

بررسی خواص دارویی اجزای بزاق در حیوانات هماتوفاژ

سعیده نعیمی (نویسنده مسئول)^۱، باقر نیک رو^۲

^۱گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه سمنان، سمنان naemis@semnan.ac.ir

^۲دانشکده علوم و فناوریهای نوین، دانشگاه سمنان، سمنان bagher.nikrou@gmail.com

چکیده

حیوانات هماتوفاژ از خون مهره‌داران به‌عنوان تنها منبع تغذیه خود استفاده می‌کنند. این حیوانات بسیاری از ترکیبات بزاقی را برای مقابله با پاسخ هموستاتیک طعمه خود طی تکامل ایجاد کرده‌اند. بزاق حیوانات هماتوفاژ سال‌هاست که مورد مطالعه قرار گرفته‌اند و کاربردهای در پزشکی دارند. هدف از این مطالعه مقایسه ترکیبات بزاقی زالو (Hirudinae)، کنه (Ixodidae و Argasidae) و خفاش خون‌آشام (Desmodontinae) و بررسی خواص درمانی آن‌ها می‌باشد. ترکیبات بزاقی شامل فعال‌کننده‌های پلاسمینوژن (PAs)، ضد انعقادها (فاکتور فعال FXa، X، مهارکننده‌ها)، گشادکننده عروق، مهارکننده‌های تجمع پلاکتی (PAgI) و مهارکننده‌های ترومبین هستند. حیوانات مورد مطالعه همگی تمایل به داشتن یک ضد انعقاد و نوعی آپیپراز (PAgI) برای کمک به تغذیه خون دارند. کنه‌ها و خفاش‌های خون‌آشام نوعی PA دارند اما زالو این گونه نیست. خفاش خون‌آشام دارای PAgI است اما گشادکننده عروق ندارد. حیوانات مورد مطالعه از گروه‌هایی هستند که از نظر طبقه‌بندی نامرتبط هستند، اما از مکانیسم‌های عمل مشابه برای تسهیل هماتوفاژی خود استفاده می‌کنند.

واژه‌های کلیدی

حیوانات خونخوار، بزاق هماتوفاژ، بزاق زالو، بزاق کنه، بزاق خفاش

دوازدهمین کنگره ملی سراسری فناوریهای نوین در حوزه توسعه پایدار ایران

12th National Congress of
the New Technologies in Sustainable Development of Iran

senaconf.ir

۱. مقدمه

حیوانات به عنوان منابع دارویی برای درمان و تسکین بسیاری از بیماری‌ها در هر فرهنگ بشری مورد استفاده قرار گرفته‌اند. اگرچه توسط بسیاری به عنوان خرافات در نظر گرفته می‌شود، اما نمی‌توان منکر ارتباط طب سنتی مبتنی بر حیوانات شد زیرا آن‌ها توسط شرکت‌های داروسازی به عنوان منابع دارویی برای علم پزشکی مدرن مورد تحقیق و آزمایش قرار گرفته است. بسیاری از حیوانات با تیکه بر یک یا چند خصوصیت وراثتی خود در طی تکامل، توانسته‌اند ویژگی‌های خاص نسبت به دیگر حیوانات پیدا کنند. با پیشرفت روزافزون علم، و شناخت دقیق مکانیسم‌های درمانی در زمینه استفاده از فرآورده‌های بیولوژیک حیوانی، شاهد آن خواهیم بود که فرآورده‌های حیوانی در کنار فرآورده‌های گیاهی در طب سنتی برای درمان انواع بیماری‌ها تجویز و مورد بررسی قرار می‌گیرند [1]. در این مقاله ما با مروری بر مقالات مبتنی بر وجود مواد فعال بیولوژیکی در بزاق حیوانات خونخوار سعی بر ارائه مطالب جامع و مختصر در زمینه‌های درمانی آن‌ها داریم. حیوانات هماتوفاز حیواناتی هستند که به خون حیوانات دیگر به عنوان تنها منبع تغذیه خود متکی هستند. این موجودات انگلی مولکول‌های بزاقی بسیار خاصی را ایجاد کرده‌اند که پاسخ هموستاتیک میزبان را خنثی می‌کنند و همچنین کنترل رفتاری محدودی را اعمال می‌کنند. تحقیقات قابل توجهی در مورد اجزای بزاق و پتانسیل آن‌ها برای درمان بیماری‌های انسانی انجام شده است. هموستاز فرآیندی است که طی آن جریان خون در محل آسیب متوقف می‌شود. این یکی از اولین پاسخ‌ها به آسیب عروقی است و فرآیندهای بعدی آن از جمله ترمیم زخم را آغاز می‌کند. به طور خلاصه، انعقاد شامل تشکیل یک پلاگ هموستاتیک شل است، که سپس به یک لخته قطعی (ترومبوز) حاوی فیبرین تبدیل می‌شود. بزاق به حشرات خون‌خوار کمک می‌کند تا با تداخل با هموستاز، التهاب و ایمنی مهره‌داران، غذای خونی خود را دریافت کنند [2].

در این مقاله به استفاده از بزاق حیوانات خونخوار به عنوان منبع درمانی در پزشکی اشاره می‌شود. حشرات و سایر بندپایان مواد تشکیل دهنده‌ای را فراهم می‌کنند که برای قرن‌ها جزء اصلی طب سنتی در بخش‌هایی از شرق آسیا، آفریقا و آمریکای جنوبی بوده است. در حالی که بسیاری از این مواد به صورت تجربی ارزیابی نشده‌اند، در آزمایشات اولیه نشان داده شده است که خواص مفیدی دارند.

۱. بزاق زالو

زالوها در آب زندگی می‌کنند و معمولاً از مواد گیاهی پوسیده تغذیه می‌کنند. آن‌ها انسان را با چربی پوست، خون، گرما و حتی دی‌اکسید کربنی که تنفس می‌کنیم تشخیص می‌دهند. بزاق زالو در حال حاضر برای شناسایی ترکیبات دارویی خاصی که ممکن است برای تقویت خواص ضد انعقادی و هضم لخته خون به منظور تولید داروهای برای درمان بیماری‌های قلبی عروقی مانند سکت قلبی ایجاد شود، در حال بررسی است. زالو همچنین در گذشته برای از بین بردن خون احتقانی به منظور افزایش گردش خون طبیعی برای بازگشت به بافت آسیب دیده یا عفونی بدن مورد استفاده قرار می‌گرفت، بنابراین به جلوگیری از شروع قانقاریا کمک می‌کرد [3,4].

به نظر می‌رسد مکانیسم ترشح مواد فعال بیولوژیکی از غدد بزاقی زالو بر روی موجودات زنده باشد. ۱۰۰ ماده مختلف زیست فعال در بزاق زالو وجود دارد. متداول‌ترین ماده یافت شده هیرودین است، ماده‌ای که روند لخته شدن خون را سرکوب می‌کند. ترشحات غدد بزاقی زالو همچنین دارای اثرات ضد التهابی، ضد باکتری و ضد درد است. این‌ها اختلالات ریزجریان را از بین می‌برد و نفوذپذیری عروقی آسیب دیده بافت‌ها و اندام‌ها را بازیابی می‌کند، هیپوکسی را از بین می‌برد، فشار خون را کاهش می‌دهد، ایمنی را افزایش می‌دهد، وضعیت بیوانرژیک ارگانسیم را افزایش می‌دهد [5].

