بررسی اثر عصاره گیاه بلوط بر پروتواسکولکس های کیست هیداتید در شرایط In vitro و Ex vivo

حسین محمودوند[1]، مژگان میرزایی[2]، مهرداد خاتمی[3]، هرمز محمودوند[4]، فرناز خیراندیش[1]، معصومه نیازی[2]، مریم سپهوند[1]، صدیقه ندری*[4]

۱- گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران
۲- گروه اتاق عمل و بیهوشی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران
۳- گروه زیست فناوری پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بم، بم، ایران
۴- گروه جراحی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران

یافته / دوره بیست و یکم / شماره ۳ / پاییز ۹۸ / مسلسل ۸۱

چکیده

دریافت مقاله: ۹۸/۵/۳۰ پذیرش مقاله: ۹۸/۶/۱۰

مقدمه: هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر ضد پروتواسکولکسی عصاره گیاه بلوط بر روی پروتواسکولکس های کیست هیداتید در شرایط ***In vitro*** و ***ex vivo*** می باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه کبد گوسفندان آلوده به کیست هیداتید از کشتارگاه شهرستان خرم آباد جمع آوری شده و پس از جداسازی پروتواسکولکس های کیست هیداتید، جهت بررسی اثر ضد پروتواسکولکسی گیاه بلوط در شرایط ***in vitro*** و ***ex vivo***، غلظت های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر از عصاره گیاه بلوط را با سوسپانسیونی از پروتواسکولکس ها (۱۰۳ × ۱ در هر میلی لیتر) مجاور کرده و در زمان ۵-۴۰ دقیقه میزان مرگ و میر آنها محاسبه گردید.

یافته‌ها: یافته های ***in vitro*** مطالعه حاضر نشان داد که میزان کشندگی پروتواسکولکس ها پس از ۵ دقیقه مواجهه با غلظت **1000 mg/mL** عصاره گیاه بلوط ۱۰۰ ٪ بود. این در حالی است که در نتایج ***ex vivo***، ۱۰۰٪ پروتواسکولکس ها پس از ۱۰ و ۲۵ دقیقه مواجهه به ترتیب با غلظت های ۱۰۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره بلوط از بین رفته بودند، که بیانگر این موضوع است که عصاره نیاز به زمان بیشتری برای نشان دادن اثرات ضد پروتواسکولکسی خود در شرایط ***ex vivo*** دارد **($p< 0.05$)**.

بحث و نتیجه‌گیری: علاوه بر این نتایج، مطالعه حاضر بیانگر آن است که عصاره گیاه بلوط دارای اثرات ضد پروتواسکولکسی قابل توجهی در شرایط ***in vitro*** و ***ex vivo*** می باشد بنابراین می توان با انجام آزمایشات تکمیلی از آن به عنوان داروی جایگزین جدید در هنگام جراحی هیداتید استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: هیداتیدوزیس، اکینوکوکوس گرانولوزوس، شن هیداتید، عصاره، اسکولیسیدال.

*آدرس مکاتبه: گروه جراحی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران
پست الکترونیک: dr.s.nadri@gmail.com

مقدمه

هیداتیدوزیس یکی از بیماری های زئونوز و خطرناک جهان است که به واسطه‌ی مرحله لاروی کرم پهن یا (انگل) اکینوکوکوس گرانولوزوس ایجاد می شود (۱). این بیماری در اکثر نقاط دنیا دیده می شود و در ایران به شکل هایپر اندمیک بوده (۲) و جوامع درگیر را از نظر بهداشتی و اقتصادی محتمل خسارات زیادی می کند (۳). سگ و سگ سانان میزبان نهایی انگل محسوب شده و انسان به عنوان میزبان تصادفی، طی خوردن آب، سبزیجات و مواد غذایی آلوده به تخم انگل، مبتلا می شود (۴). اگرچه فرم بالغ انگل در میزبان اصلی، تهدید کننده ی حیات نیست اما لارو آن در میزبان واسط با ایجاد کیست در بافت های مختلف از جمله کبد، ریه، مغز می تواند موجب بیماری شدید حتی مرگ شود (۴). آغاز بیماری، علائم خاصی به همراه ندارد، اما با گذشت زمان و بسته به محل و اندازه ی کیست، علائم بالینی بروز می کند. در کیست های کوچک و غیر فعال، استفاده از داروهای خانواده بنزیمیدازول راه کار درمانی مطلوبی بوده اما در درمان کیست های بزرگ و فعال، جراحی به عنوان استراتژی ارجح محسوب می شود (۲).

