



Original Article

Effect of curcumin-loaded dendrimer nanoparticles on *Giardia lamblia* *in vivo*

• Shateri, Saeed

Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Babol Branch, Babol, Iran.

• Esmaili, Farhad

Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Babol Branch, Babol, Iran.

• Hadizadeh Moallem, Shamsali

Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Babol Branch, Babol, Iran.

• Khanabadi, Faride

Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.

• Elmi, Taher*

Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.

Received: 2024-06-01 Accepted: 2024-08-31

Revised: 2024-08-29 Published: 2024-12-02

*Email: elmi1364@yahoo.com

Abstract

Giardia lamblia is one of the most prevalent intestinal parasites in Iran, and its treatment typically involves the use of metronidazole. This drug has been associated with side effects and there are numerous reports of parasite resistance to this drug. In light of the significance of giardiasis and the necessity for an alternative drug, the present study was undertaken to assess the impact of the curcumin-loaded dendrimer nanoparticles on *Giardia lamblia in vivo*. In this experimental study, after preparation of the nanodendrimer-curcumin, size and chemical bonding between nanoparticles were determined by dynamic light scattering (DLS) and Fourier-transform infrared (FTIR) technique, respectively, following the preparation of the nanodendrimer-curcumin. The anti-giardial activity of the synthesized nanoparticle was then evaluated in infected mice by microscopic method. The final data were subjected to one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's multiple comparisons test. The synthesized nanoparticles with an average size of 32 nm were found to be suitable for use in drug delivery systems. The results demonstrated that the highest efficacy of synthesized nanoparticles in this study was observed at a dose of 16 mg/kg, with an efficacy of 79% in infected mice, which was statistically significant in comparison to the negative control group ($P < 0.05$). Given the superior efficacy of the synthesized nano dendrimer-curcumin against *Giardia lamblia* in mice compared to metronidazole, it can be proposed as a novel candidate for the treatment of giardiasis. However, further research is necessary to substantiate this claim.

Key words: *Giardia lamblia*; Nano-dendrimer; curcumin; *In vivo*

مقاله کامل

بررسی اثر نانوذرات دندریمر بارگذاری شده با کورکومین بر ژیلار دیا لامبلیا در شرایط درون‌تنی

• سعید شاطری

گروه علوم درمانگاهی دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران
• فرهاد اسماعیلی

گروه علوم درمانگاهی دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران
• شمسعلی هادیزاده معلم

گروه علوم درمانگاهی دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران
• فریده خان‌آبادی

گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی
اراک، اراک، ایران

• طاهر علمی*

گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی
اراک، اراک، ایران



تاریخ دریافت: ۱۴۰۳-۰۳-۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳-۰۶-۱۰

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳-۰۶-۰۸ تاریخ انتشار: ۱۴۰۳-۱۰-۰۱

*Email: elmi1364@yahoo.com

چکیده

ژیلار دیا لامبلیا یکی از شایع‌ترین انگل‌های روده‌ای در ایران است که به منظور درمان آن از مترونیدازول استفاده می‌شود. این دارو دارای عوارض جانبی بوده و گزارش‌های متعددی مبنی بر مقاومت انگل به این دارو وجود دارد. بنابراین، با توجه به اهمیت ژیلار دیا لامبلیا و یافتن دارویی جایگزین، مطالعه حاضر با هدف تعیین اثر نانوذرات دندریمر بارگذاری شده با کورکومین بر ژیلار دیا لامبلیا در شرایط درون‌تنی انجام شد. در این مطالعه تجربی پس از تهیه نانو دندریمر-کورکومین، اندازه و پیوندهای شیمیایی بین نانوذرات توسط تکنیک‌های DLS (Dynamic light scattering) و FTIR (Fourier-transform infrared spectroscopy) تعیین شدند، سپس فعالیت ضد ژیلار دیا لامبلیا نانوذره سنتز شده در موش‌های آلوده با روش میکروسکوپی مورد ارزیابی قرار گرفت. در آخر داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Tukey تجزیه و تحلیل شد. نانوذرات سنتز شده با متوسط اندازه ۳۲ نانومتر، جهت سیستم‌های دارورسانی مناسب بودند. نتایج نشان داد که بیشترین اثربخشی نانوذره سنتز شده در این مطالعه در دوز ۱۶ میلی‌گرم/کیلوگرم با اثربخشی ۷۹ درصد مشاهده شد که از لحاظ آماری در مقایسه با گروه کنترل منفی معنی‌دار بود ($P < 0.05$). با توجه به اثر بخشی بهتر نانوذره دندریمر-کورکومین سنتز شده بر روی ژیلار دیا لامبلیا در موش نسبت به مترونیدازول، می‌توان آن را کاندید جدید درمان ژیلار دیا لامبلیا معرفی نمود هرچند به تحقیقات بیشتر در این زمینه نیاز دارد.

کلمات کلیدی: ژیلار دیا لامبلیا؛ نانوذره دندریمر؛ کورکومین؛ درون‌تنی

مقدمه

ژیاردیا لامبلیا (*Giardia lamblia*) تک‌یاخته‌تازکدار بیماری‌زایی هست که در روده باریک پستانداران زندگی می‌کند و از تمام نقاط جهان در آب و هوای معتدل و گرمسیر گزارش شده است (۱). انتقال آن از طریق مدفوعی-دهانی می‌باشد و بیشتر از طریق مصرف آب آشامیدنی ناسالم، افراد به این بیماری مبتلا می‌شوند (۲).

این تک‌یاخته می‌تواند باعث بیماری اسهال، سوءجذب روده‌ای و از دست دادن وزن به‌خصوص در کودکان شود (۳). میزان الودگی آن در مناطق مختلف جهان در کشورهای توسعه یافته، در حال توسعه و مناطق گرمسیری از ۲ تا ۴۲ درصد متفاوت است (۴).

