

بررسی تاثیر حجامت بر سطح سرمی اینترفرون گاما در رت‌های آزمایشگاهی مبتلا به بیماری بروسلوز

چکیده

دریافت: ۱۳۹۶/۰۲/۰۲ ویرایش: ۱۳۹۶/۰۶/۲۶ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۶/۳۰ آنلاین: ۱۳۹۶/۰۶/۳۱

محمد مولوی^۱، رسول یوسفی^۱، مشعوف^{۱*}، محمد یوسف علیخانی^{۱و۲}، حسن محمودی^۱، علیرضا زمانی^۳، فریبا کرامت^۴، سارا سلیمانی اصل^۵

۱- گروه میکروبی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران.
 ۲- مرکز تحقیقات بروسلوز، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران.
 ۳- گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران.
 ۴- گروه بیماری‌های عفونی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران.
 ۵- گروه آناتومی و تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران.

* نویسنده مسئول: همدان، خیابان شهید فهمیده، دانشگاه علوم پزشکی همدان، دانشکده پزشکی، گروه میکروبی‌شناسی.

تلفن: ۰۸۱- ۳۸۳۸۰۱۳۰
 E-mail: yousefimash@yahoo.com

زمینه و هدف: بروسلوز یک بیماری باکتریال مشترک بین انسان و دام می‌باشد. در بیماری بروسلوز، ایمنی هومورال و سلولی نقش اساسی دارند. با توجه به اینکه حجامت بر عملکرد سیستم ایمنی میزبان موثر است و توانایی نهفته در تنظیم واکنش‌های التهابی را دارد و به‌عنوان یکی از روش‌های درمانی مورد توجه در طب سنتی جهت درمان بیماری‌های التهابی به‌شمار می‌آید، از این‌رو هدف از انجام این مطالعه بررسی تاثیر حجامت بر سطح سرمی اینترفرون گاما (IFN- γ) در رت‌های آزمایشگاهی مبتلا به بیماری بروسلوز بود.

روش بررسی: این پژوهش تجربی از فروردین ۱۳۹۴ تا شهریور ۱۳۹۴ در آزمایشگاه میکروبی‌شناسی و حیوان‌خانه دانشگاه علوم پزشکی همدان به روش تجربی بر روی ۴۸ سر رت در شش گروه انجام گرفت. ابتدا رت‌ها به روش تزریق داخل صفاقی با مقدار 5×10^6 cfu/ml از سویه بروسلا ملتینسیس (*Brucella melitensis*) آلوده شدند. پس از گذشت یک هفته جهت اطمینان از صحت ابتلا رت‌های آلوده شده با بروسلا از تست‌های سرولوژی (رایت، کومبس رایت و ۲-مرکاپتاتانول) (Wright, Coombs Wright, 2-Mercaptoethanol) جهت اثبات بیماری استفاده شد. سپس رت‌ها از ناحیه ساکرال حجامت شدند و پس از گذشت دو هفته سطح سرمی اینترفرون گاما با روش الیزا و مطالعه بافت‌ها با روش رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین اتوزین مورد ارزیابی قرار گرفتند.

یافته‌ها: یافته‌های این مطالعه نشان داد که حجامت باعث افزایش چشمگیری در میزان میانگین سطح سرمی اینترفرون گاما می‌گردد. در بررسی هیستوپاتولوژی بافت کبد رت‌ها در گروه‌های مبتلا شده به بروسلوز و حجامت شده، نشان از تأثیر حجامت بر بهبود ضایعات بافتی بود.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که انجام حجامت می‌تواند باعث افزایش سطح سرمی اینترفرون گاما و در نتیجه کمک به پاکسازی بیماری و بهبود آسیب‌های حاصل بیماری بروسلوز گردد.

کلمات کلیدی: بروسلوزیس، گروه کنترل، مرکاپتاتانول، اینترفرون گاما، رت.

مقدمه

طیف وسیعی دارد از عفونت بدون علامت تا شکل‌های حاد، تحت حاد و مزمن را شامل می‌شود.^{۱،۲} در انسان، بروسلوز یک بیماری سیستمیک بوده که می‌تواند ارگان‌ها و نسوج زیادی را تحت تاثیر قرار دهد.^۳ در بیماری بروسلوز، ایمنی هومورال و سلولی نقش اساسی دارد. میکروبی بروسلا باکتری داخل سلولی است و در

بروسلوز یک بیماری باکتریال مشترک بین انسان و دام می‌باشد که در اثر تماس مستقیم و یا غیرمستقیم انسان با حیوانات آلوده یا محصولات لبنی آلوده منتقل می‌شود. نشانه‌های بالینی در بروسلوز

بروز هر گونه عفونت، سلول‌های ایمنی موجود در محل‌های آناتومیک مختلف به‌صورت سریع پاسخ دهند. از آنجا که به‌طور معمول سلول‌های B و T خاطره ایمنی در حالت نرمال غیرفعال هستند و به‌دنبال بروز التهاب و یا تحریک آنتی‌ژنیک فعال شده و با تولید آنتی‌بادی و سایتوکین‌های گوناگون سیستم ایمنی را در حالت آماده باش قرار داده و بدن را برای یک واکنش سریع در پی بروز عفونت آماده می‌سازند. به‌نظر می‌رسد حجامت می‌تواند این روند را تا حدود زیادی پرتوان نماید.^{۱۲} از این‌رو هدف از انجام این مطالعه بررسی تاثیر حجامت (Wet cupping) بر سطح سرمی اینترفرون گاما (IFN- γ) در رت‌های آزمایشگاهی مبتلا به بیماری بروسلوز بود.

