایسه آنها با گروه کنترل. مقادیر بالا در ۱۰۴ ضرب می‌شوند (۱: ۳ ساعت، ۲: ۶ ساعت و ۳: ۲۴ ساعت).

MTT MACROPHAGE



شکل ۲- درصد حیات ماکروفاژهای مواجه شده با غلظت‌های مختلف عصاره‌های بهاری و پاییزی بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون



شکل ۳- درصد سلول‌های نکروز و آپوپتوز شده تاکی زوئیت در مواجهه با غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر از عصاره‌ها بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون (شکل سمت راست: عصاره بهاری، شکل وسط: عصاره پاییزی، شکل سمت چپ: کنترل بدون دارو)

دایسون و کوتریموکسازول (تریمتوپریم-سولفامتوکسازول) برای درمان بالینی توکسوپلاسموز معرفی شده‌اند. با این وجود، این داروها تحمل ضعیفی را نشان دادند و بر روی برادی زوئیت هم کم تأثیر هستند (۲۷، ۲۸). تحقیقات ما نشان داد که تاکی زوئیت‌های مجاور شده و مجاور نشده با عصاره‌های پاییزه و بهار عصاره آرتیمیزی اوجری نسبت به گروه شاهد که با گروه‌های پیریمتامین و سولفادiazین تحت درمان قرار گرفتند حساس‌تر بودند. نکته قابل توجه، عوارض جانبی بالینی جدی داروهای تجویز شده از یک طرف و بروز مقاومت در برابر برخی داروهای دیگر از طرف دیگر، اهمیت نیاز به یک داروی جدید که بتواند تمام نقاط ضعف را تحت پوشش خود قرار دهد را زیاد می‌کند.

از این رو، توسعه داروهای مؤثر، ایمن و تازه با استفاده از استراتژی‌های جدید و اقدام نوآورانه، یک روند و اولویت جهانی خواهد بود (۲۹). در مطالعه حاضر، اثر ضد توکسوپلازما گوندی عصاره بهاری و پاییزی آرتیمیزی اوجری را ارزیابی کردیم.

تحقیقات بی‌شماری اثرات ضد انگلی گیاهان را برای درمان عفونت‌های انگلی نشان داده است که اثرات آن‌ها به یک انگل مخصوص محدود نمی‌شود. گیاهانی مانند: اوریگوما لانگیفولیا (*Eurycoma longifolia* Jack)، گلیسیریزا گلابرا (*Glycyrrhiza glabra*) (شیرین بیان)، ورنونیا کولوراتا (*Vernonia colorata*)، جینگو بیلوبا (*Ginkgo biloba*)، آلیوم سپا (*Allium cepa*) (پیاز) و زنجبیل (*Zingiber officinale*) به عنوان گیاهان دارویی برای درمان عفونت‌های انگلی در کل دنیا به خصوص آسیا و آفریقا استفاده می‌شود. آن‌ها به عنوان

تاکی زوئیت توکسوپلازما گوندی با ۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر عصاره‌های پاییزی و بهاری آرتیمیزی اوجری به عنوان زیر محاسبه شد.

وقتی با عصاره پاییزه تحت درمان قرار گرفت، میزان سلول‌های طبیعی، نکروز و آپوپتوز شده به ترتیب ۹۳/۱، ۲/۴۵ و ۴/۴۹ درصد بود و وقتی با عصاره بهاره تحت درمان قرار گرفت، میزان به ترتیب ۶۰/۴، ۳/۹۹ و ۳۵/۵۴ درصد بود. در مقابل، این وضعیت برای گروه شاهد به ترتیب ۹۹/۳، ۰/۲۱ و ۰/۶۹۱ درصد بود. یافته‌ها در شکل ۳ نشان داده شده است.

بحث و نتیجه‌گیری

توکسوپلازما گوندی تک یاخته‌ای می‌باشد که می‌تواند بیش از یک سوم از جمعیت در سراسر جهان را آلوده کند (۱، ۲۴، ۲۵). به نظر می‌رسد استفاده از درمان‌های دارویی روتین ضد توکسوپلازما گوندی به دلیل عدم توانایی در ریشه کن کردن کیست تولید شده توسط انگل و عدم تحمل آن در بیماران نقص ایمنی کافی نیست (۹). پیریمتامین و سولفادiazین داروهای انتخابی برای درمان و پیشگیری از توکسوپلاسموز هستند. متأسفانه، علیرغم موفقیت در درمان عفونت، داروهای مذکور عوارض جانبی مانند: افت شدید تعداد پلاکت، نوتروپنی، لوکوپنی، ترومبوسیتوپنی، ناهنجاری‌های خونی، بالا رفتن کراتینین سرم و آنزیم‌های کبدی سرم و واکنش‌های حساسیت را نشان می‌دهند (۲۶). علاوه بر این، برخی از داروهای دیگر مانند آزیترومایسین، کلاریترومایسین، اسپیرامایسین، آتواکون،

