

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

۱۷۹
—————
۲۰۱۰ - سپتامبر - بارند

۳۵۴۱

۱۳۸۰ / ۳ / ۳۰



دانشگاه تربیت مدرس

دانشکده پزشکی

پایان نامه دوره کارشناسی ارشد انگل شناسی

بررسی تأثیر امواج مستقیم الکتریسیته بر
Viability لیشمانیا ماژور در محیط کشت و
مدل حیوانی

گیلدا اسلامی

012325

استاد راهنما

آقای دکتر سیدحسین حجازی

استاد مشاور

آقای دکتر عبدالحسین دلیمی اصل

اسفند ۱۳۷۹

۳۵۴۲۱

«فرم تأییدیه اعضای هیأت داوران مندرج در پایان نامه کارشناسی ارشد»

بدینوسیله پایان نامه کارشناسی ارشد خانم / آقای گیلدا اسلامی

رشته: انگل شناسی گرایش:

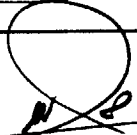
تقدیم می شود. اینجانبان نسخه نهائی این پایان نامه را از نظر فرم و محتوی بررسی و تأیید کرده و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه کارشناسی ارشد پیشنهاد می کنیم.

نام و نام خانوادگی و امضاء اعضای هیأت داوران:

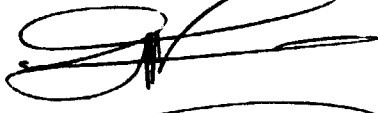
جناب آقای دکتر حسین حجازی (استاد راهنما)



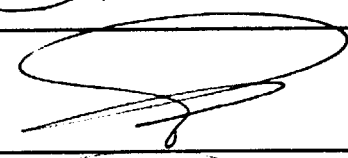
جناب آقای دکتر عبدالحسین دلیمی اصل (استاد مشاور)



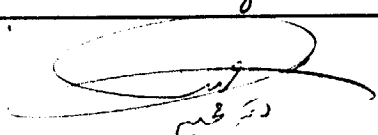
جناب آقای دکتر محمدسعید دایر (نماینده تحصیلات تکمیلی)



سرکار خانم دکتر فاطمه غفاری فر (استاد ناظر)



جناب آقای دکتر مهدی مجبلی (استاد ناظر)





بسمه تعالی

آیین نامه چاپ پایان نامه (رساله) های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله) های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیتهای علمی - پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می شوند:

ماده ۱ در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله) ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به «دفتر نشر آثار علمی» دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲ در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:
«کتاب حاضر، حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد / رساله دکتری نگارنده در رشته انسان شناسی است که در سال ۱۳۷۹ در دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی سرکار خانم / جناب آقای دکتر مجازی، مشاوره سرکار خانم / جناب آقای دکتر دلیم اصل و مشاوره سرکار خانم / جناب آقای دکتر مهندس مجازی از آن دفاع شده است.»

ماده ۳ به منظور جبران بخشی از هزینه های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر بوبت چاپ) را به «دفتر نشر آثار علمی» دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ۴ در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تأدیه کند.

ماده ۵ دانشجوی تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند؛ به علاوه به دانشگاه حق می دهد به منظور اسیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تأمین نماید.

ماده ۶ اینجانب لیله اسلامی دانشجوی رشته انسان شناسی مقطع کارشناسی ارشد تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

نام و نام خانوادگی: لیله اسلامی

تاریخ و امضا:

۷۹/۱۲/۱۳

تقدیم به :

پدر عزیزم که همواره مرا چون جام بلورین از پرتاب شهاب سنگ
حوادث در امان نگه داشته ، کسی که با ذره ذره وجودم دوستش دارم.

مادر عزیزم که روحش از مهربانی بافته شده و همانند ستاره مقدس در
آسمان ابدیت ثابت و درخشان خواهد ماند، کسی که در لحظات درد و
رنج و خستگی ام ، آغوشش همیشه برویم باز بود.

