

Research Paper

Evaluating Potential of Electromagnetic Microwaves on Destruction Acanthamoeba Cysts



Zahra Eslamirad¹, Reza Hajhossein¹, *Homa Soleimani²

1. Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.

2. Department of Medical Physics and Physiology, School of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.



Citation: Eslamirad Z, Hajhossein R, Soleimani H. [Evaluating Potential of Electromagnetic Microwaves on Destruction Acanthamoeba Cysts (Persian)]. Complementary Medicine Journal. 2020; 9(4):3868-3877. <https://doi.org/10.32598/cmja.9.4.583.3>

<https://doi.org/10.32598/cmja.9.4.583.3>



Article Info:

Received: 08 Nov 2019

Accepted: 18 Dec 2019

Available Online: 01 Jan 2020

Key words:

Acanthamoeba,
Free-living Amoeba,
Microwave, Electro-
magnetic waves

ABSTRACT

Objective Acanthamoeba is a free-living and opportunistic amoeba that the potential of this parasite to convert to a cyst, making its treatment difficult. In this study, we investigated the effect of microwave radiation on Acanthamoeba cysts in vitro.

Methods Acanthamoeba cysts were reproduced in the culture medium. We divided 16 test tubes containing cysts into two groups. The contents of 8 tubes were irradiated with continuous microwave in the time range of 0-120 s, and the next 8 tubes were irradiated with repetitive microwave in the range of 0-360 s. The mortality of cysts at the end of irradiation was recorded and compared with control.

Results Continuous and repetitive irradiation of microwave resulted in mortality of 100 (%) of Acanthamoeba cysts during 120 and 360 seconds, respectively. In continuous mode, parasite mortality in all groups was significantly different from the control group ($P < 0.0001$). But in the repetition pattern only in groups that had been irradiated for more than 60 seconds, parasite mortality was significantly different from the control group ($P < 0.0001$).

Conclusion The change of radiation mode from continuous to repetitive, reduces the thermal effects of the microwaves but does not affect the mortality rate of Acanthamoeba cysts. Therefore, probably the impact of microwaves was not only caused by the increase in ambient heat but also its another property is involved in the death of Acanthamoeba.

Extended Abstract

1. Introduction

Acanthamoeba is a free-living amoeba that plenty of them live around us [1]. The high prevalence of this parasite increases the risk of exposure to humans. Because the parasite is opportunistic, under appropriate conditions, human health at risk and caused acanthamoe-

biasis disease. The neurological disorders caused by this parasite often lead to death and the treatment of visual disorders has not been effective so far [2] because the parasite in vitro and in vivo environments become highly resistant cysts and hard to be treated and controlled [3].

Although a wide range of chemical drugs can be used to treat the disease, they may have side effects [5, 6]. Therefore, the searches for an alternative natural and traditional medicine rather than chemical drugs continue [2].

* Corresponding Author:

Homa Soleimani, PhD.

Address: Department of Medical Physics and Physiology, School of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.

Tel: +98 (86) 34173521

E-mail: dr.hsoleimani@arakmu.ac.ir

Recently the effect of some herbal compounds in the treatment of this disease has been studied and confirmed. Since human beings are exposed to high-frequency waves through natural and artificial sources, the effects of these waves on the control or treatments of microorganisms including parasites have also been addressed in some studies [8, 9]. In this study, we investigated the effect of microwave radiation on Acanthamoeba cysts in vitro.

2. Materials and Methods

An experimental study was performed on Acanthamoeba cysts in vitro. The parasitic cysts were cultured and a parasitic suspension containing 19000 to 20,000 cysts per ml was prepared. Sixteen test tubes containing 100 µl of parasitic suspension were prepared and divided into two groups including 8 tubes [16]. These tubes were irradiated by microwaves oven with a power of 1550 watts and a frequency of 2450 MHz. The contents of 8 tubes were irradiated with continuous microwave in 0-120 s time interval (first group) and the next 8 tubes were irradiated with re-

petitive microwave in 0-360 s time interval (second group). In both groups, the first tube with zero radiation time was considered as the control. The mortality of cysts at the end of irradiation was recorded and compared with control. The temperature of the parasitic suspension was recorded before and after the irradiation and the difference between the initial and final temperature of the experiment was recorded as ΔT. Each experiment was repeated 3 times.