و همکاران صورت گرفته است، آن‌ها تاثیرات عصاره آرتیمیزیا اوچری بر روی انگل آکانتاموبا را مورد بررسی قرار دادند که در این مطالعه از روش‌های MTT، تریپان بلو و فلوسایتومتری برای بررسی استفاده کردند (۳۱). نتایج مطالعه آن‌ها مشابه مطالعه ما نشان داد که افزایش زمان و غلظت عصاره باعث کاهش قابل ملاحظه انگل می‌شود. همچنین برخلاف مطالعه حاضر که نتایج فلوسایتومتری مقدار قابل توجهی از آپتوز را نشان می‌دهد، در مطالعه فوق مقدار آپتوز پایین‌تر از مطالعه حاضر بود (آپتوز اولیه: ۱/۵٪ و آپتوز ثانویه: ۴/۹٪). به طور کلی، نتایج این مطالعه مطابق با مطالعات قبلی است و نشان می‌دهد که عصاره آرتیمیزیا اوچری می‌تواند در از بین بردن تروفوزوئیت‌ها و کیست‌های انگل‌ها در شرایط برون تنی مؤثر باشد.

با گذشت زمان، با استفاده از داروهای گیاهی در درمان توکسوپلازما گوندی، یک امیدواری جدید ایجاد شده است. در حالی که کمبودهای فعلی در درمان دارویی آن‌ها را رضایت بخش نمی‌کند. طراحی دارویی با تحمل خوب، ایمن، مؤثر، سمیت پایین و کم هزینه، یک هدف بسیار با ارزش برای درمان و کنترل بیماری‌های جهانی است. عصاره تازه مورد بررسی قرار گرفته آرتیمیزیا اوچری می‌تواند این ویژگی‌ها را برآورده کند و یک عصاره کاندید برای طراحی و ترکیب جدید برای مقابله با توکسوپلاسموز باشد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله نویسندگان از کلیه کارکنان گروه انگل شناسی دانشگاه تربیت مدرس، ایران قدردانی و تشکر به عمل می‌آورد. همچنین از دکتر مسعود فروتن (دانشکده علوم پزشکی آبادان، آبادان، ایران) به دلیل مشاوره و نظرات مفید وی در نگارش مقاله بسیار سپاسگزاریم.

عوامل ضد التهابی، ضد تکثیر و مشابه سیستم ایمنی بدن به منظور مهار رشد داخل سلولی و غیرفعال کردن پروتئین‌های آپتوز در سلول‌های میزبان آلوده استفاده می‌شوند (۱۶). آزمایشات ثابت کرده است که ترکیباتی مانند آرتیمیسینین، آرتمتر و آرتسونات تولید شده توسط گونه آرتیمیسین اثر مهار بر رشد توکسوپلازما گوندی دارند (۳۰). آرتیمیسینین سلول‌های انگلی را با استفاده از رادیکال‌های آزاد اکسیژن بسیار واکنش پذیر، پروتئین‌های آلکیل کننده و اکسید کننده، واسطه‌های الکتروفیلی و لیپیدهای غشای انگل و از کار انداختن کانال‌های پروتئینی، ویران می‌کند (۱۷). علاوه بر این، اثر آرتیمیسینین با تداخل در زنجیره حمل و نقل الکترونی در غشای میتوکندری از طریق رادیکال‌های آزاد، منجر به اختلال عملکرد در میتوکندری می‌شود. با توجه به این واقعیت، عصاره‌های مورد مطالعه ما می‌توانند باعث بروز آپتوز شوند. عصاره بهاره (۵۴/۳۵) آرتیمیزیا اوچری در مقایسه با عصاره پاییز (۴۹/۴ درصد) می‌تواند اثرات آپتوز بیشتری در تاکی زوئیت‌های توکسوپلازما گوندی داشته باشد. در مطالعه کریمی پور و همکاران که مقایسه اثرات عصاره بهار و پاییز آرتیمیزیا اوچری بر روی لیشمانیا ماژور هر دو شرایط برون تنی و درون تنی انجام شد، میانگین تعداد آماستیگوت‌ها در هر ماکروفاژ تحت درمان با عصاره بهاره و پاییزی آرتیمیزیا اوچری به ترتیب ۱/۲ و ۱/۸ بود که اختلاف آماری معنی‌داری را نشان داد. همچنین نتایج فلوسیتومتری نشان داد که عصاره بهاری و پاییزی آرتیمیزیا اوچری به ترتیب در حدود ۳۲٪ و ۷۸٪ آپتوز ایجاد می‌کند (۱۹). نتایج مطالعه حاضر در راستای مطالعه انجام شده نشان می‌دهد که عصاره بهاره آرتیمیزیا اوچری دارای اثر مرگ و میر و درمانی بیشتری در شرایط آزمایشگاهی در مقایسه با عصاره پاییزی دارد. در مطالعه دیگری که توسط پازوکی

