

بررسی اثر کشندگی کورکومین بر روی پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید در شرایط برون تنی

• سید مرتضی طباطبایی

گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
• الهه ابراهیمزاده (نویسنده مسئول)

گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
• حسن برجی

گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱-۰۳-۰۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱-۰۵-۰۲

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱-۰۴-۳۰ تاریخ انتشار: ۱۴۰۲-۰۴-۰۱

Email: ebrahimzade@um.ac.ir



چکیده

هیداتیدوزیس یکی از مهمترین بیماری‌های انگلی مشترک انسان و دام می‌باشد. داروهای مختلفی جهت درمان این بیماری مورد استفاده قرار می‌گیرد. با توجه به عوارض جانبی درمان‌های دارویی کنونی، تلاش‌ها جهت دست‌یابی به داروهای جایگزین موثر و کم‌عارضه‌تر ادامه دارد. در مطالعه حاضر اثر کورکومین به عنوان ماده موثره گیاه زردچوبه بر روی پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید در شرایط برون‌تنی انجام گرفت. به منظور انجام این تحقیق کبدهای گوسفندی آلوده به کیست هیداتید از کشتارگاه صنعتی شهر مشهد تهیه شد، پروتواسکولکس‌های درون کیست جمع‌آوری گردید و درصدزنده‌مانی (Viability) آنها توسط رنگ حیاتی اتوزین (% ۰/۱) بررسی شد. جهت انجام مطالعه غلظت‌های مختلف کورکومین (۴۰، ۸۰، ۱۶۰ و ۳۲۰ میکرومول) در کنار گروه کنترل مثبت (ساولون) و کنترل منفی (نرمال سالین) در مدت‌زمان‌های ۳۰، ۶۰، ۱۲۰، ۲۴۰ و ۴۸۰ دقیقه بر روی پروتواسکولکس‌هایی با درصد زنده‌مانی ۹۰٪ در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد اثر داده شدند. سپس رنگ‌آمیزی حیاتی انجام و توسط دوربین مجهز به نرم‌افزار Tcapture عکس‌برداری انجام گردید، در نهایت درصد زنده و مرده بودن پروتواسکولکس‌ها محاسبه گردید. تمام آزمایشات ۴ مرتبه تکرار گردید. اثر کشندگی غلظت‌های ۱۶۰ و ۳۲۰ میکرومول کورکومین در زمان یک ساعت پس از مواجهه در مقایسه با گروه کنترل منفی معنی‌دار بود. لذا کورکومین در شکل مورد استفاده فقط در دوزهای بالا اثر پروتواسکولکس‌کشی از خود نشان داد. هر چند ممکن است در تحقیقات آینده با انجام تغییراتی در شکل کورکومین یا همراه کردن آن با موادی که سبب افزایش قدرت نفوذ و جذب آن شود بتوان اثرات ضد پروتواسکولکس آن را افزایش داد.

کلیمات کلیدی: کورکومین، پروتواسکولکس، کیست هیداتید، اسکولس‌کشی، برون‌تنی

• Veterinary Researches & Biological Products No 139 pp: 32-38

Investigating the lethal effect of curcumin on hydatid cyst protoscolices in vitro

By: Tabatabaee, S.M., Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. Ebrahimzadeh, E., (Corresponding Author) Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. and Borji, H., Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

Received: 2022-05-22 Accepted: 2022-07-24

Revised: 2022-07-21 Published: 2023-07-22

Email: ebrahimzade@um.ac.ir

Hydatidosis is one of the most important parasitic diseases common to human beings and animals. Various drugs are used to cure this disease. Due to the side effects of the currently available drug treatments, efforts are being made to find effectual alternatives with fewer side effects. In this current research, curcumin, as an effective ingredient of turmeric, was examined on protoscolices of hydatid cysts in vitro. For this purpose, sheep livers infected with hydatid cysts were obtained from Mashhad industrial slaughterhouse, the cyst protoscolices were collected, and the viability of protoscolices was determined by 0.1% eosin staining. To study scolicidal effects of curcumin, different concentrations of curcumin (40, 80, 160, 320 micromol) along with positive control (Savlon) and negative control (normal saline) were applied on protoscolices with 90% viability, 30, 60, 120, 240, 480 minutes after 37 C heat exposure. Subsequently, vital staining was done, and pictures were captured with a camera equipped with Tcapture software, finally, the viability of the protoscolices was calculated. All the experiments were repeated four times. The scolicidal effects of curcumin concentrations of 160 and 320 μmol one hour after exposure were significant in comparison with the negative control group. Therefore, curcumin in the used form showed protoscolicidal effects only in high doses. However, it may be possible to increase the anti-protoscolices effects of curcumin in future studies by modifications or combination with substances that increase its penetration and absorption.

Key words: Curcumin, Protoscolix, Hydatid cyst, Scolicidal effects, In vitro

استفاده نمی‌باشد.