امروزه پاره شدن کیست ها و یا نشت محتویات آن ها طی جراحی و درگیری ارگانهای مجاور به عضو درگیر، و متعاقباً ایجاد کیست های ثانویه مهمترین دغدغه برای جراحان کیست هیداتید محسوب می شود (۲). از این رو استفاده از مواد اسکولکس کشی همچون نمک هایپرتونیک ۲۰ درصد، نقره نیترات و فرمالین با هدف کاهش خطر انتشار پروتو اسکولکس ها و عود مجدد بیماری در سال های اخیر مورد توجه قرار گرفته است (۵). با این حال مطالعات مختلف نشان داده است که این مواد، عاری از خطر نبوده و می توانند عامل ایجاد عوارضی مانند فیبروز مجاری صفراوی، نکروز و سیروز کبدی گردند (۶،۷). از این رو نیاز به یافتن یک پروتواسکولکس کش جدید را با کارایی و تاثیر بیشتر و عوارض کمتر همیشه مورد توجه محققان بوده است. با توجه به اینکه منابع گیاهی حاوی ترکیبات مفید سازگار با بدن بوده و از طرفی فاقد عوارض ناخواسته هستند میتوانند به عنوان جایگزین مناسب برای دارو های شیمیایی در نظر گرفته شوند.

بلوط درختی است به نام علمی (Quercus infectoria) و از تیره راشیان است که معمولا به طور طبیعی و خود رو در جنگل های معتدل کوهستانی تحت تاثیر آب و هوای مدیترانه ای می روید (۸). میوه، برگ، چوب و گال بلوط دارای ترکیبات شیمیایی مختلفی همچون نشاسته، پروتئین، قند های مختلف و مقادیر بالایی تانین می باشد. گال های بلوط دارای خواص ضدعفونی کننده آنتی اکسیدانی، منعقد کننده خون و همچنین عصاره الکلی آن دارای اثرات ضد التهابی می باشد (۸). عصاره آن بر بهبود جراحات ناشی از سوختگی موثر است. علاوه بر این در سال های اخیر تسریع در بهبود زخم ها، خواص آنتی باکتریال، ضد قارچی و ضد انگلی این گیاه در مطالعات مختلف نیز گزارش شده است (۱۱-۸).

با توجه به فعالیت‌های بیولوژیکی به ویژه ضد میکروبی گیاه بلوط در این مطالعه بر آن شدیم که برای اولین بار اثر ضد پروتواسکولکسی عصاره گیاه بلوط را بر روی پروتواسکولکس های کیست هیداتید در شرایط In vitro و Ex vivo مورد بررسی قرار دهیم.

مواد و روش‌ها

تهیه و تایید گیاه بلوط

برای انجام مطالعه تجربی حاضر پس از تهیه میوه گیاه از مناطق جنگلی شهرستان خرم آباد جهت اطمینان از جنس و گونه گیاه مورد نظر به مرکز تحقیقات گیاهان دارویی رازی خرم آباد مراجعه و با توجه به کلیدهای تشخیصی مورد تایید قرار گرفت.

آماده سازی نمونه ها برای عصاره گیری

در این مطالعه پس از برداشت و جدا کردن پوسته خارجی میوه بلوط، آنها در معرض هوای آزاد و در سایه خشک شد. سپس پوسته ی داخلی نیز از میوه ها جدا و به کمک آسیاب برقی، پودر میوه ها تهیه و تا زمان مصرف در ظروف شیشه‌ای در یخچال نگهداری شد.

عصاره گیری

برای عصاره گیری از روش سوکسله استفاده شد. در این روش به ازای ۲۰ گرم از پودر نمونه، ۴۰۰ سی سی حلال مربوطه که نسبتهای مساوی از آب و اتانول بود به کار برده شد. در پایان حلال به کمک دستگاه Rotavapor از عصاره جدا شد (12).