با توجه به تنوع ژنتیکی انگل تعیین ایزوله، کشت و تست‌های تعیین حساسیت ژیاوردیا به علت تفاوت نتایج، کار مشکلی است و بیشتر اطلاعات در مورد تأثیر دارو بر تجربیات بالینی استوار بوده است. چنانچه درمان شیمیایی این بیماری بر اساس تجویز یکی از چهار داروی مترونیدازول، فورازولیدون، تینیدازول و کیناکرین صورت می‌گیرد که این داروها اثرات جانبی متعددی دارند و تأثیر آن‌ها قطعی نیست، همچنین داروهای فوق دارای خاصیت سرطان‌زایی در زنان و بچه‌ها می‌باشند و در دوران بارداری نیز نباید مصرف شوند (۵، ۶). از طرفی گزارش‌هایی از بروز مقاومت انگل نسبت به داروهای فوق وجود دارد. بنابراین، مصرف این داروها به دلیل عوارض و مقاومت انگل قابل بحث است (۵، ۷).

انتقال عفونت ژیاوردیازیس از طریق خوردن فرم‌هایی از انگل به نام کیست قابل انجام است، لذا مطالعات زیادی جهت از بین بردن کیست این تک‌یاخته انجام شده است که در این مطالعات از ترکیبات مختلف از جمله گیاهان و مواد خوراکی طبیعی استفاده شده است (۸).

کورکومین (Curcumin) یک ترکیب پلی فنولی زردرنگ است که از ریشه‌های زیرین گیاه کروکوما لونگا به دست می‌آید. در طب سنتی شرقی از این ترکیب به طور گسترده در درمان بیماری‌ها استفاده می‌شود و طیف گسترده‌ای از خواص درمانی مانند اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، ضدعفونی، ضد میکروبی و ضدسرطانی دارد (۹، ۱۰). علاوه بر داشتن این اثرات درمانی، بررسی‌های کارآزمایی بالینی بر روی میزان خوراکی کورکومین نشان داده است که مصرف کورکومین تا مقدار ۸ گرم در روز، هیچ‌گونه سمیتی برای بدن ندارد، داشتن این خواص ویژه به همراه عدم سمیت، باعث شده است که این ترکیب منحصربه‌فرد مورد توجه جدی محققین نیز قرار بگیرد (۱۱، ۱۲).

یکی از مشکلات استفاده از کورکومین، حلالیت پایین آن در آب است. اضافه شدن کورکومین به نانودندریمر باعث می‌شود نانودندریمر-کورکومین حاصل علاوه بر افزایش حلالیت دارو، خواص ضد میکروبی و درمانی نیز به تنهایی داشته باشد (۹).

دندریمر زیست‌سازگار و زیست تخریب‌پذیر سه بلوکی (سیتریک اسید، پلی‌اتیلن‌گلایکول، سیتریک اسید) یک نمونه جالب از این نوع است که نسل یک تا سه آن به‌عنوان سیستم تحویل دارو توسط Namazi و همکاران سنتز و رهایش کنترل شده مفنمیک اسید، دیکووفناک و ۵-آمینو اسید سالیسیلیک از آن‌ها نشان داده شده است (۱۳). این دندریمرها کاملاً زیست‌سازگار بوده، پتانسیل بالایی به‌عنوان حامل در انتقال دارو دارند و با وارد کردن داروهای هیدروفوب به درون آن‌ها می‌توان حلالیت

دارو را افزایش داد (۱۴، ۱۵). از آنجایی که اثر نانودندریمر لود شده با کورکومین تا به حال بر روی بیماری ژیاوردیازیس مورد ارزیابی قرار نگرفته است، لذا در مطالعه حاضر به تعیین اثر نانودندریمر لود شده با کورکومین بر درمان عفونت ناشی از ژیاوردیا لامبلیا در شرایط درون تنی پرداختیم.

مواد و روش‌ها

مطالعه تجربی حاضر در سال ۱۴۰۱ در آزمایشگاه انگل‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بابل (کد اخلاق IR.IAU.BABOL.REC.۱۴۰۱، ۰۱۸) بر روی ۵۰ سر موش Balb/c نر انجام شد.

سنتز و تأیید نانوذرات

در ابتدا نانودندریمر G2 به‌عنوان پایه نانو حامل مورد نظر در این مطالعه با روش اصلاح شده Namazi و همکاران با استفاده از مقداری پلی‌اتیلن‌گلایکول، اسید سیتریک و دی‌متیل سولفوکساید سنتز شد (۱۳). جهت حذف رسوب‌های اضافی از مخلوط واکنش، از فیلتر کاغذی استفاده شد. در نهایت کورکومین جهت ساخت کونژوگه دندریمر-کورکومین به‌عنوان نانو حامل، به دندریمر G2 با استفاده از روش اصلاح شده Elmi و همکاران متصل شد (۹). مقدار ۵۰۰ میلی‌گرم دندریمر G2 در ۱۰ میلی‌لیتر اتانول حل شد. سپس ۱۰۰ میلی‌گرم کورکومین خالص از شرکت مرک آلمان به آن اضافه و در ۵ میلی‌لیتر متانول حل شد.

جهت حذف ناخالصی‌ها از کیسه دیالیز cut off ۱۰۰۰-۵۰۰ به مدت ۱۷ ساعت در آب دوبار تقطیر استفاده شد. جهت اطمینان از خالص سازی، محلول به‌دست آمده توسط ستون سفادکس G-۷۵ مجدداً خالص سازی شد. در آخر محلول خالص به‌دست آمده لیوفیلیزه شد و جهت تأیید و تعیین ساختمان، سایز و پیوند نانودندریمر با کورکومین از DLS (Dynamic light scatterin and FTIR (Fourier-transform infrared spectroscopy استفاده شد (۹).

طیف‌سنجی مادون قرمز بر اساس جذب تابش و بررسی جهش‌های ارتعاشی مولکول‌ها و یون‌های چند اتمی صورت می‌گیرد. این روش برای تعیین ساختار و اندازه‌گیری گونه‌های شیمیایی کاربرد دارد. از این روش عمدتاً جهت شناسایی ترکیبات آلی استفاده می‌شود، زیرا طیف‌های این ترکیبات معمولاً پیچیده بوده و تعداد زیادی پیک‌های حداقل و حداکثر دارند که می‌توانند برای اهداف مقایسه‌ای به‌کار گرفته شوند. جهت تأیید سنتز دندریمرها، اتصال کورکومین به دندریمر، طیف FTIR نمونه‌ها تهیه و توسط دستگاه اسپکتروفتومتر FTIR (مدل Nicolet iS۵۰ شرکت ترمو ساینتیفیک، کشور آمریکا) آنالیز شد و جهت بررسی سایز محصولات سنتز شده از روش DLS (مدل SZ۱۰۰، کمپانی Horiba، کشور ژاپن) جهت تعیین اندازه و توزیع اندازه ذره‌ای استفاده شد. میزان رهایش دارو توسط کیسه دیالیز در زمان‌های صفر تا ۲۴ ساعت در بافر فسفات (۰/۰۱ مولار، pH=۷/۴) با اندازه‌گیری شد و در نهایت محلول دیالیز شده توسط UV اسپکتروفتومتری (UV-Visible مدل Biomate۵، کمپانی Thermo، کشور آمریکا) OD (Optical density) آن قرائت و در منحنی استاندارد قرار داده شد (۱۳).