جدول ۱ مواد زیستی بالقوه‌ی فعال موجود در بزاق زالو [5]

نوع عمل	مواد
اثرات ضد التهابی و ضد درد	آنتی‌استازین، هیروستازین، اگلین C، مهار کننده تریپتاز مشتق از زالو (LDTI)، ژیلانتن، مهار کننده کمپلمان C1، کوآمرین و پی‌کوآمرین، مهار کننده کربوکسی پپتیداز، بدلین و بدلاستاسین
تخریب ماتریکس خارج سلولی	هیالورونیداز و کلاژناز

دوازدهمین کنگره ملی سراسری فناوریهای نوین در حوزه توسعه پایدار ایران

12th National Congress of
the New Technologies in Sustainable Development of Iran

senaconf.ir

افزایش در میزان جریان خون

استیل کولین، مولکولهای شبه هیستامینی

مهار عملکرد پلاکت

کالین، ساراتین، آپیراز، دکورسین

اثر ضد انعقادی

دستیلاز، ژلین، هیرودین، مهار کننده فاکتور ۱۰ فعال، ویتیدوویتمانین

اثرات ضد میکروبی

دستیلاز، تروماسین، کلرمیستین، ترومازین و پیتید B

۱,۱ تخریب ماتریکس خارج سلولی

در بسیاری از گونه‌های زالو، بزاق حاوی هیالورونیداز و کلاژناز است [6,7]. در گونه *Hirudo*، دارای فعالیت بتا-اندوگلوکورونیداز است [8]. این ماده قادر است اسید هیالورونیک را در ماتریکس خارج سلولی بافت میزبان هضم کند [9]. این کمپلکس تعداد زیادی از مولکولهای آب را بهم متصل می‌کند و در نتیجه ماتریکس خارج سلولی را تثبیت می‌کند. تخریب هیالورونیک اسید توسط هیالورونیداز زالو، مولکولهای آب را که قبلاً ثابت شده بود بین پروتئوگلیکان‌ها بسیج می‌کند. این امر توزیع انتشار سایر پپتیدها و پروتئین‌های بزاقی را در بافت اطراف محل تغذیه تسهیل می‌کند [10].

۱,۲ افزایش جریان خون

اجزای بزاق زالو جریان خون را در محل تغذیه بهبود می‌بخشند. بخش‌های کشیده سلول‌های غدد بزاقی زالو حاوی هیستامین است [10]. ممکن است نفوذ پذیری جزیی رگ‌های خونی و شل شدن سلول‌های عضلانی صاف شریان‌های کوچک را القا کند [11]. این امر منجر به آزاد شدن مایع از مجرای عروق به سمت بینابینی (ادم) و افزایش طولانی مدت جریان خون به محل تغذیه می‌شود [12]. استیل کولین یکی از اجزا بزاق زالو می‌باشد که باعث استراحت عضلات اندوتلیال و اتساع عروق می‌شود [13-15].

۱,۳ اثرات ضد التهابی و ضد درد

با توجه به اینکه امکان جداسازی مولکولهای ضد درد از ترشحات بزاق زالو تا کنون وجود نداشته است ولی اعتقاد بر این است که زالوها همان‌گونه که توسط میزبان احساس نمی‌شوند، اثرات ضد التهابی و ضد دردی خود را اعمال می‌کنند [16]. بنابراین مطالعات موجود در زمینه مکانیسم‌های غیرمستقیم متمرکز شده‌اند. بطور مثال برخی مطالعات نشان داده‌اند که بعضی از کینینازها و آنتیستاسین ممکن است مکانیسم کینین-کالیکرین را که یک مسیر اصلی مرتبط با درد است را مهار کنند [17].

اطلاعات زیادی در مورد اثرات ضد التهابی بزاق زالو وجود دارد. آنتیستاسین از *haementeria officinalis* (زالوی طبی مکزیک) جدا شده به‌عنوان یک مهار کننده قوی برای فاکتور ۱۰ فعال و همچنین در سیستم کینین-کالیکرین اثر مهار کننده دارد [17]. فاکتور ۱۰ فعال یک فعال کننده پروترومبین می‌باشد که در مسیر آبشار انعقادی نقش حیاتی دارد [18]. سیستم کینین-کالیکرین با آبشار انعقادی ارتباط پیدا می‌کند و نقش بسزایی در پاسخ التهابی ایفا می‌کند [19]. محققان ادعا می‌کنند که آنتیستاسین اثرات ضد التهاب و ضد انعقادی دارد، اما در مطالعات اخیر اغلب روی اثرات ضد انعقادی متمرکز شده‌اند، که به نظر می‌رسد مکانیسم اصلی عمل آن باشد [20]. ژلاتیناز در ترشحات *Haementeria ghilianii* (زالوی آمازونی) نیز یافت می‌شود که تشابه ساختاری زیادی را با آنتیستاسین نشان می‌دهد [21,22].

مهار کننده تریپتاز مشتق شده از زالو (LDTI) سه ایزوفرم دارد: a, b, c و با مهار آنزیم‌های پروتئولیتیک ماست سل‌ها عمل می‌کند. LDTI یک مهار کننده سرین پروتئاز نوع کازال است و به‌طور ویژه تریپتاز ماست سل و همچنین تریپسین و کیموتریپسین را مهار می‌کند [23]. تریپتازهای ماست سل پروتئازهای سرین هستند که در گرانول‌های سلول قرار دارند و آزادسازی آن‌ها باعث واکنش‌های التهابی می‌گردد. این اثرات به‌شدت به سیستم کینین-کالیکرین، کموتاکسی، فعال شدن لوکوسیتی، فعالیت عروقی و در نتیجه تداخلات ایجاد کننده درد مربوط می‌شود. مقدار آن‌ها به بیماری‌های آلرژیک و التهابی همچون آنافیلاکسی، سم و آرتريت وابسته است [24,25]. در مورد اثرات مهار کننده گگی LDTI بر فاکتور ۱۰ فعال، کالیکرین پلازما و الاستاز نوتروفیل بحث وجود دارد. حتی با مهار تریپتاز ماست

دوازدهمین کنگره ملی سراسری فناوریهای نوین در حوزه توسعه پایدار ایران

12th National Congress of
the New Technologies in Sustainable Development of Iran

senaconf.ir

سل می‌توان مزایای اثرات ضدالتهابی را پیش بینی کرد. با این حال LDTI نوترکیب در مطالعات مختلف اعمال متناقضی را نشان داده‌است بنابراین نظر دادن درمورد اثرات بالینی آن مشکل است [26].

اگلین C به‌عنوان مهارکننده الاستاز نوتروفیلی انسان و کاتپسین G است [14]. این دو آنزیم در خانواده کیموترپسین سرین پروتئازهای مربوط به ایمنی هستند که در گرانول‌های آئروفیل نوتروفیل‌ها با هسته چندشکلی ذخیره می‌شوند و به‌عنوان بخشی از پاسخ التهابی آزاد می‌شوند [27,28]. اثرات مهار کنندگی اگلین C باعث کاهش سطح رادیکال‌های آزاد اکسیژن در نوتروفیل‌ها و جلوگیری از التهاب و تخریب بافتی می‌گردد. در مدل آزمایشی اگلین C به‌عنوان عامل درمانی قوی برای شوک و آمفیژم نشان داده شده‌است [14]. مطالعات بیشتری جهت بررسی سایر اثرات آن مورد نیاز می‌باشد. سایر اگلین‌های جدا شده نیز از مسیرهای مشابهی عمل می‌کنند که در نهایت منجر به اثرات ضدالتهابی می‌گردد.

یکی دیگر از مهارکننده‌های الاستاز لوکوسیتی که از *hirudo nipponia* (زالوی طبی مکزیکی) جدا شده است سیستئین-کوآمین می‌باشد که باعث مهار کالیکرین و تریپسین می‌شد. همان‌طور که قبلاً گفته شد هیروستاسین (*Hirudo antistasin*) یک مهارکننده سرین پروتئاز است و به‌عنوان مهارکننده کالیکرین، تریپسین، کیموترپسین و کاتپسین G عمل می‌کند و از *H. medicinalis* (زالوی طبی اورپایی) و *H. officinalis* (زالوی طبی مکزیکی) جدا شده است [13,14]. بدلین و بدلاستاسین به‌عنوان مهارکننده تریپسین، پلاسمین و آکروزین اسپرم شناسایی شده‌اند. الاستاز نوتروفیلی انسان و کاتپسین G اثرات فعال کنندگی روی فاکتور ۱ (فعال کننده پروترومبین) و افزایش فعالیت فاکتور ۱۲ و فاکتور بافتی دارند. هم‌چنین اثرات ضدالتهابی این عوامل ممکن است باعث اثرات ضد انعقادی بیشتری شود که نیاز به مطالعات بیشتری دارد [28,29].

