Journal of Ilam University of Medical Sciences

P-ISSN: 1563-4728
E-ISSN: 2588-3135

A comparative study on the scolicidal effect of amino-bromophenylcoumarin and amino-hydroxyphenylcoumarin on hydatid cyst protoscolexes in vitro

Yousef Panahi [1*], Roghayeh Norouzi [2], Reza Teimuri Mofrad [3], Shabnam Soleimani [1], Vahid Mahmoodi [1], Shabnam Tahmasebi [3]

[1] Dept of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[2] Dept of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[3] Dept of Organic Chemistry and Biochemistry, Faculty of Chemistry, University of Tabriz, Tabriz, Iran

Article Info

Article type:
Research article

Article History:
Received: 07 May 2022
Revised: 04 July 2023
Accepted: 20 September 2023
Published Online:29 October 2023

**** Correspondence to:***
Yousef Panahi
Dept of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran
Email:
y.panahi@tabrizu.ac.ir

A B S T R A C T

Introduction: Echinococcus granulosus is the causative agent of hydatid cysts, which are distributed worldwide. Nowadays, much research is being done to inactivate hydatid cyst protoscoleces. This study was conducted with the aim to compare the scolicidal effect of two chemical compounds 12 and 2 on hydatid cyst protoscoleces in vitro.

Material & Methods: The scolicidal activity of two amini-hydrox-phenylcoumarin and amini-bromo-phenylcoumarin at concentrations of 1.2, 1.5, 1.10 and 1.100 after 15, 30 and 60 minutes of incubation was tested separately and each of the experiments was repeated three times. The viability of protoscoleces was checked with 0.1% eosin dye under a light microscope. Subsequently data were analyzed using GraphPad version 5 software and two-way repeated measures ANOVA and values ($P > 0.05$) was considered a significant level.

Findings: The results of this study showed that the chemical compound amini-bromophenylcoumarin at a concentration of 1.10 destroyed 100% of protoscoleces after 60 minutes of exposure compared to the control group, but amini-hydroxophenyl-coumarin, at a concentration of 1.100 could destroy 98% of protoscolecia after 60 minutes of exposure.

Discussion & Conclusion: The results of the present study showed that amini-bromophenylcoumarin had stronger protoscolicidal effects than amini-hydroxophenyl-coumarin. However, further studies and in vivo studies are needed to evaluate the efficacy of these chemical compounds.

Keywords: Coumarin Derivatives, Hydatid cyst, In vitro, Protoscolicidal

➢ **How to cite this paper**
Panahi Y, Norouzi R, Teimuri Mofrad R, Soleimani SH, Mahmoodi V, Tahmasebi SH. A comparative study on the scolicidal effect of amino-bromophenylcoumarin and amino-hydroxyphenylcoumarin on hydatid cyst protoscolexes in vitro. Journal of Ilam University of Medical Sciences. 2023;31(4): 97-105.

© The Author(s)
Publisher: Ilam University of Medical Sciences

مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام

P-ISSN: ۱۵۶۳-۴۷۲۸

E-ISSN: ۲۵۸۸-۳۱۳۵

بررسی مقایسه‌ای اثر اسکولکس‌کشی آمینو–برومو فنیل کومارین و آمینو–هیدروکسی فنیل کومارین بر پروتواسکولکس‌های کیست هیداتیک در شرایط برون‌تنی

یوسف پناهی [۱*]، رقیه نوروزی [۲]، رضا تیموری مفرد [۳]، شبنم سلیمانی [۱]، وحید محمودی [۱]، شبنم طهماسبی [۳]

[۱] گروه علوم پایه، دانشکدهٔ دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

[۲] گروه پاتوبیولوژی، دانشکدهٔ دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

[۳] گروه شیمی آلی و بیوشیمی، دانشکدهٔ شیمی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

اطلاعات مقاله | چکیده

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۲/۱۷

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۰۴/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۲۹

تاریخ انتشار: ۱۴۰۲/۰۸/۰۷

نویسندگان مسئول:

یوسف پناهی

گروه علوم پایه، دانشکدهٔ دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

Email:
y.panahi@tabrizu.ac.ir

مقدمه: اکینوکوکوس گرانولوزوس عامل ایجاد کیست هیداتیک است که توزیع جهانی دارد. امروزه، تحقیقات بسیاری برای غیرفعال کردن پروتواسکولکس‌های کیست هیداتیک انجام‌شده است. این مطالعه با هدف مقایسهٔ اثر اسکولکس‌کشی آمینو–برومو فنیل کومارین و آمینو–هیدروکسی فنیل کومارین بر پروتواسکولکس‌های کیست هیداتیک در شرایط برون‌تنی صورت گرفت.