روش بررسی

این مطالعه از فروردین تا شهریور ۱۳۹۴ در آزمایشگاه میکروبی‌شناسی و حیوان‌خانه دانشگاه علوم پزشکی همدان به روش تجربی بر روی ۴۸ سر رت در شش گروه انجام گرفت. رت‌های مورد نیاز (۴۸ سر) برای انجام آزمایش‌ها همگی سن بین ۷-۶ هفته و وزن بین ۲۰۰-۱۸۰ g داشتند و به‌طور تصادفی به شش گروه که شامل گروه اول (رت‌هایی که به بروسلا مبتلا نشده و حجامت هم نشدند)، گروه دوم (رت‌هایی که به بروسلا مبتلا نشده و یک‌بار حجامت شدند)، گروه سوم (رت‌هایی که به بروسلا مبتلا نشده و دوبار با فاصله ۱۰ روز حجامت شدند)، گروه چهارم (رت‌هایی که به بروسلا مبتلا شده و حجامت نشدند)، گروه پنجم (رت‌هایی که به بروسلا مبتلا شده و یک‌بار حجامت شدند)، گروه ششم (رت‌هایی که به بروسلا مبتلا شده و دوبار با فاصله ۱۰ روز حجامت شدند) تقسیم گردیدند.

سپس از سویه بروسلا ملتینسیس (*Brucella melitensis*) برای عفونی کردن رت‌ها استفاده شد، به‌طوری‌که رت‌های موجود در این مطالعه به روش تزریق داخل صفاقی بروسلا با مقدار 5×10^6 cfu/ml از باکتری مورد نظر مبتلا شدند.^{۱۳} انجام آزمایشات بر اساس مجوز شماره (۱۶۳۵/۹/۶۵۷۲ پ) کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان صورت گرفت. ابتدا به‌منظور یکسان‌سازی شرایط آزمایش و سازگاری رت‌ها با شرایط محیطی مانند نور، رطوبت و دما و همچنین حذف موارد احتمالی بیمار موجود در پژوهش، تمامی

ریشه‌کنی بیماری در انسان فعالیت فاگوسیتوز سلول‌های پلی‌مرفونوکلتر و منونوکلتر از جمله ماکروفاژها نقش اساسی دارند.^۴ نقش فاگوسیتوز و ایمنی سلولی در بیماری بروسلوز ثابت شده است. به‌طوری‌که سایتوکین‌های تولید شده در جریان عفونت با بروسلا شامل اینترفرون گاما و اینترلوکین-۲ نقش اساسی در دفاع سلولی میزبان دارد و در روند بیماری بروسلوز تولید آنتی‌بادی‌های اختصاصی IgM و IgG که در هفته‌های اول و دوم بیماری تولید می‌شود نقش محدودی در دفاع میزبان دارد و با درمان موفق، هر دو آنتی‌بادی به‌سرعت کاهش می‌یابد ولی IgM با تیتراژ پایین می‌تواند ماه‌ها و یا حتی سال‌ها پس از آن مثبت بماند. همچنین اگر IgG و IgA با تیتراژ بالا بیشتر از شش ماه مثبت باشد، بیماری مزمن بروسلوز مطرح می‌باشد.^۵ به‌دلیل پیدایش باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها و درمان‌های هزینه‌بر برای بیماران به‌دلیل این مقاومت‌ها، استفاده از طب سنتی مورد توجه قرار گرفته شده است.

حجامت یکی از روش‌های درمانی طب سنتی ایران، برای بازگرداندن و احیای تعادل در انسان می‌باشد.^{۶-۸} این عمل به‌صورت ایجاد مکش در مکان‌های خاصی از بدن و خونگیری از آن انجام می‌شود. زمانی که بادکش به تنهایی اعمال شود، حجامت گرم و خشک (Dry cupping) نامیده می‌شود و زمانی که پس از بادکش به وسیله ایجاد خراش سطحی روی پوست در سطح اپیدرم خون گرفته و بادکش مجدد انجام می‌شود، حجامت تر (Wet cupping) نامیده می‌شود.^{۱۰،۹،۷}