بخش C₁ کمپلمان در مسیر کلاسیک کمپلمان نقش حیاتی دارد [30]. در ترشحات زالو مهارکننده C₁ کمپلمان یم پروتئین ۶۰-۷۰ KDa است که فقط بخشی از مکانیسم اثر آن شناخته شده است [31]. این پروتئین ممکن است تنها بخشی از کل پروتئینی باشد که از مسیرهای مختلف سیستم کمپلمان را مهار می‌کند. علاوه بر این مهارکننده C₁ در انسان فاکتور ۱۲ فعال، فاکتور ۱۱ فعال، کالیکرین پلاسمین و ترومبین را سرکوب می‌کند. این مواد آبشار انعقادی و سیستم کینین-کالیکرین را مهار می‌کنند [32].

در حال حاضر هیچ اطلاعی از اثرات مشابه مهارکننده C₁ زالو موجود نیست ولی امکان پذیر بوده و نیازمند مطالعه می‌باشد [26]. مکانیسم اثر مهار کنندگی کربوکسی پپتیداز (کینیناز ۱) مورد بحث است. آنزیم‌های کربوکسی پپتیداز M و N در تخریب کینین شرکت کرده و منجر به عملکردی مشابه گیرنده‌های بتا می‌گردند که باعث ترشح برادی کینین مرتبط با پاسخ التهابی می‌گردد [19]. مهار کربوکسی پپتیداز توسط ترشحات زالو نباید بر برادی کینین ناشی از گیرنده‌های بتا دو اثر کند اما ممکن است از عملکرد گیرنده‌های بتا یک به التهاب مزمن و گیرنده‌های بتا دو به التهاب حاد مربوط می‌شوند. ارتباطات قوی بین گیرنده‌ای بتا یک و بیماری‌های التهابی همچون مولتیپل اسکلروزیس، آسم و آرتریت روماتوئید یافت شده است. با این حال مطالعات نشان می‌دهد که برادی کینین محدود به این دو گیرنده نیست و امکان اثرات ضدالتهابی مهار کربوکسی پپتیداز مورد بحث بوده و باید به‌صورت جداگانه‌ای بررسی شود [33].

۱,۴ مهار عملکرد پلاکت‌ها

تخریب دیواره عروق خونی هنگام مکیدن خون منجر به فعال شدن پلاکت‌ها و آبشار انعقادی می‌شود که برای زالوها کشنده است. به همین دلیل بزاق زالو دارای مولکول‌های فعال زیستی می‌باشد که به‌صورت موضعی مانع از این فعالیت‌ها می‌شوند [26]. در یک میزبان سالم تخریب دیواره عروق سبب آزادسازی و انتشار ذرات کلاژن می‌شود که آن‌ها نیز مورد هدف فاکتور آزاد ون‌ویل براند قرار می‌گیرند. همچنان که vwf مانند یک پل عمل می‌کند، این مجموعه به شدت به گلیکوپروتئین (GP) ib روی پلاکت‌ها متصل می‌شود. با این اتصال مکانیسم‌هایی با نقش حیاتی آدنوزین‌دی‌فسفات تشدید می‌شود و از طریق GpIIb-IIIa و فیبرونوژن، پلاکت‌ها به هم متصل شده تا لخته ایجاد شده و مانع از خونریزی گردد. این واکنش زنجیره دیگری از انتشار مواد همچون ترومبوکسان A₂، فعال‌سازی پلاکت‌ها و آبشار انعقادی را آغاز می‌کند [30]. مولکول‌های مختلف در بزاق زالو (ساراتین؛ کالین T، دکورسین و آپیراز) به قسمت‌های مختلف این زنجیره واکنش نشان می‌دهند [13,14,34].

دوازدهمین کنگره ملی سراسری فناوریهای نوین در حوزه توسعه پایدار ایران

12th National Congress of
the New Technologies in Sustainable Development of Iran

senaconf.ir

ساراتین یک پروتئین ۱۲-KDa است که فقط در مرحله اولیه چسبندگی پلاکتها اثر می‌گذارد و واکنش کلاژن vwf را به‌طور رقابتی مهار می‌کند. برخی مطالعات حیوانی در ارتباط با مولکول‌های نو ترکیب ساراتین، به‌عنوان یک عامل درمان موضعی بالقوه برای درمان ضد ترومبوتیک و آرترواسکلروزیس، نتایج امیدوارکننده‌ای را نشان داده‌اند [35].

سایر پروتئین‌های بزاق زالو، کالین و پروتئین‌های ضدپلاکتی زالو عملکرد مشابهی روی چسبندگی پلاکتها را نشان می‌دهند [36]. در مقابل دکورین که از *macrohdella decora* جدا شده است، از نظر ساختاری مشابه پروتئین‌های ضد انعقاد هیرودین و آنتیستاسین است اما از نظر عملکرد به‌عنوان یک مهار کننده موثر GPIIb.IIIa بوده و علیه تجمع پلاکتها عمل می‌کند [36,37]. همان‌طور که قبلاً گفته شد، نقش مهمی را در تجمع پلاکتها به خصوص با فعال شدن گیرنده‌های GPIIb.IIIa و افزایش وابستگی پلاکتها به vwf، ایفا می‌کند [30]. آنزیم آپیراز ADP را به آدنوزین‌مونوفسفات تبدیل می‌کند. و با مهار غیر مستقیم این مکانیسم‌های گیرنده، مانع از تجمع می‌شود. ADP همچنین ارتباط نزدیکی با اسید آراشیدونیک، فاکتور فعال‌کننده پلاکتی و فعال‌کننده اپی نفرین دارد. علاوه بر آن، آپیراز به‌طور غیرمستقیم و در مسیری مخالف این مواد عمل می‌کند [14]. مولکول دیگری نیز معرفی شده است که با سرکوب تولید ترومبوکسان در پلاکتها به‌عنوان یک مهارکننده پلاکت و تجمع پلاکتی ناشی از ترومبین عمل می‌کند. آنزیم کلاژناز ذرات کلاژن را تخریب کرده که واکنش‌های چسبندگی و تجمعی را آغاز می‌کنند و پشتیبانی بیشتری برای اثرات مهاری فراهم می‌کند [26].

۱.۵ اثرات ضد انعقادی

انعقاد در طی تغذیه برای زالوها کشنده است بنابراین اثرات ضدانعقادی ضروری هستند [38]. آبشار انعقادی یک واکنش زنجیره‌ای است و مولکول‌های فعال زیستی موجود در بزاق زالو در قسمت‌های مختلف آن اثر می‌گذارند. هیرودین و ژلین به‌طور عمده‌ای مهارکننده ترومبین فعالیت می‌کنند. مهارکننده فاکتور xa واکنش‌های زنجیره‌ای را مختل می‌کند و دستبیلاز اثر فیبرینولیتیک دارد [14,34]. ترومبین در فعالیت پلاکتها و آزادسازی ADP تاثیر بسزایی دارد و بنابراین مهارکننده‌ها ممکن است به‌طور غیرمستقیم بر عملکرد پلاکتها اثر منفی داشته باشند [30].

هیرودین یک پروتئین ۷۰۲ KDa است و به صورت برگشت‌ناپذیر به ترومبین متصل می‌شود که سبب مصرف ترومبین فعال و در نتیجه فعالیت آنتی‌ترومبین می‌شود [38,39]. این ماده مورد توجه بسیاری از مطالعات قرار گرفته است که در رابطه با اینکه به‌عنوان یک جایگزین درمانی برای هپارین است اتفاق نظر دارند چون اثرات ضدانعقادی بیشتر و عوارض جانبی کمتری دارد [38].

ژلین یک آنالوگ اگلین و مهارکننده قوی ترومبین است. همچنین اثرات مهارکنندگی روی کیموتریپسین، کاتاپسین G و نوتروفیل الاستاز را نشان می‌دهد [14].

مهارکننده فاکتور ۱ فعال آبشار انعقادی را مختل کرده و به‌طور مستقیم اثر ضدانعقادی دارد و در زالودرمانی استئوآرتروز و آرتروز روماتوئید نقش حیاتی را ایفا می‌کند [13,34].