تهیه پروتواسکولکس

کبد گوسفندان آلوده به کیست هیداتید از کشتارگاه شهرستان خرم آباد جمع آوری گردید و به آزمایشگاه انگل شناسی دانشکده پیراپزشکی منتقل گردید. پس از شستشوی سطح کیست با الکل ۷۰درصد مایع هیداتید درون کیست که حاوی پروتواسکولکس بود را به وسیله ی یک سرنگ استریل ۵۰ سی سی آسپیره کرده و طی چند مرحله با استفاده از محلول نرمال سالین شستشو داده شد.

آزمون Viability

بعد از بدست آوردن پروتواسکولکس های زنده، درصد مرگ و میر آنها را بوسیله حرکت سلول های شعله ای و رنگ آمیزی ائوزین ۰/۱ درصد (یک گرم پودر ائوزین در ۱۰۰۰ سی سی آب مقطر) بررسی گردید. به منظور بررسی مایع از نظر وجود پرتواسکولکس یک قطره از آن را روی یک لام شیشه ای قرار دادیم و یک قطره رنگ ائوزین۰/۱ درصد به آن اضافه کرده و نمونه حاصل زیر میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند. در این روش پروتواسکولکس های زنده شفاف و بدون رنگ و پرتواسکولکس های مرده به رنگ قرمز دیده می شوند (13).

بررسی اثر ضد پروتواسکولکسی در شرایط In vitro

جهت بررسی اثر اثر ضد پروتواسکولکسی گیاه بلوط در شرایطIn vitro، ابتدا غلظت های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر از عصاره گیاه بلوط (انتخاب این غلظت ها براساس آزمایشات اولیه می باشد) را با سوسپانسیونی از پروتواسکولکس ها (۱۰۳ × ۱ در هر میلی لیتر) مجاور کرده و در زمان ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه میزان مرگ و میر آنها را محاسبه می کنیم و همزمان از نرمال سالین استریل + توییین ۲۰ و همچنین نیترات نقره به ترتیب به عنوان کنترل منفی و مثبت استفاده شد. لازم به ذکر است که تمامی این مراحل بر روی پلیت های ۴۸ خانه ای و به صورت تریپلیکیت انجام شدند (۱۳).

بررسی اثر ضد پروتواسکولکسی در شرایط Ex vivo

در این مطالعه برای ارزیابی فعالیت اثر ضد پروتواسکولکسی عصاره گیاه بلوط در شرایط ex vivo، از کبد گوسفندانی که به طور طبیعی آلوده به کیست هیداتید شده بودند، استفاده گردید. در مرحله اول، بیش از ۵۰ درصد از مایع هیداتید برای به دست آوردن پروتواسکولکس ها آسپیره شده و میزان زنده بودن آنها توسط آزمون ائوزین ۰/۱ درصد تأیید شد. برای هر کدام از غلظت های عصاره (غلظت های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر) سه کیست هیداتید در نظر گرفته شد. سپس عصاره را تزریق کرده تا تمام سطح درونی کیست پر شود. پس از آن مقدار کمی از مایع کیست در مدت زمان ۷، ۱۰، ۱۲، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰ دقیقه برداشته شد و در مرحله بعد با ائوزین ۰/۱ درصد به ترکیب شد. با گذشت ۱۰ دقیقه، از باقی مانده ی پروتواسکولکس ها اسمیری تهیه و روی یک لام شیشه ای قرار داده شد و

برای تعیین میزان زنـده مانـدن پروتواسـکولکس هـا، زیـر میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفت (۱۴).

آنالیز آماری

پس از جمع آوری داده ها و وارد کردن آنها در نرم افزار آماری SPSS.22 پس از محاسبه شاخص های مرکزی و پراکندگی مناسب جهت تحلیل داده از طرح فاکتوریل ۴۸ =۳*۴*۴ استفاده و $p<0.05$ به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

