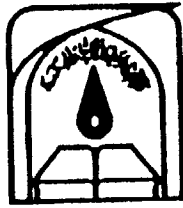


صلى الله عليه وسلم

٢١٩٧٩

۱۳۸۰ / ۱۰ / ۱۱

مرکز اطلاعات مدرک علمی ایران
احسن تهنیه مدرک



دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده علوم پزشکی

پایان نامه

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد رشته قارچ‌شناسی پزشکی

015180

عنوان

اثر ماده مؤثر سیر بر روی رشد درماتوفیت‌ها
در شرایط اینویترو و اینویوو

۳۸۶۷۹

نگارش

محدثه لاری پور

استاد راهنما

دکتر زهیر محمد حسن

استاد مشاور

دکتر محمد حسین یادگاری

تابستان ۸۰

۳۸۶۷۹

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

بدینوسیله پایان نامه کارشناسی ارشد خانم/آقای محدثه لاری پور رشته: فارچ شناسی

تحت عنوان: اثر ماده مؤثر سیر بر روی رشد درماتوفیتها در شرایط invitro و invivo

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 زهیر حسن (استاد راهنما)

جناب آقای دکتر محمد حسین یادگاری (استاد مشاور)

جناب آقای دکتر سقراط فقیه زاده (نماینده شورای تحصیلات تکمیلی)

جناب آقای دکتر مسعود امامی (استاد ناظر)

سرکار خانم دکتر معصومه شمس (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 تاریخ / فلسفه / زنگنه است که در سال ۱۳۸۰ در دانشکده فلسفه دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی سرکار خانم / جناب آقای دکتر رحیم محمدی، مشاوره سرکار خانم / جناب آقای دکتر محمد حسینی، مشاوره سرکار خانم / جناب آقای دکتر 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 تادیه 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 رساله / پایان نامه کارشناسی ارشد / فلسفه / تاریخ / فلسفه / زنگنه مقطع کارشناسی ارشد تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

نام و نام خانوادگی: محمد رحیم محمدی

تاریخ و امضا:


۸۰ / ۵ / ۲۰۰۰

تقدیم به:

روح بزرگوار پدر شهیدم:

او که بزرگترین اسوه اخلاقی زندگیم بود.

مادر مهربانم

او که اولین معلم عشق و محبت و ایثار است.

برادر بزرگم

او که اولین مشوق تحصیلم است.

همسرم

او که بهترین دوست دوران تحصیل و زندگیم است و بدون یاری

مخلصانه او این پایان نامه هیچ‌گاه به اتمام نمی‌رسید.

خواهران و برادر کوچکم

که دریای بیکران عشق و عاطفه‌اند.

و پسر م علی

به خاطر تمامی لحظاتی که از در آغوش گرفتن او دریغ کردم.

باتشکر فراوان از:

- استاد گرامی جناب آقای دکتر حسن که راهنمای این رساله را برعهده گرفتند و الگوی اخلاقی و علمی اینجانب می‌باشند.
- استاد گرامی جناب آقای دکتر یادگاری که مشاورت این پایان‌نامه را به‌عهده داشته‌اند و همانند یک برادر دلسوز از هیچ کمکی به اینجانب دریغ نکردند.
- جناب آقای دکتر فقیه‌زاده سرپرست محترم گروه قارچ‌شناسی که با راهنمایی‌های ارزنده، اینجانب را در طول انجام این پایان‌نامه یاری کردند.
- جناب آقای دکتر امامی پدر علم قارچ‌شناسی پزشکی ایران که در جای‌جای این پایان‌نامه مرهون الطاف بی‌دریغ ایشان بوده‌ام.
- جناب آقای دکتر خسروی که الفبای قارچ‌شناسی را به اینجانب آموخته‌اند و در طول دوران تحصیل و انجام این پروژه، تمامی مشکلات علمی مرا پاسخگو بوده‌اند.
- سرکار خانم دکتر شمس، عضو هیئت علمی گروه قارچ‌شناسی دانشگاه تربیت مدرس بخاطر راهنماییها و ارائه نقطه نظرهای ارزشمند در طول دوران تحصیلم.
- دوست عزیزم خانم شهناز پارسا، که از هیچ کمکی در پیشبرد پایان‌نامه اینجانب دریغ نکردند.
- کادر آموزشی و پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس، دانشجویان محترم گروه قارچ‌شناسی و کارشناس بخش قارچ‌شناسی خانم جلیل‌پور که در طول این مدت مرا یاری نمودند.

