

ارزیابی اثر ضد التهابی داروی Theranekron در موش صحرائی

سعید حبیبیان دهکردی^{۱*}، حسین نورانی^۱، سیاوش شریفی^۱، معصومه احدیان^۲،
کاملیا تقدسی^۳، مریم اخوان طاهری^۳

۱- استادیار، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهر کرد، شهرکرد- ایران.
۲- دانش آموزخته، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهر کرد، شهرکرد- ایران.
۳- دانشجو، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهر کرد، شهرکرد- ایران.

چکیده

ترانکرون عصاره الکلی زهر رتیل *Tarantula cubensis* است که بر روی روند تشکیل بافت پوششی قسمت های ملتهب تاثیر می گذارد. علی رغم این که گزارش های اندکی از تاثیرهای این ترکیب بر روند التهاب در دست می باشد اما می توان از ترانکرون در گاو، اسب، گوسفند، بز، خوک و سگ استفاده نمود. هدف از این مطالعه، ارزیابی تاثیرات ضد التهابی داروی ترانکرون در موش صحرائی پس از تزریق زیر جلدی این دارو می باشد. بدین منظور تعداد ۳۰ موش صحرائی با میانگین وزنی 25.0 ± 3.0 گرم انتخاب و به طور تصادفی به دو گروه ۱۵ تایی تقسیم شدند. تحت شرایط استریل، برشی دایره ای به قطر $1/5$ سانتیمتر در پوست ناحیه کمر موش های صحرائی گروه اول و دوم ایجاد گردید. بلافاصله پس از انجام عمل جراحی و نیز در روز چهارم به ۱۵ موش گروه اول $1 \mu\text{L/g}$ از داروی ترانکرون و به موش های گروه دوم حجم مشابهی از سرم فیزیولوژی استریل به صورت زیر پوستی تزریق گردید. در روز ۷ پس از جراحی موش های گروه های اول و دوم بی هوش و از محل زخم، نمونه بافتی و از قلب آنها میزان دو میلی لیتر خون گرفته شد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که ترانکرون می تواند از تغییرهای تابلوی خونی جلوگیری کند. علاوه بر این مطالعه های هیستوپاتولوژیک نشان داد که در گروه اول تعداد کمتری سلول های التهابی در محل جراحی در مقایسه با گروه دوم وجود دارد. از نتایج مطالعه حاضر می توان نتیجه گیری کرد که ترانکرون می تواند به عنوان یک ماده ضد التهاب استفاده شود.

واژه های کلیدی: التهاب، موش صحرائی، ترانکرون، زخم.

مقدمه

زیرا زهر این موجود قادر به ایجاد التهاب همراه با درد شدید، قرمزی موضع، ایجاد و زیکول های کوچک و گرما است (۷). این دارو موارد کاربرد زیادی دارد از جمله در درمان زخم هایی که بهبود نمی یابند، نکروز و مرگ سلولی، درمان پاپیلوماهای سطح پوست و یا بافت پستان گاو، گوسفند و بز، سرطان های پستانی و سایر تومورها استفاده می شود. همچنین در درمان عفونت ها و ضایعه های سم، زخم های ناشی از FMD، اکتیما، ضایعه های آبله، جفت ماندگی، زخم های کانال زایمان و ورم پستان ها نیز کمک می کند (۴، ۵، ۷). از آنجا که اطلاعات کمی در مورد اثرهای این دارو بر تابلوی خونی و روند التیام زخم موجود می باشد، هدف از مطالعه حاضر ارزیابی اثرات ضد التهابی این ماده در موش صحرائی و تاثیرات این ترکیب بر روند ترمیم زخم می باشد.