مواد و روش‌ها: فعالیت اسکولکس‌کشی آمینو–برومو فنیل کومارین و آمینو–هیدروکسی فنیل کومارین در غلظت‌های ۱/۲، ۱/۵، ۱/۱۰ و ۱/۱۰۰، پس از ۱۵، ۳۰ و ۶۰ دقیقه انکوباسیون، به‌صورت جداگانه آزمایش گردید و هرکدام از آزمایش‌ها سه بار تکرار شد. زنده بودن پروتواسکولکس‌ها با رنگ ائوزین ۰/۱ درصد زیر میکروسکوپ نوری بررسی و سپس داده‌ها با نرم‌افزار GraphPad vol.5 و آزمون آنالیز واریانس دوطرفه (Two-way repeated measures ANOVA) تجزیه‌وتحلیل گردید و مقادیر $P<0.05$ به‌عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌های پژوهش: نتایج این مطالعه نشان داد که آمینو–برومو فنیل کومارین در غلظت ۱/۱۰، پس از ۶۰ دقیقه مواجهه، ۱۰۰ درصد پروتواسکولکس‌ها را در مقایسه با گروه کنترل از بین می‌برد؛ اما ۲ آمینو–هیدروکسی فنیل کومارین در غلظت ۱/۱۰۰، پس از ۶۰ دقیقه مواجهه، ۹۸ درصد پروتواسکولکس‌ها را از بین می‌برد.

بحث و نتیجه‌گیری: یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که ۲ آمینو–برومو فنیل کومارین آثار پروتواسکولکس‌کشی قوی‌تری نسبت به ۲ آمینو–هیدروکسی فنیل کومارین دارد. بااین‌حال، برای ارزیابی کارایی این ترکیبات شیمیایی، نیاز به مطالعات بیشتر و تحقیقات درون‌تنی است.

واژه‌های کلیدی: کیست هیداتیک، پروتواسکولکس‌کشی، برون‌تنی، مشتقات کومارینی

استناد: پناهی، یوسف؛ نوروزی، رقیه؛ تیموری مفرد، رضا؛ سلیمانی، شبنم؛ محمودی، وحید؛ طهماسبی، شبنم. بررسی مقایسه‌ای اثر اسکولکس‌کشی آمینو–برومو فنیل کومارین و آمینو–هیدروکسی فنیل کومارین بر پروتواسکولکس‌های کیست هیداتیک در شرایط برون‌تنی. مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام، مهر ۱۴۰۲؛۳۱(۴): ۱۰۵-۹۷.

CC BY NC

حق‌مؤلف © نویسندگان

ناشر: دانشگاه علوم پزشکی ایلام

مقدمه

مرحلهٔ نوزادی کرم اکینوکوکوس گرانولوزوس باعث آلوده شدن بافت‌ها و ایجاد بیماری کیست هیداتیک می‌شود. این بیماری یکی از مهم‌ترین بیماری‌های عفونی-انگلی در انسان، حیوانات اهلی و وحشی است. کیست هیداتیک در اندام‌های مختلف میزبان مانند کبد، ریه، قلب، مغز، استخوان، طحال و کلیه‌ها عارضه ایجاد می‌کند و حتی ممکن است منجر به مرگ شود (۱). در حال حاضر، برای درمان هیداتیدوز از جراحی و داروهای شیمیایی مانند بنزیمیدازول‌ها استفاده می‌گردد (۲). اخیراً، استفاده از بنزیمیدازول‌ها مانند آلبندازول و مبندازول به علت افزایش مقاومت پروتواسکولکس‌ها و عوارض جانبی مانند ناهنجاری در عملکرد کبد، درد شکم، اسهال، تهوع، سرگیجه و سردرد محدود شده است (۴، ۳). از سوی دیگر، استفاده از آلبندازول در موش‌ها عوارض تراتوژنیک را نشان داده است (۵).

عوامل اسکولکس‌کش که در جراحی کیست هیداتیک استفاده می‌شوند، باید بتوانند در غلظت کم و زمان کوتاه، اسکولکس-های فراوانی را بکشند و پس از رقیق شدن با مایع کیست، اثرشان نباید کم شود و برای بافت‌های میزبان غیرسمی و ایمن و در ضمن ارزان و در دسترس باشند (۶). تاکنون در ایران و سراسر جهان، از مواد شیمیایی و اسکولکس‌کش‌های بسیاری برای غیرفعال کردن پروتواسکولکس‌های درون کیست هیداتیک استفاده‌شده است و به‌عنوان گزینهٔ جایگزین، محققان گرایش فراوانی به ارزیابی و ارائهٔ ترکیبات جدید دارند.

گزارش‌شده است که چندین محصول طبیعی با یک نیمه‌کومارینی دارای فعالیت‌های بیولوژیکی متعددی هستند. انتظار می‌رود که کومارین‌ها مانند فلاونوئیدهای ایزومر، بر تشکیل و جمع‌آوری گونه‌های فعال اکسیژن تأثیر بگذارند و فرایندهای مربوط به آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد را تحت تأثیر قرار دهند. کومارین می‌تواند ادم و التهاب بافت را کاهش دهد. علاوه بر این، کومارین و مشتق ۷ هیدروکسی آن بیوسنتز پروستاگلاندین را مهار می‌کند که شامل هیدروپروکسی واسطه‌های اسید چرب است. محصولات طبیعی مانند اسکولتین، فراکستین، دافنتین و سایر مشتقات کومارین مرتبط نه‌تنها به‌عنوان بازدارندهٔ دستگاه‌های آنزیمی لیپوکسیژناز و سیکلوکسیژناز، بلکه برای تولید آنیون سوپراکسید وابسته به نوتروفیل نیز شناخته می‌شوند. با توجه به اهمیت بی‌تردید مشتقات کومارین، تلاش‌های چشمگیری توسط چندین محقق برای تهیهٔ ترکیبات جدید حاوی جایگزین‌های منفرد یا سامانه‌های پیچیده‌تر، ازجمله حلقه‌های هتروسیکلیک عمدتاً در موقعیت‌های ۳، ۴ و یا ۷ صورت گرفته است (۷).