اثر درمانی حجامت در بیماری‌های باکتریال مشخص شده است و با توجه به اینکه مکانیسم‌های دفاعی علیه عفونت‌های باکتریال بر پایه فاگوسیت‌ها، ماکروفاژها و فاکتورهای کموتاکتیک استوار است از این‌رو ممکن است حجامت با تاثیر بر آیشار کمپلمان و تولید محصولات گوناگون پروتینی مانند C3b، C4b و فاکتورهای کموتاکتیک مانند C3a، C5a منجر به تقویت سیستم بیگانه‌خواری ماکروفاژها (دفاع سلولی) شود.^۹ اینترفرون گاما (IFN- γ) اثرات چشمگیری را روی پاسخ‌های دفاع اختصاصی به جا می‌گذارد. مهم‌ترین سلول‌های تولید کننده IFN- γ عبارت از سلول‌های کشنده طبیعی (NK cells)، لنفوسیت‌های Th1 و سلول‌های T سایتوتوکسیک (CD8+) می‌باشند.^{۱۱} سیستم ایمنی در سایه حجامت می‌تواند گنجینه‌های لنفوسیتی خود را به‌طور مداوم افزایش دهد تا در صورت

رت‌ها یک هفته در حیوان خانه و در قفس‌های جداگانه مشخص، گروه‌بندی و نگهداری شدند. جهت انجام حمام بر روی رت‌ها در ابتدا موهای ناحیه ساکرال تراشیده شد و پس از آن یک مرتبه، به‌منظور تجمع خون مویرگی بادکش در ناحیه مورد نظر صورت گرفت. در ادامه به منظور تکمیل فرآیند حمام و خروج خون از ناحیه بادکش‌گذاری شده، به‌وسیله تیغ بیستوری شکاف‌هایی (تیغ زدن) در پوست رت‌ها ایجاد شد و بلافاصله بادکش دوم در محل شکاف‌ها صورت گرفت و پس از خونگیری از محل حمام، لیوان بادکش برداشته و خون‌های محل پاک شدند.^{۱۴،۱۵} به‌منظور تسریع روند بهبود بافت و همچنین جلوگیری از عفونت بر روی محل حمام غسل مالیده شد.^{۱۴،۱۶}

پس از پایان مرحله حمام، جهت خونگیری از رت‌ها به‌وسیله تزریق داخل صفاقی کتامین، بیهوش و سپس مقدار خون مورد نیاز به‌وسیله سرنگ ۱۰ ml گرفته و در لوله‌های لخته ریخته شدند. سپس بی‌درنگ لوله‌ها سانتریفیوژ گردیدند و سرم آن‌ها جدا گردید. برای تشخیص بروسلوز از تست‌های سرولوژی رایت، کومبس رایت و ۲-مرکاپتواتانول (Wright, Coombs Wright, 2-Mercaptoethanol) در این مطالعه استفاده شد که وجود تیترا بالا و یا افزایش تیترا آنتی‌بادی اختصاصی را می‌توان نشانه احتمال بروسلوز دانست.^{۱۷} کیت مورد استفاده در این مطالعه Rat IFN gamma platinum ELISA kit (eBioscience, San Diego, CA, USA) بود که میزان اینترفرون گامای رت با روش الیزا بر اساس پروتکل کیت اندازه‌گیری شد. پس از خونگیری و مرگ آسان رت‌ها به‌منظور بررسی هیستوپاتولوژی، از بافت کبد آن‌ها نمونه‌برداری شد.

سپس نمونه در فرمالین ۱۰٪ قرار داده و برای بررسی بافت‌شناسی آزمایشگاه هیستوپاتولوژی انتقال داده شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS software, version 21 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) با استفاده از تست واریانس (ANOVA) و به‌علت کم بودن حجم نمونه‌ها در هر گروه از Shapiro-Wilk test برای بررسی نرمال بودن داده‌ها استفاده گردید. $P \geq 0.05$ معنادار در نظر گرفته شد. شاخص توصیفی این مطالعه سطح سرمی اینترفرون گاما IFN- γ بود که نتایج به‌دست آمده توسط نرم‌افزار SPSS software, version 21 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) آنالیز شد و برای بررسی نرمال بودن توزیع داده و پارامتریک بودن آن‌ها از

یافته‌ها

نتیجه آزمایش رایت و ۲-مرکاپتواتانول در رت‌های سالم و حمامات نشده (گروه اول) در ابتدای آزمایش نشان داد رت‌هایی که وارد مطالعه شده‌اند مبتلا به بروسلوز نبودند. نتیجه این آزمایش برای گروه اول در جدول ۲ آورده شده است. آزمایش کومبس رایت برای رت‌های سالم و حمامات نشده‌ای که آزمون رایت و ۲-مرکاپتواتانول آن‌ها منفی بود انجام شد و نتایج آن آزمون‌ها را تایید نمود و آشکار شد که رت‌های وارد مطالعه شده، مبتلا به بروسلوز نبودند. نتیجه آزمایش الایزای گروه‌های مورد مطالعه، میزان سطح سرمی اینترفرون گاما در جدول ۳ آورده شده است. پس از مشخص شدن نتیجه آزمون‌های تأییدی در گروه اول و مشخص شدن عدم ابتلا رت‌ها به بروسلوز، در گروه‌های مورد نظر، حمامات مرتبه اول و همچنین مبتلاسازی رت‌ها به بروسلوز انجام شد.