بررسی اثر ضد پروتواسکولکسی در شرایط In vitro

جـدول ۱ اثـرات ضـد پروتواسکولکسـی غلظـت هـای مختلف عصاره گیاه بلوط را بر روی پروتواسـکولکس هـای کیست هیداتید در طی بازه هـای زمـانی ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه نشان می دهد. نتایج بدست آمده نشان مـی دهنـد کـه عصـاره گیـاه بلـوط در تمـام غلظـت هـا اثـرات ضـد پروتواسکولکسی قابل توجهی را در مقایسه با گروه کنتـرل نشـــان داده اســـت (p<۰/۰۰۱). میـــزان کشـــندگی پروتواسکولکس هـا پـس از ۵ دقیقـه مواجهـه بـا غلظـت 1000mg/mL عصاره گیاه بلوط ۱۰۰ % بود. علاوه بر این پـس از ۱۰ دقیقـه مواجهـه بـا غلظـت 500 mg/mL نیـز اثرات ضد پروتواسکولکسی عصاره گیاه کبـر ۱۰۰ % بـود. به همین صورت عصاره گیاه بلوط با غلظـت 250 mg/mL در مواجهـــه بـــا پروتواســـکولکس هـــا ۳۲/۳% ، ۵۲/۶% ، ۷۹/۳% و ۹۶/۳% از پروتواسکولکس هـا را بـه ترتیـب در بازه های زمانی ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه از بین بردند. یافته ها نشان می دهند که با افزایش زمان مواجهه عصاره گیـاه بلوط در تمام غلظت ها میزان کشـندگی بـه مقـدار قابـل تـوجهی افـزایش یافـت (p<۰/۰۵). میـزان کشـندگی پروتواسکولکس ها در گروه کنترل منفی و مثبت به ترتیب ۲/۳ % پـس از ۳۰ دقیقـه و ۱۰۰% پـس از ۵ دقیقـه مواجهه بود.

جدول۱. اثرات ضد پروتواسکولکسی عصاره گیاه بلوط بر پروتواسکولکس های کیست هیداتید در غلظت ها و مدت زمان های مواجهه مختلف ؛ Data are expressed as the mean ± SD (n = 3).

غلظت (mg/ml)	میانگین میزان کشندگی(%)	مدت زمان مواجهه (دقیقه)
۱۰۰۰	۱۰۰ ± ۰/۰	۵
	۱۰۰ ± ۰/۰	۱۰
	۱۰۰ ± ۰/۰	۲۰
	۱۰۰ ± ۰/۰	۳۰
۵۰۰	۶۸/۳ ± ۲/۵۱	۵
	۱۰۰ ± ۰/۰	۱۰
	۱۰۰ ± ۰/۰	۲۰
	۱۰۰ ± ۰/۰	۳۰
۲۵۰	۳۲/۳ ± ۲/۵۱	۵
	۵۲/۶±۳/۱۵	۱۰
	۷۹/۳ ± ۲/۵۱	۲۰
	۹۶/۳ ± ۳/۰	۳۰
نرمال سالین +توبین ۲۰٪	۰/۰ ± ۰/۰	۵
	۰/۰ ± ۰/۰	۱۰
	۱/۶ ± ۰/۵	۲۰
	۳/۳ ± ۱/۱۵	۳۰
نیترات نقره	۷۱/۶ ± ۲/۸۸	۵
	۱۰۰ ±۰ /۰	۱۰
	۱۰۰ ± ۰/۰	۲۰
	۱۰۰ ± ۰/۰	۳۰

بررسی اثر ضد پروتواسکولکسی در شرایط Ex vivo

همانطور که در جدول ۲ نشان داده شده است، پس از تزریق غلظت های مختلف عصاره گیاه بلوط بطور مستقیم به درون کیست های هیداتید، ۱۰۰% پروتواسکولکس ها پس از ۱۰ و ۲۵ دقیقه مواجهه به ترتیب با غلظت های ۱۰۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره بلوط از بین رفته بودند، که بیانگر این موضوع است که عصاره نیاز به زمان بیشتری برای نشان دادن اثرات ضد پروتواسکولکسی خود در شرایط ex vivo دارد ($p< 0.05$). به همین ترتیب عصاره بلوط در این شرایط و در غلظت ۲۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر نیاز به زمان بیشتر برای از بین بردن پروتواسکولکس ها در مقایسه با شرایط in vitro داشت. نتایج همچنین نشان داد که میزان کشندگی پروتواسکولکس ها در گروه کنترل منفی و مثبت به ترتیب

۵/۳ % در ۴۰ دقیقه و ۱۰۰% پس از ۱۰ دقیقه مواجهه بود.