سوسپانسیون توسط سرنگ مخصوص به صورت درون معدی به موش‌ها تلقیح شد.

آنالیز آماری

پس از جمع‌آوری داده‌ها، از نرم‌افزار SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) نسخه ۲۲ جهت تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها استفاده شد. برای مقایسه میانگین گروه‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه استفاده شد و در صورت معنی‌دار شدن از آزمون تعقیبی Tukey برای مقایسه تفاوت میانگین‌های گروه‌های مختلف و آزمون تعقیبی Dunnett جهت مقایسه میانگین گروه‌های مختلف با گروه کنترل منفی استفاده شد. مقادیر $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شدند.

نتایج

نانودندریمر و کونژوگه کورکومین-دندریمر توسط طیف‌های FTIR تأیید شد. وجود پیک در ناحیه ۱-۲۹۲۱ و ۱۷۳۴ در شکل ۱ نشان دهنده سنتز دندریمر G2 است؛ پیک‌های قابل مشاهده در ۱-۱۴۵۶ و ۱۵۲۰ مربوط به گروه‌های C=C آروماتیک و C-O فنلی کورکومین بوده و تنها در صورت حضور کورکومین در ساختار ترکیب قابل مشاهده است. حضور باند مربوط به پیوند استری در پیک ۱-۱۲۸۷ بیانگر کونژوگه کورکومین به دندریمر است.

نحوه توزیع و میانگین اندازه ذرات در نانودندریمر و کورکومین کونژوگه شده به دندریمر با استفاده از DLS تعیین شد. میانگین اندازه نانودندریمر-کورکومین ۳۲ نانومتر بود که جهت رسانش دارویی و عبور از سلول مناسب می‌باشد (شکل ۲).

با توجه به نتایج به دست آمده از میزان رهایش نانودندریمر-کورکومین در زمان‌های مختلف، این دارو دارای رهایش کنترل شده در زمان‌های مختلف است به طوری که ۹۷ درصد داروی لود شده پس از ۳۶ ساعت آزاد شد (شکل ۳).

نتایج بررسی موش‌ها پس از آلودگی با کیست‌های ژیا ردیا، نشان داد که حداقل ۷ تا ۹ روز بعد از آلودگی، کیست انگل در مدفوع موش‌ها ظاهر شد. در برخی از موش‌های آلوده علائم ظاهری نظیر کسلی، گوشه‌گیری، ژولیده شدن موی بدن، تغییر قوام مدفوع نیز مشاهده شد. در طی دوره درمان (سه روز)، هیچ‌کدام از موش‌های کنترل منفی که به جای دارو، آب مقطر دریافت کرده بودند از بیماری بهبود پیدا نکردند و باز کردن محوطه شکمی موش‌های این گروه جهت بررسی میکروسکوپی محتویات روده آن‌ها پس از پایان دوره آزمایش نشان از تداوم آلودگی در آن‌ها داشت. هم‌چنین در طی مطالعه موش‌های کنترل مرگومیر که آلوده نشده بودند، بدون نشان دادن علائم خاص و آلودگی به کیست تا روز آخر زنده ماندند.

نتایج حاصل از تأثیر نانودندریمر-کورکومین بر روی ژیا ردیا لامبلیا در موش‌های Balb/c نشان داد که دوز ۱ میلی‌گرم/کیلوگرم از نانوی سنتز شده فاقد اثر مہاری بر روی ژیا ردیا در موش بود، لذا اختلاف تعداد کیست‌های دفع شده با گروه کنترل منفی از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($P > 0.05$) (جدول ۱). اما بیشترین اثر در موش‌هایی مشاهده شد که دوز ۱۶ میلی‌گرم/کیلوگرم نانودندریمر-کورکومین را دریافت کرده بودند. در

تهیه کیست ژیا ردیا

جهت تهیه انگل ژیا ردیا، نمونه‌های مدفوع آلوده به کیست را از بین مدفوع تازه بیماران مراجعه کننده به آزمایشگاه‌های سطح شهر تهران و کرج که دارای آلودگی شدیدتر (۲ تا ۶ کیست در هر میدان میکروسکوپی) بودند، جمع‌آوری شدند. برای تأیید آلودگی با روش‌های مستقیم و فرمالین-اتر نمونه‌ها مورد بررسی قرار گرفتند، سپس با روش ساکارز کیست‌ها تخلیص شدند (۸). نمونه مدفوع حاوی کیست را در یک ظرف استریل ۱۰ برابر حجم آن، آب مخلوط شدند، سپس محلول حاصل برای صاف کردن و حذف مواد اضافی نمونه از یک گاز استریل ۳ لایه عبور داده شد. نمونه را در دور ۴۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ (Sahand Universal، مدل ۵۸۲۱، ساخت ایران) کردیم. به رسوب حاصل ۵ میلی‌لیتر آب اضافه شد و محلول فوق را به آرامی به ۳ میلی‌لیتر محلول ساکارز ۰/۸۵ مولار اضافه شد. محلول حاصل را به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۶۰۰ سانتریفوژ شد. با پیپت پاستور به آرامی کیست‌هایی که در لایه میانی جمع شده، به لوله دیگر انتقال داده شدند.

معیار ورود به مطالعه موش‌ها

موش‌های Balb/c نر که مدفوع آن‌ها با دو روش گسترش مستقیم و فرمالین-اتر مورد بررسی قرار گرفته، فاقد آلودگی انگلی بوده و وزن 22 ± 1 گرم داشتند به عنوان حیوانات آزمایشگاهی در این مطالعه وارد شدند.