علاوه بر این همان‌طور که قبلاً گفته شد آنتیستاسین به‌طور مستقیم عامل ۱۰ فعال را مهار می‌کند و ژیلانتین، LDTI، مهارکننده C₁ و اگلین از طریق مهار مستقیم و غیر مستقیم فاکتورهای انعقادی، اثرات ضدانعقادی را اعمال می‌کنند. دستبیلاز آنزیمی با فعالیت گلیکوزیداز است و فعالیت ضد میکروبی و فیبرینولیتیک را نشان می‌دهد [31,40]. این آنزیم دارای ایزوفرم‌های مختلف با قابلیت‌های متفاوتی است و از گونه‌های مختلف زالو جدا شده است [43]. دستبیلاز اثر تخریبی عمده روی فیبرین داشته و باید به‌عنوان یک عامل ضدانعقادی ارزیابی گردد [31].

به تازگی پپتیدهای ضد انعقادی جدید از گونه‌های مختلف زالو شناسایی شده‌اند (پروتئین جدید زالو ۱، ویتید، ویتمانین). پپتیدهای دیگری نیز جدا شده‌اند اما عملکرد آن‌ها در حال حاضر شناخته شده نیست [26].

۱.۶ اثرات ضد میکروبی

تا به امروز تنها دو مولکول اصلی، دستبیلاز و کلرمیستین فعالیت ضد میکروبی داشته‌اند [13,14,34] و همان‌طور که گفته شد دستبیلاز فعالیت بتا گلیکوزیداز دارد که به‌طور مستقیم پیوندهای β ۱-۴ را که در لایه پپتیدوگلیکان دیواره سلولی باکتری‌ها اهمیت دارد، راه

دوازدهمین کنگره ملی سراسری فناوریهای نوین در حوزه توسعه پایدار ایران

12th National Congress of
the New Technologies in Sustainable Development of Iran

senaconf.ir

می‌شکند [14]. این عمل شبیه به عمل لیزوزیمی (مورآمیداز) است که به‌طور معمول در بزاق و اشک انسان یافت می‌شود [26]. مطالعات دیگر نشان داده‌اند که فعالیت ضد میکروبی تنها به فعالیت آنزیمی گلیکوزیداز وابسته نیست و به عوامل غیر آنزیمی نیز مرتبط است [40]. حتی اشکال دنا توره دستبیلاز اثر باکتریواستات وابسته به دوز را علیه *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس اثرورینوزا* و *شریشیا کلای* نشان می‌دهد [42]. کلرمیستین یک آنتی‌بیوتیک قوی موجود در ترشحات زانو می‌باشد. اما متأسفانه اطلاعات در مورد این مولکول محدود است [34]. علاوه بر این تروماسین، ترومایزین و پپتید بتا به‌عنوان پپتیدهای ضد میکروبی جدا شده‌اند [43,44].

۱,۷ سایر ویژگی‌ها

زالوها علاوه بر استفاده مستقیم از اثرات تضعیف کننده اجزای بزاق ضد میکروبی بر رشد و بقای باکتری های بلعیده شده، از انواع مهارکننده های پروتئاز برای سرکوب غیرمستقیم هضم میکروبی نابهنگام خون ذخیره شده در محصول استفاده می کنند. اگلین ها و بدلین ها اجزای سازنده بزاق زالو هستند [45]، اما در بافت های زالو نیز وجود دارند [46]. آنها در حفظ محتوای محصول در طول دوره ذخیره سازی نقش داشته اند [47]. اگلین در ایزوفرم های متعدد وجود دارد. دو اگلین اصلی بزاق زالو *eglin b* و *eglin c* [48] با جرم مولکولی به ترتیب ۸۰۰۷۳ یا ۸۰۰۹۹ کیلو دالتون هستند. برخی از باقی مانده های اسید آمینه در اگلین ها امید می شوند که ممکن است مقاومت آنها را در برابر تخریب پروتئولیتیک افزایش دهد. همه اگلین ها از نظر شیمیایی مهارکننده های پروتئاز سرین بسیار پایدار هستند و به طور موثر الاستاز و کاتپسین G [49]، پروتئینازهای A و B از استرپتومایسس گریژنوس [50]، کیموتریپسین و پروتئینازهای شبه سوبتیلیسین را مهار می کنند [51].

اگلین ها، بدلین ها در تمام قسمت های بدن زالو وجود دارند و در بزاق نیز ترشح می شوند. دو زیر گروه از بدلین ها (A و B) بر اساس رفتار آنها در کروماتوگرافی تبادل آنیونی تعریف شده اند. بدلین های A (۶-۷ کیلو دالتون) و B (۵ کیلو دالتون) در توالی اسید آمینه خود متفاوت هستند [10]. این پروتئین به صورت مونومر، دایمر یا تریمر در زالو وجود دارد [52]. بدلین ها پروتئین های بسیار پایداری هستند [21] و مهار کننده های موثر تریپسین، پلاسمین و آکروزین اسپرم می باشند [52]. آنها کمپلکس های هم مولار را با پروتئینازهای مربوطه خود تشکیل می دهند [31]. *Bdellin A* همولوگ آنتی استازین است که در اصل در زالو مکزیک *Haementeria officinalis* کشف شد [53].

۱,۸ زمینه های درمانی

• التیام زخم

از زالو برای کمک به بهبود زخم پس از جراحی پلاستیک استفاده می شود. در نقاط خاصی از جهان، زالو معمولاً برای درمان احتقان وریدی در محل های زخم جراحی استفاده می شود. پرسشنامه ای که به ۶۲ واحد جراحی پلاستیک در بریتانیا و ایرلند داده شد نشان داد که ۸۰ درصد به طور متوسط ۱۰ بار در سال از زالو استفاده کرده اند [54]. بیماران از زالو امتناع می کنند. زالو درمانی در جراحی های پلاستیک که در آن ترمیم شریان ها بیشتر از ترمیم وریدی است، مانند انگشتان، گوش ها و فلپ های پوستی مناسب است [55]. در حالی که تحقیقات زیادی در مورد استفاده از زالو وجود دارد، هیچ کارآزمایی بالینی منتشر شده ای در مورد اثربخشی زالو در جراحی وجود ندارد. زالو درمانی همچنین می تواند باعث عفونت شود که در ۲,۴-۲۰ درصد از ترمیم های جراحی پلاستیک رخ می دهد. *Aeromonas hydrophila* یک همزیست موجود در روده زالو است که به هضم خون کمک می کند، و شایع ترین ارگانیسمی است که در عفونت های ناشی از زالو درمانی در جراحی یافت می شود [56]. دارستانی و همکاران در سال ۲۰۱۴ با بررسی اثر زالو درمانی در مقایسه با فنی توئین در زخم های خطی ایجاد شده در رت متوجه شدند که استفاده مستقیم زالو بر روی ترمیم زخم های خطی تاثیر خوبی نسبت به فنی توئین دارد. در این بررسی زالو با مکیدن خون اطراف زخم و ترشح بزاق خود به جریان خون موجب بهبود در زخم های خطی ایجاد شده در مقایسه با درمان فنی توئین شد [57].

گریوانی و همکاران در سال ۲۰۲۰ در یک مطالعه اثرات بزاق زالو و اریترومایسین را به تنهایی و به صورت ترکیبی بر استئومیلیت القا شده در موش های صحرایی مبتلا به MRSA ارزیابی کرد. تک درمانی بزاق زالو و تجویز همزمان بزاق زالو و اریترومایسین به طور قابل توجهی علائم پاتولوژیک را در مقایسه با سایر درمان ها سرکوب کرد. نکته مهم این است که وقتی از اریترومایسین به تنهایی استفاده می شد،

دوازدهمین کنگره ملی سراسری فناوریهای نوین در حوزه توسعه پایدار ایران

12th National Congress of
the New Technologies in Sustainable Development of Iran

senaconf.ir

نمی‌توانست این اثر را به دست آورد. بزاق زالو به تنهایی و همراه با اریترومیسین توانایی کاهش سطح TNF- α را دارد. در نتیجه بزاق زالو به عنوان یک محصول طبیعی مشتق شده از *Hirudo spp*، ممکن است ارزش بالینی در مدیریت استئومیلیت داشته باشد [58].
امانی و همکاران در سال ۲۰۲۱ بر روی پروتئین زیست فعال *Hirudo orientalis* با فعالیت ضد تریپسین و ضد انعقاد متمرکز شدند. ابتدا زالو لیوفیلیزه شده را پودر کردند و طی فرایندی، که در نهایت ماده فعال بیولوژیکی حاصل می‌شود، آن را به دیگر مواد اضافه کردند تا کرم زالو ۵ درصد تهیه کنند. در تجزیه و تحلیل کشت میکروبی رشد کلنی باکتریایی مشاهده نشد. نتایج *in vivo* نشان داد که کرم زالو و فنی‌توئین می‌توانند با تسریع فرآیند اپیتلیال‌سازی مجدد و رگ‌زایی اولیه در بین تمام گروه‌های درمانی، بازسازی زخم را تقویت کنند [59].