مشتقات دی هیدروپیرانو [۲ و ۳-c] کومارین ازجملهٔ این ترکیبات هستند که به سبب طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های بیولوژیکی ازجمله خواص ضد دردی (۸)، ضدانعقادی (۹)، ضدسرطانی (۱۰)، ضد توموری (۱۱)، سیتوتوکسیک (۱۲)، ضدمیکروبی و ضد سل (۱۳) توجه فراوانی را به خود جلب کرده‌اند. آن‌ها همچنین به‌عنوان تقویت‌کننده‌های شناختی برای درمان بیماری‌های عصبی مانند بیماری آلزایمر، اسکلروز، بیماری پارکینسون، بیماری هانتینگتون، زوال عقل مرتبط با ایدز، سندرم داون و اسکیزوفرنی استفاده می‌شوند (۱۴)؛ بنابراین، این مطالعه با هدف مقایسهٔ اثر پروتواسکولکس‌کشی ۲-آمینو-۴-(۳-برومو فنیل)-۵-اکسو—هیدرو ۴ و ۵ هیدرو-پیرانو (۳ و ۲-c) کومارین-۳-کربونیتریل (ترکیب ۱۲) و ۲-آمینو-۴-(۴-هیدروکسی فنیل)-۵-اکسو—هیدرو ۴ و ۵ هیدرو-پیرانو (۳ و ۲-c) کومارین-۳-کربونیتریل (ترکیب ۲) بر روی پروتواسکولکس‌های کیست هیداتیک، در شرایط برون‌تنی صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعهٔ تجربی، در زمستان سال ۱۴۰۰، از طریق درخواست کتبی از سوی دانشکدهٔ دامپزشکی دانشگاه تبریز، تعداد ۳۰ عدد کبد و ریهٔ گوسفند از کشتارگاه صنعتی شهر تبریز جمع‌آوری و به آزمایشگاه انگل‌شناسی دانشکدهٔ دامپزشکی منتقل شد. سطح کیست‌ها با الکل ۷۰ درصد ضدعفونی و مایع کیست توسط سرنگ استریل آسپیره گردید و به داخل استوانهٔ شیشه‌ای انتقال داده شد و در دمای اتاق به مدت ۱۰ دقیقه باقی ماند تا پروتواسکولکس‌ها ته‌نشین گردند.

پس از سپری شدن ۱۰ دقیقه، مایع رویی دور ریخته و پروتواسکولکس‌ها سه بار با نمک فسفت بافر (PBS) شستشو داده شدند و برای ارزیابی زنده بودن، پروتواسکولکس‌ها با ائوزین ۰/۱ درصد رنگ گردیدند.

ترکیب شمارهٔ ۱۲ و ترکیب شمارهٔ ۲ از مشتقات دی هیدروپیرانو [۲ و ۳-c] کومارین هستند که در گروه شیمی آلی و بیوشیمی دانشکدهٔ شیمی دانشگاه تبریز ساخته شدند. در این تجربه، یک مخلوط شامل یک میلی‌مول آلدهید، یک میلی‌مول ۴-هیدروکسی کومارین و ۱/۲ میلی‌مول مالونونیتریل تحت شرایط بدون حلال با حضور کاتالیست {Fe3o4@Sio2(cH2)3-Im-bisEtylFc[HCO3]} استفاده گردید. پس از تکمیل واکنش از طریق پیگیری با کروماتوگرافی لایهٔ نازک (TLC)، کاتالیست توسط یک آهنربای خارجی و با حلال اتانول شسته شد تا در واکنش‌های بعدی استفاده شود. در ادامه، محصولاتی که به‌صورت رسوب بودند، با حلال اتانول نوبلور گردیدند که برای ارزیابی اثر اسکولکس‌کشی آن‌ها، غلظت‌های ۱/۲، ۱/۵، ۱/۱۰ و ۱/۱۰۰ از آن‌ها در دی‌متیل سولفوکساید (DMSO)، به‌صورت جداگانه تهیه شد. نیم میلی‌لیتر از عصاره‌ها به میکروتیوب‌ها اضافه گردید و یک قطره رسوب غنی از پروتواسکولکس (حاوی ۲۰۰۰ پروتواسکولکس) به آن افزوده گشت. محتویات لوله‌ها به‌آرامی مخلوط شدند و لوله‌ها به مدت ۱۵، ۳۰ و ۶۰ دقیقه، در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد انکوبه گردیدند. پس از سپری شدن زمان انکوباسیون، فاز فوقانی با دقت برداشته شد؛ سپس یک قطره ائوزین ۰/۱ درصد به رسوب باقی‌مانده اضافه و به‌آرامی مخلوط گردید. یک قطره از پروتون‌ها روی لام قرار داده شد و روی آن لاملی قرار گرفت و به کمک میکروسکوپ نوری، پروتواسکولکس‌های مرده و زنده شمرده شدند. اثر اسکولکس‌کشی ترکیب ۱۲ و ترکیب ۲ در غلظت‌های ذکرشده، با داروی آلبندازول (۲۰۰ میلی‌گرم، شرکت داروسازی سها، ایران) به‌عنوان کنترل مثبت و دی‌متیل سولفوکساید به‌عنوان کنترل منفی در دوزهای مشابه بررسی و مقایسه گردید. این آزمایش‌ها برای هرکدام از غلظت‌ها سه بار تکرار شد.