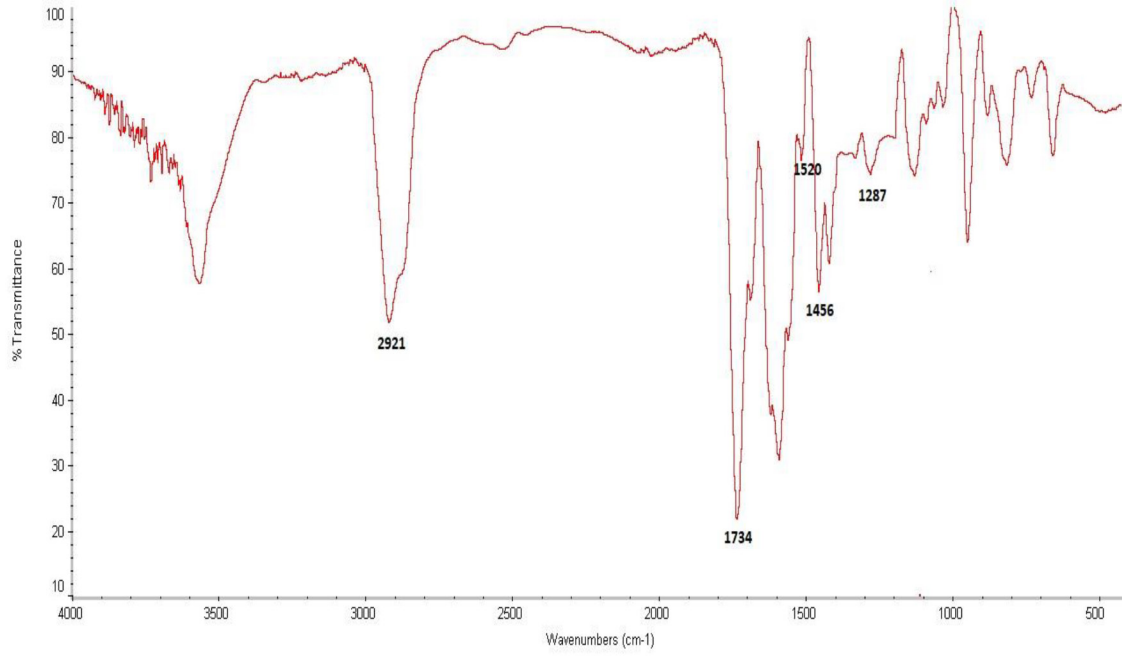
معیار خروج از مطالعه موش‌ها

موش‌هایی که وزن بیشتر یا کمتر داشته یا در مدفوع آن‌ها کیست و تخم انگلی مشاهده شد، از این مطالعه حذف شدند. موش‌های ماده به دلیل این که احتمال داشت در زمان انجام آزمایش زادوولد انجام دهند و بارداری روی نتیجه آزمایش اثر سوء باقی بگذارد، در این آزمون انتخاب نشدند.

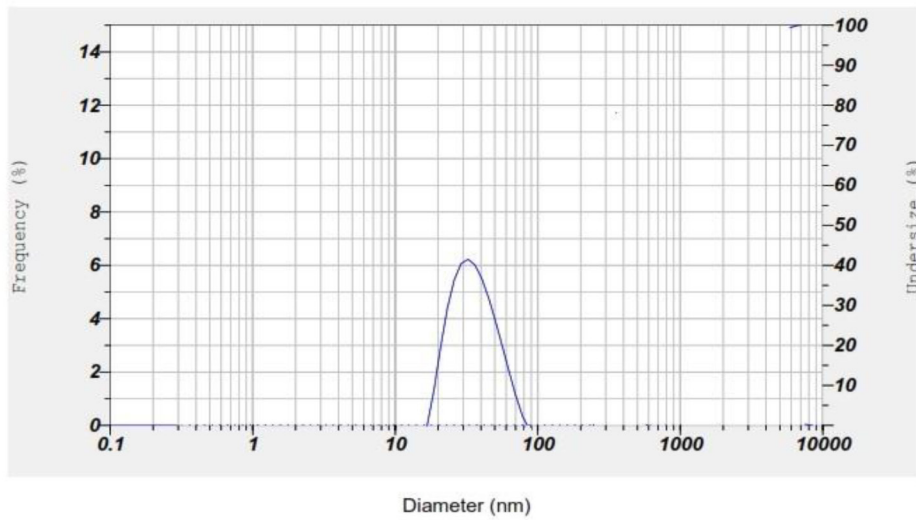
گروه بندی موش‌ها

تعداد ۵۰ سر موش Balb/c نر در دو گروه کنترل (۲۵ سر موش) و آزمون (۲۵ سر موش) تقسیم شدند.

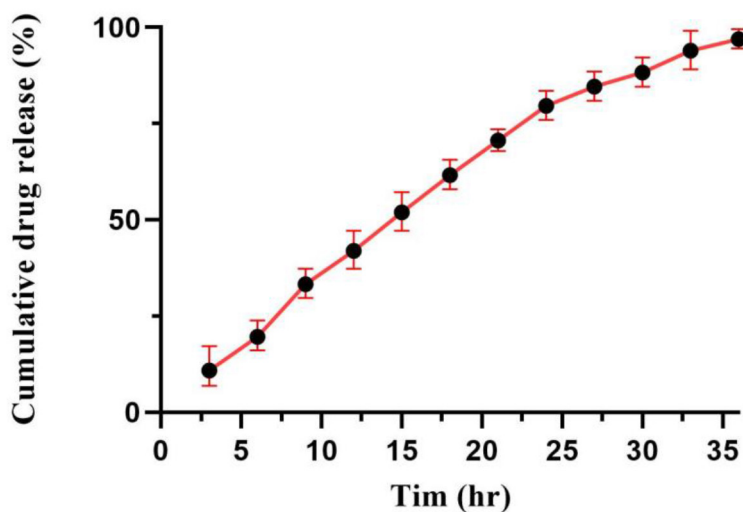
گروه کنترل شامل: موش‌هایی که نه بیمار شدند و نه تحت درمان قرار گرفتند (کنترل مرگ و میر)، موش‌هایی که با تلقیح درون معدی 2×10^5 کیست آلوده شدند ولی درمان نشدند (کنترل منفی)، موش‌هایی که با تلقیح درون معدی 2×10^5 کیست آلوده شدند و به ترتیب مترونیدازول (کنترل مثبت)، کورکومین تنها دوز ۱۶ میلی‌گرم/کیلوگرم (کنترل کورکومین) و دندریمر تنها دوز ۱۶ میلی‌گرم/کیلوگرم (کنترل دندریمر) را دریافت کردند. گروه آزمون نیز شامل ۵ زیر گروه بودند، موش‌هایی که با تلقیح درون معدی 2×10^5 کیست آلوده شدند و دوزهای ۱، ۲، ۴، ۸ و ۱۶ میلی‌گرم/کیلوگرم نانودندریمر لود شده با کورکومین را دریافت کردند (۸). لازم به ذکر است که جهت تلقیح درون معدی کیست انگل، در ابتدا سوسپانسیونی از کیست ژیا ردیا توسط فسفات بافر سالین تهیه شد به طوری که با برداشتن ۰/۲ میلی‌لیتر از سوسپانسیون مقدار 2×10^5 کیست ژیا ردیا در آن موجود باشد. سپس ۰/۲ میلی‌لیتر از این



