

بررسی اثر عصاره آبی سیر بر تغییرات پاتولوژیکی روده باریک در خرگوش‌های آلوده به سالمونلاتیفی موریوم

محمد رضا جلالی ندوشن^۱، حسین جعفری^۲ و پرویز اولیاء^۳

چکیده

مقدمه و هدف: از جمله عفونت‌های روده‌ای شایع عفونت‌های سالمونلایی می‌باشد که منجر به تغییرات التهابی در مخاط روده باریک می‌گردد. بدیهی است درمان ضد میکروبی مناسب می‌تواند منجر به کاهش تغییرات هیستولوژیکی در مخاط روده گردد. بر همین اساس در این مطالعه تأثیر عصاره آبی سیر بر کاهش تغییرات التهابی در مخاط روده باریک مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روشها: در این مطالعه ۳ گروه ۲۰ تایی خرگوش نژاد *Dutch-polish* مورد مطالعه قرار گرفتند همه حیوانات با 10^{11} CFU باکتری سالمونلاتیفی موریوم آلوده شدند. ۴۸ ساعت پس از درمان دو گروه از خرگوشها با میزان 20 mg/kg و 40 mg/kg عصاره آبی سیر تحت درمان خوراکی قرار گرفتند و گروه دیگر بدون درمان تحت نظر بودند. ۷ روز پس از درمان حیوانات کشته و روده باریک آنها در مقاطع مختلف مورد مطالعه پاتولوژیکی قرار گرفت. پس از آماده‌سازی و برش استاندارد نمونه‌ها، رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین انجام و سه یافته ادم، پرخونی و ارتشاح سلول التهابی بررسی شد.

یافته‌ها: از نظر شدت ارتشاح سلولی التهابی، ادم پرخونی با آزمون آماری *Fisher exact Test* اختلاف آماری معنی‌داری بین سه گروه وجود داشت.

نتیجه‌گیری: عصاره آبی سیر در کاهش شدت التهاب در مخاط روده باریک در عفونت ناشی از سالمونلاتیفی موریوم مؤثر بوده و بر همین اساس مطالعات کاملتری جهت شناخت کامل اثرات آن و استفاده در طب بالینی توصیه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: سیر، سالمونلا، پاتولوژی، ضد میکروبی، ضد التهاب

مقدمه

بیماریهای ناشی از سالمونلا در انسان و حیوانات از زمانهای قدیم وجود داشته و همواره همراه با مشکلات جدی برای جوامع مختلف بوده است. به طور کلی عفونتهای سالمونلایی به دو گروه تیفی و غیرتیفی تقسیم می‌گردند که در اواخر قرن بیستم شیوع نوع غیرتیفی در آمریکا افزایش یافته و در آمریکا شایعترین فرم سالمونلاتیفی موریوم است (Parker- Baried Ac., ۱۹۹۰). اکثر موارد غیرتیفی از راه خوراکی وارد بدن شده و بعد از اینکه وارد بدن شد در روده کلونیزه شده و سلولهای پوششی روده را مورد تهاجم قرار می‌دهد (Ross و همکاران، ۲۰۰۱). کلونیزاسیون باکتری در روده منجر به تغییرات التهابی در آن می‌گردد. التهاب اگرچه در راستای دفاع از بدن است و شدت آن می‌تواند نشانگر شدت بیماری باشد، ولی خود به مثابه شمشیر دولبه‌ای است که می‌تواند به بدن آسیب برساند و در نتیجه کاهش شدت التهاب علاوه بر اینکه می‌تواند نشانگر کاهش شدت بیماری بلکه نشانگر کاهش آسیبی باشد که ناشی از التهاب به بدن وارد می‌شود. پس مواد یا داروهایی که دارای هر دو اثر ضد میکروبی و ضد التهاب باشند می‌توانند عوارض و علائم بیماری را کاهش دهند.

یکی از روشهای درمانی مطرح برای بیماریهای مختلف استفاده از گیاهان دارویی است. از جمله گیاهان دارویی که خواص متعددی در مقالات مختلف از جمله اثرات ضد میکروبی، ضد التهابی و تنظیم کننده سیستم ایمنی برای آن گزارش شده است سیر می‌باشد (Ankri و Mirelaman، ۱۹۹۱، Dirsch و Vollmar، ۲۰۰۱، Ghazanfari و همکاران، ۲۰۰۰، Kyo و همکاران، ۲۰۰۱، Baron، ۱۹۹۱ و Sivam، ۲۰۰۱).

با توجه به مطالب فوق و از آنجا که تا به حال مطالعه‌ای جهت بررسی اثر گیاه دارویی سیر بر روی وضعیت التهاب در روده باریک در عفونتهای روده‌ای مختلف از جمله سالمونلا انجام نشده این مطالعه طراحی و انجام گردید.