جدول۲. اثرات ضد پروتواسکولکسی عصاره گیاه بلوط در شرایط ex vivo بر پروتواسکولکس های کیست هیداتید در غلظت ها و مدت زمان های مواجهه مختلف ؛ Data are expressed as the mean ± SD (n = 3).

غلظت (mg/ml)	میانگین میزان کشندگی (%)	مدت زمان مواجهه (دقیقه)
۱۰۰۰	۱۰۰ ± ۰/۰	۱۰
	۱۰۰ ± ۰/۰	۱۵
	۱۰۰ ± ۰/۰	۲۵
	۱۰۰ ± ۰/۰	۴۰
۵۰۰	۴۱/۳ ± ۲/۵۱	۱۰
	۶۸/۳ ± ۲/۵۱	۱۵
	۱۰۰ ± ۰/۰	۲۵
	۱۰۰ ± ۰/۰	۴۰
۲۵۰	۱۶/۳ ± ۲/۵۱	۱۰
	۲۳/۶±۳/۱۵	۱۵
	۴۰/۳ ± ۲/۵۱	۲۵
	۶۵/۳ ± ۳/۰	۴۰
نرمال سالین +تویین ۲۰٪	۰/۰ ± ۰/۰	۱۰
	۰/۰ ± ۰/۰	۱۵
	۱/۶ ± ۰/۵	۲۵
	۵/۳ ± ۱/۵۲	۴۰
نیترات نقره	۱۰۰ ±۰ /۰	۱۰
	۱۰۰ ±۰ /۰	۱۵
	۱۰۰ ± ۰/۰	۲۵
	۱۰۰ ± ۰/۰	۴۰

بحث و نتیجه‌گیری

از قرن ها پیش استفاده از محصولات جهت درمان طیف وسیعی از بیماری ها از جمله بیماری های عفونی مورد توجه جوامع بشری بوده است. از بین این محصولات گیاهان دارویی بدلیل کارایی و دسترسی بالا و همچنین سمیت پایین و هزینه پایین برای درمان بیماری به طور ویژه ای مورد توجه قرار گرفته است (۱۵).

بیماری هیداتیدوز از مهمترین بیماری های زئونوز در جهان و به خصوص ایران بوده که سالانه خسارتی بالغ بر ۲۰۰ میلیون دلار بر پیکره اقتصادی کشور ایران وارد می کند (۳). در حال حاضر جراحی به عنوان روش مناسب و موثری جهت درمان این بیماری محسوب می شود با این حال این روش خود نیز دارای خطرات و عوارض خطرناکی مانند پارگی و یا نشت کیست و متعاقبا شوک آنافیلاکسی و همچنین عود مجدد کیست در بدن بیمار گردد (۴). امروزه جراحان برای پیشگیری از بروز این عوارض در حین جراحی کیست هیداتید، از مواد پروتواسکولکس کش شیمیایی مختلفی مانند محلول نمک هیپرتونیک (۲۰%)، نیترات نقره ۲۰%، بتادین، الکل، و ... استفاده می کنند، این در حالی است که استفاده از این داروها برای بیمار بی خطر نبوده و می توانند باعث ایجاد عوارض جانبی خطرناکی همچون فیبروز مجاری صفراوی و نکروز کبد گردند (۲،۵-۷). به همین دلیل جستجو برای کشف یک عامل ضد پروتواسکولکسی جدید با کارایی و دسترسی بالا و در عین حال سمیت پایین در دستور کار محققین قرار گرفته است. در راستای همین اهداف، در این مطالعه برآن شدیم که برای اولین بار اثر ضد پروتواسکولکسی عصاره گیاه بلوط را بر روی پروتواسکولکس های کیست هیداتید در شرایط In vitro و Ex vivo مورد بررسی قرار دهیم.

نتایج in vitro مطالعه حاضر نشان داد که میزان کشندگی پروتواسکولکس ها پس از ۵ دقیقه مواجهه با غلظت 1000 mg/mL عصاره گیاه بلوط ۱۰۰ % بود. علاوه بر این پس از ۱۰ دقیقه مواجهه با غلظت 500 mg/mL نیز فعالیت اسکولیسیدال عصاره گیاه کبر ۱۰۰ % بود. این در حالی است که در نتایج ex vivo، ۱۰۰% پروتواسکولکس ها پس از ۱۰ و ۲۵ دقیقه مواجهه به ترتیب با غلظت های ۱۰۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره بلوط از بین رفته بودند، که بیانگر این موضوع است که عصاره نیاز به زمان بیشتری برای نشان دادن اثرات ضد پروتواسکولکسی خود در شرایط ex vivo دارد ($p< 0.05$).