شکل ۱- نمودار FTIR مربوط به کونزوگه دندریمر و کورکومین.



شکل ۲- اندازه نانودندریمر-کورکومین سنتز شده با تکنیک DLS.



شکل ۳- نمودار استاندارد میزان رهایش کورکومین از نانوذندریمر.

جدول ۱- درصد مهار رشد ژیاوردیا در گروه‌های مختلف مورد آزمایش.

گروه‌ها	دوز	درصد مهار از رشد
آزمون (دندریمر-کورکومین)	۱ میلی‌گرم/کیلوگرم	۰ a
	۲ میلی‌گرم/کیلوگرم	۱۱/۲ b
	۴ میلی‌گرم/کیلوگرم	۳۰/۶ c
	۸ میلی‌گرم/کیلوگرم	۴۸/۹ d
	۱۶ میلی‌گرم/کیلوگرم	۷۹/۶ e
کنترل	۱۶ میلی‌گرم/کیلوگرم	۲۹/۶ c
	۱۶ میلی‌گرم/کیلوگرم	۰ a
	۱۶ میلی‌گرم/کیلوگرم	۵۲ d
	-	۰ a
	-	-

* نتیجه آزمون تعقیبی Tukey جهت مقایسه دو به دوی گروه‌های مورد آزمایش در جدول غایش داده شده است. دو گروهی که حروف غیرمشابه دارند، به‌عنوان مثال گروه آزمون ۱ میلی‌گرم با گروه آزمون ۲ میلی‌گرم یا گروه آزمون ۲ میلی‌گرم با گروه آزمون ۴ میلی‌گرم، اختلافشان از نظر آماری معنی‌دار است ($P < 0.05$) و دو گروهی که حروف مشابه دارند به‌عنوان مثال گروه آزمون ۱ میلی‌گرم با گروه کنترل دندریمر یا گروه آزمون ۴ میلی‌گرم با گروه کنترل کورکومین، اختلافشان از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد ($P > 0.05$).

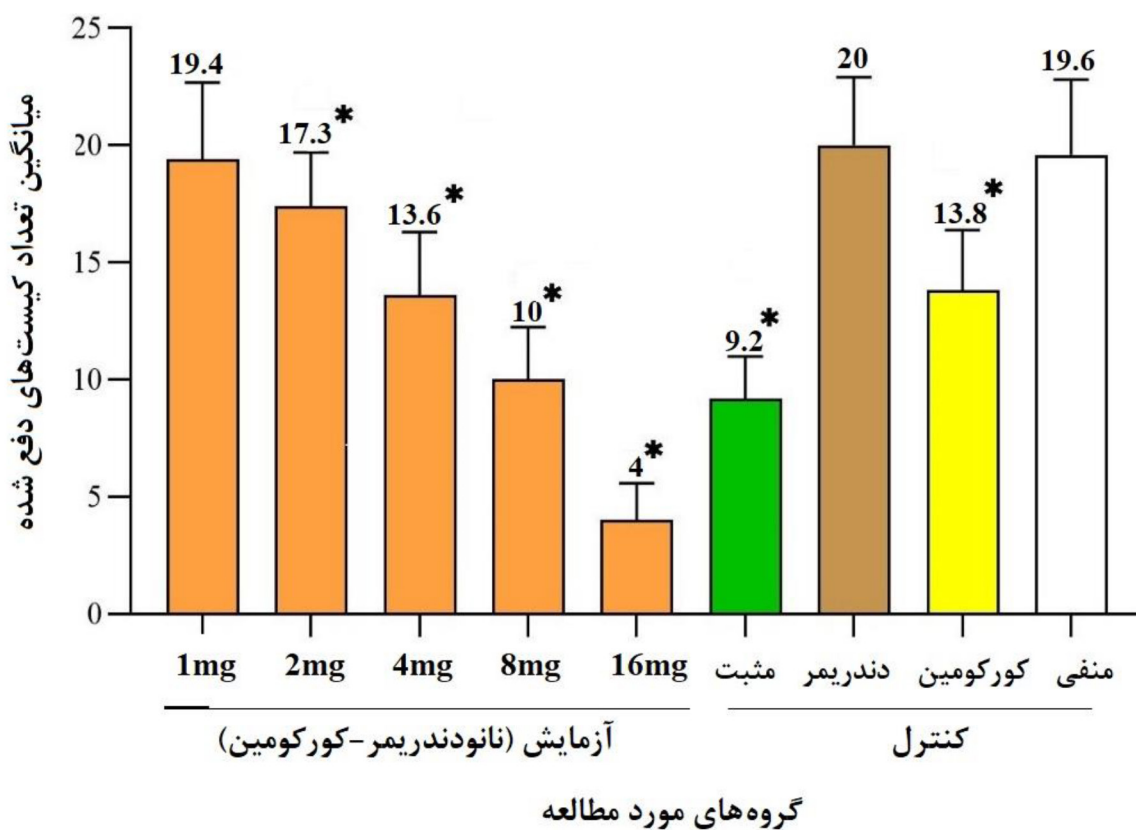
درمانی ۱۶ میلی‌گرم/کیلوگرم توانست ۷۹ درصد از رشد انگل در موش‌ها جلوگیری کند و تعداد کیست‌های دفع شده را از ۱۹ کیست به ۴ کیست کاهش دهد که سبب کاهش علائم بالینی از جمله اسهال، کسالت و کاهش اشتها در موش‌های مورد مطالعه شد. نانو ترکیب سنتز شده در دوز درمانی ۱۶ میلی‌گرم/کیلوگرم با ۷۹/۶ درصد اثر مهاری بر رشد انگل نسبت به مترونیدازول در دوز ۱۶ میلی‌گرم/کیلوگرم با ۵۲ درصد اثر مهاری بر رشد انگل، اثر بخشی بیشتری داشت.