References

- Ghaffari AD, Dalimi A, Ghaffarifar F, Pirestani M. Structural predication and antigenic analysis of ROP16 protein utilizing immunoinformatics methods in order to identification of a vaccine against *Toxoplasma gondii*: An in silico approach. *Microbial Pathogenesis*. 2020;142:104079.
- Wang Z-D, Liu H-H, Ma Z-X, Ma H-Y, Li Z-Y, Yang Z-B, et al. *Toxoplasma gondii* infection in immunocompromised patients: a systematic review and meta-analysis. *Frontiers in microbiology*. 2017;8:389.
- Dubey JP. The history of *Toxoplasma gondii*—the first 100 years. *Journal of Eukaryotic Microbiology*. 2008;55(6):467-75.
- Torgerson PR, Mastroiacovo P. The global burden of congenital toxoplasmosis: a systematic review. *Bulletin of*

- the World Health Organization. 2013;91:501-8.
- 5- Foroutan-Rad M, Majidiani H, Dalvand S, Daryani A, Kooti W, Saki J, et al. Toxoplasmosis in blood donors: a systematic review and meta-analysis. *Transfusion medicine reviews*. 2016; 30(3): 116-22.
 - 6- Rostami A, Riahi SM, Contopoulos-Ioannidis DG, Gamble HR, Fakhri Y, Shiadeh MN, Foroutan M, Behniafar H, Taghipour A, Maldonado YA, Mokdad AH. Acute Toxoplasma infection in pregnant women worldwide: A systematic review and meta-analysis. *PLoS neglected tropical diseases*. 2019 Oct 14;13(10):78-07.
 - 7- Fallahi S, Rostami A, Shiadeh MN, Behniafar H, Paktinat S. An updated literature review on maternal-fetal and reproductive disorders of Toxoplasma gondii infection. *Journal of gynecology obstetrics and human reproduction*. 2018; 47(3): 133-40.
 - 8- Shariat E, Dalir Ghaffari A, Mosavipoor S, Namroodi S, Sadraie J. Electrochemiluminescence Epidemiologic Detection of Toxoplasma gondii Infection in Pregnant Women With Direct and Indirect Diagnostic Techniques (ELISA Avidity Plus Biochemical Assay), Tehran, Iran. *International Journal of Epidemiologic Research*. 2019; 6(2): 49-54.
 - 9- Antczak M, Dzitko K, Długońska H. Human toxoplasmosis—Searching for novel chemotherapeutics. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2016; 82: 677-84.
 - 10- Foroutan M, Ghaffarifar F, Sharifi Z, Dalimi A, Jorjani O. Rhoptry antigens as Toxoplasma gondii vaccine target. *Clinical and experimental vaccine research*. 2019; 8(1): 4-26.
 - 11- Zhang N-Z, Wang M, Xu Y, Petersen E, Zhu X-Q. Recent advances in developing vaccines against Toxoplasma gondii: an update. *Expert Review of Vaccines*. 2015; 14(12): 1609-21.
 - 12- Montazeri M, Sharif M, Sarvi S, Mehrzadi S, Ahmadpour E, Daryani A. A systematic review of in vitro and in vivo activities of anti-Toxoplasma drugs and compounds (2006–2016). *Frontiers in microbiology*. 2017; 8: 25.
 - 13- Newman DJ, Cragg GM. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. *Journal of natural products*. 2016; 79(3): 629-61.
 - 14- Kayser O, Masihi KN, Kiderlen AF. Natural products and synthetic compounds as immunomodulators. *Expert review of anti-infective therapy*. 2003; 1(2): 319-35.
 - 15- der Meersch Van H. Review of the use of artemisinin and its derivatives in the treatment of malaria. *Journal de pharmacie de Belgique*. 2005; 60(1): 23-9.
 - 16- Sharif M, Sarvi S, Pagheh AS, Asfaram S, Rahimi MT, Mehrzadi S, et al. The efficacy of herbal medicines against Toxoplasma gondii during the last 3 decades: a systematic review. *Canadian journal of physiology and pharmacology*. 2016; 94(12): 1237-48.
 - 17- Ridley R, Hudson N. Oxidative stress and antimalarial drugs. *Curr Biol*. 1998; 8: 346-9.