شروین عزیزم که با تمام مشکلات و خستگیهای ناشی از چرخ
روزگار در تمام لحظات با من بود تا توانستم مشقتهاى وارده را تحمل
کرده و با فکر و همیاری او همه را به نحو احسن به پایان برسانم.

برادر عزیزم کامبیز که در به اجرا نهادن ایده هایم نقشی به سزا
داشت.

و به آنانکه در سخت ترین شرایط مشعل پر نور دانش و فرهنگ را به
دوش کشیدند و به جلو بردند.

و به آنانکه چون شمع سوختند و از پر تو وجود خویش جهان علم و
دانش را پرفروغ ساختند.

تقدیر و تشکر

خدای جهان و جان آفرین را سپاس فراوان که من را قطره‌ای از دریای بیکران دانشش بخشید و لایق خدمتی بس ناچیز دانست؛ چراکه بدون الطاف او حتی قدم اول نیز در انجام این پایان‌نامه برداشته نمی‌شد.

تقدیر و تشکر از استاد ارجمندم جناب آقای دکتر حجازی که هرگز از یاد دادن خسته نشدند و در شب طوفانی نادانسته‌ها همچون ستاره قطبی مرا به سوی ساحل موفقیت راهنمایی کردند.

سپاس و قدر دانی از استاد گرامیم جناب آقای دکتر دلیمی که همواره با پندها و نصیحت‌های عالمانه خویش، راهی بر علم و عمل را برویم باز کردند.

تشکر و قدر دانی از جناب آقای مهندس حجازی که در طول اجرای این پایان‌نامه با راهنمایی‌های خردمندانه خویش، مرا در هرچه پربارتر کردن این پایان‌نامه یاری دادند.

و با تشکر فراوان از زحمات خانواده‌ام و شروین عزیزم که در تمام مراحل همچون کوهی استوار تکیه گاهی محکم برآیم بودند و علاوه بر تحمل بی‌قراری‌هایم مرا در به انجام رسانیدن این پایان‌نامه یاری نمودند.

جا دارد که از تمامی افرادی که در این راه به نحوی مرا یاری دادند صمیمانه سپاسگزای نمایم از جمله

خانمها: شریف‌نیا، اثنی‌عشری، کلانتری، سلیمانی، ملکی، خزائیلی، توروسیان، طلوعی، پرکار، جالوسیان، دکتر غفاری، قاسمی، عزیزی.

آقایان: مرادی، مستقیم، طغیانی، حسنی، مهندس حسن‌زاده، مرادیزاده، عبدیزدان، حق‌شناس، دکتر کاظم‌نژاد، فرخی، موسویان، افخری، بحرانی، دکتر مهری، آقاخانی.

خلاصه

لیشمانیوز، طیفی از بیماریهای بالینی مختلف است که توسط گونه‌های جنس *Leishmania* ایجاد می‌شود. حداقل ۲۰ گونه از این جنس می‌تواند توسط پشه‌های خاکی به انسان، میزبانان مختلف اهلی و وحشی منتقل شود و ایجاد لیشمانیوز جلدی، منتشره، جلدی - مخاطی و احشایی بنماید. عامل لیشمانیوز جلدی یا سالک در ایران، گونه‌های *L. tropica* و *L. major* می‌باشد.

با توجه به اهمیت بیماری لیشمانیوز و اندمیک بودن آن در بیش از ۸۰ کشور جهان، WHO این بیماری را جزو بیماریهای با اولویت از نظر کنترل و مبارزه منظور نموده است. از جمله این برنامه‌ها درمان قاطع افراد گرفتار به منظور کاستن از آلام و عوارض اجتماعی - روانی بیماری و نیز در مورد انواعی که انسان خود مخزن بیماری محسوب می‌شود که کنترل و پیشگیری از انتشار بیماری می‌باشد. نظر به مجهول بودن اپتیمم روش درمان بیماری در سالیان گذشته مطالعات مختلفی از سوی محققین در جریان بوده است. در این مطالعه از آلفا جریان مستقیم الکتریسته به منظور بررسی تأثیر کشندگی ولتاژهای متفاوت آن بر پروماستیگوت‌های محیط کشت و نیز درمان موشهای آلوده به لیشمانیوز جلدی با همین روش استفاده گردیده است.