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
فصل اول - مقدمه و کلیات	
۱	۱-۱. مقدمه
۴	۲-۱. تاریخچه
۶	۳-۱. رده بندی و مرفولوژی درماتوفیت ها
۸	۱-۳-۱. انواع درماتوفیت ها
۸	۱-۳-۱-۱. تریکوفیتون متاگروفایتیس
۹	۲-۳-۱-۲. تریکوفیتون روبروم
۹	۳-۳-۱-۳. تریکوفیتون تونسورنس
۱۰	۴-۳-۱-۴. میکروسپوروم کانیس
۱۱	۵-۳-۱-۵. میکروسپوروم جیپسوم
۱۲	۶-۳-۱-۶. اپیدرموفیتون فلوکوزوم
۱۲	۲-۳-۲. فیزیولوژی درماتوفیت ها
۱۴	۳-۳-۱. مکانیسم بیماری زایی درماتوفیت ها
۱۵	۴-۳-۱. اکولوژی و انتشار درماتوفیت ها
۱۹	۴-۱. اشکال بالینی درماتوفیتوز
۲۱	۱-۴-۱. کچلی سر
۲۲	۲-۴-۱. کچلی بدن
۲۳	۳-۴-۱. کچلی ناخن
۲۴	۴-۴-۱. کچلی کشاله ران
۲۵	۵-۴-۱. کچلی پا
۲۶	۶-۴-۱. کچلی دست
۲۷	۷-۴-۱. کچلی ریش
۲۸	۸-۴-۱. فاکتورهای مستعد کننده وقوع درماتوفیتوز
۳۰	۹-۴-۱. اپیدمیولوژی درماتوفیتوز
۳۲	۵-۱. ساختمان پوست
۳۵	۱-۵-۱. کراتین

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۳۷	۶-۱. گریز نوفولوین
۳۹	۷-۱. مدل حیوانی
۴۲	۸-۱. سیر
۴۲	۱-۸-۱. تاریخچه سیر
۴۵	۲-۸-۱. مضرات سیر
۴۵	۳-۸-۱. ترکیبات سیر و خواص مولکولی آنها
۵۷	۴-۸-۱. مصارف دارویی سیر
۵۷	۱-۴-۸-۱. خواص آنتی بیوتیکی سیر
۶۰	۲-۴-۸-۱. خواص درمانی سیر بر روی سیستم بدن
۶۱	۵-۸-۱. طبقه بندی
۶۵	۹-۱. اندازه گیری مقدار پروتئین
۶۵	۱-۹-۱. روش برادفورد
۶۶	۲-۹-۱. روش SDS-PAGE
۷۰	فصل دوم - مروری بر مطالعات انجام شده
۷۷	فصل سوم - مواد و روشها
۷۷	۱-۳. تهیه عصاره آبی سیر
۷۷	۲-۳. بررسی تأثیر عصاره خام سیر بر روی رشد درماتوفیت
۷۸	۳-۳. اولترافیلتراسیون با دستگاه آمیکون و تهیه فراکشن های عصاره سیر
۷۹	۴-۳. تهیه سوسپانسیون استاندارد
۸۱	۵-۳. تعیین حساسیت درماتوفیت ها نسبت به فراکشن های عصاره سیر
۸۲	۶-۳. تعیین حساسیت درماتوفیت ها نسبت به گریز نوفولوین
۸۳	۷-۳. اندازه گیری مقدار پروتئین
۸۳	۱-۷-۳. مواد لازم جهت انجام آزمایش برادفورد
۸۳	۱-۱-۷-۳. روش تهیه معرف برادفورد
۸۳	۲-۱-۷-۳. روش تهیه منحنی استاندارد
۸۴	۳-۱-۷-۳. روش اندازه گیری غلظت پروتئین نمونه مجهول