بر اساس استانداردهای جهانی، از مهمترین ویژگی های یک پروتواسکولکس کش خوب می توان به کارایی بالا در دوز های پایین، تاثیر بیشتر در زمان های کوتاه،

پایداری بالا در حضور مایع کیست، دسترسی بالا و همچنین سمین پایین اشاره کرد (۱۶). در سال های اخیر مطالعات متعددی در ارتباط با اثرات ضد پروتواسکولکسی برخی گیاهان دارویی مانند گیاه آویشن، انار، مورد، سیاه دانه، سیر، زرشک و غیره صورت گرفته است که حاکی از اثرات بالقوه این محصولات طبیعی دارد (۱۷). مشابه با این نتایج، مطالعه حاضر نشان داد که گیاه بلوط هم می تواند به عنوان یک ماده پروتواسکولکس کش در نظر گرفته شود.

در مطالعات مختلفی اثرات ضد قارچی، ضد ویروسی و ضد باکتریایی محصولات مختلف گیاه بلوط به اثبات رسیده است (۱۱-۹). برای نمونه در مطالعه انجام شده توسط Basri و همکاران در سال ۲۰۱۲، اثرات ضد باکترایی عصاره های مختلف گیاه بلوط بر دو باکتری گرم مثبت (استرپتوکوکوس موتانس و استرپتوکوکوس سالیواریس) و دو باکتری گرم منفی (پورفیرومونـاس ژنژیوالیس و فوزوباکتریوم نوکلئاتوم) را نشان دادند که بیانگر اثرات موثر این گیاه در پیشگیری از عفونت های دهانی می باشد (۱۸). در ارتباط با اثرات ضد انگلی این گیاه، در مطالعه ای که اخیرا توسط خیراندیش و همکاران در سال ۲۰۱۶ انجام گرفت نتایج نشان داد که عصاره بلوط دارای اثرات قابل توجهی بر روی انگل لیشمانیا در شرایط in vitro و in vivo می باشد (۱۹).

براساس مطالعات گذشته، مهمترین ترکیبات گیاه بلوط، ترکیبات پلی فنولی (مانند تانن و گالیک اسید) و فلاوونوئیدها (مانند کوئرستین) گزارش شده اند (۲۰). در مطالعات مختلفی اثرات ضد میکروبی این ترکیبات به اثبات رسیده است از جمله در مطالعه Hay و همکاران در سال ۲۰۰۸ و همچنین مطالعه Mai و همکاران در سال ۲۰۱۵، اثرات ضد انگلی شامل اثر ضد لیشمانیایی، ضد تریپانوزومایی و ضد پلاسمودیومی این ترکیبات پلی فنولی و فلاوونوئیدها گزارش شده است (۲۱،۲۲). علاوه بر این در مطالعه Fonseca-Silva و همکاران در سال ۲۰۱۱ و همچنین Ribeiro و همکاران در سال ۲۰۱۵ اثرات ضد انگلی کوئرستین و گالیک اسید به اثبات رسیده است (۲۳،۲۴). در ارتباط با مکانیسم های احتمالی این ترکیبات، مطالعات متعدد نشان داده اند که ترکیبات فنلی با اثر بر غشاء سلولی و تخریب پپتیدوگلیکان های غشاء و همچنین ایجاد اختلال در سنتز برخی اسیدهای آمینه ضروری قادرند که اثرات ضد میکروبی خود را بروز نمایند (۲۵،۲۶). براساس آنچه که ذکر گردید، این موضوع استنباط می شود که اثرات ضد پروتواسکولکسی و متعاقباً ضد میکروبی گیاه بلوط احتمالا به دلیل حضور این ترکیبات در گیاه می باشد

نتایج مطالعه حاضر همانند دیگر مطالعات انجام شده حاکی از آن است که گیاهان دارویی به عنوان منبع با ارزش و مفیدی برای درمان طیف وسیعی از بیماری ها از جمله بیماری های عفونی محسوب می گردند. علاوه بر این، نتایج مطالعه حاضر بیانگر آن است که عصاره گیاه بلوط دارای اثرات ضد پروتواسکولکسی قابل توجهی در شرایط in vitro و ex vivo می باشد بنابراین می توان با انجام آزمایشات تکمیلی از آن به عنوان داروی جایگزین جدید در هنگام جراحی هیداتید استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله مراتب سپاس و قدردانی خود را از کلیه پرسنل زحمتکش مرکز تحقیقات گیاهان دارویی رازی و همینطور گروه انگل شناسی اعلام می داریم.