درمان دارویی نیز در سال‌های اخیر به علت مسأله مقاومت دارویی و عوارض جانبی مورد بحث محققان قرار گرفته است. اخیراً محققان تمایل بسیاری به استفاده از گیاهان مختلف به منظور بهره‌مندی از اثرات درمانی آنها دارند. زردچوبه با ماده موثره کورکومین یکی از گیاهان دارویی است که تحقیقات فراوانی به منظور مشخص نمودن اثرات درمانی مختلف بر روی آن صورت گرفته است. اثرات مختلف ضدسرطان و ضدالتهابی کورکومین توسط محققان مختلف به اثبات رسیده است (۱۸). جهت اثبات اثرات ضدانگلی کورکومین هم تحقیقات متنوعی صورت گرفته است که اثر ضدانگلی آن را تأیید می‌کند (۱، ۳، ۱۷). با توجه به اهمیت بیماری هیداتیدوزیس و با توجه به چالش‌های موجود در زمینه درمان دارویی کیست هیداتید و همچنین با توجه به اثرات ضدانگلی کورکومین در این تحقیق بر آن شدیم که اثرات ضدانگلی کورکومین را بر روی پروتواسکولکس کیست هیداتید در شرایط برون تنی بررسی کنیم.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری پروتواسکولکس‌ها

تعداد شش عدد کبد گوسفندی آلوده به کیست هیداتید از کشتارگاه

مقدمه

هیداتیدوزیس بیماری زئونوزی است که توسط مرحله لاروی (متاستود) سستودی از خانواده تنیده تحت عنوان *Echinococcus granulosus* ایجاد می‌شود. در این خانواده علاوه بر گونه *Echinococcus granulosus*، چهار گونه دیگر به نام‌های *Echinococcus multilocularis*، *Echinococcus oligarthrus* و *Echinococcus vogeli* شناسایی شده است (۲).

این بیماری به صورت اندمیک در بسیاری از کشورهای جهان وجود دارد و از نظر اقتصادی و سلامت و بهداشت جامعه دارای اهمیت زیادی است. این انگل در چرخه تکاملی خود نیاز به دو میزبان دارد که میزبان نهایی آن خانواده سگ‌سانان و میزبان واسط آن طیف وسیعی از پستانداران از جمله انسان و نشخوارکنندگان می‌باشد. انگل در فرم بالغ خود در میزبان نهایی (سگ‌سانان) و در فرم لاروی در میزبان واسط (پستانداران) وجود دارد. درمان اصلی این بیماری در انسان شامل روش‌های جراحی و استفاده از درمان دارویی است. در نشخوارکنندگان هر چند درمان دارویی وجود دارد اما صرفه اقتصادی ندارد. روش جراحی به نوعی روشی تهاجمی محسوب می‌شود و در تمامی افراد مبتلا به کیست قابل

مایع هم از روی پروتواسکولکسها تخلیه و به آن رنگ حیاتی ائوزین ۱٪ افزوده گردید. پس از طی زمان ۱۵ دقیقه ۱۰ میکرولیتر از رسوب پروتواسکولکسها برداشته و روی لام قرار داده و روی آن لامل قرار داده شد و با کمک استریومیکروسکوپ با بزرگنمایی ۳ برابر مشاهده و توسط دوربین مجهز به نرم‌افزار Tcapture عکس‌برداری صورت گرفت. در نهایت به منظور شمارش تعداد کلی پروتواسکولکسها از نرم‌افزار Image استفاده شد. شمارش پروتواسکولکسهای مرده (قرمز رنگ) و زنده به تفکیک صورت گرفت و به تعداد کل پروتواسکولکسها تقسیم شد تا درصد پروتواسکولکسهای مرده (Mortality) و زنده (Viability) به دست آید.

تست آماری توسط نرم‌افزار Sigmastat انجام پذیرفت. در صورتی که داده‌ها نرمال بود بین گروه‌ها و در هر گروه در طی زمان از آزمون آماری One-way ANOVA استفاده شد. در صورت معنی‌دار بودن داده‌ها در این آزمون از تست تکمیلی دانکن استفاده شد.

نتایج

غلظت‌های ۴۰، ۸۰، ۱۶۰ و ۳۲۰ میکرومول از محلول کورکومین بر روی تعداد مشخص پروتواسکولکس به مدت ۳۰ دقیقه، ۶۰ دقیقه، ۱۲۰ دقیقه، ۲۴۰ دقیقه و ۴۸۰ دقیقه در کنار کنترل منفی و مثبت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. هر یک از آزمون‌ها حداقل ۴ بار تکرار گردید. نتایج به شرح زیر مشاهده گردید:

اثر کلیه غلظت‌های کورکومین بر روی پروتواسکولکس‌های کیست در مقایسه با گروه کنترل منفی پس از ۳۰، ۱۲۰، ۲۴۰ و ۴۸۰ دقیقه فاقد تفاوت معنی‌دار بود (شکل ۱).