مواد و روشها

این مطالعه به صورت *preclinical trial* و از نوع تجربی جهت بررسی تغییرات پاتولوژیکی روده باریک خرگوش ناشی از سالمونلاتیفی موریوم درمان شده با عصاره آبی سیر بر روی ۶۰ خرگوش نژاد *Dutch-polish* در سه گروه انجام شد. ابتدا عصاره آبی سیر تازه همدان تهیه گردید. خرگوشها با تعداد 10^{11} CFU از سویه سالمونلاتیفی موریوم تهیه شده از دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران به صورت خوراکی آلوده گردیدند. ۲۴ ساعت قبل از آلودگی جهت کاهش pH معده برای ایجاد آلودگی موفق از سیمتدین و بی کربنات سدیم جهت کاهش pH معده و در نتیجه ایجاد آلودگی موفق استفاده گردید (جعفری و همکاران، ۱۳۸۲).

حیوانات به صورت تصادفی در ۳ گروه ۲۰ تایی قرار گرفتند و ۲۴ ساعت پس از آلودگی، کشت مدفوع از تمام حیوانات انجام شد تا آلودگی در آنها به اثبات برسد که تمام حیوانات علاوه بر علائم بالینی دال بر عفونت، کشت مدفوع مثبت نیز داشتند.

۴۸ ساعت پس از آلودگی دو گروه از خرگوشهای آلوده جهت درمان با عصاره آبی سیر به ترتیب با میزانهای ۲۰ mg/kg و ۴۰ mg/kg به صورت خوراکی سه بار در روز قرار گرفتند (جعفری و همکاران، ۱۳۸۲) و گروه دیگر بدون درمان تحت نظر بودند. ۷ روز پس از آلودگی تمام حیوانات بیهوش و کشته شدند و روده باریک آنها از شکم خارج گردید. پس از شستشوی روده‌ها با سرم فیزیولوژی، جهت تثبیت در فرمالین بافره ۱۰٪ قرار گرفتند. ۲۴ ساعت پس از فیکس، از قسمتهای مختلف روده باریک مقاطع ۲ میلیمتری تهیه و توسط دستگاه پردازنده بافت مراحل آماده سازی بافت شامل آبگیری و شفاف سازی به روش روتین انجام شد. سپس نمونه‌ها در پارافین قالبگیری شده و برشهای ۴ میکرونی توسط دستگاه میکروتوم تهیه گردید. نمونه‌ها به روش روتین هماتوکسیلین - ائوزین رنگ آمیزی گردیدند و توسط میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفت.

در مطالعه میکروسکوپی سه یافته ادم، پرخونی و شدت ارتشاح سلولهای التهابی مورد توجه قرار گرفت. در مورد هر یک از این یافته‌ها در صورت عدم وجود علامت میکروسکوپی - (منفی)، شدت کم علامت میکروسکوپی + و در مواردی که علامت شدید بود ++ در نظر گرفته شد.

هر سه یافته فوق با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS Ver 9 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج

تغییرات میکروسکوپی براساس شدت یافته‌ها در خرگوشهای آلوده در تصاویر میکروسکوپی نشان داده شده است (تصاویر شماره ۱ و ۲).

نتایج مربوط به تغییرات میکروسکوپی از نظر سه یافته شدت ارتشاح سلولی (شدت التهاب)، پرخونی و ادم در گروههای مختلف در جدول شماره ۱ نشان داده شده است

جدول شماره ۱- فراوانی نسبی شدت یافته‌های التهاب، پرخونی و ادم در حیوانات گروههای مختلف شامل بدون درمان، درمان با میزان پایین و میزان بالا

یافته‌ها	شدت التهاب			پرخونی		ادم		
	++	+	-	++	+	++	+	-
بدون درمان	۰٪	۱۰٪	۹۰٪	۰٪	۳۵٪	۶۵٪	۰٪	۲۵٪
میزان پایین	۳۰٪	۲۰٪	۵۰٪	۴۰٪	۳۰٪	۳۰٪	۴۰٪	۲۰٪
میزان بالا	۴۰٪	۴۵٪	۱۵٪	۴۵٪	۳۵٪	۲۰٪	۵۵٪	۲۰٪

از نظر شدت التهاب با آزمون آماری *Fisher exact test* اختلاف آماری معنی‌داری بین گروههای مختلف وجود داشت ($P=0.001$). از نظر شدت پرخونی با آزمون آماری فوق اختلاف آماری معنی‌داری بین سه گروه مورد مطالعه وجود داشت ($P=0.006$) همچنین با آزمون آماری *Fisher* اختلاف آماری از نظر شدت ادم میان گروههای مختلف معنی‌دار بود ($P=0.003$).