References

1. World Health Organizati%on (WHO) informal working group on echinococcosis. Bull WHO 1996; 74: 231–42.
2. Junghanss T, da Silva AM, Horton J, et al. Clinical management of cystic echinococcosis: state of the art, problems, and perspectives. Am J Trop Med Hyg 2008; 79(3): 301-311.
3. Brunetti E, Kern P, Vuitton DA. Writing Panel for the WHO-IWGE Expert consensus for the diagnosis and treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. Acta Trop 2010; 114(1): 1-16.
4. McManus DP, Zhang W, Li J. Echinococcosis. Lancet 2003 ; 362: 1295–304.
5. Sahin M, Eryilmaz R, Bulbuloglu E. The effect of scolicidal agents on liver and biliary tree (experimental study). J Invest Surg 2004; 17(6):323-6.
6. Mahmoudvand H, Kheirandish F, Dezaki ES, Shamsaddini S, Harandi MF. Chemical composition, efficacy and safety of Pistacia vera (var. Fandoghi) to inactivate protoscoleces during hydatid cyst surgery. Biomed Pharmacother. 2016;82:393-8.
7. Rajabi MA. Fatal reactions and methaemoglobinaemia after silver nitrate irrigation of hydatid cyst. Surg Pract 2009; 13: 2–7.
8. M.S. Dar, M. Ikram, T. Fakouhi, Pharmacology of quercus infectoria, J. Pharm. Sci. 65 (1976) 1791–1794.
9. G. Hussein, H. Miyashiro, N. Nakamura, M. Hattori, N. Kakiuchi, K. Shimotohno, Inhibitory effects of Sudanese medicinal plant extracts on hepatitis C virus protease, Phytother. Res. 14 (7) (2000) 510–516.
10. M. Iminjan, N. Amat, X.H. Li, H. Upur, D. Ahmat, B. He, Investigation into the Toxicity of traditional Uyghur medicine Quercus infectoria galls water extract, PLoS One 9 (3) (2014) e90756.
11. Z. Jamzad, P. Panahi, R.P. Mohammad, A.M. Fallha, Foliar epidermal morphology in Quercus (subgenus Quercus, section Quercus) in Iran, Acta Bot. Croatia 71 (2012) 95–113
12. Saedi Dezaki E, Mahmoudvand H, Sharififar F, Fallahi S, Monzote L, Ezatkhah F. Chemical composition along with anti-leishmanial and cytotoxic activity of Zataria multiflora, Pharm Biol 8 (2015) 1–7.
13. Moazeni M, Saharkhiz MJ, Hoseini AA, Alavi AM. In vitro scolicidal effect of Satureja khuzistanica (Jamzad) essential oil. Asian Pac J Trop Biomed. 2012; 2(8):616-20.
14. Monteiro DU, Azevedo MI, Weiblen C, DE Avila Botton S, Funk NL, DE Bona DA Silva C, Zanette RA, Schwanz TG, DE LA Rue ML. In vitro and ex vivo activity of Melaleuca alternifolia against protoscoleces of Echinococcus ortleppi. Parasitology. 2017;144(2):214-219.
15. Posadzki P, Watson L, Ernst E. Herb-drug interactions: an overview of systematic reviews. Br J Clin Pharmacol. 2013; 75(3):603-18.
16. World Health Organization (WHO) informal working group on echinococcosis. Bull WHO 1996; 74: 231–42.