روشی که برای سنتز دندریمر پلی‌اتیلن گلیکول در مطالعات گذشته استفاده می‌شد وقت‌گیر و هزینه بر بود. علاوه بر این، از مواد سمی چون دی‌کلرومتان و پیریدین در سنتز آن استفاده می‌شد (۱۷)، اما در مطالعه حاضر از روش Elmi و همکاران جهت سنتز دندریمر پلی‌اتیلن گلیکول استفاده شد که نه تنها زمان واکنش و رسیدن به محصول را به شدت کاهش داد بلکه از موادی با سمیت بسیار پایین نظیر

این موش‌ها تعداد کیست‌ها نسبت به گروه کنترل کاهش یافت (شکل ۴)، درصد مهار رشد در مقایسه با گروه کنترل ۷۹/۶ درصد محاسبه شد که این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار بود ($P < 0/05$).

بحث

از مسائل مرتبط با درمان این بیماری در سال‌های اخیر استفاده از داروهای ضد انگلی با عوارض جانبی کمتر و شدت اثر بیشتر است. امروزه با استفاده از علم نانو، داروهایی تولید می‌شوند که در دوزهای پایین‌تر اثر بیشتر و عوارض جانبی کمتر دارند. یکی از این نانوحامل‌هایی که امروزه در نقاط مختلف دنیا جهت رسانش دارویی ایمن‌تر مورد استفاده قرار می‌گیرد نانودندریمرها هستند (۱۶). نانوذره سنتز شده با میانگین سایزی ۳۲ نانومتر، دارای اندازه مناسب جهت رسانش دارویی بود. همچنین نتایج حاصل نشان داد که نانودندریمر-کورکومین در دوز



شکل ۴- میانگین تعداد کیست‌های دفع شده در گروه‌های مختلف درمانی.

میانگین تعداد کیست‌های شمارش شده در زیر لام نوبار در گروه‌های مختلف پس از درمان که نشان دهنده کاهش معنی‌دار در گروه دریافت کننده دوز

۱۶ میلی‌گرم/کیلوگرم نانوذرات دندریمر بارگذاری شده با کورکومین نسبت به سایر گروه‌ها است.

* به معنی $P < 0/05$ نسبت به گروه کنترل منفی است. داده‌ها توسط آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی Dunnett تجزیه و تحلیل شدند. نمودار

به صورت خطای استاندارد میانگین \pm میانگین رسم شده است.

به علت کمتر بودن عوارض جانبی و اثر بخشی آلبندازول این دارو به عنوان درمان انتخابی پیشنهاد شد. علاوه بر این، با توجه به اثرات درمانی متفاوت و عوارض داروهای ضد ژیاوردیا در نقاط مختلف کشور توصیه شد که تحقیقات بیشتری در گروه‌های مختلف سنی صورت گرفته و اثرات داروهای ضد انگلی در این بیماری با دقت بیشتری مورد بررسی قرار بگیرد (۲۳).

نتایج مطالعه El-Gendy و همکاران در سال ۲۰۲۱ نشان داد که نانوذره کیتوزان در دوز ۵۰ میکروگرم/کیلوگرم وزن همستر به مدت ۷ روز توانست تعداد تروفوزوئیت‌ها را تا ۷۵ درصد کاهش دهد و زمانی که مترونیدازول به آن لود شد در دوز ۳/۵ میلی‌گرم/کیلوگرم میزان اثر بخشی به ۹۴ درصد رسید (۲۴). اثر بخشی بیشتر نانوذره کیتوزان-مترونیدازول می‌تواند به علت وجود مترونیدازول به‌عنوان یک داروی ضد ژیاوردیایی در ترکیب فوق باشد، لذا توصیه می‌شود در آینده به نانوذره کیتوزان سنتز شده در مطالعه حاضر در صورت امکان، داروهای ضد ژیاوردیایی لود شود تا اثربخشی بیشتری مشاهده شود. در مطالعه دیگر Said و همکاران نشان دادند که کورکومین تنها در دوز ۴۵۰ میلی‌گرم دارای اثر بخشی ۱۳ درصدی بر روی عفونت ژیاوردیازیس در موش‌های بیمار بود اما زمانی که در ساختار نانو قرار گرفت، نانوذره کورکومین در همین دوز دارای اثر بخشی ۵۴ درصدی بر روی موش‌های بیمار بود و نانوذره نقره نیز در دوز ۱۰۰ ppm دارای اثربخشی ۷۲ درصدی بر روی انگل ژیاوردیا بود (۲۵). در مطالعه حاضر نیز کورکومین تنها در غلظت ۱۶ میلی‌گرم دارای اثر بخشی ۲۹/۶ درصدی بر روی موش‌های مبتلا به ژیاوردیازیس بود و زمانی که به‌صورت نانو ساختار همراه دندریمر مورد استفاده قرار گرفت دارای اثربخشی ۷۹ درصدی در همین دوز درمانی بود لذا اثربخشی آن افزایش یافت. علاوه بر اثربخشی دارو، میزان سمیت آن نیز بر روی بافت‌های بدن حائز اهمیت است، چراکه در مطالعه Baz و همکاران در سال ۲۰۲۲ نتایج نشان داد که نانوذرات طلا در حالی که دارای اثر بخشی بالا بر روی عفونت ژیاوردیازیس بودند، از طرف دیگر اثرات سمی بر روی بافت‌های کبد حیوانات مورد مطالعه داشتند که کاربرد آن‌ها را در بالین با مشکل مواجه می‌کرد، لذا انتخاب داروهایی با سمیت کمتر در درمان بیماری‌ها ضروری به‌نظر می‌رسد (۲۶). در مطالعه حاضر از نانوذرات دندریمر بارگذاری شده با کورکومین جهت درمان موش‌های مبتلا به ژیاوردیازیس استفاده شد که در مطالعات قبلی توسط Elmi و همکاران غیرسمی بودن آن در دوز درمانی به اثبات رسیده بود (۲۷).