پس از گذشت دو هفته، از گروه‌های یک‌بار حمامات، نمونه خون برای جداسازی سرم به‌منظور انجام تست‌های سرولوژی و الایزا و نمونه بافت کبد برای بررسی هیستوپاتولوژی دریافت گردید. نتیجه آزمایش الایزا برای گروه‌های دوم (رت‌های مبتلا نشده بروسلوز و یک‌بار حمامات شده)، چهارم (رت‌های مبتلا شده به بروسلوز و حمامات نشده) و پنجم (رت‌های مبتلا شده به بروسلوز و یک‌بار حمامات شده) به‌ترتیب نشان داد که در گروه دوم میانگین سطح سرمی اینترفرون گاما نسبت به گروه اول افزایش اندکی ($1/208$ pg/dl) داشت، در گروه چهارم یافته‌های ما نشان داد که میانگین سطح سرمی اینترفرون گاما نسبت به گروه اول اندکی افزایش ($1/338$ pg/dl) داشت و در گروه پنجم یافته‌های ما نشان داد که میانگین سطح سرمی اینترفرون گاما نسبت به گروه اول افزایش چشمگیر ($10/788$ pg/dl) و نسبت به گروه دوم هم افزایش ($9/08$ pg/dl) داشت. نتیجه آزمایش الایزا برای گروه‌های سوم (رت‌های مبتلا نشده بروسلوز و دوبار با فاصله ۱۰ روز حمامات

جدول ۱: سطح سرمی اینترفرون گاما در گروه‌های مورد مطالعه (بر حسب pg/dl)

| گروه‌ها | تعداد رت | میانگین سطح سرمی اینترفرون گاما | انحراف معیار | گسترده | تست شاپیرو-ویلک (P) |
|------------|----------|---------------------------------|--------------|-------------|---------------------|
| گروه اول | ۸ | ۲۲/۰۱ | ۷/۲۷ | ۱۲/۲۵-۷۳/۰۸ | ۰/۵۵۲ |
| گروه دوم | ۸ | ۲۳/۲۲ | ۶/۱ | ۱۳/۳۰-۴۶/۰۱ | ۰/۴۲۰ |
| گروه سوم | ۸ | ۲۷/۱۰ | ۵/۸۶ | ۱۶/۳۴-۳۳/۵۵ | ۰/۳۶۵ |
| گروه چهارم | ۸ | ۲۳/۳۸ | ۱/۹۶ | ۲۰/۲۶-۸۶/۰۲ | ۰/۵۲۲ |
| گروه پنجم | ۸ | ۳۲/۸۰ | ۴/۷۵ | ۲۵/۳۸-۷۳/۱۶ | ۰/۴۴۹ |
| گروه ششم | ۸ | ۳۸/۳۲ | ۵/۴۱ | ۳۳/۴۷-۸۳/۴۴ | ۰/۸۳۳ |

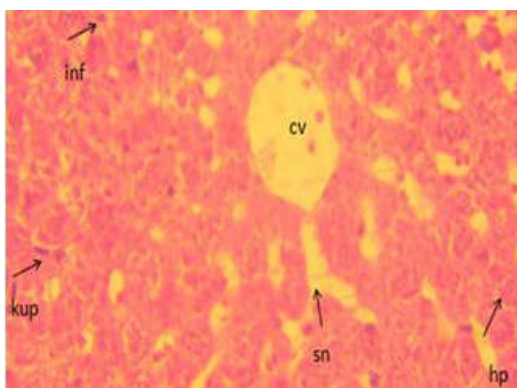
P<۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد.

جدول ۲: نتیجه آزمایش رایبیت ۲- مرکاپتواتانول (2-Mercaptoethanol) برای رت‌های سالم و حجامت نشده (گروه اول)

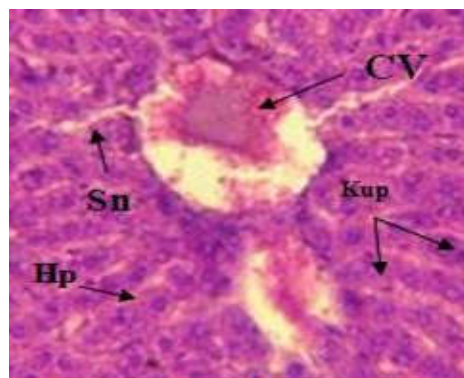
| گروه‌های مورد مطالعه | رت شماره ۱ | رت شماره ۲ | رت شماره ۳ | رت شماره ۴ | رت شماره ۵ | رت شماره ۶ | رت شماره ۷ | رت شماره ۸ |
|---|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| نتایج تست رایبیت رت‌های سالم و حجامت نشده | ۰/۰۵ | ۰/۰۵ | ۰/۰۵ | ۰/۰۲۵ | ۰/۰۲۵ | ۰/۰۲۵ | ۰/۰۲۵ | ۰/۰۲۵ |
| نتایج تست ۲- مرکاپتواتانول رت‌های سالم و حجامت نشده | منفی | منفی | منفی | منفی | ۰/۰۵ | منفی | منفی | منفی |

جدول ۳: نتیجه آزمایش الایزا برای سنجش میانگین سطح سرمی اینترفرون گاما (pg/dl) در گروه‌های مورد مطالعه