3. Results

The results of this study showed that continuous and repetitive microwave irradiation resulted in 100% death of the parasite cysts in 120 and 360 s, respectively (Table 1 and 2). ANOVA analysis between the rate of the parasite after continuous microwave irradiation indicates that the parasitic mortality rate in the control group was significantly different from other irradiation times (except 10 s) (P<0.0001). Statistical analysis also showed that parasite mortality rates were significantly different between all continuous irradiation times (except for 30 and 90 s) (P<0.0001).

Table 1. The mortality rate of Acanthamoeba cysts after exposure to continuous microwave irradiation (first group)

Subgroup	Continuous Irradiation Time (s)	Mean±SD	
		(C°) ΔT	Mortality (%)
1	0	0±0	0±0
2	10	8.1±0.3	0±0
3	30	24±0.6	2.7±0.6
4	45	44.6±1.4	2.7±0.6
5	60	45.9±1.4	3±1
6	90	69.3±4.5	3±0
7	105	83.3±5.5	5.7±0.58
8	120	111.3±5.1	100±0

 Complementary Medicine Journal
Arak University of Medical Sciences

Table 2. The mortality rate of Acanthamoeba cysts after exposure to repetitive microwave irradiation (second group)

Subgroup	Repetitive Irradiation Time (s) × Times	Mean±SD	
		(C°) ΔT	Mortality (%)
1	0	0±0	0±0
2	1×10	8.2±0.7	0±0
3	3×10	8.2±1.1	0±0
4	6×10	8.7±1	1±1
5	6×20	16.2±0.7	1.3±0.58
6	6×30	24.8±0.3	3.3±0.58
7	6×45	42.1±0.26	5.3±1.15
8	6×60	46.9±1.55	100±0

 Complementary Medicine Journal
Arak University of Medical Sciences

ANOVA analysis between the rate of the parasite after repetitive microwave irradiation indicates that the parasitic mortality rate in the control group was significantly different from other irradiation times (except 10, 30, and 60 s) ($P < 0.0001$).

4. Discussion

Acanthamoeba is a pathogenic organism that produces resistant cysts. These cysts lead to the ineffectiveness of conventional drugs against this parasite. Cysts of this parasite are resistant to chemical drugs or require over-dosage of drugs to eliminate cysts. So finding and using drugs of natural origin or other treatments that destroy the cyst wall or wall synthesis obstacle have been the focus of researchers [17].

Also, the use of therapeutic properties of mechanical factors such as sound waves has been considered in recent years. So that some researchers use the waves (mechanical or electromagnetic) to eliminate pathogenic organisms and treat diseases. One of the first medical applications of electromagnetic waves has been to destroy cancer cells [20]. In recent years the effects of High-intensity Focused Ultrasound (HIFU) and microwave on some parasitic agents have been proven [8, 9, 15].

In this study, the effect of microwave as a high-frequency non-ionizing radiation with thermal effects on highly resistant Acanthamoeba cysts was investigated. The results showed that the effect of microwave irradiation on these cysts depends on the duration of irradiation. On the other hand, the mortality rate of Acanthamoeba parasites in continuous and repetitive microwave irradiation did not exceed 6% during 105 and 270 s, respectively, but when the irradiation time increased to 120 and 360 s respectively, the mortality rate rapidly increased to 100%.

The results of the study showed that during continuous irradiation of the microwave for 105 s, the mortality rate of Acanthamoeba cysts was only 5.7%, and ΔT about 83°C. However, during the repetitive microwave irradiation for 270 s, the ΔT was about 42°C, and the mortality was almost similar to the continuous irradiation mode. According to these results, the change in the mode of microwave irradiation, from continuous to repetitive, resulted in a reduction of ΔT but did not affect the mortality rate of Acanthamoeba cysts. Therefore, it seems that the effect of microwaves is not only caused by the increase in ambient heat but also another property of this type of wave is involved in the death of Acanthamoeba.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

The project was approved by the Ethical Committee of Arak University of Medical Sciences (Code: 92-143-19).