اثر غلظت‌های ۱۶۰ و ۳۲۰ میکرومول کورکومین بر روی پروتواسکولکس‌های کیست در مقایسه با گروه کنترل منفی پس از ۶۰ دقیقه دارای تفاوت معنی‌دار بود ($P < 0.05$). این آزمایش نشان داد غلظت ۱۶۰ و ۳۲۰ میکرومول کورکومین توانسته است پس از یک ساعت مجاورت با پروتواسکولکس‌ها درصد زنده‌مانی آنها را کاهش دهد. (شکل ۱).

همچنین تغییرات درصد زنده‌مانی (viability) پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید در طول زمان آزمایش در هر گروه دارای اختلاف معنی‌دار با یکدیگر نبودند (شکل ۲).

بحث

هیداتیدوزیس بیماری زئونوزی است که توسط *Echinococcus granulosus* ایجاد می‌شود. این بیماری یکی از بیماری‌های بومی کشور می‌باشد که سگ به‌عنوان میزبان نهایی و پستانداران مختلف از جمله انسان به عنوان میزبانان واسط آن هستند. درمان رایج این بیماری در انسان جراحی و داروی مؤثر بر روی کیست هیداتید، آلبندازول می‌باشد که امروزه مشکلات زیادی از جمله جذب ضعیف دارو از دستگاه گوارش، مقاومت دارویی، سمیت کبدی و عود کیست پس از استفاده از دارو درباره آن مطرح می‌باشد، لذا همچنان تحقیقات به‌منظور دستیابی به دارویی جایگزین به‌طور گسترده در حال انجام هست. گیاهان تاریخچه طولانی در درمان انواع مختلف بیماری‌ها دارند و اخیراً، استفاده از آنها

صنعتی جمع‌آوری و در مجاورت یخ با رعایت زنجیره سرما به آزمایشگاه انگل‌شناسی دانشکده دامپزشکی منتقل شد. در آزمایشگاه بعد از ضدعفونی سطح کیست‌ها با الکل ۷۰٪ و سپس شستشو بوسیله سرم فیزیولوژی به منظور حذف آلودگی سطحی به باکتری‌ها، محتویات کیست که شامل مایع کیست هیداتید و پروتواسکولکس‌های درون آن بود توسط سرنگ ۵۰ میلی‌لیتری جمع‌آوری گردید و به بشر انتقال یافت. بشر به مدت ۳۰ دقیقه بدون حرکت قرار گرفت تا پروتواسکولکس‌ها ته‌نشین گردند. مایع سطحی تخلیه شده و پروتواسکولکس‌ها توسط سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد شستشو داده شد. شستشو ۳ بار تکرار گردید و در هر مرحله شستشو زمان کافی جهت ته‌نشین شدن پروتواسکولکس‌ها داده شد. در نهایت پس از تخلیه مایع رویی کلیه پروتواسکولکس‌ها به فالتون استریل ۵۰ سی‌سی منتقل و روی آن سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد استریل ریخته شد و تا زمان مصرف در یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

بررسی اثر کورکومین بر روی پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید

کورکومین به صورت پودر با خلوص بیش از ۹۵٪ از شرکت هندی Indsaft (Punjab, India) خریداری شد. از کورکومین با وزن مولکولی ۳۶۸/۳۸ گرم بر مول محلول ذخیره با غلظت ۵۰۰۰ میکرومول تهیه شد. به منظور تهیه محلول ذخیره با غلظت ۵۰۰۰ میکرومول، میزان ۱/۸۴۱۹ میلی‌گرم (۱/۸۴۲ میلی‌گرم) پودر کورکومین در یک میلی‌لیتر DMSO حل گردید. به منظور تهیه غلظت‌های مختلف ابتدا از محلول ذخیره غلظت ۴۰ میکرومول (یک میکرولیتر از محلول ذخیره در ۱۲۴ میکرولیتر PBS) تهیه گردید. سپس از غلظت ۴۰ میکرومول غلظت‌های ۸۰، ۱۶۰، ۳۲۰ و ۶۴۰ میکرومول تهیه گردید. غلظت‌های ۴۰، ۸۰، ۱۶۰، ۳۲۰ و ۶۴۰ میکرومول کورکومین در زمان‌های ۳۰، ۶۰، ۱۲۰، ۲۴۰ و ۴۸۰ دقیقه بر روی پروتواسکولکس‌ها اثر داده شد. گروه‌های آزمایش به شرح زیر بود:

- ۱- غلظت ۴۰ میکرومول در ۵ زمان ۳۰، ۶۰، ۱۲۰، ۲۴۰، ۴۸۰ دقیقه
- ۲- غلظت ۸۰ میکرومول در ۵ زمان ۳۰، ۶۰، ۱۲۰، ۲۴۰، ۴۸۰ دقیقه
- ۳- غلظت ۱۶۰ میکرومول در ۵ زمان ۳۰، ۶۰، ۱۲۰، ۲۴۰، ۴۸۰ دقیقه
- ۴- غلظت ۳۲۰ میکرومول در ۵ زمان ۳۰، ۶۰، ۱۲۰، ۲۴۰، ۴۸۰ دقیقه
- ۵- گروه کنترل مثبت (ساوولن)
- ۶- گروه کنترل منفی (سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد کلرید سدیم)

کلیه گروه‌ها در چهار تکرار انجام شد. در ابتدای آزمایش درصد پروتواسکولکس‌های زنده با رنگ حیاتی ائوزین بررسی شد. در صورتی که پروتواسکولکس‌ها درصد زنده‌مانی بالای ۹۰ درصد داشتند از آنها برای آزمایش استفاده می‌شد.

به منظور انجام آزمایش ابتدا مایع روی پروتواسکولکس‌های دور ریخته شد، سپس ۱۰ میکرولیتر از رسوب پروتواسکولکس‌ها برداشت شد و به درون میکروتیوبی با حجم ۱/۵ سی‌سی منتقل شد. ۱۵۰ میکرولیتر از کورکومین در غلظت‌های مختلف روی پروتواسکولکس‌های درون میکروتیوب‌ها ریخته و در انکوباتور ۳۷ درجه به مدت ۳۰، ۶۰، ۱۲۰، ۲۴۰ و ۴۸۰ دقیقه قرار داده شد. پس از اتمام مدت زمان مورد نظر، میکروتیوب‌ها از انکوباتور خارج و مایع رویی آنها تخلیه و روی آنها سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد ریخته شد. در مرحله بعدی این

کورکومین و یک جزء تازه شناخته شده به نام سیکلو کورکومین از جمله این ترکیبات می‌باشند (۱۸).

کورکومین فعالیت‌های بیولوژیک زیادی مانند فعالیت آنتی‌اکسیدان، ضد التهاب، ضد درد، ضد سرطان، کاهنده قند خون و ضد تک‌یاخته دارد (۱۷، ۱۸).

در سال‌های اخیر توجه زیادی به اثرات ضدانگلی زردچوبه شده است و تحقیقات بسیاری بخصوص بر روی اثرات ضد تک‌یاخته‌ای آن انجام شده است.

صالحین و همکاران (۲۰۰۲) اثر ضد انگلی کورکومین را بر روی شکل پروماستیگوت *Leishmania tropica*، *Leishmania major* و *Leishmania infantum* و کویی و همکاران (۲۰۰۷) اثر ضد انگلی این ترکیب را بر روی انگل *Plasmodium falciparum* نشان دادند (۳، ۱۷).

حسینی و همکاران (۲۰۱۲) اثر کشندگی عصاره زردچوبه را با عصاره شیرین بیان بر روی پروماستیگوت *Leishmania* مقایسه کردند. در این مطالعه غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر از عصاره زردچوبه با غلظت ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر از شیرین بیان بر روی پروماستیگوت در مدت زمان ۸۸ ساعت اثر داده شد و در نهایت مشخص شد که عصاره زردچوبه سریع‌تر اثر می‌کند (۶).

آل سعید و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند دو غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و ۱ گرم در لیتر عصاره الکلی کورکومین در دو زمان ۴۸ و ۷۲ ساعت دارای اثر مهاری بر روی رشد *Acanthamoeba castellanii* می‌باشد (۴).

کیان دبلیو و همکاران (۲۰۱۵) به بررسی اثر کورکومین روی انگل *Neospora* پرداختند. تحقیقات ایشان نشان داد که کورکومین با جلوگیری

بسیار مورد توجه قرار گرفته است.