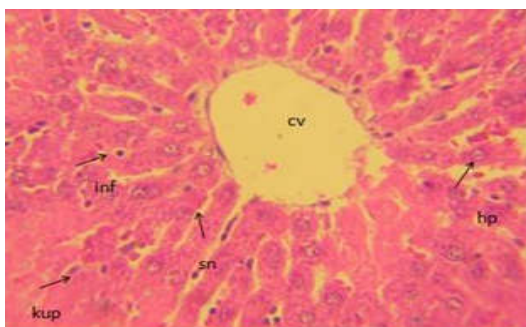
| ردیف | رت شماره ۱ | رت شماره ۲ | رت شماره ۳ | رت شماره ۴ | رت شماره ۵ | رت شماره ۶ | رت شماره ۷ | رت شماره ۸ | مجموع میانگین |
|---|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|---------------|
| میزان اینترفرون گروه‌ها | | | | | | | | | |
| گروه اول (رت‌های سالم و حجامت نشده) | ۱۶/۸ | ۲۱/۳۰ | ۱۲/۷۳ | ۲۲/۸۵ | ۲۵/۰۸ | ۱۶/۰۷ | ۲۵/۰۷ | ۳۶/۲۰ | ۱۶/۸ |
| گروه دوم (رت‌های مبتلا نشده به بروسلوز و یک‌بار حجامت شده) | ۱۳/۴۶ | ۲۰/۸۷ | ۲۸/۷۸ | ۱۸/۸۳ | ۲۹/۵۶ | ۳۰/۰۱ | ۸/۱۶ | ۶/۰۹ | ۱۸۵/۷۶ |
| گروه سوم (رت‌های مبتلا نشده به بروسلوز و دوبار با فاصله ده روز حجامت شده) | ۲۰/۷۹ | ۲۶/۶۶ | ۲۹/۷۴ | ۱۶/۳۳ | ۳۰/۲۰ | ۳۴/۵۵ | ۲۸/۰۶ | ۳۰/۴۸ | ۲۱۶/۸ |
| گروه چهارم (رت‌های مبتلا شده به بروسلوز و حجامت نشده) | ۲۱/۸۰ | ۲۰/۸۶ | ۲۵/۳۳ | ۲۱/۲۹ | ۲۲/۸۵ | ۲۴/۰۱ | ۶/۰۲ | ۴/۸۸ | ۱۸۷/۰۴ |
| گروه پنجم (رت‌های مبتلا شده به بروسلوز و یک‌بار حجامت شده) | ۲۵/۷۳ | ۲۷/۶۱ | ۳۸/۱۶ | ۳۷/۹۶ | ۳۱/۷۲ | ۳۷/۰۱ | ۰/۴ | ۳/۸۴ | ۲۶۲/۴ |
| رت‌های مبتلا به بروسلوز و دوبار حجامت شده با فاصله ۱۰ روز | ۳۹/۹۱ | ۳۹/۵۴ | ۴۷/۴۴ | ۴۰/۰۶ | ۳۸/۲۵ | ۳۳/۸۳ | ۳۵/۹۱ | ۳۴/۱۶ | ۳۹/۹۱ |



شکل ۴: گروه چهارم (رت‌های مبتلا شده به بروسلوز و حجامت نشده)



شکل ۱: گروه اول (رت‌های سالم و حجامت نشده)

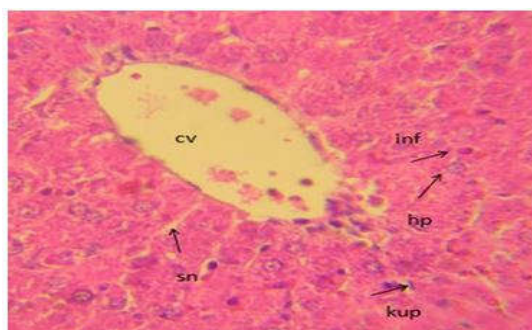


شکل ۵: گروه پنجم (رت‌های مبتلا به بروسلوز و یک‌بار حجامت شده)

cv: central vein (رگ مرکزی), sn: sinusoid (سینوزید)

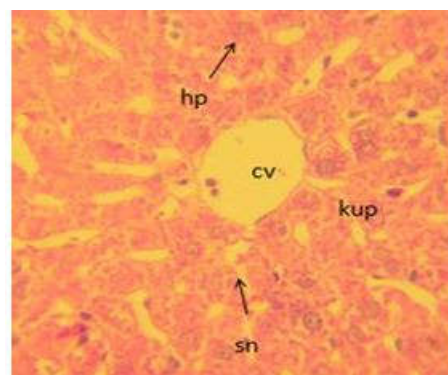


شکل ۲: گروه دوم (رت‌های سالم و یک‌بار حجامت شده)



شکل ۶: گروه ششم (رت‌های مبتلا شده به بروسلوز و دو بار حجامت شده)

Kup: kupffer (ماکروفاژهای کبدی), hp: hepatocyte (سلول‌های کبدی)
inf: infiltration (التهاب)



شکل ۳: گروه سوم (رت‌های سالم و دو بار حجامت شده)