Funding

This study extracted from a research project approved by the Arak University of Medical Sciences. We received financial support from the Deputy for Research and Technology of the university.

Authors' contributions

Conceptualization and Review & editing: Zahra Eslamirad and Homa Soleimani; Investigation: Reza Hajihosseini, Zahra Eslamirad, and Homa soleimani; Validation: Zahra Eslamirad; Supervision: Homa soleimani.

Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest.

Acknowledgements

The authors would like to thank the Research Deputy of Arak University of Medical Sciences for their financial support of this research (Number: 2348).

ارزیابی پتانسیل امواج الکترومغناطیسی مایکرو در تخریب کیست‌های آکانتامبا

زهرا اسلامی راد^۱، رضا حاجی حسین^۱، *هما سلیمانی^۲

۱. گروه انگل و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.

۲. گروه فیزیولوژی و فیزیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.

چکیده

اطلاعات مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۹ آبان ۱۳۹۸

تاریخ پذیرش: ۲۷ آذر ۱۳۹۸

تاریخ انتشار: ۱۱ دی ۱۳۹۸

مقدمه: آکانتامبا، آمیبی آزادی و فرصت‌طلب است که قابلیت تبدیل این انگل به کیست، درمان بیماری‌های ناشی از آن را با مشکل روبه‌رو کرده است. در این مطالعه به بررسی اثر امواج مایکرو بر روی کیست‌های آکانتامبا در محیط برون‌تنی پرداختیم.

مواد و روش‌ها: کیست‌های انگل در محیط کشت تکثیر شدند و ۱۶ لوله آزمایش حاوی کیست‌های انگل تهیه و به دو گروه تقسیم شدند. محتویات هشت لوله در بازه زمانی صفر تا ۱۲۰ ثانیه تحت تابش امواج مایکرو پیوسته و هشت لوله بعدی در بازه زمانی صفر تا ۳۶۰ ثانیه تحت تابش امواج مایکرو تکرارپذیر قرار گرفتند. مرگ‌ومیر کیست‌ها در انتهای تابش ثبت و نتایج دو گروه با هم مقایسه شد.

یافته‌ها: تابش امواج مایکرو به صورت پیوسته و تکرارپذیر به ترتیب در مدت ۱۲۰ و ۳۶۰ ثانیه منجر به مرگ ۱۰۰ درصد کیست‌های آکانتامبا شد. در تابش پیوسته امواج، میزان مرگ‌ومیر انگل در همه گروه‌ها با گروه کنترل اختلاف معنی‌دار نشان داد ($P < 0/0001$)، ولی در تابش تکرارپذیر، میزان مرگ‌ومیر انگل فقط در گروه‌هایی که بیش از ۶۰ ثانیه تحت تابش قرار گرفته بودند با گروه کنترل اختلاف معنی‌دار نشان داد ($P < 0/0001$).

نتیجه‌گیری: تغییر در شیوه تابش امواج از نوع پیوسته به تکرارپذیر، اثرات دمایی امواج مایکرو را کاهش می‌دهد، ولی بر روی میزان مرگ‌ومیر کیست آکانتامبا تأثیری ندارد؛ بنابراین به نظر می‌رسد تأثیر امواج مایکرو فقط ناشی از افزایش حرارت محیط نیست، بلکه خاصیت دیگری از این نوع موج نیز در مرگ انگل آکانتامبا دخالت دارد.