• وریدهای واریسی و سندروم بعد از فلبیت

زالو همچنین برای کاهش سندرم پس از فلبیت استفاده شده است که در آن دریچه‌های وریدی توسط ترومبوز ورید عمقی از بین می‌روند [55]. در یک سری مطالعات کنترل نشده، ۴۰ بیمار هر ۳-۴ هفته ۷-۱۲ زالو روی پاهای خود قرار دادند. پس از زالو درمانی، ۷۰ درصد از داوطلبان ادعا کردند که می‌توانند بیشتر راه بروند، ۵۲ درصد اظهار داشتند که درد کمتری دارند، ۴۰ درصد رنگ پوست پا بهتری داشتند و ۱۲ درصد گزارش دادند که ورم پا آنها را کاهش داده‌است. هیچ عفونت یا از دست دادن خون قابل توجهی گزارش نشد.

• آرتروز

زالو می‌تواند درد آرتروز را درمان کند. در یک مطالعه آزمایشی کوچک، چهار زالو به مدت ۶۰ تا ۹۰ دقیقه روی مفاصل ۱۰ نفر (میانگین سنی ۶۹ سال) مبتلا به استئوآرتریت زانو اعمال شد، در حالی که شش نفر شاهد زالو دریافت نکردند. همه داوطلبان می‌توانستند فیزیوتراپی داشته باشند و داروهای مسکن را به دلخواه خود مصرف کنند. یک ماه بعد، داوطلبانی که زالو دریافت کردند، نمره درد به طور قابل توجهی پایین تری داشتند، در حالی که کسانی که زالو دریافت نکردند بهبودی نداشتند [60]. در یک بررسی دیگر، ۱۱۳ فرد مبتلا به استئوآرتریت زانو به سه گروه تقسیم شدند: (۱) افراد یک بار مصرف زالو دریافت کردند، (۲) افراد دو بار زالو درمانی دریافت کردند و (۳) افراد یک زالو درمانی شبیه سازی شده شامل یک سوزن دریافت کردند. هر دو گروه زالو درمانی به طور قابل توجهی نمره درد بهتری نسبت به گروه کنترل داشتند. عوارض جانبی زالو درمانی در هیچ یک از دو مطالعه استئوآرتریت مشاهده نشد [61].

۲. بزاق خفاش‌های خون آشام

سه گونه از خفاش‌ها سبک زندگی خونخواری را ایجاد کرده اند: *Diphylla ecaudata*، *Desmodus rotundus* و *Diaemus Youngi* خفاش خون‌آشام معمولاً از میزبان‌های همچون پستانداران، از جمله دام و انسان و پرندگان تغذیه می‌کنند [62]. هنگامی که خفاش طعمه خود را پیدا می‌کند (با استفاده از دید دوربرد، بویایی، شنوایی حاد و پژواک)، از استراتژی‌های حساسیت حرارتی و مکانیکی نزدیک برای یافتن مویرگ‌های خونی زیر سطح پوست استفاده می‌کند [62,63]. آن‌ها فقط به طعمه‌های در حال استراحت یا خواب حمله می‌کنند و به طور کلی بدون مزاحمت تغذیه می‌کنند. بنابراین فرآیند باید بدون درد باشد، که نشان دهنده وجود مسکن در بزاق است [64]. ۲۰ تا ۳۰ دقیقه طول می‌کشد تا خفاش ۲۵ میلی‌لیتر خون را جذب کند، که تقریباً ۶۰ درصد وزن بدن آن‌ها است. برای جلوگیری از زمین خوردن خود توسط وزن زیاد، کلیه‌های آن‌ها پلاسمای اضافی را از خونی که قبلاً بلعیده شده است، قبل از اتمام غذا دفع می‌کنند [65]. ترکیب مواد ضد انعقادی و سایر مواد بیوشیمیایی موجود در بزاق خفاش‌ها باعث می‌شود که پاسخ طبیعی به آسیب وارد شده به بدن میزبان از چند دقیقه تا چند ساعت به تعویق بی‌افتد [62].

۲.۱ داروهای ضد انعقاد

دراکولین یک ضد انعقاد است که در بزاق خفاش خون‌آشام یافت می‌شود. به گلیکوزیلاسیون مولکول طبیعی برای تبدیل شدن به یک مهارکننده بیولوژیکی فعال، غیررقابتی و با اتصال محکم به فاکتور FXa نیاز دارد. همچنین یک مهارکننده فاکتور FIXa در مسیر ذاتی انعقاد خون است. فاکتور FXIa مسیر بیرونی آبشار انعقادی را مهار می‌کند [66].

۲.۲ مهار تجمع پلاکتی و فعالیت فیبرینولیتیک

دوازدهمین کنگره ملی سراسری فناوریهای نوین در حوزه توسعه پایدار ایران

12th National Congress of
the New Technologies in Sustainable Development of Iran

senaconf.ir

یک مهارکننده تجمع پلاکتی (PAgI) (القا شده با ADP از ترومبین) در بزاق خفاش خون آشام، اثرات خود را با مسدود کردن مکان های اتصال به ADP یا با واکنش با کوفاکتور پلازما منجر به تجمع پلاکتی می شود. این مولکول می تواند آپیراز یا فسفاتاز باشد که اخیراً در بزاق گونه *D. rotundus* یافت شده است [66,67].

۲,۳ PA / فعالیت فیبرینولیتیک

فعالیت فیبرینولیتیک بزاق خفاش خون آشام از سال ۱۹۳۲ شناخته شده است. PA (یک پروتئاز سرین) یافت شده است و به نام فعال کننده پلاسمینوژن بزاقی در گونه *D. Rotundus* یا (DSPA)، (Desmokinase یا Desmoteplase) نامگذاری شده است. چهار DSPA ($\alpha 1$, $\alpha 2$, β و γ) جدا شده و شناسایی شده است. آنها توسط چهار ژن مختلف بسیار حفاظت شده کدگذاری می شوند که هر کدام دارای ساختار و ویژگی های مجزا هستند. همه با t-PA انسان همولوگ هستند، با این تفاوت که DSPA ها مولکول های تک زنجیره ای هستند و به فیبرین به عنوان کوفاکتور وابسته هستند [66]. DSPA- $\alpha 1$ برای خواص دارویی آن مورد بررسی قرار گرفته و در فاز III آزمایشات بالینی می باشد [68]. چندین ماده یافت شده در بزاق *D. rotundus* (جدول ۳) می توانند در درمان ترومبولیتیک استفاده شوند.

جدول ۲ مواد موجود در بزاق خفاش خون آشام (*D. rotundus*) [67]

مولکول	عملکرد در میزبان
دراکولین، دسمولاریس	ضد انعقاد (مهارکننده FIXa و FXa)
و لیپوکالین و سایر حامل های لیپیدی	ضد التهاب TNF α (TSG-6), Lipophilin/secretogloblin precursors
دسموتپلاز	PA (DSPA-alpha-1) (فیبرینولیتیک/ترومبولیتیک)
فسفاتاز، آپیراز	ضد پلاکت
کموکاین CCL28، β -دفنسین، لنفوتوکسین خانواده BPI/LBP/CETP	ضد میکروبی

۲,۴ زمینه های درمانی

کاربردهای پزشکی مواد فعال در بزاق خفاش ها با توجه به جدول ۲ قابل بررسی و تحقیق بیشتر است. همچنین طیف گسترده ای از کاربردهای پزشکی برای کیتین و مشتقات کیتین در مدفوع خفاش ها گزارش شده است: (الف) فعالیت ضد میکروبی. (ب) اثرات ایمنی و فعالیت ضد التهابی. (ج) فعالیت آنتی اکسیدانی. (د) فعالیت ضد سرطانی. (ه) اثرات انعقاد خون. (و) فعالیت ضد دیابت. (ز) فعالیت محافظت کننده عصبی. (ح) التیام زخم. (آ) چاقی؛ (ل) دیس لیپیدمی. (م) پلاک دندان؛ (ن) نارسایی کلیوی [69]. با توجه به داده های ذکر شده، استفاده از بزاق و فراورده های حاصل از خفاش به عنوان درمان می تواند کمتر از آنچه در نگاه اول به نظر می رسد عجیب باشد. در هر صورت به نظر می رسد موضوعی است که ارزش بررسی بیشتر را دارد.