شده)، نشان داد که میانگین سطح سرمی اینترفرون گاما نسبت به گروه اول افزایش اندکی ($5/09 \text{ pg/dl}$) داشت. پس از خارج کردن بافت کبد از رت‌های موجود در مطالعه و تهیه مقطع بافتی، نتیجه بررسی رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و اتوزین مقاطع بدین صورت گزارش گردید: در گروه کنترل و گروه‌های حجامت تنها هپاتوسیت‌ها بازوفیل بوده و آرایش رادیالی خود را حفظ کرده بودند و ورید مرکزی ساختار یکپارچه خود را داشت. سینوزوئیدها متسع نبودند. در گروه بروسولوز بافت کبد، آرایش شعاعی خود را از دست داده بود و سلول‌ها حالت اسیدوفیلی داشتند. تعداد سلول‌های کوپفر افزایش یافته و انفیلتراسیون مشاهده شد. سینوزوئیدها حالت متسع به خود گرفته بودند. در گروه‌های مبتلا به بروسولوز و حجامت شده آرایش شعاعی کبد برگشته بود، البته نه به صورت کامل و تعداد سینوزوئیدهای متسع نیز کاهش یافته بود. ولی همچنان انفیلتراسیون سلولی مشاهده می‌شد که این نتایج دال بر تاثیر مثبت حجامت در بهبود ضایعات بیماری بروسولوز در کبد رت‌های مبتلا بود.

بحث

یافته‌های این مطالعه نشان داد که انجام حجامت باعث افزایش سطح سرمی اینترفرون گاما در رت‌های مبتلا به بروسولوز می‌شود که این امر خود می‌تواند مویب این موضوع باشد که حجامت به وسیله افزایش سایتوکین‌های دسته Th1 از جمله اینترفرون گاما و در نتیجه فعال‌سازی لنفوسیت‌های T سایتوکسیک و هم چنین ماکروفاژ و سلول‌های NK می‌تواند به روند بهبودی بیماری و پاکسازی بروسولا از بدن کمک شایانی نماید. داده‌های مربوط به شش گروه از توزیع نرمال برخوردار هستند. پیش مورد آزمون دیگر، همگنی واریانس داده‌ها بود که با توجه به P به دست آمده برای این آزمون ($P=0/173$) می‌توان نتیجه گرفت که گروه‌ها از همگنی واریانس برخوردار گردید. نتیجه این تست نشان داد که هم اثر دو متغیر به صورت جداگانه و هم اثر ترکیبی آن‌ها از لحاظ آماری معنادار بود ($P \leq 0/05$).

بنابراین نمی‌توان در زمینه بزرگی اثر هر کدام از متغیرها اظهار نکرد و یا به عبارت دیگر هر دو متغیر اثر یکسانی از لحاظ آماری بر روی سطح سرمی IFN- γ داشته‌اند. نتیجه مقایسه سه گروه اول با یکدیگر نشان داد که در رت‌های سالم، حجامت تأثیری بر روی سطح سرمی

نتیجه این تست نشان داد که، هم اثر دو متغیر به صورت جداگانه و هم اثر ترکیبی آن‌ها از لحاظ آماری معنادار بود ($P \leq 0/05$). در مطالعه‌ای Mainardi و همکاران تاثیر حجامت بر بیماری‌های التهابی به ویژه آسم را بررسی و تغییرات چشمگیری در زیر گروه‌های سلول‌های T و برهم خوردن تعادل بین سلول‌های Th1 و Th2 گزارش کردند و نشان دادند که سطح سرمی سایتوکین‌های IL4 و IL5 نیز در این بیماران در درمان با حجامت کاهش می‌یابد که نتایج حاصل از مطالعه آن‌ها با نتایج مطالعه ما همسو بود که این افزایش در میزان سطح سرمی اینترفرون گاما می‌تواند به دلیل فعال‌سازی لنفوسیت‌های مبتدی حاضر در محل که توانایی بالقوه‌ای در برخورد با آنتی‌ژن و فعال‌سازی دیگر عوامل ایمنی، از جمله ماکروفاژ و سلول‌های NK که ترشح‌کنندگان اینترفرون گاما هستند، باشد.^{۱۶} در مطالعه‌ای Aeini و همکاران، تأثیر حجامت را بر روی پارامترهای هماتولوژیکی در رت بررسی کردند و دریافتند که گذشت زمان موجب افزایش شاخص‌های گلبول‌های قرمز و هماتوکریت (شامل ارزیابی تعداد کل گلبول سفید خون، لنفوسیت‌ها، گرانولوسیت‌ها، گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و پلاکت) می‌شود و به احتمال می‌تواند در درمان کم‌خونی ناشی از بیماری‌های مزمن کلیوی موثر باشد که نتایج مطالعه آن‌ها مویب نتیجه حاصل از مطالعه حاضر بود.^{۱۷}