کلیدواژه‌ها:

آکانتامبا، آمیب آزادی، امواج مایکرو، امواج الکترومغناطیسی

مقدمه

با اینکه طیف وسیعی از داروهای شیمیایی برای درمان این بیماری قابل استفاده است، ولی این داروها اثرات جانبی گوارشی، قلبی-عروقی، کبدی و بینایی در انسان به جای می‌گذارند [۶، ۵]. بنابراین جست‌وجو برای یافتن و جایگزینی داروهای طبیعی و سنتی به جای داروهای شیمیایی ادامه دارد [۲]. امروزه اثر برخی از ترکیبات گیاهی در درمان این بیماری مطالعه و تأیید شده است. از جمله اثر عصاره آبی، الکلی و کلروفرمی گیاه گندواش^۱ در درمان آکانتامبازیس در محیط برون و درون‌تنی تأیید شده است [۲]. همچنین اثر روغن درخت چای^۲ بر روی کیست و تروفوزوئیت آکانتامبا مطالعه و تأیید شده است [۷]. از طرفی اثر کشندگی برخی از امواج مانند فراصوت^۳ و امواج الکترومغناطیسی مایکرو^۴ بر روی انگل‌هایی مانند پروتواسکولکس‌های کیست هیداتیک، مطالعه شده است [۸، ۹].

آکانتامبا، آمیبی آزادی است که به فراوانی در محیط اطراف ما زندگی می‌کند. حضور این انگل در نمونه‌های آب، خاک، گرد و غبار و سیستم‌های تهویه نقاط مختلف دنیا از جمله ایران تأیید شده است [۱]. فراوانی این انگل امکان مواجهه انسان با آن را افزایش داده و از آنجا که این انگل فرصت‌طلب است، در صورت مناسب‌بودن شرایط در بدن انسان ممکن است سلامت فرد را به خطر اندازد و به بیماری آکانتامبازیس (پوست، چشمی یا مغزی) منجر شود.

موارد مغزی این بیماری اغلب منجر به مرگ شده و درمان موارد چشمی نیز تا کنون چندان مؤثر نبوده است [۲]؛ زیرا انگل در محیط‌های برون و درون‌تنی به کیست‌های بسیار مقاوم تبدیل می‌شود که مبارزه با آن را مشکل می‌کند [۳]. در یک مطالعه ۱۰ ساله موارد بروز کراتیت آکانتامبایی در تهران ۳۴/۵ درصد گزارش شده است، ولی آماری از موارد عصبی در ایران وجود ندارد [۴].

* نویسنده مسئول:

دکتر هما سلیمانی

نشانی: اراک، دانشگاه علوم پزشکی اراک، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی و فیزیک پزشکی.

تلفن: ۳۴۱۷۳۵۲۱ (۸۶) ۰۹۸+

پست الکترونیکی: dr.hsoleimani@arakmu.ac.ir

1. Artemisia annua L
2. Melaleuca alternifolia
3. HIFU
4. Microwave

سرم فیزیولوژی شست‌وشو و کیست‌ها از روی آن‌ها جمع‌آوری شدند. کیست‌ها به لوله آزمایش منتقل و سه بار با سرم فیزیولوژی شسته شدند. به منظور برآورد تعداد کیست‌های آکانتامبا در هر میلی‌لیتر از سوسپانسیون انگلی از لام نئوبار استفاده شد. در نهایت سوسپانسیون انگلی حاوی ۱۹ الی ۲۰ هزار کیست انگل آکانتامبا در هر میلی‌لیتر، آماده شد. با توجه به قطر هر کیست آکانتامبا، رسوب کیست‌ها حدود ۱۰ الی ۱۱ درصد از حجم هر میلی‌لیتر از سوسپانسیون انگلی را تشکیل می‌داد. این سوسپانسیون تا زمان آزمایش در دمای چهار درجه سانتی‌گراد در یخچال نگهداری شد.

بررسی مرگ‌ومیر انگل

به منظور بررسی مرگ‌ومیر کیست‌های انگل آکانتامبا از رنگ اتوزین ۰/۱ درصد استفاده شد [۱۴]. به این ترتیب که حجم مساوی از سوسپانسیون انگلی و رنگ اتوزین بر روی لام با هم مخلوط شده و پس از قراردادن لام بر روی این لام، تعداد مرگ‌ومیر کیست‌ها در ۱۰۰ عدد انگل ثبت شد. کیست‌های مرده رنگ را جذب می‌کردند، ولی کیست زنده بی‌رنگ باقی می‌ماند (تصویر شماره ۱).