بحث

سیر گیاهی تکه لپه‌ای است که از قدیم در درمان بیماریهای مختلف مورد توجه بوده است از جمله خواص این گیاه دارویی اثر ضدباکتریال است که اولین مستند ثبت شده در این مورد مربوط به لویی پاستور در سال ۱۸۵۸ می‌باشد (Shashika, ۱۹۸۳). علاوه بر این به خصوص در سالیان اخیر اثرات ضدالتهابی و تنظیم کننده سیستم ایمنی این گیاه مورد توجه قرار گرفته است (Dirsch و Vollmar, ۲۰۰۱, Ghazanfari و همکاران, ۲۰۰۰, Kyo و همکاران, ۲۰۰۱) ولی تا به حال برای بررسی تغییرات پاتولوژیکی در ارگانهای مبتلا به بیماری عفونی در درمان با این گیاه دارویی گزارشی در منابع انگلیسی زبان چاپ نشده است. آنچه که در این مطالعه مشخص گردید بیانگر اثرات سیر بر روی تغییرات پاتولوژیکی روده باریک می‌باشد. سه علامت مهم میکروسکوپی در ارزیابی التهاب وجود سلولهای التهابی، پرخونی و ادم می‌باشد که در این مطالعه مورد ارزیابی قرار گرفتند. در گروه بدون درمان علائم شدید میکروسکوپی در اکثریت حیوانات مورد مطالعه وجود داشت، ولی در گروهی که با میزان بالای عصاره آبی سیر درمان شدند التهاب شدید تنها در مقدار کمی از حیوانات وجود داشت که این یافته می‌تواند بیانگر دو اثر مهم این گیاه دارویی یعنی اثر ضد میکروبی و در نتیجه کاهش التهاب یا اثر ضد التهابی این گیاه دارویی به صورت اولیه باشد.

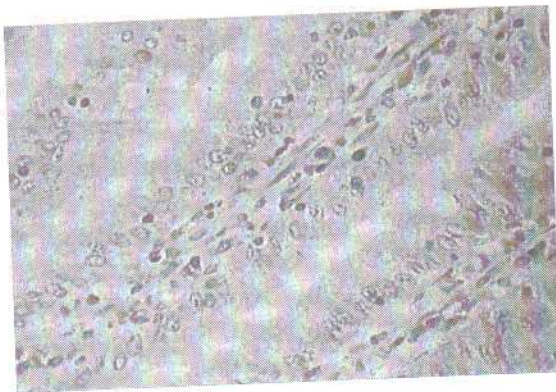
اگرچه مطالعه‌ای برای بررسی تغییرات پاتولوژیکی انجام نشده است، ولی مطالعات دیگری که انجام شده نشانگر اثرات ضدباکتریال سیر می‌باشد که می‌تواند توجیه کننده کاهش شدت التهاب نیز باشد در مطالعه‌ای که توسط Kumar M و Brawal Js, ۱۹۹۸ انجام شده اثرات مهارکننده عصاره سیر را در آزمایشگاه بر روی سالمونلاتیفی موریوم به اثبات رسانده است. در مطالعه دیگری که توسط Arora و Kaur, ۱۹۹۹ انجام شده نیز در آزمایشگاه اثرباکتریسیدال سیر را بر روی سالمونلا به اثبات رسانده است. از

طرف دیگر مطالعه دیگری که توسط Vollmar و Dirsch، ۲۰۰۱ انجام شده است نتیجه گرفته که سیر اثری ضدالتهابی دارد که اثر ضدالتهابی این گیاه مشابه داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی می‌باشد. در مجموع مطالعات ذکر شده تأیید کننده نتایج مطالعه ما یعنی اثر ضد میکروبی عصاره سیر و همین طور اثر ضدالتهابی این گیاهی می‌باشد. عصاره آبی سیر در کاهش شدت تغییرات پاتولوژیکی روده باریک در خرگوش‌های آلوده با سالمونلاتیفی موریوم مؤثر بوده که این اثر می‌تواند ناشی از اثرات ضد میکروبی یا ضدالتهابی این گیاه باشد که برای بررسی هر کدام از این موارد مطالعات دیگری به صورت جداگانه توصیه می‌گردد.