 - 18- Sharif M, Daryani A, Nasrolahei M, Nahravanian H, Rostami M. P250 Evaluation of anti-leishmanial efficacy by in vivo administration of herbal extract Artemisia auchery on Leishmania major in Balb/c mice. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2009; 34: 105.
 - 19- Karimpoursaryazdi A, Ghaffarifar F, Dalimi A, Dayer MS. In-vitro and in-vivo comparative effects of the spring and autumn-harvested Artemisia aucheri Boiss extracts on Leishmania major. *Journal of Ethnopharmacology*. 2020 Apr 25;257:112-910.
 - 20- Barati M, Sharifi I, Shariffar F, Hakimi Parizi M, Shokri A. Anti-leishmanial activity of gossypium hirsutum L., Ferula assa-foetida L. and Artemisia aucheri Boiss. Extracts by colorimetric assay. *Anti-Infective Agents*. 2014; 12(2): 159-64.
 - 21- Allahtavakoli M, Ârab Bani Âsad F, Mahmoudi M, Jafari Naveh H, Tavakolian V, Kamali M, et al. Effect of hydro-alcoholic extract of Artemisia aucheri on healing of skin wound in rat. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*. 2010; 20(77): 70-6.
 - 22- Ghaffarifar F, Heydari FE, Dalimi A, Hassan ZM, Delavari M, Mikaeiloo H. Evaluation of apoptotic and antileishmanial activities of Artemisinin on promastigotes and BALB/C mice infected with Leishmania major. *Iranian journal of parasitology*. 2015;10(2): 258.
 - 23- Bahadory ES, Asl AD, Mosavipoor SS, Ghaffari AD, Namroodi S, Novin SG. The therapeutic effect of Marrubium vulgare, Salvia officinalis and lippia citriodora in killing of toxoplasma gondii tachyzoite and evaluation by MTT assay. *Majallah-i pizishki-i Danishgah-i Uloom-i Pizishki va Khadamat-i Bihdashti-i Darmani-i Tabriz*. 2018; 39(6): 44-50.
 - 24- Ghaffari AD, Dalimi A. Molecular Identification of Toxoplasma gondii in the Native Slaughtered Cattle of Tehran Province, Iran. *Journal of food quality and hazards control*. 2019, 6(4): 153-161.
 - 25- Majidiani H, Dalimi A, Ghaffarifar F, Pirestani M, Ghaffari AD. Computational probing of Toxoplasma gondii major surface antigen 1 (SAG1) for enhanced vaccine design against toxoplasmosis. *Microbial Pathogenesis*. 2020 ;147:104-386.
 - 26- Silveira C, Belfort Jr R, Muccioli C, Holland GN, Victora CG, Horta BL, et al. The effect of long-term intermittent trimethoprim/sulfamethoxazole treatment on recurrences of toxoplasmic retinochoroiditis. *American journal of ophthalmology*. 2002; 134(1): 41-6.
 - 27- Serranti D, Buonsenso D, Valentini P. Congenital toxoplasmosis treatment. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2011; 15(2): 193-8.
 - 28- Petersen E, Schmidt DR. Sulfadiazine and pyrimethamine in the postnatal treatment of congenital toxoplasmosis: what are the options? *Expert review of anti-infective therapy*. 2003;1(1):175-82.

- 29- Lai B-S, Witola WH, El Bissati K, Zhou Y, Mui E, Fomovska A, et al. Molecular target validation, antimicrobial delivery, and potential treatment of *Toxoplasma gondii* infections. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012; 109(35): 14182-7.
- 30- Sarciron ME, Saccharin C, Petavy AF, Peyron F. Effects of artesunate, dihydroartemisinin, and an artesunate-dihydroartemisinin combination against *Toxoplasma gondii*. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2000; 62(1): 73-6.
- 31- Pazoki R, Raeeni MGN, Ghaffarifar F, Saryazdi AK, Bineshian F. The Effect of Aqueous Extract of *Artemisia aucheri* Seed on *Acanthamoeba* In vitro. *Journal of Pharmaceutical Research International*. 2019; 31: 1-10.