هدف از این مطالعه ابداع روش درمانی مؤثر با دوره درمانی قابل قبول و حداقل تأثیر معادل با داروهای شیمیایی در مدل آزمایشگاهی بوده است. این روش در صورت تأثیر قاطع می‌تواند علاوه بر درمان بیماری موجب حذف عوارض و هزینه‌های درمان با ترکیبات سمی آنتی‌موان گردد. برای دستیابی به این امر مراحل لگاریتمی و ثابت پروماستیگوت‌های انگل *Leishmania* حاصل از کشت در معرض جریان مستقیم الکتریسته با ولتاژهای ۳ و ۶ و ۹ و ۱۲ دریافتی از منبع تغذیه قرار گرفتند قابل ذکر است که گروههای کنترل پروماستیگوت‌های فاز ایستا و فاز لگاریتمی تحت تأثیر هیچگونه آزمایشی قرار نگرفتند.

هم‌چنین در مدل حیوانی موشهای BALB/c و موشهای سوری مبتلا به لیشمانیوز جلدی ناشی از *L. major* (MRHO/IR/75/ER) در ناحیه قاعده دم، به مدت ۳ هفته، هر هفته ۲ بار و هر روز ۱۰ دقیقه تحت تأثیر جریان مستقیم الکتریسته با ولتاژ ۳ دریافتی از منبع تغذیه قرار داده شدند. برای اطمینان از نتایج حاصله، مطالعه در هر مرحله از مراحل *vitro* و *vivo* چندین بار تکرار شد. برای هر

دو نژاد حیوان مورد تجربه گروه شاهد بدون درمان در نظر گرفته شد.

در این بررسی مشخص شد که ولتاژ ۳ دریافتی از منبع تغذیه به مدت ۳۵ دقیقه و ولتاژهای ۶ و ۹ و ۱۲ دریافتی از منبع تغذیه در مدت کمتر از ۱۰ دقیقه می تواند زایل شدن حیات پروماستیگوت‌های انگل در شرایط *vitro* شود. هم‌چنین در مدل حیوانی هر دو گروه از موشها، قبل از پایان سه هفته بهبود کامل یافتند در صورتیکه گروه کنترل موشهای BALB/c پس از ۴ ماه مردند و گروه کنترل موشهای سوری پس از ۵ هفته التیام یافتند البته در موشهای BALB/c حدود سه هفته پس از قطع دوره درمان، عود بیماری مشاهده شد در صورتیکه در موشهای سوری بازگشت بیماری مشاهده نگردید. آنالیز نتایج با استفاده از تست آماری *t-test* در مقایسه با گروه کنترل که واحد زخم لیشمانیوز جلدی بودند و تحت تأثیر هیچ‌گونه روش درمانی قرار نگرفتند تفاوت معنی داری ($P < 0/05$) را از نظر تأثیر این روش درمانی نشان داد.

با توجه به نتایج حاصل از مراحل *vitro* و *in vivo*، دو فرضیه فعال شدن مکانیسم بهبود زخم و نیز کشته شدن انگلها تحت اعمال این روش بصورت توأم مطرح می‌گردد.

کلید واژگان:

لیشمانیازور - سالک - الکتريسيته درمانی.

فهرست مطالب

<u>صفحه</u>	<u>عنوان</u>
۱.....	فصل اول کلیات تحقیق.....
۲.....	۱-۱ تاریخچه بیماری لیشمانیوز.....
۳.....	۲-۱ تعریف بیماری.....
۴.....	۳-۱ نامهای دیگر بیماری.....
۴.....	۴-۱ شکل ظاهری انگل.....
۶.....	۵-۱ چرخه زندگی.....
۶.....	۶-۱ عامل لیشمانیوز پوستی.....
۷.....	۷-۱ مخازن بیماری.....
۷.....	۸-۱ تظاهرات بالینی.....
۷.....	۱-۸-۱ شکل خشک.....
۷.....	۲-۸-۱ شکل مرطوب.....
۸.....	۳-۸-۱ شکل سقط شونده.....
۸.....	۴-۸-۱ اشکال غیر معمول و فرعی.....
۸.....	۵-۸-۱ شکل لوپوئید یا عود کننده.....
۹.....	۹-۱ بیماریزایی.....