مواد و روش کار

سی عدد موش صحرائی با میانگین وزنی 25.0 ± 3.0 گرم

اگر چه داروهای ضد التهاب مختلفی از جمله گلوکوکورتیکوئیدها، داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی و آنتاگونیست های لکوترینی وجود دارد، اما به دلیل عوارض جانبی آنها از قبیل ایجاد زخم های گوارشی، سقط جنین، تغییرهای بارز در تابلوی خونی، کاهش روند التیام زخم، پوکی استخوان، سرکوب آدرنال، مهار رشد، دیابت، تحلیل عضلات، تجمع نمک و ... تلاش برای یافتن مواد و داروهای جدید که اثرات ناخواسته کمتری داشته باشند ادامه دارد (۱). ترانکرون عصاره کامل رتیل *Tarantula cubensis* می باشد که به صورت عصاره رقیق شده در الکل در دسترس می باشد. این ترکیب ضد مواد ایجاد کننده التهاب است و باعث جدا شدن راحت تر و سریع تر بافت های مرده از بافت زنده می شود (۶). ترمیم سریع تر و جایگزینی با شتاب تر بافت اپیتلیوم نیز به دنبال مصرف آن گزارش شده است. علاوه بر این ادم، تورم و ترشحات را کم نموده و نهایتاً بهبود می بخشد (۹). درمان بر پایه اصول هومیوپاتی است



لام های تهیه شده تفاوت مشخصی را در روند تشکیل بافت پوششی و تشکیل بافت گرانوله در گروه تیمار نشان دادند. اما در گروه شاهد اختلال در ترمیم زخم مشاهده گردید. در گروه شاهد در ناحیه زیر زخم نفوذ شدید سلول های التهابی شامل نوتروفیل ها، لنفوسیت ها و پلاسماسل، اتساع و پرخونی مویرگ ها، تشکیل مویرگ های تازه و تکثیر بافت همبند مشاهده شد. همچنین نواحی نکروزه و عفونت های ثانویه در محل سطحی زخم وجود داشت (شکل شماره ۱). در گروه تیمار در ناحیه زیر زخم اتساع و پرخونی مویرگ ها، نفوذ سلول های التهابی شامل لنفوسیت و پلاسماسل به میزان کمتر، عروق مویرگی تازه تشکیل، تکثیر سلول های فیبروبلاست و باز سازی سلول های اپیدرم مشاهده شد (شکل شماره ۲).

بحث

با آنکه پاسخ اولیه التهابی برای ترمیم زخم مناسب و ضروری به نظر می رسد اما التهاب مزمن به همراه حضور مداوم لوکوسیت های پلی مورفو نوکلئار ممکن است باعث تخریب سلولی، تغییر در ترکیب ماتریکس خارج سلولی و در نتیجه نارسایی در روند تشکیل بافت پوششی شود (۲، ۳).

با توجه به برخی گزارش ها در مورد تاثیر ضد التهابی ترانکرون، این گونه می توان اظهار داشت که این ترکیب قادر به جلوگیری از التهاب بیشتر و بنابراین ترمیم بهتر زخم می باشد. همچنین، ترانکرون با تشکیل خط حد فاصل و ایجاد بافت مرده موجب جدا شدن بافت مرده از بافت زنده در سطح سلولی می گردد (۹). در این مطالعه، بررسی میکروسکوپی لام های تهیه شده تفاوت مشخصی را در روند تشکیل بافت پوششی و تشکیل بافت گرانوله در گروه اول نشان دادند، ولی در گروه دیگر اختلال در ترمیم زخم مشاهده گردید. مهاجرت گلبول های سفید به محل یکی از مراحل التهاب می باشد. مهاجرت سلولی نتیجه وقایع مختلفی از جمله چسبندگی و حرکت سلولی است. در مطالعه حاضر اثر ترانکرون بر مهاجرت سلولی بررسی شد. ترانکرون مهاجرت لکوسیت ها به خصوص نوتروفیل ها را به محل زخم مهار کرده است.

راگاونرا و همکاران در سال ۲۰۰۶ اظهار نموده اند که نوتروفیل ها نقش مهمی را در شرایط التهابی ایجاد می کنند. این سلول ها در محل التهاب مستقر شده و واسطه های التهابی