۳. بزاق کنه ها

کنه ها انگل های بیرونی از راسته *Parasitiformes*، زیر راسته *Ixodida* هستند [70] که سبک زندگی اجباری هماتوفاز دارند [71]. اجزای تشکیل دهنده بزاق کنه ها با بالغ شدن آنها متنوع می شوند و مقدار مواد مختلف بین هر سنی تا رسیدن به بلوغ جنسی متفاوت است [72,73]. کنه ها یک حوضچه خونریزی در داخل بافت میزبان تشکیل داده و از آن تغذیه می کنند [74]. لوب های غدد بزاقی زمانی که کنه به میزبان متصل نباشد، Hygroscopic تولید می کند. این به کنه کمک می کند تا زمانی که برای تغذیه منتظر میزبان می ماند، گاهی برای سال ها، هیدراته بماند [75,76]. کنه ها در چرخه های تغذیه و ترشح بزاق متناوب هستند که هر کدام ۵ تا ۲۰ دقیقه طول می کشد. پس از تغذیه، از میزبان خود جدا شده و غیر فعال می شوند و تمایلی به اتصال مجدد ندارند. کنه ها دارای مقعد هستند و عمدتاً

دوازدهمین کنگره ملی سراسری فناوریهای نوین در حوزه توسعه پایدار ایران

12th National Congress of
the New Technologies in Sustainable Development of Iran

senaconf.ir

گوانین و سایر مواد زائد نیترोजن دار را در مقادیر کم دفع می کنند [75]. در سراسر جهان ۸۹۹ گونه کنه وجود دارد که شامل ۸۵ گونه در خانواده آرگازیده Argasidae، ۷۱۳ گونه در خانواده Ixodidae و یک گونه از خانواده نوتاللیده Nuttalliellidae می باشد، که در محیط های متنوع و با تغذیه بر روی میزبان های مختلف زندگی می کنند. از این رو مقدار و تنوع مولکول های فعال زیستی در بزاق ممکن است به طور قابل توجهی متفاوت و منبع مهم مولکول هایی با خواص درمانی مختلف، از جمله برخی اثرات ضد تومورال باشد. در واقع، ساختار اصلی بزاق کنه شامل ترکیبات متنوع با خواص فارماکولوژیک و ایمونولوژیک است که در تنظیم فعالیت آنزیم ها، آنتی بادی ها، آمین های دخیل در انبساط عروق، چسبندگی ملکول ها و اجزاء سیگنالینگ سلولی، کموکین و سیتوکین ها موثر هستند. علاوه بر موارد ذکر شده، بزاق کنه، دارای مجموعه ای گسترده از مولکول های فعال زیستی لیپیدی و پروتئینی با خاصیت ضد رگ زایی است که فرآیند رگ زایی را تضعیف و مهار می کند، بنابراین مانع بهبود زخم و ترمیم بافت شده و از این طریق کنه قادر است به مدت طولانی از میزبان خود خونخواری کند. طی سه دهه گذشته در جامعه علمی جهانی، محققان توجه زیادی به ترکیبات بزاق و عصاره غدد بزاقی (Salivary Gland Extract) کنه های سخت بر اساس خواص ضد تومور داشته اند و در مطالعات متعدد، اثرات ضد تومور بزاق مورد تایید قرار گرفته است.

کنه ها منبع داروهای ضد انعقاد هستند. بزاق کنه *Ixodes ricinus* حاوی یک مهارکننده پروتئین های فاز حاد است که در شرایط آزمایشگاهی کالیکرئین انسانی و فاکتورهای XIa و XIIa را مهار می کند و aPTT را افزایش می دهد [76]. مهارکننده پروتئین های فاز حاد ترومبوز وریدی را کاهش می دهد و در برابر حوادث آمبولی در شریان ها محافظت ایجاد می کند. پروتئین دیگری به نام ixolaris که در غدد بزاقی کنه *Ixodes scapularis* یافت می شود، که از عملکرد فاکتورهای X و Xa در مدل های آزمایشگاهی انسانی جلوگیری می کند و تشکیل ترومبوز وریدی را در شریان های داخل بدن کاهش می دهد [77]. پروتئینی دیگر که در کنه *Ornithodoros moubata* می باشد، به عنوان یک مهارکننده فاکتور Xa عمل می کند که در آنژیوپلاستی تجربی در تنگی آترواسکلروتیک پیشرفته در شریان کاروتید خرگوش استفاده شده است [78].

جدول ۳ مواد موجود در بزاق کنه های سخت (Ixodidae) و نرم (Argasidae) و عملکرد آن ها در میزبان [66]

گونه کنه	مولکول	عملکرد در میزبان
<i>Ixodes scapularis</i> or <i>Ixodes dammini</i>	PGI ₂ (پروستاگلاندین I ₂)	مهار کننده پلاکت
	PGE ₂ (پروستاگلاندین E ₂)	گشاد کننده عروق
	متالوپروتناز	رگ زایی را مهار می کند
	Ixolaris	TFPI (مهار کننده مسیر فاکتورهای بافتی)
	-	آنزیم کینیناز (اثر ضد درد)
Argasidae: <i>Ornithodoros moubata</i> and <i>Ornithodoros savignyi</i>	Ornithodorin	مهار کننده ترومبین
	Moubatin	PAGI (مهار کننده تجمع پلاکتی)
	TAP	ضد انعقاد (مهار کننده FXa)
	Savignin	تجمع پلاکتی ناشی از ترومبین را مهار می کند
	Apyrase	مهار کننده پلاکت

منابع

- [1] Costa-Neto, Eraldo M. "Animal-based medicines: biological prospection and the sustainable use of zootherapeutic resources." *Anais da Academia Brasileira de ciencias* 77 (2005): 33-43.

دوازدهمین کنگره ملی سراسری
فناوریهای نوین در حوزه توسعه پایدار ایران
12th National Congress of
the New Technologies in Sustainable Development of Iran