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۸۴	۲-۷-۳. روش SDS-PAGE
۸۴	۱-۲-۷-۳. مواد و وسایل مورد نیاز جهت الکتروفورز
۸۶	۲-۲-۷-۳. تهیه محلول‌های مورد نیاز در SDS-PAGE
۸۹	۳-۲-۷-۳. مراحل انجام SPS-PAGE
۹۴	۸-۳. آلوده‌سازی تجربی حیوانات به درماتوفیت‌ها
۹۴	۱-۸-۳. درماتوفیت‌های مورد استفاده
۹۵	۲-۸-۳. تهیه پماد از فراکشن F ₁₀
۹۶	۳-۸-۳. تهیه خمیر حاوی اسپورومیسلیوم درماتوفیت‌ها برای تلقیح
۹۷	۴-۸-۳. تلقیح حیوان
۹۷	۵-۸-۳. چگونگی بررسی علائم بیماری کچی در خوکچه‌هندی
۹۸	۶-۸-۳. بررسی اثرات سیر در شرایط <i>invivo</i>
فصل چهارم - نتایج	
۱۰۱	
۱۰۱	۱-۴. عصاره‌گیری و فراکشن‌گیری
۱۰۲	۲-۴. بررسی تأثیر عصاره خام سیر بر روی رشد درماتوفیت‌ها
۱۰۶	۳-۴. بررسی تأثیر فراکشن‌های بدست آمده از عصاره سیر با دستگاه اولترافیلتراسیون، بر روی رشد درماتوفیت‌ها در شرایط <i>invitro</i> در مقایسه با گریزئوفولین
۱۱۹	۴-۴. اندازه‌گیری مقدار پروتئین
۱۱۹	۱-۴-۴. روش برادفورد
۱۲۱	۲-۴-۴. روش SDS-PAGE
۱۲۲	۵-۴. بررسی اثر فراکشن F ₁₀ سیر در شرایط <i>invivo</i>
۱۲۲	۱-۵-۴. آلوده‌سازی تجربی حیوانات به عوامل درماتوفیتی
فصل پنجم - بحث و پیشنهادات	
۱۳۹	
۱۳۹	۱-۵. بحث
۱۴۴	۲-۵. پیشنهادات
۱۴۵	منابع

چکیده

سیر تأثیر زیادی بر روی رشد اغلب میکروارگانیسم‌ها از جمله باکتریها، انگل‌ها، ویروس‌ها و قارچ‌هایی از جمله گونه‌های آسپرژیلوس، فوزاریوم اکسیسپاروم، اسکروتینا اسکروتیوم، کریپتوکوکوس نئوفورمنس، میکروسپوروم ادوئینی، تریکوفیتون ویولاسئوم، تریکوفیتون سیمیئی و غیره دارد. در این مطالعه فعالیت ضد درماتوفیتی سیر بر روی رشد درماتوفیت‌های:

تریکوفیتون متاگروفایتیس واریته متاگروفایتیس، تریکوفیتون متاگروفایتیس واریته اینتردیجینال، تریکوفیتون روبروم، تریکوفیتون تونسورانس، میکروسپوروم کانیس، میکروسپوروم جیپسئوم، اپیدرموفیتون فلوکوزوم در شرایط *In vivo* و *In vitro* مورد ارزیابی قرار گرفت. سیر مورد آزمایش، از نوع سیر همدان بود و حبه‌های آن پوست گرفته شده و با آب مقطر استریل در مخلوط‌کن، هموژن شد. عصاره هموژن شده سیر با سیستم آمیکون فیلتر گردید و از فیلترهای ۳۰۰XM، ۱۰۰XM، ۵۰XM، ۳۰PM و ۱۰PM عبور داده شد. فراکشن‌های اولترافیلتر شده به صورت R_{300} (Residue)، R_{100} ، R_{50} ، R_{30} ، R_{10} و F_{10} (Filtrate) جمع‌آوری شد. نوع فراکشن‌ها با روش SDS-PAGE با استفاده از ژل اکریل آمید ۱۵٪ تعیین گردید. رقت‌های سریال از هر فراکشن از $\frac{1}{25}$ تا $\frac{1}{320}$ در مجاورت هر یک از درماتوفیت‌ها قرار داده شد.

نتایج نشان می‌دهد که F_{10} غیر پروتئینی بوده و دارای بیشترین خواص ضد درماتوفیتی است. در شرایط آزمایشگاه رشد تریکوفیتون روبروم، تریکوفیتون تونسورانس، میکروسپوروم کانیس، اپیدرموفیتون فلوکوزوم در حضور فراکشن F_{10} متوقف شد.