انتخاب و به طور تصادفی به دو گروه ۱۵ تایی توزیع شدند. پس از ایجاد بی هوشی، تحت شرایط استریل و پس از تراشیدن موهای ناحیه کمر، برشی دایره ایی به قطر ۱/۵ سانتیمتر در پوست ناحیه ی کمر موش های صحرایی گروه اول و دوم ایجاد گردید. جهت ایجاد بی هوشی ترکیبی از کتامین (۸۷ mg/kgBw) و زایلازین (۱۳ mg/kgBw) به صورت عضلانی تزریق شد. بلافاصله پس از جراحی و نیز در روز چهارم به ۱۰ موش صحرایی گروه اول ۱ μl/g از داروی ترانکرون و به موش های گروه دوم حجم مشابه ایی از سرم فیزیولوژی استریل به صورت زیر پوستی تزریق گردید. در روز ۷ پس از جراحی موش های گروه های اول و دوم با استفاده از اتر بی هوش و از محل زخم، نمونه بافتی و از قلب آنها میزان دو میلی لیتر خون گرفته شد. خون های گرفته شده در لوله های آزمایش حاوی ماده ضد انعقاد EDTA جمع آوری و جهت بررسی های خون شناسی استفاده شدند. نمونه های بافتی نیز پس از شستشو با سرم فیزیولوژی در فرمالین ۱۰٪ بافر پایدار شدند. لازم به توضیح است که جهت نفوذ بهتر و فیکس کامل تر، فرمالین ۱۰٪ بافر نمونه ها پس از ۲۴ ساعت با فرمالین ۱۰٪ بافر جدید تعویض شد. از نمونه های بافتی مقاطع ۶ میکرونی تهیه و پس از رنگ آمیزی هماتوکسیلین-اوتوزین (H&E)، در زیر میکروسکوپ نوری جهت یافتن تغییرهای هیستوپاتولوژیک مورد بررسی قرار گرفتند. در این مطالعه از آزمون t برای مقایسه داده های دو گروه شاهد و تیمار و تعیین معنی دار بودن اختلاف های مشاهده شده در سطح (p < ۰/۰۵) استفاده گردید.

نتایج

نتایج آزمایش های خون شناسی به این صورت بود که در تعداد گلبولهای قرمز، درصد هماتوکریت، غلظت هموگلوبین، درصد اندیس های گلبولی شامل MCHC، MCV، MCH، تعداد پلاکت ها، درصد اتوزینوفیل ها و درصد مونوسیت ها بین گروه های شاهد و تیمار اختلاف معنی داری وجود نداشت (جدول ۱). افزایش معنی داری در تعداد گلبول های سفید، درصد لنفوسیت ها و درصد Band cells در گروه شاهد در مقایسه با گروه تیمار مشاهده شد (p < ۰/۰۵). درصد نوتروفیل ها در گروه تیمار در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی داری بیشتر بود (p < ۰/۰۵). مطالعه ی میکروسکوپی



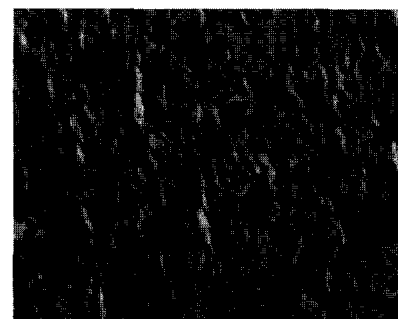
جدول شماره ۱- میانگین و خطای معیار پارامترهای خونی اندازه گیری شده در گروه های شاهد و تیمار

تیمار	شاهد	پارامترهای اندازه گیری شده
۶۶۲۰ ± ۶۸۱	۶۸۲۵ ± ۷۹۷	تعداد گلبول های قرمز × ۱۰۰۰
۴۲/۴۰ ± ۱/۲۳	۴۰/۲۵ ± ۲/۸۶	درصد هماتوکریت
۱۴/۴۰ ± ۴/۵۹	۱۳/۵۰ ± ۱/۱۲	درصد هموگلوبین
۶۵/۰۰ ± ۳/۶۳	۵۹/۷۵ ± ۳/۶۳	درصد MCV
۲۲/۱۴ ± ۱/۶۲	۲۰/۰۲ ± ۱/۰۸	درصد MCH
۳۳/۹۳ ± ۰/۱۹	۳۳/۴۶ ± ۰/۴۵	درصد MCHC
۲۹۶ ± ۳۰	۳۷۶ ± ۵۶	تعداد پلاکت ها × ۱۰۰۰
۷۹۴۰ ± ۷۱۵*	۱۱۵۸۷ ± ۱۳۷۸	تعداد گلبول های سفید
۱۱/۰۰ ± ۱/۹*	۱۶/۷۵ ± ۱/۵۴	درصد لنفوسیت ها
۳/۰۰ ± ۱/۰۴	۲/۲۵ ± ۰/۸۵	درصد منوسیت ها
۲/۸۰ ± ۰/۸۶	۳/۷۵ ± ۰/۴۷	درصد ائوزینوفیل ها
۷۱/۸۰ ± ۱/۶۵*	۶۴/۷۵ ± ۱/۴۹	درصد نوتروفیل ها
۸/۸۰ ± ۰/۸۰*	۱۴/۰۰ ± ۱/۰۸	درصد Band Cells