در مطالعه دیگر که توسط Kim و همکاران انجام شد، اثرات نامطلوب حجامت را بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که اثرات نامطلوب گزارش شده مرتبط با حجامت، نادرند و اگر افراد آموزش دیده، درمان را پیش ببرند، اکثراً قابل اجتناب هستند که نتیجه این مطالعه هم با نتایج ما همسو بود و در هیچ‌کدام از رت‌ها علائم عفونت در محل حجامت دیده نشد.^{۱۷}

در بررسی Samadi و همکاران در مطالعه‌ای نقش حجامت را در سیستم ایمنی بررسی کردند و دریافتند که حجامت را می‌توان به عنوان یک عامل تنظیم‌کننده سیستم ایمنی (شامل تقویت تولید C3b، C4b،

بافت کبد (از جمله برهم خوردن آرایش شعاعی سلول‌های کبد و اتساع سینوزویدها) می‌گردد. یافته‌های این پژوهش تأیید کننده آن است که این روش درمانی می‌تواند در کنار درمان شیمیایی و دارویی برای کمک به بهبود و پاکسازی کامل این بیماری از بدن فرد مبتلا کمک شایانی نماید. نتایج حاصل از این مطالعه مشخص کرد که انجام حجامت باعث افزایش سطح سرمی اینترفرون گاما در رت‌های مبتلا به بروسلا و هم چنین بهبود ضایعات کبدی حاصل از بیماری بروسلاز می‌شود. **سپاسگزاری:** این مقاله حاصل پایان‌نامه تحت عنوان "بررسی تاثیر حجامت بر سطح سرمی اینترفرون گاما در رت‌های آزمایشگاهی مبتلا به بیماری بروسلاز" در مقطع کارشناسی ارشد در سال ۱۳۹۴ و کد ۹۴۰۴۰۹۱۸۳۸ می‌باشد که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی همدان اجرا شده است.

و فاکتورهای کموتاکتیک مانند C5a و C3a و سیستم بیگانه‌خواری ماکروفاژها و کاهش چشمگیر در فاکتورهای التهابی از جمله ESR، RF، CRP و IL2 می‌شود) محسوب نمود که نتایج این مطالعه هم با نتایج به‌دست آمده از مطالعه ما همخوانی داشت که به درستی و به‌طور دقیق مکانیسم حجامت و این عمل دوگانه آن هنوز به‌خوبی شناخته نشده است، ولی می‌تواند به‌دلیل فعال‌سازی عوامل کلیدی ایمنی و هماتولوژیکی و به راه‌اندازی فرآیندهای آبخاری مورد نیاز بدن باشد.^{۱۸} در مطالعه‌ای Ramazani و همکاران، تاثیر حجامت را بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو و برخی فاکتورهای خونی در بیماران دیابت نوع دو بررسی شد، و نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که، حجامت باعث بهبود فاکتورهای خونی در افراد دیابتیک می‌شود.^{۱۹} بررسی هیستوپاتولوژیکی بافت کبد رت‌های حاضر در مطالعه مشخص کرد که حجامت باعث برگشت آسیب‌های ایجاد شده توسط بروسلا در

References

- Bennett JE, Dolin R, Mandell GL, editors. Principles and Practice of Infectious Diseases. 8th ed. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier; 2014.
- Alikhani MY, Hashemi SH, Naseri Z, Farajnia S, Peeri-Dogaheh H, Hashemi SH. Diagnosis of human brucellosis by blood culture (BACTEC) and PCR method via whole blood and serum. *Jundishapur J Microbiol* 2013;6(3):248-51.
- Elfaki MG, Al-Hokail AA, Nakeeb SM, Al-Rabiah FA. Evaluation of culture, tube agglutination, and PCR methods for the diagnosis of brucellosis in humans. *Med Sci Monit* 2005;11(11):MT69-74.
- Engstrom JW, Deyo, RA. Back and neck pain. In: Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, et al, editors. Harrison's Principles of Internal Medicine, 19th ed. New York, NY: McGraw-Hill; 2007:207-14.
- Goldman L, Ausiello D, editors. Cecil Medicine 23rd ed. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier; 2007.
- Aeni Z, Afsahi A, Rezvan H. An investigation of the effect of wet cupping on hematology parameters in mice (BALB/C). *Res Med* 2013;37(3):145-50.
- Mahmoudi H, Arabestani MR, Molavi M, Shirzadi Karamolah K, Fahim NZ. The study effects antimicrobial of *Foeniculum vulgare* mill and *Achilles mille folium* plant on bacterial pathogens causing urinary tract infections and nosocomial infection. *Int J Pharmacognosy Phytochem Res* 2016;8(9):1549-54.
- Danyali F, Vaez Mahdavi MR, Ghazanfari T, Naseri M. Comparison of the biochemical, hematological and immunological factors of "cupping" blood with normal venous blood. *Physiol Pharmacol* 2009;13(1):78-87.
- Ahmadi A, Schwebel DC, Rezaei M. The efficacy of wet-cupping in the treatment of tension and migraine headache. *Am J Chin Med* 2008;36(1):37-44.
- Lüdtke R, Albrecht U, Stange R, Uehleke B. Brachialgia parasthetica nocturna can be relieved by "wet cupping"--results of a randomised pilot study. *Complement Ther Med* 2006;14(4):247-53.
- Janeway CA Jr, Travers P, Walport M, Shlomchik MJ. Immunobiology: The Immune System in Health and Disease. 5th ed. New York, NY: Garland Science; 2001.
- Samadi M, Kave M, Mirghanizadeh SA. Study of cupping and its role on the immune system. *Religion Health* 2013;1(1):57-63.
- Alizadeh H, Salouti M, Shapouri R, Abdollahzadeh P, Nasseryan J. Antibacterial effects of silver nanoparticles on *Brucella melitensis* 16M in an animal model in Vitro. *Arak Med Univ J* 2012;14(7):64-70.
- Gruner OC. A Treatise on the Canon of Medicine of Avicenna, Incorporating a Translation of the First Book. Birmingham, AL: Classics of Medicine Library; 1930.
- Stevens CD. Clinical Immunology and Serology: A Laboratory Perspective. 3rd ed. Philadelphia, PA: FA Davis Company; 2009.
- Mainardi T, Kapoor S, Bielory L. Complementary and alternative medicine: herbs, phytochemicals and vitamins and their immunologic effects. *J Allergy Clin Immunol* 2009;123(2):283-94; quiz 295-6.
- Kim TH, Kim KH, Choi JY, Lee MS. Adverse events related to cupping therapy in studies conducted in Korea: a systematic review. *Eur J Integr Med* 2014;6(4):434-40.
- Ramazani M, Shariatzade SMA, Malekiran AA, Akbari A, Shariatzade M. Effect of cupping on blood factors and oxidative stress in diabetes type II. *Arak Med Univ J* 2013;15(8):54-60.