آزمایش‌ها

این مطالعه تجربی بر روی کیست‌های انگل آکانتامبا در محیط برون‌تنی (لوله آزمایش) انجام شد.

به منظور تابش امواج مایکرو از یک دستگاه اون سامسونگ مدل ME3410W ساخت کشور کره جنوبی (Samsung Elec-tronic Co) استفاده شد. میزان قدرت امواج مایکرو در مرکز صفحه تابش - که نمونه‌ها در این نقطه قرار داده می‌شدند - در حداکثر میزان یعنی ۱۵۵۰ وات و فرکانس امواج ۲۴۵۰ مگاهرتز بود. منبع قدرت دستگاه ۲۲۰ ولت با فرکانس ۵۰ هرتز و قدرت خروجی آن هزار وات بود [۱۵]. به منظور سنجش دمای سوسپانسیون انگلی از ترمومتر دیجیتالی لوترن مدل Tp-(±۰/۱)۰۱ ساخت کشور تایوان استفاده شد [۹].

امواج الکترومغناطیسی غیریونیزه^۵ شامل امواج رادیویی و مایکرو هستند. امواج مایکرو از تلفن‌های همراه، وای‌فای، بلوتوث اجاق‌های پخت‌وپز حاوی لامپ مگنترون و غیره حاصل می‌شوند. از آنجا که افراد از طریق منابع طبیعی و مصنوعی (ساخته شده توسط انسان) در معرض پرتو امواج با فرکانس بالای^۶ مایکرو قرار دارند، در سال‌های اخیر بررسی اثرات آن‌ها نه‌تنها بر روی انسان بلکه بر روی میکروارگانیسم‌ها (از جمله باکتری‌ها) نیز مورد توجه قرار گرفته است [۱۱، ۱۰]. به طوری که در برخی از مطالعات، از گرمای تولیدشده از امواج مایکرو برای درمان تومورهای بدخیم استفاده شده است [۱۲].

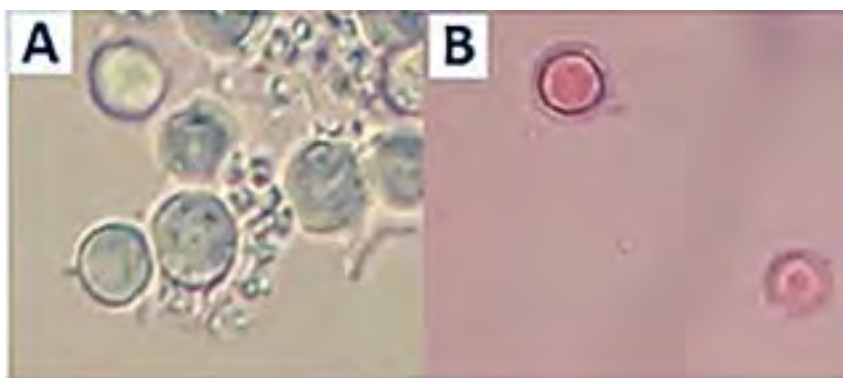
با توجه به اینکه سنجش پتانسیل عوامل در دسترسی همچون طیف‌های متفاوت امواج که در اطراف ما وجود دارد نه‌تنها می‌تواند به شناخت ما از عوامل محیطی بیفزاید، بلکه ممکن است منجر به یافتن روش‌های جدید کنترلی یا درمانی ضد عوامل مولد بیماری‌ها شود؛ بنابراین در این مطالعه به بررسی اثر امواج مایکرو بر روی کیست‌های آکانتامبا در محیط برون‌تنی پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی کیست‌های آکانتامبا