* تفاوت با شاهد معنی دار است (P < ۰/۰۵)



شکل شماره ۲- هیپرپلازی شدید سلول های اپیدرم در لبه زخم که باعث گسترش زوائد طولی به داخل درم شده است. (رنگ آمیزی HE و بزرگنمایی ۳۷۰)



شکل شماره ۱- تشکیل بافت همبند جدید همراه با حضور سلول های آماسی به خصوص نوتروفیل ها در قاعده زخم. (رنگ آمیزی HE و بزرگنمایی ۵۲۸)

آنها در محل زخم کمتر ولی در گردش خون در مقایسه با گروه شاهد بیشتر بوده است. در مطالعه حاضر تعداد گلبول های سفید در گروه شاهد بسیار بیشتر از گروه تیمار است که بیانگر اثر ضد التهابی ترانکرون می باشد.

در تحقیق حاضر با بررسی اسلایدهای هیستوپاتولوژی دو گروه شاهد و تیمار مشخص گردید که در هر دو گروه سلول های التهابی کم و بیش حضور دارند اما میزان آنها (لنفوسیت و پلاسماسل)

از قبیل لکوترین ها را آزاد می سازند. لکوترین ها در پاتوفیزیولوژی اختلال های آلرژی و التهابی و نیز بیماری پسوریازیس (نوعی التهاب مزمن پوست) نقش دارند (۸). در تحقیق حاضر درصد نوتروفیل های گردش خون در گروه تیمار نسبت به گروه شاهد بیشتر بوده است. می توان چنین استنباط کرد که ترانکرون سبب کاهش التهاب و در نتیجه سبب کاهش کموتاکسی نوتروفیل ها در محل التهاب می گردد بنابراین تعداد



کرد که ترانکرون می تواند به عنوان یک ماده ضد التهابی و ماده ای کمکی برای ترمیم زخم های پوستی مورد استفاده قرار گیرد.

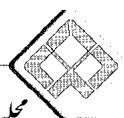
منابع

- 1- Adams, H.R; Veterinary Pharmacology and Therapeutics. Iowa state press, 8th ed. 2001; p: 473.
- 2- Cotran, S.C; Kumar, V. and Robbins, S. L; Cellular growth and differentiation: normal regulation and adaptations. Inflammation and repair. In: Schoen FJ (ed) Robin's pathologic basis of disease, 5th ed. W.B. Saunders, Philadelphia, 1994; pp: 35- 92.
- 3- Knottenbelt, D.C; Equine wound management: are there significant differences in healing at different sites on the body Vet. Dermatol; 1997; 8: 273-290.
- 4- Koch, H. and Stein, M; Conservative therapy of neoplastic changes of the lactiferous gland of dogs with Theranekron. Prakt. Tierarzt, 1980; 5: 1-4.
- 5- Koch, H. and Stein, M; Conservative and surgical treatment of panaritium in cattle by using Theranekron. Prakt. Tierarzt, 1980; 2: 116-117.
- 6- May, J; Treatment of panaritium in cattle with Theranekron. Wien. Tierarztl. Monatsschr; 1976; 6: 228-231.
- 7- Mezger, J; Prospected homeopathic pharmaceutical product device. Australas. Nurses J; 1977; 2: 1418-1421.
- 8- Raghavenra, H; Diwakr, B.T; Lokesh, B.R. and Naidu, K.A; Eugenol the active principle from cloves inhibits 5- lipoxygenase activity and Leukotriene-C4 in human PMNL cells. Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids, 2006; 74: 23-7.
- 9- Stampa, S; A field trial comparing the efficacy of Sulfa monomethoxine, Penicillin and Tarantula poison in the treatment of pododermatitis circumspecta in cattle. J. S. Afr. Vet. Assoc; 1986; 91-93.