از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان به عدم بررسی سطح سرمی نانو ترکیب سنتز شده پس از تجویز دارو در روزهای مختلف و مکانیسم دقیق تأثیر آن بر انگل ژیاوردیا لامبلیا اشاره کرد. لذا پیشنهاد می‌شود در مطالعات تکمیلی سطح سرمی نانوذره کورکومین-کورکومین توسط تکنیک‌های مختلف از جمله HPLC (High-performance liquid chromatography) مورد ارزیابی قرار گیرد. از طرف دیگر مکانیسم دقیق اثر نانو ترکیب بر انگل توسط تکنیک‌های متابولومیکسی تعیین شود.

نتیجه‌گیری

با توجه به اثر بخشی نانوذره کورکومین-کورکومین سنتز شده در دوز درمانی ۱۶ میلی‌گرم/کیلوگرم در موش‌های آزمایشگاهی و اثربخشی بهتر آن

Dicyclohexyl carbodiimide به‌عنوان فعال کننده استفاده شد و از مواد سمی دی‌کلرومتان و پیریدین استفاده نشد لذا نتایج تست سمیت سلولی مطالعه Elmi و همکاران عدم سمیت این دندریمر را تأیید کرد و بیانگر این بود که نانو حامل سنتز شده در غلظت‌های بالا سمیتی برای سلول‌های PC1۲ نداشت (۹). اما سایر مطالعات که از روش‌های قدیمی‌تر جهت سنتز دندریمرهای پلی آمیدوآمینی استفاده کردند نتایج آن‌ها نشان داد که در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر این دندریمرها دارای سمیت برای سلول‌های BT-۴۷۴ هستند (۱۸)، هم‌چنین وقتی دندریمرهای پلی آمیدوآمینی به‌صورت تغییر نیافته مورد استفاده قرار می‌گیرند باعث ایجاد منافذ در غشاء سلول و در نتیجه مرگ سلولی می‌شوند (۱۹). با کمک نانو حامل مورد استفاده در این تحقیق، میزان حلالیت و فعالیت زیستی کورکومین در آب افزایش پیدا کرد. هسته این دندریمر پلی‌اتیلن گلیکول است که بر طبق مطالعه Alavidjeh و همکاران پلی‌اتیلن گلیکول نه تنها کاملاً زیست سازگار است بلکه حلالیت آبی بسیار بالایی دارد و شاخه‌های جانبی آن هم سیتریک اسید بوده و به دلیل بار منفی سطحی سمیتی برای سلول نداشت و کاملاً محلول در آب هستند (۲۰).

یکی از مشکلات کونژوگه دارو-نانوحامل‌ها، رهایش سریع دارو و از بین رفتن آن قبل از رسیدن به بافت هدف می‌باشد، اما در مطالعه حاضر نانوذره کورکومین-کورکومین سنتز شده رهایش آهسته داشت و باعث محافظت طولانی مدت از دارو شد. تاکنون مطالعات زیادی در زمینه استفاده از گیاهان دارویی در درمان عفونت‌های مختلف در کشور ما و سایر نقاط جهان انجام شده است و محققین گیاهان زیادی را جهت درمان ژیاوردیازیس گزارش کردند. بعضی از این گیاهان مانند سیر و زنیان تأثیر قابل قبولی بر روی کیست و تروفوزوئیت ژیاوردیا با میزان‌های تأثیر متفاوت داشتند (۲۱، ۲۲). در مطالعه حاضر نانوذره کورکومین-کورکومین در دوز درمانی ۱۶ میلی‌گرم/کیلوگرم توانست اثر ضد ژیاوردیایی قابل قبولی از خود نشان دهند که این دوز درمانی بسیار کمتر از دوزهای درمانی گزارش شده توسط محققان مختلف در مورد اثر عصاره‌های گیاهی بر روی ژیاوردیا است، به‌عنوان مثال نتایج مطالعه Elmi و همکاران در سال ۱۳۹۳ نشان داد که عصاره گیاه الزی (Allium paradoxum) در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم بر روی موش‌های مبتلا به ژیاوردیازیس مؤثر است (۸)، یک علت وجود اختلاف دوزهای درمانی می‌تواند ترکیبات موجود در گیاهان مختلف باشد، چرا که خواص ضد انگلی، ضد باکتریایی و ضد سرطانی کورکومین در مطالعات مختلف نشان داده شده است، علت دیگر می‌تواند افزایش حلالیت و رسانش دارویی توسط نانو حامل موجود باشد چرا که نانوذره کورکومین حلالیت در آب را افزایش داده و باعث می‌شود حجم بیشتری ماده مؤثره در واحد زمان وارد سلول شود.

از مسایل مرتبط با درمان ژیاوردیازیس در سال‌های اخیر استفاده از داروهای ضد انگلی با عوارض جانبی کمتر مانند آلبندازول و مبندازول است. نتایج مطالعه Mörch و همکاران نشان داد که که آلبندازول و مبندازول که داروی ضد کرمی می‌باشند، در موارد مقاوم به درمان مؤثر هستند. از طرف دیگر، آلبندازول داروی مؤثر و بی‌خطری در درمان ژیاوردیازیس بود که به آسانی قابل استفاده است و بر اساس یافته‌های حاصل داروهای مورد بررسی در درمان ژیاوردیازیس مؤثر هستند، اما

11. Hewlings SJ, Kalman DS. Curcumin: A Review of Its Effects on Human Health. *Foods*, 2017; 6(10).

12. Basnet P, Skalko-Basnet N. Curcumin: an anti-inflammatory molecule from a curry spice on the path to cancer treatment. *Molecules*, 2011; 16(6): 4567-98.

13. Namazi H, Adeli M. Novel linear-globular thermoreversible hydrogel ABA type copolymers from dendritic citric acid as the A blocks and poly (ethyleneglycol) as the B block. *Eur Polym J*, 2003; 39(7): 1491-500.

14. Shadrack DM, Swai HS, Munissi JJE, Mubofu EB, Nyandoro SS. Polyamidoamine Dendrimers for Enhanced Solubility of Small Molecules and Other Desirable Properties for Site Specific Delivery: Insights from Experimental and Computational Studies. *Molecules*, 2018; 23(6).