<u>صفحه</u>	<u>عنوان</u>
۱۱.....	۱-۱۰ اپیدمیولوژی
۱۳.....	۱-۱۱ درمان
۱۴.....	۱-۱۱-۱ درمان موضعی
۱۷.....	۱-۱۱-۲ درمان سیستمی
۲۸.....	۱-۱۱-۳ درمان فیزیکی
۲۹.....	۱-۱۲ اصطلاحات الکتریکی
۲۹.....	۱-۱۲-۱ جریان الکتریسته
۲۹.....	۱-۱۲-۲ جریان مستقیم
۲۹.....	۱-۱۲-۳ شدت جریان الکتریکی
۲۹.....	۱-۱۲-۴ آمپر
۳۰.....	۱-۱۲-۵ پتانسیل الکتریکی
۳۰.....	۱-۱۲-۶ اندازه پتانسیل الکتریکی
۳۰.....	۱-۱۲-۷ اختلاف پتانسیل الکتریکی
۳۰.....	۱-۱۲-۸ مقاومت الکتریکی
۳۱.....	۱-۱۲-۹ اهم
۳۱.....	۱-۱۲-۱۰ قانون اهم

<u>صفحه</u>	<u>عنوان</u>
۳۱	۱-۱۲-۱۱ مدار الکتریکی
۳۱	۱-۱۲-۱۲ جریان متناوب
۳۲	۱-۱۲-۱۳ شدت جریان متناوب
۳۲	۱-۱۲-۱۴ اختلاف پتانسیل متناوب
۳۳	۱-۱۲-۱۵ آمپرسنج
۳۳	۱-۱۲-۱۶ ولت سنج
۳۳	۱-۱۲-۱۷ دستگاههای اندازه گیری دیجیتالی
۳۴	۱-۱۲-۱۸ خصوصیات مالتی متر دیجیتالی مورد استفاده در این مطالعه
۳۷	۱-۱۲-۱۹ منبع تغذیه
۳۸	۱-۱۲-۱۹-۱ مشخصات عمومی دستگاه
۳۸	۱-۱۲-۱۹-۲ مشخصات فیزیکی دستگاه
۳۸	۱-۱۲-۲۰ انواع قطبهای مورد استفاده
۴۰	فصل دوم مروری بر مطالعات انجام شده
۴۱	۲-۱ الکتریسیته درمان
۴۴	۲-۲ تحریک الکتریکی
۴۴	۲-۳ پلاریتی

<u>صفحه</u>	<u>عنوان</u>
۴۵.....	۴-۲ مکانیسم‌های فیزیولوژیکی جریانهای الکتریکی
۴۵.....	۵-۲ پاسخ‌های سلولی تحریک الکتریکی
۴۶.....	۶-۲ خصوصیات الکتریکی سیستم زنده
۴۸.....	فصل سوم مواد و روش کار
۴۹.....	۳-۱ محیط N.N.N
۴۹.....	۳-۱-۱ تهیه فاز جامد
۴۹.....	۳-۱-۱-۱ مواد مورد نیاز
۴۹.....	۳-۱-۱-۲ وسایل مورد نیاز
۴۹.....	۳-۱-۱-۳ طرز تهیه
۵۰.....	۳-۱-۲ تهیه فاز مایع
۵۰.....	۳-۲ تهیه B.H.I
۵۰.....	۳-۲-۱ مواد مورد نیاز
۵۰.....	۳-۲-۲ وسایل مورد نیاز
۵۰.....	۳-۲-۳ طرز تهیه
۵۱.....	۳-۲-۴ کاربرد B.H.I
۵۱.....	۳-۳ تهیه فاز RPMI 1640