همچنین از فراکشن F_{10} پمادی تهیه گردید که جهت درمان ضایعات ناشی از درماتوفیتها، بر روی پوست خوکچه‌هندی، استفاده شد. نتایج، ارتباط معکوس معنی‌داری را بین طول دوره درمان با شدت و قطر ضایعه نشان داد. ($P < 0/01$)

فصل اول

مقدمه و کلیات

۱-۱. مقدمه

سیر از خانواده زنبق^(۱) و نام علمی آن آلیوم ساتیوم^(۲) می باشد. (۱ و ۲) سیر از قدیم الایام بعنوان یک گیاه دارویی مورد استفاده قرار گرفته است (۳) و واجد خواصی آنتی بیوتیکی بیشماری از جمله خواص ضد باکتریایی (۷ و ۶ و ۵ و ۴)، ضد ویروسی (۸)، ضد قارچی (۹ و ۱۰ و ۱۱)، ضد انگلی (۱۲ و ۱۳) و حشره کشی (۱۴ و ۱۵) است. اثر دارویی سیر در درمان بیماریهای نظیر ناراحتیهای قلبی، سردرد، نیش زدگیها، دردهای انگلی، تومورها، برونشیت مزمن، هموروئید، تصلب شرائین، ذات الریه، سنگ کلیه، روماتیسم، دردهای شکمی (زخم معده و زخم روده) ذکر گردیده است. (۱۱ و ۱۶)

کارهای تحقیقاتی نشان داده است که عصاره سیر بویژه آلیسین آن رشد در ماتوفیتها را متوقف می کند. (۳) در ماتوفیتها گروهی از قارچهای بیماری زا هستند که متعلق به خانواده مونیلیاسه می باشند و عامل ایجاد عفونت قارچی پوست و ضمام آن (مو و ناخن) یا کچلیها هستند. (۱۷) این گروه از بیماریها بدلائل وجود فاکتورهای مستعد کننده زیادی، از جمله بهداشت فردی در سراسر جهان، انتشار فراگیر دارند. (۱۷ و ۱۸) مسافرت های توریستی میزان شیوع این عفونتها را افزایش داده و درصد بالایی از عفونت های پوست را، عفونت های در ماتوفیتی تشکیل می دهند. این عفونتها که با در ماتوفیت های ایجاد می شوند، اکثراً کرونیک اند و نیازمند درمان طولانی با داروهای ضد قارچی هستند که در بعضی از موارد بی اثر و گران هستند. (۱۷) سه جنس شناخته شده که این عفونت را در انسان ایجاد می کنند، عبارتند از: تریکوفیتونها^(۳)، میکروسپورومها^(۴) و اپیدرموفیتونها^(۵) می باشند که واجد ۴۱ گونه و ۴ واریته

1- Liliaceae family

2- Allium sativum

3- Trichophyton

4- Microsporium

5- Epidermophyton

می‌باشند. (۱۷) بیماری کچلی در ایران نیز مانند کشورهای دیگر شایع بوده و تقریباً در همه نقاط ایران مشاهده می‌شود و مناطقی که از سطح بهداشت پائین‌تری برخوردارند، مبتلایان بیشتری را دارا می‌باشند.

درمان بیماری‌های درماتوفیتی با توجه به عوارض نامطلوب و رنج‌آور بیماری و سرایت آسان آن از فرد بیمار به سایر افراد واجد اهمیت است. در این راه بعلت عدم وجود داروهای ثمربخش و طولانی بودن زمان درمان، همواره مشکلاتی وجود داشته است. این مشکلات همواره محققین را برآن داشته که در جستجوی داروهای تازه‌ای برای درمان بیماری‌های قارچی باشند. اغلب داروهایی که امروزه مصرف می‌شوند به صورت سنتتیک تهیه می‌گردند. بندرت می‌توان در میان داروهای سنتتیک موجود، داروهایی با اثرات فراگیر و قاطع یافت، ضمن اینکه فاقد عوارض جانبی در انواع درماتوفیتوز باشند و در کوتاه‌ترین زمان ممکن اثرات مثبتی را از خود نشان دهند. علاوه بر این، گونه‌های بارز مولد بیماری از منطقه‌ای به منطقه دیگر متفاوتند. به همین دلیل لازم است که در مناطق مختلف از داروهای اختصاصی که برسویه‌های بومی بیماری‌زا مؤثر هستند استفاده شود و این امر اهمیت استفاده از گیاهان بومی مناطق خاص را با خواص دارویی، تأیید می‌کند. امروزه گیاهان دارویی متعددی شناخته شده‌اند که اثرات ضد میکروبی دارند. (۱۷) از سالیان گذشته تاحال در کشورهای مختلفی از جمله گواتمالا، هند، روم، مصر استفاده از سیر، برای درمان بیماری‌های عفونی از جمله کچلی‌ها و سایر بیماری‌ها مرسوم بوده است. (۱۷ و ۳)