15. Javadi F, Rahimi P, Modarresi MH, Bolhassani A, Shafiee Ardestani M, Sadat SM. G2 Dendrimer as a Carrier Can Enhance Immune Responses Against HCV-NS3 Protein in BALB/c Mice. *Avicenna J Med Biotechnol*, 2019; 11(4): 292-8.

16. Chis AA, Dobra C, Morgovan C, Arseniu AM, Rus LL, Butuca A, et al. Applications and Limitations of Dendrimers in Biomedicine. *Molecules*, 2020; 25(17): 3982.

17. Namazi H, Adeli M. Dendrimers of citric acid and poly (ethylene glycol) as the new drug-delivery agents. *Biomater*, 2005; 26(10): 1175-83.

18. Jafari Iri Sofla F, Rahbarizadeh F, Ahmadvand D. Evaluation of Poly(amidoamine) Dendrimer Surface Modification with Poly (ethylene glycol) on Cytotoxicity Reduction. *Pathol Res*, 2015; 18(1): 23-38.

19. Hung W-I, Hung C-B, Chang Y-H, Dai J-K, Li Y, He H, et al. Synthesis and electroactive properties of poly (amidoamine) dendrimers with an aniline pentamer shell. *J Mater Chem*, 2011; 21(12): 4581-7.

20. Alavidjeh MS, Haririan I, Khorramizadeh MR, Ghane ZZ, Ardestani MS, Namazi H. Anionic linear-globular dendrimers: biocompatible hybrid materials with potential uses in nanomedicine. *J Mater Sci Mater Med*, 2010; 21(4): 1121-33.

21. Hezarjaribi HZ, Elmi T, Dayer MS, Gholami S, Fakhari M, Akbariqomi M, et al. A systematic review of the effects of Iranian pharmaceutical plant extracts on *Giardia lamblia*. *Asian Pac J Trop Dis*, 2015; 5(12): 925-9.

22. Alnomasy S, Al-Awsi GRL, Raziani Y, Albalawi AE, Alanazi AD, Niazi M, et al. Systematic review on medicinal plants used for the treatment of *Giardia* infection. *Saudi J Biol Sci*, 2021; 28(9): 5391-402.

23. Mørch K, Hanevik K. Giardiasis treatment: an update with a

نسبت به مترونیدازول در دوز درمانی رایج در این مطالعه، می‌توان با تحقیقات تکمیلی و تغییرات مورد در ساختار نانوترکیب سنتز شده جهت افزایش اثر درمانی آن، در آینده به ساخت داروی مورد نظر جهت درمان بیماری ژیاوردیازیس امیدوار بود.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

منابع مورد استفاده

1. Mahdavi F, Sadrebazzaz A, Chahardehi AM, Badali R, Omidian M, Hassanipour S, Asghari A. Global epidemiology of *Giardia duodenalis* infection in cancer patients: a systematic review and meta-analysis. *Int Health*. 2022; 14(1):5-17.
2. Hooshyar H, Roostamkhani P, Arbabi M, Delavari M. *Giardia lamblia* infection: review of current diagnostic strategies. *GHFB*, 2019; 0(0): 3-12.
3. Efunshile AM, Ezeanosike O, Onyekachi ONI, Ugwu MI, König B, Robertson LJ. Apparent absence of *Giardia* infections among children under 5-years of age with acute watery diarrhea in Abakaliki, Nigeria. *Epidemiol Infect*. 2018; 147: 58.
4. Dunn N, Juergens AL. Giardiasis. Updated Book 2024. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513239>.
5. Argüello-García R, Leitsch D, Skinner-Adams T, Ortega-Pierres MG. Drug resistance in *Giardia*: Mechanisms and alternative treatments for Giardiasis. *Adv Parasitol*, 2020; 107: 201-82.
6. Hernández Ceruelos A, Romero-Quezada LC, Ruvalcaba Ledezma JC, López Contreras L. Therapeutic uses of metronidazole and its side effects: an update. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019; 23(1): 397-401.
7. Leitsch D. Drug Resistance in the Microaerophilic Parasite *Giardia lamblia*. *Curr Trop Med Rep*, 2015; 2(3): 128-35.
8. Elmi T, Gholami S, Azadbakht M, Rahimi-Osboei B, Garayli Z. The effects of hydroalcoholic extract of leaves and onion of *Allium paradoxum* on *Giardia lamblia* in mice. *J Shahrekord Univ MED Sci*, 2014; 16(5): 13-22.
9. Elmi T, Shafiee Ardestani M, Hajjaliliani F, Motevalian M, Mohammadi M, Sadeghi S, et al. Novel chloroquine loaded curcumin based anionic linear globular dendrimer G2: a metabolomics study on *Plasmodium falciparum* in vitro using 1H NMR spectroscopy. *Parasitol*, 2020; 147(7): 747-59.
10. Mansouri K, Rasoulpoor S, Daneshkhan A, Abolfathi S, Salari N, Mohammadi M, et al. Clinical effects of curcumin in enhancing cancer therapy: A systematic review. *BMC Cancer*, 2020; 20(1): 791.

focus on refractory disease. *Curr Opin Infect Dis*, 2020; 33(5): 355-64.

24. El-Gendy AML, Mohammed MAA, Ghallab MMI, Abdel Aziz MO, Ibrahim SM. Therapeutic Effect of Chitosan Nanoparticles and Metronidazole in Treatment of Experimentally Giardiasis Infected Hamsters. *Iran J Parasitol*. 2021;16(1):32-42.

25. Said DE, Elsamad LM, Gohar YM. Validity of silver, chitosan, and curcumin nanoparticles as anti-Giardia agents. *Parasitol Res*. 2012; 111(2):545-54.

26. Baz MG, Elmarhoumy SM, Saied EM, Zoghroban HS. Evaluation of the efficacy of gold nanoparticles on *Giardia lamblia* infection in experimental animals. *Exp Parasitol*. 2022 Jul; 238:108277.

27. Elmi T, Tabatabaie F, Ardestani MS, Dalimi A, Ghaffarifar F, Zamani Z, Maleki F. Antimalarial Effects of Nano Chloroquine Loaded Curcumin In vivo. *Infect Disord Drug Targets*. 2024 Mar 11.