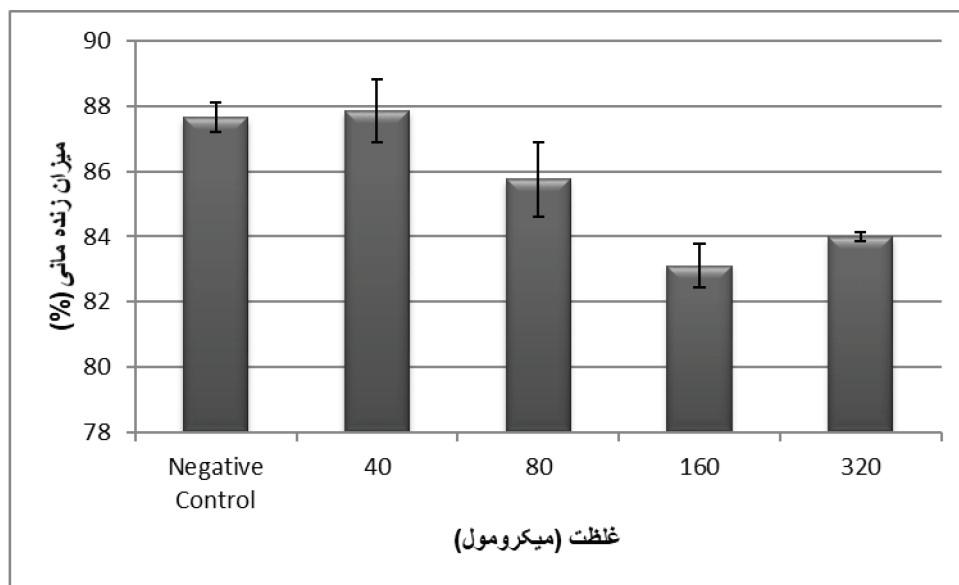
با توجه به اهمیت بیماری هیداتیدوزیس، تاکنون اثر ترکیبات گیاهی مختلفی به منظور دستیابی به داروها و یا مواد پروتواسکولکس کش موثر و کم عارضه‌تر بر روی پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید بررسی شده است. از جمله این ترکیبات می‌توان به عصاره الکلی و کلروفورمی سیر اشاره کرد که دارای اثرات کشندگی قابل توجهی بر روی پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید در شرایط برون‌تنی بوده است. آویشن شیرازی گیاه دارویی دیگری است که توسط محققین مختلف مورد بررسی قرار گرفت. این گیاه نه تنها در پیشگیری از تشکیل و توسعه کیست هیداتید موثر بوده است بلکه در درمان موش آلوده نیز موفقیت‌آمیز عمل کرده است (۱۱، ۱۲).

سایر گیاهان دارویی دارای اثر کشندگی پروتواسکولکس که توسط محققین مختلف بررسی شده است، شامل گیاه نعنا (۷)، سیاه دانه (۹)، زرشک (۱۱، ۱۶)، سیر (۱۱) و آویشن (۱۰) می‌باشد.

یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی که دارای پیشینه تاریخی طولانی در طب سنتی است گیاه زردچوبه است. این گیاه به دلیل حضور ترکیبات فعال زیستی نظیر کورکومینوئیدها همواره مورد توجه طب سنتی در سراسر جهان برای کاربردهای درمانی بوده است (۸).

خواص دارویی زردچوبه در اصل با جزء اصلی و فعال آن یعنی کورکومین مرتبط است که ترکیب زرد یا نارنجی رنگ زردچوبه را تشکیل می‌دهد (۸).

علاوه بر کورکومین، زردچوبه حاوی ترکیبات دیگری نیز هست که کورکومینوئید نامیده می‌شوند. دمتوکسی کورکومین، بیس دمتوکسی



شکل ۱- تأثیر غلظت‌های ۴۰، ۸۰، ۱۶۰ و ۳۲۰ میکرومولار کورکومین بر روی پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید پس از یک ساعت مجاورت با استفاده از روش رنگ‌آمیزی حیاتی.

از رشد و تکثیر انگل در کشت سلول‌های فیروپلاست می‌تواند اثرات ضد نتوسپورایی داشته باشد. IC₅₀ برای این اثر ۰/۴ تا ۱/۱ میکرومول بر لیتر بوده است (۱۵).

گوترز و همکاران (۲۰۱۷) تحقیقی بر روی اثر کورکومین بر انگل *Giardia lamblia* انجام دادند. در این آزمایش دو غلظت ۳ و ۱۵ میکرو مول در لیتر از کورکومین تهیه شد و بر روی انگل ژیا ردیا اثر داده شد. در کاربرد کورکومین به تنهایی، تکثیر ژیا ردیا متوقف شد و عمده اثر کورکومین در این انگل بر روی مولکول توبولین و تخریب ساختار تاژک انگل بوده است. در آزمایشی دیگر کورکومین به همراه نانوذرات کیتوزان به کار برده شد که باعث پاک شدن روده موش از انگل شد (۵).