در گروهی که ترانکرون دریافت نموده اند کمتر از گروه دیگر می باشد که نمایانگر اثر ضد التهابی آن می باشد. در بررسی اسلایدهای هیستوپاتولوژی با توجه به حضور عفونت ثانویه و نواحی نکروتیک در محل سطحی زخم در گروه شاهد و عدم مشاهده عفونت و نواحی نکروتیک در گروه تیمار می توان به اثر ضد عفونی کننده و ضد میکروبی ترانکرون پی برد. در همین راستا در سال ۱۹۷۶، May جهت درمان ۲۶ گاو مبتلا به نکروز عفونی فضای بین انگشتی و پوست تاجی سم از این دارو استفاده کرد. نتایج نشان داد که ۲۴ رأس از گاوها در مراحل اولیه بیماری بهبود یافتند. دو رأس از گاوها دچار کندیدگی سم شده و علاوه بر درمان آنتی بیوتیکی نیاز به عمل جراحی نیز پیدا کردند. از ۲۴ گاو درمان شده، ۲۱ گاو تنها نیاز به یکبار تجویز دارو به میزان ۱۵ میلی لیتر داشتند (۶).

Koch و Stein در سال ۱۹۸۰ بررسی بر روی درمان زخم کف سم با ترانکرون انجام دادند بدین صورت که برای درمان ۱۶۹ گاو از این ماده و داروهای ضد درد به طور همزمان استفاده کردند و نتیجه گرفتند که ۷۰ درصد موارد در مراحل آغازین درمان به یکبار تزریق دارو پاسخ دادند (۵). در مطالعه ی مقایسه ای ۸۷ رأس گاو مبتلا به جراحت سم به سه گروه تقسیم و تحت درمان با یکی از داروهای زیر قرار گرفتند. گروه اول سولفامتوکسین، گروه دوم پنی سیلین و گروه سوم ترانکرون دریافت کردند. نتایج نشان داد که در گروهی که تحت درمان با ترانکرون بود کمترین عود بیماری در شش ماه بعد دیده شد (۹). استفاده از این ماده در درمان تومورهای پستانی سگ نیز گزارش شده است (۴).

با بررسی اسلایدهای بیوپسی گروه تیمار که ترانکرون دریافت نموده اند، مشخص می گردد که به غیر از نواحی التهابی لبه زخم، ضایعات میکروسکوپیکی خاصی در بافت های اطراف مشاهده نمی شود که دال بر بی خطر بودن ترانکرون می باشد. با توجه به نتایج تحقیق حاضر مشخص می گردد که درصد Band cells در گروه شاهد بیش از گروه تیمار است که بیانگر تکثیر فراوان و نیاز شدید به نوتروفیل ها به دلیل وجود التهاب ناشی از زخم جراحی می باشد و در عین حال درصد کمتر آنها در گروه تیمار دال بر التهاب کمتر در گروه تیمار می باشد. با توجه به نتایج و یافته های حاصل از مطالعه حاضر می توان نتیجه گیری



Evaluation of Anti-Inflammatory Effects of Theranekron in Rat

Habibian Dehkordi, S.¹, Nourani, H.¹, Sharifi, S.¹, Ahadian, M.²,
Taghadosi, C.², Akhavan Taheri, M.³

1- Assistant Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord - Iran.

2- Graduated student, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord - Iran.

3- Student, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord - Iran.

Summary

Theranekron is an alcoholic extract of the venom of *Tarantula cubensis*, which effects on demarcation and epithelialization of inflammatory tissue. Although, there are a few reports about the effects of theranekron on the inflammation process, it can be used in cow, horse, sheep, goat, pig and dog. The aim of the present study was to investigate the anti-inflammatory effects of theranekron following subcutaneous administration. For this purpose, thirty rats (weight 250 ± 30 gr) were chosen and divided randomly into two groups. Under sterile condition, a circular incision of 1.5 centimeters of diameter was created in each rat on back. Rats in group one received $1 \mu\text{l/g}$ theranekron after surgery and at day 4 after surgery, subcutaneously. Rats in group two received the same volume of normal saline at similar times, subcutaneously. On the day seven after surgery, rats were anaesthetized and from the site of wounds specimens were taken. The same time from the heart of each rat 2 ml blood was collected. The results of the present study showed that theranekron can prevent the blood picture changes. In addition, histopathological studies showed that at the site of surgery, there are less inflammatory cells in the rats of group one compared to group two. From the results of the present study, it can be concluded that theranekron can be used as an anti-inflammatory agent.

Key words: Inflammation, Rat, Theranekron, Wound.