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; 176:385-394.
18. D.F. Basri, L.S. Tan, Z. Shafiei, N.M. Zin, In vitro antibacterial activity of galls of Quercus infectoria Olivier against oral pathogens, Evid. Based Complement. Altern. Med. (2012) 632796.
19. Kheirandish F, Delfan B, Mahmoudvand H, Moradi N, Ezatpour B, Ebrahimzadeh F, Rashidipour M. Antileishmanial, antioxidant, and cytotoxic activities of Quercus infectoria Olivier extract. Biomed Pharmacother. 2016 Aug;82:208-15.
20. S.T. Hashim, I.S. Hamza, M.A. Hassan, Identification of quantative chemical compounds of ethanolic extracts of Quercus infectoria and studies its inhibitory effect in some bacteria, Indian J. Res. 2 (8) (2013) 125–128.
21. A.E. Hay, J. Merza, A. Landreau, M. Litaudon, F. Pagniez, P. Le Pape, et al., Antileishmanial polyphenols from Garcinia vieillardii, Fitoterapia 79 (1) (2008) 42–46.
22. L.H. Mai, G.G. Chabot, P. Grellier, L. Quentin, V. Dumontet, C. Poulain, et al., Antivascular and antiparasite activities of natural and hemisynthetic flavonoids from New Caledonian Gardenia species (Rubiaceae), Eur. J. Med. Chem. 93 (2015) 93–100.
23. F. Fonseca-Silva, J.D.F. Inacio, M.M. Canto-Cavalheiro, E.E. Almeida-Amaral, Reactive oxygen species production and mitochondrial dysfunction contribute to quercetin induced death in Leishmania amazonensis, PLoS One 6 (2) (2011) e14666.
24. T.G. Ribeiro, A.M. Nascimento, B.O. Henriques, M.A. Chávez-Fumagalli, J.R. Franca, M.C. Duarte, et al., Antileishmanial activity of standardized fractions of Stryphnodendron obovatum (Barbatimão) extract and constituent compounds, J. Ethnopharmacol. 165 (2015) 238–242.
25. G. Bisignano, A. Tomaino, R. Lo Cascio, G. Crisafi, N. Uccella, A. Saija, On the invitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol, J. Pharm. Pharmacol. 51 (1999) 971–974.
26. A. Saija, N. Uccella, Olive biophenols: functional effects on human well-being, Trends Food Sci. Technol. 11 (2001) 357–363.

In vitro and ex vivo effects of Quercus infectoria extract on hydatid cyst protoscolecs

Mahmoudvand H[1], Mirzaei M[2], Khatami M[3], Mahmoudvand H[4], Kheirandish F[1], Niazi M[2], Sepahvand M[1], Nadri S[*4]

1. Department of Medical Parasitology and Mycology, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran
2. Department of Surgical Technology, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran
3. Department of Medical Biotechnology, Bam University of Medical Sciences, Bam, Iran
4. Department of Surgery, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran, dr.s.nadri@gmail.com

Received: *21 Aug 2019* Accepted: *1 Sep 2019*

Abstract

***Background*:** This study aims to evaluate the scolicidal effects of oak (*Quercus infectoria*) extract on hydatid cyst protoscoleces *in vitro* and *ex vivo*.

Materials and Methods: Following the collection of protoscoleces from sheep livers infected with fertile hydatid cysts from a slaughterhouse in Khorramabad, they were treated with various concentrations of oak extract (250-1000 µg/mL) for 5-40 min *in vitro* and *ex vivo*. Finally the mortality of protoscoleces was assessed by the eosin exclusion test (0.1% eosin staining).

Results: The mean of the mortality of protoscoleces was 100% after 5 min incubation with the concentration of 1000 mg/ml of oak extract. On the other hand, the mean of the mortality of protoscoleces after 10 incubation with the concentration of 500 mg/ml of oak extract was 100%. However, these results were not observed in the ex vivo analysis. That is, oak extract requires a longer length of time to display potent protoscolicidal effects.

Conclusion: The results of this investigation revealed that oak extract could have a significant scolicidal activity on hydatid cyst protoscoleces. However, further research, particularly in human and animal subjects, is required to reach this conclusion.

Keywords: Hydatidosis, *Echinococcus granulosus*, extract, hydatid sand, hcolicidal.

Citation: Mahmoudvand H, Mirzaei M, Khatami M, Mahmoudvand H, Kheirandish F, Niazi M, Sepahvand M, Nadri S. In vitro and ex vivo effects of Quercus infectoria extract on hydatid cyst protoscolecs. Yafte. 2019; 21(3):144-152.