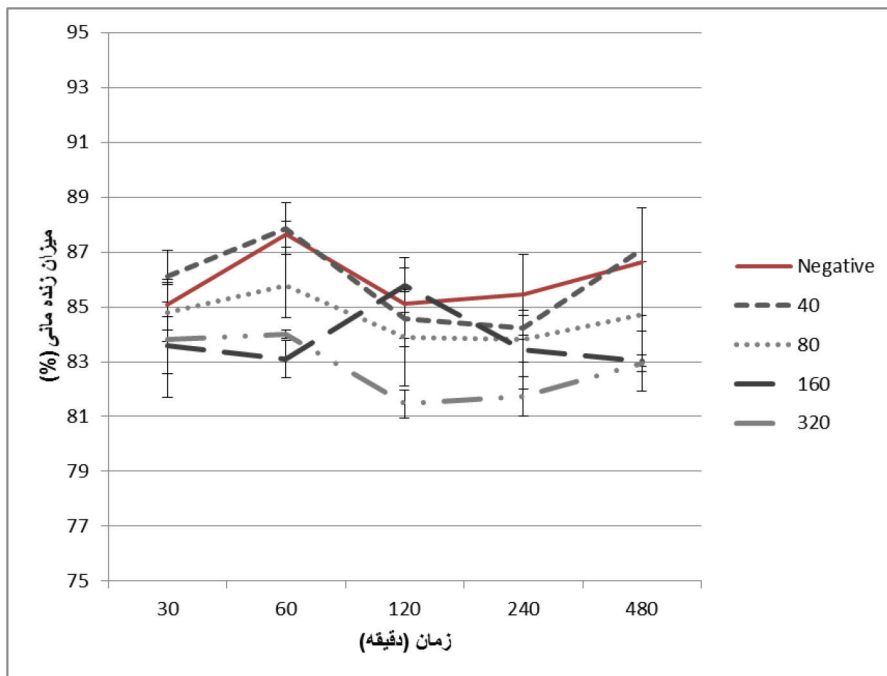
در تحقیق تیواری و همکاران (۲۰۱۷) داروی میلنفوسین که داروی ضد لیشمانیا می‌باشد با نانو ذرات حاوی کورکومین مخلوط گردید، سپس اثر این ترکیب در شرایط برون‌تنی بر روی لیشمانیا بررسی شد. این دو ترکیب با یکدیگر اثر هم‌افزایی داشته و باعث افزایش بیگانه‌خواری شدند که نتیجه آن توقف رشد انگل تا ۸۵ درصد بود (۱۹). همان‌طور که بیان شد اکثر تحقیقات انجام شده در باره اثرات کورکومین بر روی تک‌یاخته‌ها انجام شده است که در تمام این تحقیقات اثرات ضد انگلی مطلوب و قابل قبولی از کورکومین به دست آمده است. در دو تحقیق از کورکومین بر روی انگل‌های کرمی استفاده شده است. موریاس و همکاران (۲۰۱۳) به بررسی اثر کورکومین بر روی انگل

در تحقیق تیواری و همکاران (۲۰۱۷) داروی میلنفوسین که داروی ضد لیشمانیا می‌باشد با نانو ذرات حاوی کورکومین مخلوط گردید، سپس اثر این ترکیب در شرایط برون‌تنی بر روی لیشمانیا بررسی شد. این دو ترکیب با یکدیگر اثر هم‌افزایی داشته و باعث افزایش بیگانه‌خواری شدند که نتیجه آن توقف رشد انگل تا ۸۵ درصد بود (۱۹). همان‌طور که بیان شد اکثر تحقیقات انجام شده در باره اثرات کورکومین بر روی تک‌یاخته‌ها انجام شده است که در تمام این تحقیقات اثرات ضد انگلی مطلوب و قابل قبولی از کورکومین به دست آمده است. در دو تحقیق از کورکومین بر روی انگل‌های کرمی استفاده شده است. موریاس و همکاران (۲۰۱۳) به بررسی اثر کورکومین بر روی انگل

از رشد و تکثیر انگل در کشت سلول‌های فیروپلاست می‌تواند اثرات ضد نتوسپورایی داشته باشد. IC₅₀ برای این اثر ۰/۴ تا ۱/۱ میکرومول بر لیتر بوده است (۱۵). گوترز و همکاران (۲۰۱۷) تحقیقی بر روی اثر کورکومین بر انگل *Giardia lamblia* انجام دادند. در این آزمایش دو غلظت ۳ و ۱۵ میکرو مول در لیتر از کورکومین تهیه شد و بر روی انگل ژیا ردیا اثر داده شد. در کاربرد کورکومین به تنهایی، تکثیر ژیا ردیا متوقف شد و عمده اثر کورکومین در این انگل بر روی مولکول توبولین و تخریب ساختار تاژک انگل بوده است. در آزمایشی دیگر کورکومین به همراه نانوذرات کیتوزان به کار برده شد که باعث پاک شدن روده موش از انگل شد (۵).

در تحقیق تیواری و همکاران (۲۰۱۷) داروی میلنفوسین که داروی ضد لیشمانیا می‌باشد با نانو ذرات حاوی کورکومین مخلوط گردید، سپس اثر این ترکیب در شرایط برون‌تنی بر روی لیشمانیا بررسی شد. این دو ترکیب با یکدیگر اثر هم‌افزایی داشته و باعث افزایش بیگانه‌خواری شدند که نتیجه آن توقف رشد انگل تا ۸۵ درصد بود (۱۹). همان‌طور که بیان شد اکثر تحقیقات انجام شده در باره اثرات کورکومین بر روی تک‌یاخته‌ها انجام شده است که در تمام این تحقیقات اثرات ضد انگلی مطلوب و قابل قبولی از کورکومین به دست آمده است. در دو تحقیق از کورکومین بر روی انگل‌های کرمی استفاده شده است. موریاس و همکاران (۲۰۱۳) به بررسی اثر کورکومین بر روی انگل