senacnf.ir

- [2] Palta, S., Saroa, R. and Palta, A. (2014) Overview of the coagulation system. *Indian Journal of anaesthesia*, 58 (5), 515–523.
- [3] Wells MD, Manktelow RT, Brian Boyd J, Bowen V. The medical leech: An old treatment revisited. *Microsurgery*. 1993 Jan 1;14(3):183–6.
- [4] Abdelgabar AM, Bhowmick BK. The return of the leech. *Int J Clin Pract*. 2003 Mar 1;57(2):103–5.
- [5] Sig AK, Guney M, Uskudar Guclu A, Ozmen E. Medicinal leech therapy—an overall perspective. *Integr Med Res*. 2017 Dec 1;6(4):337–43.
- [6] Hovingh P, Linker A. Hyaluronidase activity in leeches (Hirudinea). *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*. 1999 Nov 1;124(3):319–26.
- [7] Rigbi M, Levy H, Eldor A, Iraqi F, Teitelbaum M, Orevi M, et al. The saliva of the medicinal leech *Hirudo medicinalis*--II. Inhibition of platelet aggregation and of leukocyte activity and examination of reputed anaesthetic effects. *Comp Biochem Physiol C Comp Pharmacol Toxicol*. 1987 Jan 1;88(1):95–8.
- [8] LINKER A, MEYER K, HOFFMAN P. The Production of Hyaluronate Oligosaccharides by Leech Hyaluronidase and Alkali. *Journal of Biological Chemistry*. 1960 Apr 1;235(4):924–7.
- [9] Fraser JRE, Laurent TC, Laurent UBG. Hyaluronan: its nature, distribution, functions and turnover. *J Intern Med*. 1997 Jul 1;242(1):27–33.
- [10] Baskova IP, Ferner Z, Balkina AS, Kozin SA, Kharitonova O V., Zavalova LL, et al. Steroids, histamine, and serotonin in the medicinal leech salivary gland secretion. *Biochemistry (Moscow) Supplement Series B: Biomedical Chemistry* 2008 2:3. 2008 Aug 20;2(3):215–25.
- [11] Marshall I. Characterization and distribution of histamine H1- and H2-receptors in precapillary vessels. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1984 Jan 1;6 Suppl 4:S587-97.
- [12] Berg T, Carretero OA, Guillermo Scicli A, Tilley B, Stewart JM. Role of kinin in regulation of rat submandibular gland blood flow. *Hypertension*. 1989;14(1):73–80.
- [13] Das BK. An Overview on Hirudotherapy / Leech therapy. Vol. 1, *Indian Research Journal of Pharmacy and Science*. 2014. p. 33–45.
- [14] Zaidi SMA, Jameel SS, Zaman F, Jilani S, Sultana A, Khan SA. A Systematic Overview of the Medicinal Importance of Sanguivorous Leeches (*Altern Med Rev* 2011;16(1):59-65). Vol. 16. 2011.
- [15] Segal SS. Regulation of blood flow in the microcirculation. *Microcirculation*. 2005 Jan;12(1):33–45.
- [16] Clarke CEW. Medical Therapeutics Derived from Leeches (Phy. Annelida; Cl. Hirudinea). *MacEwan University Student eJournal*. 2016 Nov 25;3(1).
- [17] Nutt EM, Jain D, Lenny AB, Schaffer L, Siegl PK, Dunwiddie CT. Purification and characterization of recombinant antistasin: A leech-derived inhibitor of coagulation factor Xa. *Arch Biochem Biophys*. 1991 Feb 15;285(1):37–44.
- [18] Schenone M, Furie BC, Furie B. The blood coagulation cascade. *Curr Opin Hematol*. 2004 Jul;11(4):272–7.
- [19] Kashuba E, Bailey J, Allsup D, Cawkwell L. The kinin–kallikrein system: physiological roles, pathophysiology and its relationship to cancer biomarkers. <https://doi.org/10.3109/1354750X2013787544>. 2013;18(4):279–96.
- [20] Danalev DL, Vezenkov LT, Grigorova B. Synthesis and structure–activity relationship of new analogues of antistasin. *Journal of Peptide Science*. 2004 Jan 1;10(1):27–36.
- [21] Moser M, Auerswald E, Mentele R, Eckerskorn C, Fritz H, Fink E. Bdeallastasin, a serine protease inhibitor of the antistasin family from the medical leech (*Hirudo medicinalis*). *Eur J Biochem*. 1998 Apr 1;253(1):212–20.

دوازدهمین کنگره ملی سراسری
فناوریهای نوین در حوزه توسعه پایدار ایران
12th National Congress of
the New Technologies in Sustainable Development of Iran

senacnf.ir

- [22] Blankenship DT, Brankamp RG, Manley GD, Cardin AD. Amino acid sequence of ghilanten: Anticoagulant-antimetastatic principle of the south American leech, *Haementeria ghilianii*. *Biochem Biophys Res Commun*. 1990 Feb 14;166(3):1384–9.
- [23] Campos ITN, Silva MM, Azzolini SS, Souza AF, Sampaio CAM, Fritz H, et al. Evaluation of phage display system and leech-derived tryptase inhibitor as a tool for understanding the serine proteinase specificities. *Arch Biochem Biophys*. 2004 May 1;425(1):87–94.
- [24] Caughey GH. Mast cell proteases as pharmacological targets. *Eur J Pharmacol*. 2016 May 5;778:44–55.
- [25] Vitte J. Human mast cell tryptase in biology and medicine. *Mol Immunol*. 2015 Jan 1;63(1):18–24.
- [26] Sig AK, Guney M, Uskudar Guclu A, Ozmen E. Medicinal leech therapy—an overall perspective. *Integr Med Res*. 2017 Dec 1;6(4):337–43.
- [27] Korkmaz B, Moreau T, Gauthier F. Neutrophil elastase, proteinase 3 and cathepsin G: Physicochemical properties, activity and physiopathological functions. *Biochimie*. 2008 Feb 1;90(2):227–42.
- [28] Massberg S, Grahl L, Von Bruehl ML, Manukyan D, Pfeiler S, Goosmann C, et al. Reciprocal coupling of coagulation and innate immunity via neutrophil serine proteases. *Nature Medicine* 2010 16:8. 2010 Aug 1;16(8):887–96.
- [29] Krupiczko MA, Scotton CJ, Chambers RC. Coagulation signalling following tissue injury: Focus on the role of factor Xa. *Int J Biochem Cell Biol*. 2008 Jun 1;40(6–7):1228–37.
- [30] Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC. Robbins and Cotran pathologic basis of disease, professional edition e-book. 2014.
- [31] Baskova IP, Zavalova LL. Proteinase Inhibitors from the Medicinal Leech *Hirudo medicinalis*. *Biochemistry (Moscow)* 2001 66:7. 2001;66(7):703–14.
- [32] Davis AE, Mejia P, Lu F. Biological activities of C1 inhibitor. *Mol Immunol*. 2008 Oct 1;45(16):4057–63.
- [33] Kouyoumdjian M, Nagaoka MR, Loureiro-Silva MR, Borges DR. Portal hypertensive response to kinin. *An Acad Bras Cienc*. 2009;81(3):431–42.
- [34] Abdullah S, Dar L, Rashid A, Tewari A. Hirudotherapy /Leech therapy: Applications and Indications in Surgery. *Archives of Clinical and Experimental Surgery (ACES)*. 2012;1(3):172.
- [35] Gronwald W, Bomke J, Maurer T, Domogalla B, Huber F, Schumann F, et al. Structure of the Leech Protein Saratin and Characterization of Its Binding to Collagen. *J Mol Biol*. 2008 Sep 12;381(4):913–27.
- [36] Krezel AM, Wagner G, Seymour-Ulmer J, Lazarus RA. Structure of the RGD Protein Decorsin: Conserved Motif and Distinct Function in Leech Proteins That Affect Blood Clotting. *Science (1979)*. 1994;264(5167):1944–7.
- [37] Seymour JL, Henzel W, Nevins B, Stults JT, Lazarus RA. Decorsin. A potent glycoprotein IIb-IIIa antagonist and platelet aggregation inhibitor from the leech *Macrobdella decora*. *Journal of Biological Chemistry*. 1990 Jun 15;265(17):10143–7.
- [38] Everett C, Clarke W. Medical Therapeutics Derived from Leeches (Phy. Annelida; Cl. Hirudinea). *MacEwan University Student eJournal*. 2016 Nov 25;3(1).
- [39] Herlin C, Bertheuil N, Bekara F, Boissiere F, Sinna R, Chaput B. Leech therapy in flap salvage: Systematic review and practical recommendations. *Annales de Chirurgie Plastique Esthétique*. 2017 Apr 1;62(2):e1–13.
- [40] Zavalova LL, Yudina TG, Artamonova II, Baskova IP. Antibacterial Non-Glycosidase Activity of Invertebrate Destabilase-Lysozyme and of Its Helical Amphipathic Peptides. *Chemotherapy*. 2006 May;52(3):158–60.
- [41] Zavalova LL, Artamonova II, Berezhnoy SN, Tagaev AA, Baskova IP, Andersen J, et al. Multiple forms of medicinal leech destabilase-lysozyme. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003 Jun 20;306(1):318–23.