Kabelike نشان داد که بعضی از درماتوفیت‌ها نسبت به سیر حساس‌اند و ترکیباتی از سیر را از نظر خواص ضد درماتوفیتی مورد بررسی قرار داد. (۳) اولین گزارش‌ها در رابطه با جداسازی ترکیبات سیر و پیاز، توسط weotheim (۱۸۸۴) و semmler (۱۸۹۲) از کشور آلمان ارائه داده

شد. این دو نفر گزارش دادند که دی‌آلیل سولفید (که امروزه به نام دی‌سولفید^(۱) خوانده می‌شود) و یک پروپنیل دی‌سولفید^(۲) به ترتیب اجزای اصلی حاصل از تقطیر روغن سیر می‌باشند. (۲۱) پودر سیر و یا سیر خشک عملاً فاقد خواص ضد درماتوفیتی است، اما اضافه کردن مقدار کمی آب به آن سبب می‌شود که بوی سیر به خوبی استشمام شود. قابل ذکر است که تنها در این صورت است که می‌توان ترکیبات ضدقارچی را از آن استخراج کرد. این مطلب نشان دهنده آن است که روغن سیر فاقد ترکیبات ضدقارچی و آلیل سولفیدها است و این ترکیبات در سیر دست نخورده موجود است. (۲)

باتوجه به اثرات مختلف بیولوژیکی ترکیبات سیر و مطالعاتی که در مورد اثر سیر بر روی رشد درماتوفیت‌ها انجام شده است (۲) و شیوع بالای میزان کچلی‌ها، بر آن شدید تا اثرات ضد درماتوفیتی سیر را در شرایط *invitro*, *invivo* بررسی کرده، شاید این تحقیق منجر به تهیه پماد سیر، در جهت بهبود عفونت‌های درماتوفیتی شود.

1- disulfide

2- 1-propenyl disulfide

۱-۲. تاریخچه درماتوفیت‌ها

درماتوفیت‌ها یک گروه ارگانسیم شناخته شده، بعنوان قارچ‌های کراتین دوست هستند، که نه تنها در خصوصیات ظاهری، بلکه در رده‌بندی، آنتی‌ژنیسیته، نیازهای رشد، فیزیولوژی و نوع عفونت باهم مشابه‌اند. (۱۴)

Aulus Corvelius Celsus، اولین کسی بود که یک عفونت ملتهب پوستی سر را در سال ۳۰ میلادی بعنوان درماتوفیتوز معرفی کرد. (۱۹) واژه تینه^(۱)، به منظور توصیف این عفونت، بدلیل شباهت آنها با اثر تخریبی بیدلباس بر روی البسه پشمی که شبیه عفونت‌های قارچی جلدی می‌باشد، مورد استفاده قرار گرفت. (۲۰) واژه رینگ ورم برای توصیف شکل حلقوی عفونت بر روی پوست صاف، در قرن ۱۶ مطرح گردید. Agostino Bassi در سال ۱۸۳۶ بطور تجربی نشان داد که قارچ، مولد بیماری در کرم ابریشم است. (۲۱) Robert remark پزشک لهستانی، اولین گزارش را درباره منشأ قارچی، درماتوفیتوز در سال ۱۸۳۷ در دانشگاه برلین، مطرح کرد و عوامل قارچی را در پوسته‌های بدست آمده از یک بیمار مبتلا به فاووس^(۲) جداسازی کرد. (۲۲)

در سال ۱۸۳۹، schoenlin مشارکت یک قارچ را در بیماری پوستی انسان فاووس، کشف کرد. در سال ۱۸۴۲ Gruby مجارستانی در طی مطالعات خود مشاهدات رمارک را تصدیق کرد و چندین نوع از بیماری کچلی از جمله فاووس، اکتوتریکس^(۳)، اندوتریکس^(۴) و میکروسپوریسیس^(۵) شرح داده و عوامل آنها را بر روی نان کشت داد. و lebert در سال ۱۸۴۵ نام تریکوفیتون شوئن لاینی^(۶) را به پاس تحقیقاتی که شوئن لاین و گروبی پنج سال پیش در مورد قارچ‌های کچلی انجام داده بودند، برای گونه‌ای از قارچ‌های کچلی انتخاب کرد. (۲۴)

1- Tinea

2- Favus

3- Ectothrix

4- Endothrix

5- Microsporium

6- Trichophyton Schoerleinii