مبتلا به سرطان گردد. تنها مطالعه یافت شده در رابطه با اثر کورکومین بر روی کیست هیداتید مربوط به المالکی و همکاران (۲۰۱۷) است. در این مطالعه میزان ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بعد از ۳۰ دقیقه ۹۳/۲٪ پروتواسکولکس‌ها را نابود کرد (۵). با توجه به اینکه در تحقیق انجام شده پودر زردچوبه از بازارهای محلی تهیه شده است و با توجه به اینکه جهت بررسی



شکل ۲- تأثیر غلظت‌های ۴۰، ۸۰، ۱۶۰ و ۳۲۰ میکرومولار کورکومین بر روی پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید در زمان‌های ۳۰، ۶۰، ۱۲۰، ۲۴۰ و ۴۸۰ دقیقه پس از مجاورت با استفاده از روش رنگ‌آمیزی حیاتی.

- and A. A. S. Abdel-Baki. 2017. In vitro effectiveness of *Curcuma longa* and *Zingiber officinale* extracts on *Echinococcus* protoscolices. *Saudi Journal of Biological Sciences* 24: 90-94.
- 2- Carmena, D. and G. A. Cardona. 2013. Canine echinococcosis: Global epidemiology and genotypic diversity. *Acta Tropica* 128: 441-460.
- 3- Cui, L., J. Miao and L. Cui. 2007. Cytotoxic effect of curcumin on malaria parasite *Plasmodium falciparum*: Inhibition of histone acetylation and generation of reactive oxygen species. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 51: 488-494.
- 4- El-Sayed, N. M., K. A. Ismail, S. A. E. G. Ahmed and M. H. Hetta. 2012. In vitro amoebicidal activity of ethanol extracts of *Arachis hypogaea* L., *Curcuma longa* L. and *Pancreatium maritimum* L. on *Acanthamoeba castellanii* cysts. *Parasitology Research* 110: 1985-1992.
- 5- Gutiérrez-Gutiérrez, F., L. Palomo-Ligas, J. M. Hernández-Hernández, A. Pérez-Rangel, R. Aguayo-Ortiz, A. Hernández-Campos, R. Castillo, S. González-Pozos, R. Cortés-Zárate, M. A. Ramírez-Herrera, M. L. Mendoza-Magaña and A. Castillo-Romero. 2017. Curcumin alters the cytoskeleton and microtubule organization on trophozoites of *Giardia lamblia*. *Acta Tropica* 172: 113-121.
- 6- Hosseini, A., F. Jaffary, G. R. Asghari, S. H. Hejazi and L. S. Bidabadi. 2012. In vitro effects of turmeric and licorice total extracts on L. Major promastigotes. *Journal of Isfahan Medical School* 29.
- 7- Maggiore, M. A., A. A. Albanese, L. B. Gende, M. J. Eguaras, G. M. Denegri and M. C. Elissondo. 2012. Anthelmintic effect of *Mentha* spp. essential oils on *Echinococcus granulosus* protoscolices and metacestodes. *Parasitology Research* 110: 1103-1112.
- 8- Maheshwari, R. K., A. K. Singh, J. Gaddipati and R. C. Srimal. 2006. Multiple biological activities of curcumin: A short review. *Life Sciences* 78: 2081-2087.
- 9- Mahmoudvand, H., E. S. Dezaki, F. Kheirandish, B. Ezatpour, S. Jahanbakhsh and M. F. Harandi. 2014. Scolicidal effects of black cumin seed (*nigella sativa*) essential oil on hydatid cysts. *Korean Journal of Parasitology* 52: 653-659.
- 10- Moazeni, M., S. Larki, M. J. Saharkhiz, A. Oryan, M. A. Lari and A. M. Alavi. 2014. In vivo study of the efficacy of the aromatic water of *Zataria multiflora* on hydatid cysts. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 58: 6003-6008.
- 11- Moazeni, M. and A. Nazer. 2010. In vitro effectiveness of garlic (*allium sativum*) extract on scolices of hydatid cyst. *World Journal of Surgery* 34: 2677-2681.
- 12- Moazeni, M. and A. Roozitalab. 2012. High scolicidal effect of *Zataria multiflora* on protozoocoles of hydatid cyst: An in vitro

اثرات هر گیاه باید ماده موثر خالص آن گیاه تهیه گردد و از سوی دیگر کورکومین تنها ۳ تا ۵ درصد گیاه زردچوبه را تشکیل می‌دهد، نتایج این مطالعه قانع کننده نیست.