The effect of wet cupping on serum levels of interferon-gamma in laboratory rats with the disease brucellosis

Mohammad Molavi M.Sc.¹
Rasoul Yousefi Mashouf
Ph.D.^{1*}
Mohammad Yousef Alikhani
Ph.D.^{1,2}
Hassan Mahmoudi Ph.D.
Candidate¹
Alireza Zamani Ph.D.³
Fariba Keramat M.D.^{2,4}
Sara Soleimani Asl Ph.D.⁵

1- Department of Microbiology,
Faculty of Medicine, Hamadan
University of Medical Sciences,
Hamadan, Iran.

2- Brucellosis Research Center,
Faculty of Medicine, Hamadan
University of Medical Sciences,
Hamadan, Iran.

3- Department of Immunology,
Faculty of Medicine, Hamadan
University of Medical Sciences,
Hamadan, Iran.

4- Department of Infectious
Diseases, Faculty of Medicine,
Hamadan University of Medical
Sciences, Hamadan, Iran.

5- Department of Anatomy, Faculty
of Medicine, Hamadan University
of Medical Sciences, Hamadan,
Iran.

* Corresponding author: Department of
Microbiology, Faculty of Medicine,
Hamadan University of Medical
Sciences, Shahid Fahmideh St.,
Hamadan, Iran.
Tel: +98- 81- 38380130
E-mail: yousefimash@yahoo.com

Abstract

Received: 22 Apr. 2017 Revised: 17 Sep. 2017 Accepted: 21 Sep. 2017 Available online: 22 Sep. 2017

Background: Brucellosis is a systemic infection caused by gram-negative coccobacilli and facultative intracellular bacteria of the genus brucella. Brucellosis is a bacterial disease common to humans and livestock. Infection with *Brucella* spp. continues to pose a human health risk globally despite strides in eradicating the disease from domestic animals. The humoral and cellular immunity plays an important role in brucellosis. The effect of phagocytosis and cellular immunity has been demonstrated in brucellosis. The effect of cupping as a therapeutic method on bacterial diseases has been demonstrated. By considering this fact that cupping is an effective method on host immune system functions and has potential effect to regulate the inflammatory reactions.

Methods: This experimental study was carried out on 48 rats in 6 groups (48 rats were divided into 6 groups) during the first 6 months from January 2015 to July 2016 in the laboratory of microbiology and animal of Hamedan University of Medical Sciences. The rats were infected through the injection of *Brucella melitensis* with plenty 5×10^5 (cfu/ml) of bacteria. After a week, in order to approve the accuracy of the infection in the studied rats inoculated with coombos *Brucella melitensis*, Wright test, 2-Mercaptoethanol test and Coombs' Wright test were used. The rats were then treated with cupping method in their sacral area. IFN- γ was measured using enzyme-linked immunosorbent assay. And the study of tissues using hematoxylin and eosin (H&E) Staining.

Results: The results of this study showed that cupping leads to an increase in the mean serum level of interferon-gamma. The histopathological study of liver tissue showed that the radial arrangement was not observed in the infected group with brucellosis and the cells were acidophilus. While, the radial arrangement was observed in treated rats with cupping, but it was not complete. The number of enlarged sinusoids were reduced. But, cell infiltration was observed.

Conclusion: This study showed that cupping can increase serum level of IFN- γ , and thus help to the clearance of disease and improvement of injury in the brucellosis animals lab.

Keywords: brucellosis, control groups, interferon-gamma, mercaptoethanol, rats.