دوازدهمین کنگره ملی سراسری
فناوریهای نوین در حوزه توسعه پایدار ایران
12th National Congress of
the New Technologies in Sustainable Development of Iran

senaconf.ir

- [42] Indergand S, Graf J. Ingested blood contributes to the specificity of the symbiosis of *Aeromonas veronii* biovar *sobria* and *Hirudo medicinalis*, the medicinal leech. *Appl Environ Microbiol.* 2000;66(11):4735–41.
- [43] Tasiemski A. Antimicrobial peptides in annelids. *Invertebrate Survival Journal.* 2008 Jun 11;5(1):75–82.
- [44] Tasiemski A, Vandebulcke F, Mitta G, Lemoine J, Lefebvre C, Sautière PE, et al. Molecular characterization of two novel antibacterial peptides inducible upon bacterial challenge in an annelid, the leech *Theromyzon tessulatum*. *Journal of Biological Chemistry.* 2004 Jul 23;279(30):30973–82.
- [45] Rigbi M, Levy H, Iraqi F, Teitelbaum M, Orevi M, Alajoutsijärvi A, et al. The saliva of the medicinal leech *Hirudo medicinalis*-- I. Biochemical characterization of the high molecular weight fraction. *Comp Biochem Physiol B.* 1987 Jan 1;87(3):567–73.
- [46] Seemüller U, Meier M, Ohlsson K, Müller HP, Fritz H. Isolierung und Charakterisierung eines niedermolekularen Inhibitors aus Blutegeln, der Chymotrypsin und die menschlichen granulozytären Proteasen (Elastase und Kathepsin G) hemmt. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem.* 1977 Jan 1;358(2):1105–18.
- [47] Roters FJ, Zebe E. Protease inhibitors in the alimentary tract of the medicinal leech *Hirudo medicinalis*: In vivo and in vitro studies. *Journal of Comparative Physiology B* 1992 162:1. 1992 Jan;162(1):85–92.
- [48] Baskova IP, Zavalova LL. Polyfunctionality of lysozyme destabilase from the medicinal leech. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry* 2008 34:3. 2008 Aug 7;34(3):304–9.
- [49] Seemüller U, Eulitz M, Fritz H, Strobl A. Short communication: Structure of the elastase-cathepsin g inhibitor of the leech *hirudo medicinalis*. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem.* 1980 Jan 1;361(2):1841–62.
- [50] Qasim MA, Ganz PJ, Saunders CW, Bateman KS, James MNG, Laskowski M. Interscaffolding additivity. Association of P1 variants of eglin c and of turkey ovomucoid third domain with serine proteinases. *Biochemistry.* 1997 Feb 18;36(7):1598–607.
- [51] Ascenzi P, Aducci P, Amiconi G, Ballio A, Guaragna A, Menegatti E, et al. Binding of the recombinant proteinase inhibitor eglin c from leech *Hirudo medicinalis* to serine (Pro)enzymes: A comparative thermodynamic study. *Journal of Molecular Recognition.* 1991 Jul 1;4(4):113–9.
- [52] Fink E, Rehm H, Gippner C, Bode W, Eulitz M, Machleidt W, et al. The Primary Structure of Bde11n B-3 from the Leech *Hirudo medicinalis*: Bde11n B-3 is a Compact Proteinase Inhibitor of a “Non-classical” Kazal Type. It is present in the Leech in a High Molecular Mass Form. *Biol Chem Hoppe Seyler.* 1986 Jan 1;367(2):1235–42.
- [53] Tuszyński GP, Gasic TB, Gasic GJ. Isolation and characterization of antistasin. An inhibitor of metastasis and coagulation. *Journal of Biological Chemistry.* 1987 Jul 15;262(20):9718–23.
- [54] Whitaker IS, Izadi D, Oliver DW, et al. *Hirudo medicinalis* and the plastic surgeon. *Br J Plast Surg* 2004;57:348-353.
- [55] Eldor A, Orevi M, Rigbi M. The role of the leech in medical therapeutics. *Blood Rev* 1996;10:201-209.
- [56] de Chalain TM. Exploring the use of the medicinal leech: a clinical risk-benefit analysis. *J Reconstr Microsurg* 1996;12:165-172.
- [57] Darestani KD, Mirghazanfari SM, Moghaddam KG, Hejazi S. Leech Therapy for Linear Incisional Skin-Wound Healing in Rats. *J Acupunct Meridian Stud.* 2014 Aug 1;7(4):194–201.
- [58] Gerivani B, Staji H, Rassouli M, Ghazaleh N, Vayeghan AJ. Co-administration of Erythromycin and Leech Salivary Extract Alleviates Osteomyelitis in Rats Induced by Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology.* 2020 Jul 1;33(4):243–51.
- [59] Amani L, Motamed N, Ardakani MM, Shasaltaneh MD, Malek M, Shamsa F, et al. Semi-Solid Product of Medicinal Leech Enhances Wound Healing in Rats. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products* 2021.
- [60] Michalsen A, Moebus S, Spahn G, et al. Leech therapy for symptomatic treatment of knee osteoarthritis: results and implications

دوازدهمین کنگره ملی سراسری
فناوریهای نوین در حوزه توسعه پایدار ایران
12th National Congress of
the New Technologies in Sustainable Development of Iran

senaconf.ir

of a pilot study. *Altern ler Health Med* 2002;8:84-88.

- [61] Andereya S, Stanzel S, Maus U, et al. Assessment of leech therapy for knee osteoarthritis: a randomized study. *Acta Orthop* 2008;79:235-243.
- [62] Low, D. H. W., Sunagar, K., Undheim, E. A. B. et al. (2013) Dracula's children: Molecular evolution of vampire bat venom. *Journal of Proteomics*, 89, 95-111.
- [63] Jones, G., Teeling, E. C. and Rossiter, S. J. (2013) From the ultrasonic to the infrared: molecular evolution and the sensory biology of bats. *Frontiers in Physiology*, 4, 117.
- [64] Wimsatt, W. A. (1959) Portrait of a vampire. *Ward's Natural Science Bulletin*, 32, 35.
- [65] Altringham, J. D. (2011) *Bats: From Evolution to Conservation*, 2nd edn, Oxford University Press Inc, New York, USA, pp. 29-30, 160-161.
- [66] Ware, Francesca L., and Martin R. Luck. "Evolution of salivary secretions in haematophagous animals." *Bioscience Horizons: The International Journal of Student Research* 10 (2017).
- [67] Francischetti, I. M. B., Assumpção, T. C. F., Ma, D. et al. (2013) The 'Vampirome': Transcriptome and proteome analysis of the principal and accessory submaxillary glands of the vampire bat *Desmodus rotundus*, a vector of human rabies. *Journal of Proteomics*, 82, 288-319
- [68] Piechowski-Jozwiak, B. and Bogousslavsky, J. (2013) The use of desmoteplase (bat saliva) in the treatment of ischaemia. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 13 (3), 447-453.
- [69] Riccucci, Marco. "Bats as materia medica: an ethnomedical review and implications for conservation." *Vespertilio* 16 (2012): 249-270.
- [70] Black 4th, W. C., and Joseph Piesman. "Phylogeny of hard-and soft-tick taxa (Acari: Ixodida) based on mitochondrial 16S rDNA sequences." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 91.21 (1994): 10034-10038.
- [71] Kazimírová, M. and Štibrániová, I. (2013) Tick salivary compounds: their role in modulation of host defences and pathogen transmission. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 3, 43.
- [72] Due, C., Fox, W., Medlock, J. M. et al. (2013) Tick bite prevention and tick removal. *British Medical Journal (Clinical Research ed.)*, 347, f7123.
- [73] Juckett, G. (2013) Arthropod bites. *American Family Physician*, 88 (12), 841-847.
- [74] Ribeiro, J. M. C. (1995) Blood-feeding arthropods: live syringes or invertebrate pharmacologists? *Infectious Agents and Disease*, 4, 143-152.
- [75] Bowman, A. S. and Sauer, J. R. (2004) Tick salivary glands: function, physiology and future. *Parasitology*, 129 (Suppl), S67-S81.
- [76] Decrem Y, Rath G, Blasioli V, et al. Ir-CPI, a coagulation contact phase inhibitor from the tick *Ixodes ricinus*, inhibits thrombus formation without impairing hemostasis. *J Exp Med* 2009;206:2381-2395.
- [77] Nazareth RA, Tomaz LS, Ortiz-Costa S, et al. Antithrombotic properties of ixolaris, a potent inhibitor of the extrinsic pathway of the coagulation cascade. *Thromb Haemost* 2006;96:7-13.
- [78] Ragosta M, Gimble LW, Gertz SD, et al. Specific factor Xa inhibition reduces restenosis after balloon angioplasty of atherosclerotic femoral arteries in rabbits. *Circulation* 1994;89:1262-1271.