برای تهیه کیست‌های آکانتامبا، یکی از سویه‌های بیماری‌زای انگل که در مطالعه میقانی و همکاران از خاک شهر اراک جدا شده و به ثبت بانک ژنی رسیده بود، درون پلیت‌های حاوی محیط کشت آگار غیرمغذی^۷ همراه با باکتری اشرشیا کلی، کشت داده شد [۱۳]. این پلیت‌ها به انکوباتوری با دمای ۲۸ درجه سلسیوس منتقل و از روز هفتم از نظر وجود کیست بررسی شدند [۱۳]. پلیت‌هایی که انگل در آن‌ها رشد کرده بود، توسط

5. Radio frequency (RF)
6. High frequency
7. Non-nutrient Agar (NNA)



تصویر ۱. کیست‌های آکانتامبا A: کیست زنده و B: کیست مرده (رنگ‌آمیزی با اتوزین و میزان بزرگ‌نمایی چهل برابر (×۴۰))

مواجهه انگل با تابش پیوسته امواج مایکرو

۸ عدد لوله اپندورف حاوی ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون انگلی آماده شد. لوله‌های یک تا هشت به ترتیب به مدت صفر، ۱۰، ۳۰، ۴۵، ۶۰، ۹۰، ۱۰۵ و ۱۲۰ ثانیه تحت تابش پیوسته امواج مایکرو قرار گرفتند. پس از مواجهه، تعداد کیست‌های مرده در ۱۰۰ عدد انگل، شمارش و ثبت شد. لوله شماره ۱ که مدت زمان تابش امواج به آن صفر بود، به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد. هر آزمایش سه‌بار تکرار شد. دمای سوسپانسیون انگلی، قبل و بعد از تابش امواج ثبت شد و تفاوت دمای ابتدایی و انتهایی آزمایش به عنوان ΔT ثبت شد.

مواجهه انگل با تابش تکرارپذیر امواج مایکرو

هشت عدد لوله اپندورف حاوی ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون انگلی آماده شد. لوله‌های یک تا هشت به ترتیب به مدت صفر، ۱۰ (۱×۱۰۵)، ۳۰ (۳×۱۰۵)، ۶۰ (۶×۱۰۵)، ۱۲۰ (۱۲×۲۰۵)، ۱۸۰ (۶×۳۰۵) و ۲۷۰ (۶×۴۵) ثانیه تحت تابش تکرارپذیر امواج مایکرو قرار گرفتند. دمای سوسپانسیون در ابتدای آزمایش اندازه‌گیری شد و پس از انجام تابش تا زمان بازگشت دما به حالت اولیه، تابش متوقف شده و سپس ادامه می‌یافت. پس از اتمام زمان مواجهه، تعداد انگل‌های مرده، شمارش و ثبت شد. لوله شماره ۱ که مدت زمان تابش امواج به آن صفر بود، به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد. هر آزمایش سه‌بار تکرار شد.

تجزیه و تحلیل اطلاعات

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS و نسخه ۱۶ اکسل انجام شد. به منظور بررسی نرمالیتی یافته‌ها از آزمون کولموگروف اسمیرنوف استفاده شد. میزان مرگومیر انگل به صورت میانگین مرگومیر در سه‌بار آزمایش مجزا \pm انحراف معیار

جدول ۱. میزان مرگومیر کیست‌های آکانتامبا پس از تابش پیوسته امواج مایکرو

ردیف	مدت زمان تابش (پیوسته) بر حسب ثانیه	ΔT (C°)	میانگین \pm انحراف معیار	میزان مرگومیر (%)
۱	۰	۰ \pm ۰	۰ \pm ۰	۰ \pm ۰
۲	۱۰	۸/۱ \pm ۰/۳	۰ \pm ۰	۰ \pm ۰
۳	۳۰	۲۴ \pm ۰/۶	۲/۷ \pm ۰/۶	۲/۷ \pm ۰/۶
۴	۴۵	۳۴/۶ \pm ۱/۴	۲/۷ \pm ۰/۶	۲/۷ \pm ۰/۶
۵	۶۰	۴۵/۹ \pm ۱/۴	۳ \pm ۱	۳ \pm ۱
۶	۹۰	۶۹/۳ \pm ۴/۵	۳ \pm ۰	۳ \pm ۰
۷	۱۰۵	۸۲/۳ \pm ۵/۵	۵/۷ \pm ۰/۵۸	۵/۷ \pm ۰/۵۸
۸	۱۲۰	۱۱۱/۳ \pm ۵/۱	۱۰۰ \pm ۰	۱۰۰ \pm ۰