داده‌های جمع‌آوری‌شده با استفاده از نرم‌افزار GraphPad vol.5 و با آزمون آنالیز واریانس دوطرفه (Two way-ANOVA) تجزیه‌وتحلیل گردیدند و سطح معنی‌داری $P<0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته های پژوهش

نتایج این بررسی تجربی نشان داد که ترکیب ۱۲ و ۲ در همهٔ غلظت‌های استفاده‌شده در این مطالعه، فعالیت اسکولیسیدال دارد. بااین‌حال، ترکیب شمارهٔ ۱۲، در همهٔ غلظت‌ها و زمان‌ها، اثر اسکولکس‌کشی بالایی نسبت به ترکیب شمارهٔ ۲ داشت و از سویی، نتایج نشان داد که ترکیب ۱۲ در غلظت ۱/۱۰ پس از ۶۰ دقیقه و غلظت ۱/۱۰۰ در همهٔ زمان‌های مواجهه، ۱۰۰ درصد پروتواسکولکس‌ها را در مقایسه با گروه کنترل از بین برد؛ اما ترکیب ۲ در غلظت ۱/۱۰۰ پس از ۶۰ دقیقه مواجهه، توانست ۹۸ درصد پروتواسکولکس‌ها را از بین ببرد. در هر دو عصاره، فعالیت پروتواسکولکس‌کشی با افزایش غلظت افزایش یافت.

در جدول و نمودار شمارهٔ ۱، فعالیت پروتواسکولکس‌کشی ترکیب ۱۲ و ۲ در غلظت‌ها و زمان‌های مختلف مواجهه باهم مقایسه شدند و همان‌طور که در جدول مشاهده می‌شود، کمترین اثر اسکولکس‌کشی هر دو ترکیب، در غلظت ۱/۲ پس از ۱۵ دقیقه مواجهه با پروتواسکولکس‌ها، به‌ترتیب ۹۸ و ۸۳ درصد بود و ترکیب شمارهٔ ۱۲ در همهٔ غلظت‌ها و زمان‌ها، اثر اسکولکس‌کشی بالایی نسبت به ترکیب ۲ داشت. نتایج این بررسی اختلاف معنادار آثار اسکولیسیدال ترکیب ۱۲ را در همهٔ غلظت‌ها، نسبت به گروه کنترل منفی نشان داد ($P<۰.۰۵$)؛ همچنین آثار اسکولیسیدال ترکیب شمارهٔ ۲ در همهٔ غلظت‌ها، به‌جز غلظت ۱/۲ به مدت ۱۵ دقیقه، در همهٔ گروه‌های دریافت‌کننده نسبت به کنترل منفی معنادار بود ($P<۰.۰۵$). در مورد هر دو ترکیب، آثار اسکولکس‌کشی معنی‌دار وابسته به دوز و زمان مشاهده شد ($P<۰.۰۵$).

در جدول شمارهٔ ۱ و نمودار شمارهٔ ۱. فعالیت پروتواسکولکس‌کشی ترکیب ۱۲ و ۲ بر پروتواسکولکس‌های کیست هیداتیک در غلظت‌ها و

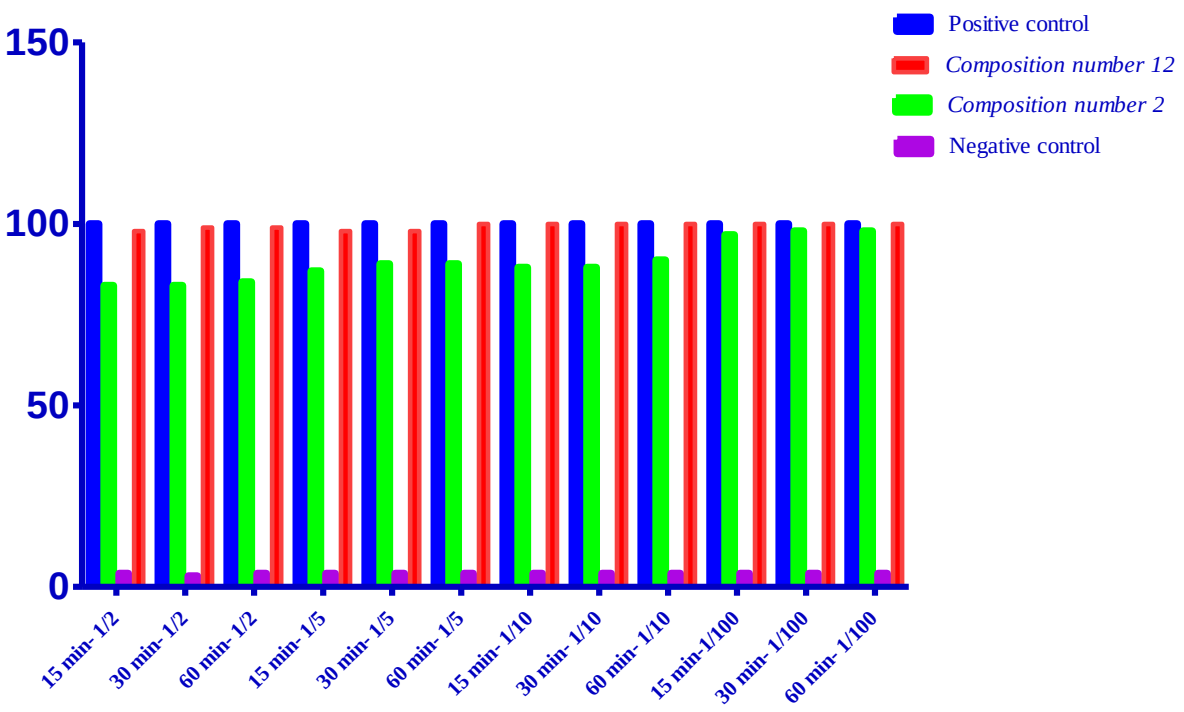
زمان‌های مختلف مواجهه مقایسه گردید.