در تحقیق حاضر اثر پروتواسکولکس کشی کورکومین در مقایسه با گروه کنترل منفی در ۳۰ دقیقه پس از مواجهه فاقد تفاوت معنی‌دار بود و نتایج تحقیق حاضر با نتایج تنها تحقیق موجود در این زمینه (المالکی و همکاران، ۲۰۱۷) هم‌خوانی ندارد. اثر پروتواسکولکس کشی کورکومین در غلظت ۱۶۰ و ۳۲۰ میکرومول در ۶۰ دقیقه پس از مواجهه دارای تفاوت معنی‌داری بود، هرچند در زمان‌های ۱۲۰، ۲۴۰ و ۴۸۰ دقیقه پس از مجاورت اثرات پروتواسکولکس کشی مشاهده نشد. این اتفاق می‌تواند در اثر پایداری پایین کورکومین در ساعت‌های بعدی بخصوص در pH بالا باشد. هر چند کورکومین دارای خواص ضدالتهاب، آنتی‌اکسیدان و ضد میکروبی می‌باشد اما به دلیل پایداری کم و جذب پایین از دستگاه گوارش محدودیت‌هایی در استفاده از آن وجود دارد. البته دستکاری ساختمان کورکومین و استفاده از شکل‌های ترکیبی و یا نانو می‌تواند تا حدی این محدودیت‌ها را برطرف کند (۲).

هر چند با توجه به اثرات مطلوب ضدانگلی کورکومین بر ضد انگل‌های تک‌یاخته و پریاخته در سایر تحقیقات به نظر می‌رسد با ایجاد تغییراتی در ساختار کورکومین (استفاده از نانوکورکومین)، همراه کردن سایر مواد جهت جذب بهتر کورکومین یا حتی به کار گرفتن روش‌های بررسی دقیق‌تر مانند استفاده از میکروسکوپ الکترونی بتوان درباره موثر بودن یا نبودن این ترکیب بر جدار پروتواسکولکس‌ها مطمئن‌تر نظر داد.

لذا لازم است بررسی‌های بیشتری با استفاده از میکروسکوپ الکترونی صورت گیرد تا اثرات کورکومین در مقیاس فراساختار بر روی غشاء پروتواسکولکس مشخص شود. چنانچه کورکومین بر روی غشاء موثر باشد می‌توان از اثرات سینرژیسم آن با سایر داروها و یا پروتواسکولکس کش‌ها بهره برد.

نتیجه‌گیری کلی

اثر کشندگی غلظت‌های ۱۶۰ و ۳۲۰ میکرومول کورکومین یک ساعت پس از مواجهه در مقایسه با گروه کنترل منفی معنی‌دار بود. لذا کورکومین در شکل مورد استفاده فقط در دوزهای بالا اثر کشندگی بر روی پروتواسکولکس از خود نشان داد. هر چند ممکن است در تحقیقات آینده با انجام تغییراتی در شکل کورکومین یا همراه کردن آن با موادی که سبب افزایش قدرت نفوذ و جذب آن شود بتوان اثرات ضد پروتواسکولکس آن را افزایش داد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل نتایج پایان نامه دکترای عمومی دامپزشکی می‌باشد و نویسندگان بر خود لازم می‌دانند تا از حمایت مالی و پژوهشی معاونت محترم پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد تشکر و قدردانی نمایند.

منابع مورد استفاده

- 1- Almalki, E., E. M. Al-Shaebi, S. Al-Quarishy, M. El-Matbouli

- study. *Comparative Clinical Pathology* 21: 99-104.
- 13- Morais, E. R., K. C. Oliveira, L. G. Magalhães, É. B. C. Moreira, S. Verjovski-Almeida and V. Rodrigues. 2013. Effects of curcumin on the parasite *Schistosoma mansoni*: A transcriptomic approach. *Molecular and Biochemical Parasitology* 187: 91-97.
- 14- Oyeyemi, O., O. Adegbeyeni, I. Oyeyemi, J. Meena and A. Panda. 2018. In vitro ovicidal activity of poly lactic acid curcumin-nisin co-entrapped nanoparticle against *Fasciola* spp. eggs and its reproductive toxicity. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology* 29: 73-79.
- 15- Qian, W., H. Wang, D. Shan, B. Li, J. Liu and Q. Liu. 2015. Activity of several kinds of drugs against *Neospora caninum*. *Parasitology International* 64: 597-602.
- 16- Rouhani, S., N. Salehi, M. Kamalinejad and F. Zayeri. 2013. Efficacy of *Berberis vulgaris* aqueous extract on viability of *Echinococcus granulosus* protoscolices. *Journal of Investigative Surgery* 26: 347-351.
- 17- Saleheen, D., S. A. Ali, K. Ashfaq, A. A. Siddiqui, A. Agha and M. M. Yasinzi. 2002. Latent activity of curcumin against leishmaniasis in vitro. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 25: 386-389.
- 18- Sharma, R. A., A. J. Gescher and W. P. Steward. 2005. Curcumin: The story so far. *European Journal of Cancer* 41: 1955-1968.
- 19- Tiwari, B., R. Pahuja, P. Kumar, S. K. Rath, K. C. Gupta and N. Goyal. 2017. Nanotized curcumin and miltefosine, a potential combination for treatment of experimental visceral leishmaniasis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 61.