<u>صفحه</u>	<u>عنوان</u>
۵۱	۳-۳-۱ مواد مورد نیاز.....
۵۱	۳-۳-۲ وسایل مورد نیاز.....
۵۱	۳-۳-۳ طرز تهیه.....
۵۲	۳-۴ تهیه ویالهای آنتی بیوتیک.....
۵۲	۳-۴-۱ مواد مورد نیاز.....
۵۲	۳-۴-۲ وسایل مورد نیاز.....
۵۲	۳-۴-۳ طرز تهیه.....
۵۲	۳-۵ کشت و نگهداری انگل <i>Leishmania</i>
۵۳	۳-۵-۱ نگهداری در شرایط انجماد.....
۵۵	۳-۵-۲ کشت انگل.....
۵۵	۳-۵-۲-۱ بررسی محیط کشت.....
۵۵	۳-۵-۳ تزریق به حیوان آزمایشگاهی.....
۵۵	۳-۵-۳-۱ مواد مورد نیاز.....
۵۵	۳-۵-۳-۲ وسایل مورد نیاز.....
۵۶	۳-۵-۳-۳ روش تزریق.....
۵۶	۳-۶ تهیه P.B.S.....

<u>صفحه</u>	<u>عنوان</u>
۵۶.....	۳-۶-۱ مواد مورد نیاز.....
۵۷.....	۳-۶-۲ وسایل مورد نیاز.....
۵۷.....	۳-۶-۳ روش تهیه.....
۵۷.....	۳-۷-۷ مدار تولید جریان مستقیم.....
۵۷.....	۳-۷-۱ وسایل مورد نیاز.....
۵۷.....	۳-۷-۲ روش اتصال.....
۵۸.....	۳-۷-۳ الکترودها.....
۵۸.....	۳-۸-۸ انجام آزمایش در شرایط آزمایشگاهی.....
۵۸.....	۳-۸-۱ وسایل مورد نیاز.....
۵۹.....	۳-۸-۲ تهیه لامها.....
۶۰.....	۳-۸-۳ جامعه آماری در شرایط آزمایشگاهی.....
۶۱.....	۳-۸-۴ روش تمایز پروماستیکوت فاز ایستا از فاز لگاریتمی.....
۶۱.....	۳-۸-۵ انجام آزمایش.....
۶۲.....	۳-۹-۹ انجام آزمایش روی موشهای BALB/c و موشهای سفید معمولی.....
۶۲.....	۳-۹-۱ یافتن مقاومت اهمی موش.....
۶۲.....	۳-۹-۲ انجام آزمایش روی موشهای آلوده به لیشمانیوز جلدی.....

<u>صفحه</u>	<u>عنوان</u>
۶۲	۳-۹-۲-۱ جامعه آماری موشها
۶۳	۳-۹-۲-۲ انجام آزمایش
۶۳	۳-۹-۲-۳ بررسی زخم موشها
۶۳	۳-۹-۲-۴ محاسبه و تناژ و شدت جریان عور از روش
۶۵	۳-۱۰ بررسی و تجزیه تحلیل آماری
۶۵	۳-۱۰-۱ در شرایط آزمایشگاهی
۶۵	۳-۱۰-۲ در شرایط Vivo
۶۹	فصل چهارم
۷۰	۴-۱ نتایج حاصل از نگهداری و کشت انگل
۷۰	۴-۱-۱ نتایج حاصل از نگهداری انگل در حالت انجماد
۷۰	۴-۱-۲ نتایج حاصل از نگهداری انگل روی حیوان آزمایشگاهی
۷۰	۴-۱-۳ نتایج حاصل از کشت انگل
۷۱	۴-۲ نتایج حاصل از تزریق انگل به موشها
۷۱	۴-۳ نتایج حاصل از اعمال الکتریسیته در شرایط آزمایشگاهی
	۴-۴ نتایج انتقال انگلهای تحت تأثیر جریان الکتریسیته قرار گرفته به محیط کشت تازه
۷۸	
	۴-۵ نتایج انتقال انگلهای تحت تأثیر جریان الکتریسیته قرار گرفته