جدول شماره ۱. مقایسهٔ فعالیت پروتواسکولکس‌کشی ترکیب ۱۲ و ۲ (درصد) بر پروتواسکولکس‌های کیست هیداتیک در غلظت‌ها و زمان‌های مختلف مواجهه

رقت عصاره	زمان مواجهه	ترکیب شمارهٔ ۱۲	ترکیب شمارهٔ ۲	کنترل مثبت	کنترل منفی
۱/۲	۱۵ دقیقه	**۹۸±۱/۱۵**	۸۳±۱/۱۵	**۱۰۰±۰/۰۰**	**۳/۶۶±۰/۰۰**
	۳۰ دقیقه	**۹۹±۱/۰۰**	**۸۳**±۱/۰۰	**۱۰۰±۰/۰۰**	**۳/۶۶±۰/۰۰**
	۶۰ دقیقه	**۹۹±۲/۰۸**	**۸۴**±۲/۰۸	**۱۰۰±۰/۰۰**	**۳/۶۶±۰/۰۰**
۱/۵	۱۵ دقیقه	**۹۸**±۲/۰۰	**۸۷±۲**/۰۰	**۱۰۰±۰/۰۰**	**۳/۶۶±۰/۰۰**
	۳۰ دقیقه	**۹۸±۲/۰۰**	**۸۹**±۲/۰۰	**۱۰۰±۰/۰۰**	**۳/۶۶±۰/۰۰**
	۶۰ دقیقه	**۱۰۰±۲/۵۱**	**۸۹**±۲/۵۱	**۱۰۰±۰/۰۰**	**۳/۶۶±۰/۰۰**
۱/۱۰	۱۵ دقیقه	**۱۰۰**±۲/۰۸	**۸۸**±۱/۰۸	**۱۰۰±۰/۰۰**	**۳/۶۶±۰/۰۰**
	۳۰ دقیقه	**۱۰۰±۲/۰۰**	**۸۸**±۳/۵	**۱۰۰±۰/۰۰**	**۳/۶۶±۰/۰۰**
	۶۰ دقیقه	**۱۰۰±۱/۵**	**۹۰**±۰/۵۷	**۱۰۰±۰/۰۰**	**۳/۶۶±۰/۰۰**
۱/۱۰۰	۱۵ دقیقه	**۱۰۰**±۱/۰۰	**۹۷**±۱/۱۵	**۱۰۰±۰/۰۰**	**۳/۶۶±۰/۰۰**
	۳۰ دقیقه	**۱۰۰±۱/۵۰**	**۹۸**±۱/۵۰	**۱۰۰±۰/۰۰**	**۳/۶۶±۰/۰۰**
	۶۰ دقیقه	**۱۰۰±۰/۵۷**	**۹۸**±۰/۵۷	**۱۰۰±۰/۰۰**	**۳/۶۶±۰/۰۰**

جدول شماره ۲. توزیع فراوانی انواع عوارض بدو تولد در نوزادان بستری‌شده در بخش NICU بیمارستان آیت‌الله طالقانی شهر ایلام

عوارض بدو تولد	فراوانی (N)	درصد فراوانی (%)
هیپر گلیسمی	۳	۱۰/۷
هیپوترمی	۵	۹/۷
خون‌ریزی داخل بطنی	۹	۲۱/۱
آسیفکسی	۱۰	۳۵/۷
تشنج	۶	۱۱/۴
NEC	۶	۱۱/۴
جمع	۳۹	۱۰۰



نمودار شماره ۱. نمودار مقایسهٔ فعالیت پروتواسکولکس‌کشی ترکیب ۱۲ و ۲ (درصد) در غلظت‌ها و زمان‌های مختلف مواجهه