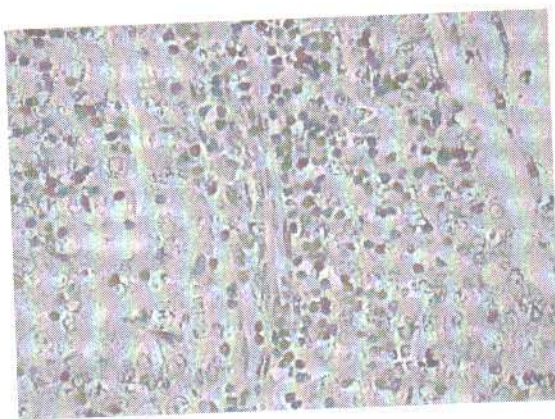
تقدیر و تشکر: مؤلفان برخود لازم می‌دانند از زحمات آقایان مهندس نادر فلاح، صادق منصوری و خانم مریم شرایلی که در انجام این تحقیق همکاری نموده‌اند تشکر و قدردانی نمایند.

منابع

- جعفری، ح.، و همکاران. ۱۳۸۲. اثرسیر برکلونی‌های سالمونلاتیفی موریوم. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی قزوین شماره ۲۵ ص ۱۲-۸.
- Ankri, S.; Mirelaman,D.,1991,"Antimicrobial properties of allicin from garlic", *Microbes Infect*, 1:125-9.
 - Arora,D.S. and Kaur,J., 1999,"Antimicrobial activity of spices", *Int J. Antimicrob Agents*, 12:257-62.
 - Dirsch,V.M.; and Vollmar,A.M., 2001,"Ajoene, a natural product with non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID)-like properties", *Biochem phatmacol* , 61:587-91.
 - Ghazanfari,T.; Hassan,Z.M.; Ebtekar,M.; Ahmadiani,A.; Naderi,G. and Azar,A., 2000, "Garlic induces a shift in cytokine pattern in *Leishmania major* infected BALB/c mice", *Scan J. Immunol*, 52:491-5.
 - Kumar,M.; Brawal,J.S.,1998, "Sensitivity of food pathogens to garlic (*Allium Sativum*)", *J. Appl. Microbiol*, 84(21):213-5.
 - Kyo,E.; Uda, N.; Kasuga,S. and Itakura,Y., 2001, "Immuno-modulatory effects of aged garlic extract", *J. Nutr* 131:175-9.
 - Parker-Baried Ac. ,1990, "Foodborn salmonellosis", *Lancet* 336:1231-5.
 - Ross,Z.M.; Ogara,E.A.; Hill,D.J.; Slieghtholme,H.V. and Maslin,D.J.,2001, "Antimicrobial properties of garlic oil against human enteric bacteria: evaluation of methodologies and comparisons with garlic oil sulfides and garlic Powder", *Appl. Environ Microbiol* 67:475-80.
 - Baron,S., 1991, " Medical Microbiology 3th ed. Churchill Livingstone" P.318-23.
 - Shashika,K.N., 1983, "Studies on the antimicrobial and microbial growth stimulatory principles of garlic", (Ph.D thesis), University of Mysore (Abstract).
 - Sivam,G.P., 2001, " Protection against *Helicobacter pylori* and other bacterial infections by garlic", *J. Nutr.*, 131:11065-85.



تصویر شماره ۱- التهاب ادم و پرخونی خفیف در مخاط روده باریک خرگوشهای آلوده به سالمونلا تیفی موریوم درمان شده با میزان بالای عصاره آبی سیر



تصویر شماره ۲- التهاب ادم و پرخونی شدید در مخاط روده باریک خرگوشهای آلوده به سالمونلا تیفی موریوم بدون درمان با عصاره آبی سیر

The effect of aqueous garlic extract on salmonella typhimurium induced intestinal pathologic changes in rabbit.

M. R. Jalali Nadoushan¹, H. Jafari² and P. Owlia³

Abstract

Purpose: Intestinal infection by salmonellae are common. These infections induce Histopathologic changes in intestinal mucosa. Appropriate anti microbial therapy decreases histopathologic changes. In this research, we studied effect of aqueous garlic extract on intestinal histopathology changes.

Materials & Methods: This study has been conducted by participating 3 groups, each of included 20 rabbits. Rabbits have been infected by salmonella typhimurium orally. 48 hours after contamination, two treated groups have been taken on therapy with 20mg/kg and 40mg/kg garlic extract 3 times daily. 7 days after treatment, rabbits killed and small intestine for pathologic study excised.

Findings: Histologic findings including edema, inflammatory cells infiltration and hyperemia shown statistical difference between groups.

Conclusion: Aqueous garlic extract decreases severity of inflammation induced by salmonella typhi murinum in intestine of rabbit. But for routine use of garlic, other studies are recommended

Key words : Garlic, Salmonella, Pathology. Antibacterial, Anti - inflammatory

1- Assistant Professor-Pathology Department-Shahed University

2- Academic Member-Pharmacology Department-Qazvin University Of Medical Sciences

3- Associate Professor-Microbiology Department-Shahed University