بحث و نتیجه‌گیری

امروزه، جراحی یک روش انتخابی برای درمان کیست هیداتیک است. بااین‌حال، موفقیت این روش تحت تأثیر تشکیل کیست‌های جدید، عود بیماری یا انتشار ثانویهٔ کیست‌های هیداتیک قرار دارد و در ضمن ممکن است در حین جراحی، نشت محتوای کیست منجر به مرگ شود (۱۵). درواقع، غیرفعال‌سازی پروتواسکولکس‌ها با عوامل اسکولکس‌کش همراه با حداقل عوارض جانبی و کارایی بالا به‌جای باز کردن یا برداشتن کیست، در حد فراوانی، بسیار توصیه می‌گردد (۱۶). تا به امروز، برای غیرفعال کردن پروتواسکولکس‌های کیست هیداتیک، از بسیاری از عوامل پروتواسکولکس‌کش مانند سالین هایپرتونیک، مانیتول، گلوکونات کلرهگزیدین، عصاره‌های گیاهی، نانوذرات و... استفاده‌شده است؛ اما بسیاری از این عوامل عوارض نامطلوبی ایجاد می‌کنند که استفاده از آن‌ها را محدود می‌سازد (۱۷). این مطالعه با هدف مقایسهٔ اثر اسکولکس‌کشی ترکیب ۱۲ و ۲ بر روی پروتواسکولکس‌های کیست هیداتیک در شرایط برون‌تنی انجام شد. نتایج این بررسی نشان داد که این دو ترکیب در همهٔ غلظت‌ها فعالیت اسکولیسیدال دارند؛ اما ترکیب ۱۲ در غلظت ۱/۱۰ پس از ۶۰ دقیقه و غلظت ۱/۱۰۰ در همهٔ زمان‌های مواجهه، ۱۰۰ درصد پروتواسکولکس‌ها را در مقایسه با گروه کنترل از بین می‌برد.

در میان عوامل مختلف اسکولکس‌کش، فرمالین (۱۸) و اتیل الکل اولین و بیشترین موادی بودند که استفاده گردیدند؛ اما علی‌رغم اثربخشی آن‌ها، به سبب سمیت و سوزاننده بودن، استفاده از آن‌ها محدود شد. پس از آن، پراکسید هیدروژن به‌عنوان ماده اسکولکس‌کش استفاده گردید؛ اما به علت اثربخشی اندک و عوارض بالا، کاربرد چندانی نداشت. سالین هایپرتونیک یکی از اسکولکس‌کش‌های انتخابی است که در سال‌های گذشته استفاده‌شده است؛ اما سالین ۵ درصد هیچ تأثیری بر پروتواسکولکس‌ها ندارد. درواقع، غلظت کمتر از ۱۰ درصد سالین هیچ تأثیری بر پروتواسکولکس‌ها ندارد و از سویی، غلظت ۲۰ درصد سالین در بیماران کلانژیت اسکلروزان ایجاد می‌کند (۱۹). Cetrimide (سترایماید) یک مادهٔ ضدعفونی‌کنندهٔ قوی و عامل اسکولکس‌کش مؤثر است و غلظت‌های پایین سترایماید (۰/۵–۰/۱ درصد) از سوی بسیاری از جراحان استفاده‌شده است. سترایماید در غلظت‌های بسیار

کم مؤثر است؛ اما عاری از عوارض نیست (۲۰). کاگلار و همکاران (۲۰۰۸) تأثیر محلول‌های ۲۰ درصد سالین هایپرتونیک، نیترات نقره ۲۰ درصد، آلبندازول ۲۰ میلی‌گرم بر سانتی‌متر مکعب، دکستروز ۵۰ درصد (گلوکز هایپرتونیک) و محلول‌های ۲۰ درصد مانیتول و آمینو میکس-۱ را بر روی پروتواسکولکس‌های کیست هیداتیک در شرایط آزمایشگاهی بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که همهٔ پروتواسکولکس‌ها پس از تیمار با نیترات نقره در ۲۰ دقیقه، دکستروز و محلول آمینو میکس-۱ در ۳۰ دقیقه و سالین هیپرتونیک و مانیتول در ۴۵ دقیقه از بین می‌روند (۲۰). مقایسهٔ مطالعهٔ کاگلار و مطالعهٔ حاضر نشان می‌دهد که ترکیب ۱۲ در غلظت ۱/۱۰۰ و ۱۵ دقیقه تیمار، ۱۰۰ درصد پروتواسکولکس‌ها را از بین می‌برد و چون عوامل اسکولکس‌کش که در جراحی کیست هیداتیک استفاده می‌شوند، باید بتوانند در غلظت کم و زمان کوتاه، اسکولکس‌های فراوانی را از بین ببرند؛ بنابراین، ترکیب ۱۲ پتانسیل استفاده به‌عنوان یک عامل پروتواسکولکس‌کش قوی در جراحی کیست هیداتیک را دارد.

بورازان و همکاران (۲۰۱۹) اثر اسکولکس‌کشی نمک طعام ۱۵ درصد، بتادین، ساولون و کریستالین ۱۰ درصد و کلرهگزیدین گلوکونات ۰/۴ درصد را بررسی کردند. تفاوت معنی‌داری میان کلرهگزیدین گلوکونات و سایر مواد در دقیقهٔ دوم وجود داشت و ۹۹ درصد از پروتواسکولکس‌ها در دقیقهٔ ۵ از بین رفتند. ساولون و بتادین ۱۰ درصد پس از ۱۰ دقیقه اثربخشی کامل را نشان دادند و کریستالین و نمک طعام ۱۵ درصد در ۲۰ دقیقه توانستند کارایی کاملی از خود نشان دهند (۲۱).

پوریان و همکاران (۲۰۰۵) اثر کلرهگزیدین گلوکونات را در درمان هیداتیدوز آزمایشگاهی داخل صفاقی در موش صحرایی نژاد ویستار بررسی کردند و سه غلظت ۴ درصد، ۰/۴ درصد و ۰/۰۴ درصد کلرهگزیدین گلوکونات را به محوطهٔ صفاقی موش‌ها تزریق نمودند. طبق نتایج به‌دست‌آمده مشخص شد که غلظت ۴ درصد سمی‌تر است و باعث مرگ‌ومیر بالایی می‌شود. از میان همهٔ غلظت‌های به‌کاررفته، غلظت ۰/۰۴ درصد سمیت اندک و اثربخشی بالا در مدت‌زمان کوتاه را داشت؛ بنابراین می‌توان در درمان هیداتیدوز داخل صفاقی استفاده کرد (۲۲). به‌نظر می‌رسد که تفاوت در نتیجهٔ مطالعات مختلف به علت تفاوت در نوع مواد، غلظت و زمان مواجهه و نیز تفاوت در واحدهای اندازه‌گیری غلظت‌ها باشد. در این تحقیق، تعدادی محدودیت و ضعف وجود داشت که تأثیر مستقیمی بر تحقیقات دارند و باید به‌عنوان موارد مهم در نظر گرفته شوند. یکی از اصلی‌ترین محدودیت‌ها تعداد محدود نمونه‌های کبد آلوده به کیست هیداتیک تهیه‌شده از کشتارگاه است. این ممکن است به عدم قابلیت عمومی‌سازی نتایج تحقیقات منجر گردد؛ همچنین مسائل مرتبط با نگهداری نمونه‌ها از کشتارگاه به‌عنوان یک محدودیت مطرح شده‌اند. شرایط نگهداری مناسب نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش‌ها و تحلیل‌ها بسیار اهمیت دارد. تضمین کیفیت نمونه‌ها و روش‌های تهیهٔ آن‌ها نیز از اهمیت بالایی برخوردار است و می‌بایست با دقت اجرا گردد. در ضمن، مسائل اخلاقی مرتبط با تهیهٔ نمونه‌ها از کشتارگاه و حقوق حیوانات نیز باید به‌دقت مدنظر قرار گیرند و رعایت شوند. همهٔ این محدودیت‌ها و ضعف‌ها تأثیر مستقیمی بر تحلیل و آنالیز داده‌های تحقیق دارند و نیاز به توجه دقیق به آن‌ها وجود دارد.

به‌طورکلی، یافته‌های این مطالعه نشان‌دهندهٔ فعالیت پروتواسکولکس‌کشی بالای ترکیب ۱۲ است، به‌طوری‌که در غلظت ۱/۱۰ پس از ۶۰ دقیقه و غلظت ۱/۱۰۰ در همهٔ زمان‌های مواجهه، ۱۰۰ درصد آن‌ها را از بین می‌برد که پتانسیل بالقوهٔ این ماده سنتتیک را به‌عنوان یک عامل پروتواسکولکس‌کش برای استفاده در جراحی کیست هیداتیک مطرح می‌سازد. این مطالعه در شرایط برون‌تنی و در شرایط آزمایشگاهی انجام‌شده است؛ ازاین‌رو، ضروری است که در شرایط درون‌تنی نیز صورت گیرد تا ضمن تعیین دقیق غلظت مؤثر این مواد، عوارض ناخواستهٔ احتمالی آن بر ارگان‌های داخلی بدن نیز بررسی شود تا نتایج به‌دست‌آمده به لحاظ کاربردی بیشتر قابل‌تأمل باشد.

سپاس‌گزاری

از رئیس کشتارگاه صنعتی تبریز به سبب

اشتراک‌گذاری نمونه‌های کبد مرتبط با آلودگی به کیست هیداتیک تقدیر و تشکر می‌شود.

تعارض منافع

نویسندگان این مقاله اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تعارض منافعی ندارند.

حمایت مالی

هزینه های مربوط به انجام این طرح پژوهشی ار محل گرنت شخصی پرداخت شده است.

سهم نویسندگان

تمام نویسندگان در طراحی، اجرا و نگارش همه بخش ها ی پژوهش حاضر، مشارکت داشته اند . تمام نویسندگان در طراحی، اجرا و نگارش همه بخش ها ی پژوهش حاضر، مشارکت داشته اند.

References

1. Norouzi R, Ataei A, Hejazy M, Noreddin A, El Zowalaty ME. Scolicidal effects of nanoparticles against hydatid cyst protoscolices in vitro. Int J Nanomedicine 2020; 15:1095-100. doi: 10.2147/IJN.S228538. eCollection 2020.
2. Ahmadpour E, Godrati-Azar Z, Spotin A, Norouzi R, Hamishehkar H, Nami S, et al. Nanostructured lipid carriers of ivermectin as a novel drug delivery system in hydatidosis. Parasit Vectors 2019; 12:469. doi: 10.1186/s13071-019-3719-x.
3. Naseri M, Akbarzadeh A, Spotin A, Akbari NAR, Mahami-Oskouei M, Ahmadpour E. Scolicidal and apoptotic activities of albendazole sulfoxide and albendazole sulfoxide-loaded PLGA-PEG as a novel nanopolymeric particle against Echinococcus granulosus protoscoleces. Parasitol Res 2016; 115:4595-603. doi: 10.1007/s00436-016-5250-8.
4. Walker M, Rossignol JF, Torgerson P, Hemphill A. In vitro effects of nitazoxanide on Echinococcus granulosus protoscoleces and metacestodes. J Antimicrob Chemother 2004; 54:609-16. doi: 10.1093/jac/dkh386.
5. Maggiore MA, Albanese AA, Gende LB, Eguaras MJ, Denegri GM, Elissondo MC. Anthelmintic effect of Mentha spp. essential oils on Echinococcus granulosus protoscoleces and metacestodes. Parasitol Res 2012; 110:1103-12. doi: 10.1007/s00436-011-2595-x.
6. Anthony J-P, Fyfe L, Smith H. Plant active components–a resource for antiparasitic agents? Trends Parasitol 2005; 21:462-8. doi: 10.1016/j.pt.2005.08.004.
7. Fylaktakidou KC, Hadjipavlou-Litina DJ, Litinas KE, Nicolaides DN. Natural and synthetic coumarin derivatives with anti-inflammatory/antioxidant activities. Curr Pharm Des 2004; 10:3813-33. doi: 10.2174/1381612043382710.
8. Bonsignore L, Loy G, Secci D, Calignano A. Synthesis and pharmacological activity of 2-oxo-(2H) 1-benzopyran-3-carboxamide derivatives. Eur J Med Chem 1993; 28:517-20. doi:10.1016/0223-5234(93)90020-F.
9. Cingolani G, Gualtieri F, Pigini M. Researches in the field of antiviral compounds. Mannich bases of 3-hydroxycoumarin. J Med Chem 1969; 12:531-2. doi:10.1021/jm00303a616.
10. Wu JY, Fong WF, Zhang JX, Leung CH, Kwong HL, Yang MS, et al. Reversal of multidrug resistance in cancer cells by pyranocoumarins isolated from Radix Peucedani. Eur J Pharmacol 2003; 473:9-17. doi: 10.1016/s0014-2999(03)01946-0.
11. Perrella FW, Chen SF, Behrens DL, Kaltenbach RF 3rd, Seitz SP. Phospholipase C inhibitors: a new class of cytotoxic agents. J Med Chem 1994; 37:2232-7. doi: 10.1021/jm00040a016.
12. Emmadi NR, Atmakur K, Chityal GK, Pombala S, Nanubolu JB. Synthesis and cytotoxicity evaluation of highly functionalized pyranochromenes and pyranopyrans. Bioorg Med Chem Lett 2012; 22:7261-4. doi: 10.1016/j.bmcl.2012.09.018.
13. Mungra DC, Patel MP, Rajani DP, Patel RG. Synthesis and identification of β-aryloxyquinolines and their pyrano [3, 2-c] chromene derivatives as a new class of antimicrobial and antituberculosis agents. Eur J Med Chem 2011; 46:4192-200. doi: 10.1016/j.ejmech.2011.06.022.
14. Teimuri-Mofrad R, Esmati S, Tahmasebi S, Gholamhosseini-Nazari M. Bisferrocene-containing ionic liquid supported on silica coated Fe3O4: A novel nanomagnetic catalyst for the synthesis of dihydropyrano [2, 3-c] coumarin derivatives. J Organomet Chem 2018; 870:38-50. doi: 10.1016/j.jorganchem.2018.06.007.
15. Rouhani S, Parvizi P, Spotin A. Using specific synthetic peptide (p176) derived AgB 8/1-kDa accompanied by modified patient's sera: a novel hypothesis to follow-up of Cystic echinococcosis after surgery. Med Hypotheses 2013; 81:557-60. doi: 10.1016/j.mehy.2013.07.003.
16. Fakhar M, Chabra A, Rahimi-Esboei B, Rezaei F. In vitro protoscolicidal effects of fungal chitosan isolated from Penicillium waksmanii and Penicillium citrinum. J Parasit

Dis 2015; 39:162-7. doi: 10.1007/s12639-013-0300-y.
17. Kohansal MH, Nourian A, Rahimi MT, Daryani A, Spotin A, Ahmadpour E. Natural products applied against hydatid cyst protoscolices: A review of past to present. Acta Trop 2017; 176:385-94. doi: 10.1016/j.actatropica.2017.09.013.
18. Williams RJ. Determination of the Value of Formalin and Boiling Water as Taeniid Ovicides. Res Vet Sci 1963; 4:550-5. doi:10.1016/S0034-5288(18)34841-0.
19. Besim H, Karayalcin K, Hamamci O, Güngör C, Korkmaz A. Scolicidal agents in hydatid cyst surgery. HPB Surg 1998; 10:347-51. doi: 10.1155/1998/78170.
20. Caglar R, Yuzbasioglu MF, Bulbuloglu E, Gul M, Ezberci F, Kale IT. In vitro effectiveness of different chemical agents on scolices of hydatid cyst. J Investig Surg 2008; 21:71-5. doi: 10.1080/08941930701883640.
21. Borazan E, Gökalp MA, Zer Y, Aksoy N, Aytekin A, Yılmaz L. Time-related comparison of scolicidal activity of the different substances used in hydatid cyst. East J Med 2019; 24:457-62. doi: 10.5505/ejm.2019.04706.
22. Puryan K, Karadayi K, Topcu O, Canbay E, Sumer Z, Turan M, et al. Chlorhexidine gluconate: an ideal scolicidal agent in the treatment of intraperitoneal hydatidosis? World J Surg 2005; 29:227-30. doi: 10.1007/s00268-004-7587-x.