نشان داده شد. به منظور بررسی اختلاف بین گروه‌ها با گروه کنترل از آزمون آماری One Way ANOVA استفاده شد. سطح معنی‌داری $P < 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

روند مرگومیر کیست‌های آکانتامبا پس از تابش امواج مایکرو در تصویر شماره ۲ مشاهده می‌شود. همچنین میزان مرگومیر کیست‌ها پس از تابش پیوسته و تکرارپذیر امواج مایکرو به ترتیب در جداول شماره ۱ و ۲ نشان داده شده است. همان‌طور که در جدول شماره ۱ مشاهده می‌شود پس از ۱۰۵ ثانیه تابش امواج پیوسته، میزان مرگومیر کیست‌ها ۵/۷ درصد بود، ولی پس از ۱۲۰ ثانیه، مرگومیر به ۱۰۰ درصد رسید.

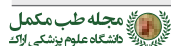
همان‌طور که در جدول شماره ۲ مشاهده می‌شود، پس از ۲۷۰ ثانیه تابش امواج تکرارپذیر، میزان مرگومیر کیست‌ها ۵/۳ درصد بود ولی پس از ۳۶۰ ثانیه، مرگومیر به ۱۰۰ درصد رسید. بر اساس نتایج آزمون کولموگروف اسمیرنوف یافته‌ها نرمال بودند.

آنالیز آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه بین میزان مرگومیر کیست‌های انگل آکانتامبا پس از تابش پیوسته امواج مایکرو که در جدول شماره ۱ نشان داده شده است بیانگر این بود که در بین زمان تابش صفر ثانیه (گروه کنترل) با سایر زمان‌های تابش (به جز ۱۰ ثانیه) تفاوت آماری معنی‌دار وجود دارد ($P < 0/0001$). همچنین آنالیز آماری نشان داد که میزان مرگومیر انگل در بین همه زمان‌های تابش پیوسته به جز زمان‌های ۳۰ تا ۹۰ ثانیه نسبت به یکدیگر نیز تفاوت معنی‌دار دارند ($P < 0/0001$).

آنالیز آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه بین میزان مرگومیر کیست‌های انگل آکانتامبا پس از تابش تکرارپذیر امواج مایکرو که در جدول شماره ۲ نشان داده شده است بیانگر این بود که در بین زمان تابش صفر (گروه کنترل) با همه زمان‌ها به جز ۱۰، ۳۰

جدول ۲. میزان مرگومیر کیست‌های آکانتامبا پس از تابش تکرارپذیر امواج مایکرو

ردیف	مدت زمان تابش بر حسب ثانیه × تعداد دفعات مواجهه	میانگین ΔT (°C)	میانگین \pm انحراف معیار میزان مرگومیر (%)
۱	۰	۰ \pm ۰	۰ \pm ۰
۲	۱×۱۰	۸/۲ \pm ۰/۷	۰ \pm ۰
۳	۳×۱۰	۸/۲ \pm ۱/۱	۰ \pm ۰
۴	۶×۱۰	۸/۷ \pm ۱	۱ \pm ۱
۵	۶×۲۰	۱۶/۲ \pm ۰/۷	۱/۳ \pm ۰/۵۸
۶	۶×۳۰	۲۴/۸ \pm ۰/۳	۳/۳ \pm ۰/۵۸
۷	۶×۴۵	۴۲/۱ \pm ۰/۲۶	۵/۳ \pm ۱/۱۵
۸	۶×۶۰	۴۶/۹ \pm ۱/۵۵	۱۰۰ \pm ۰



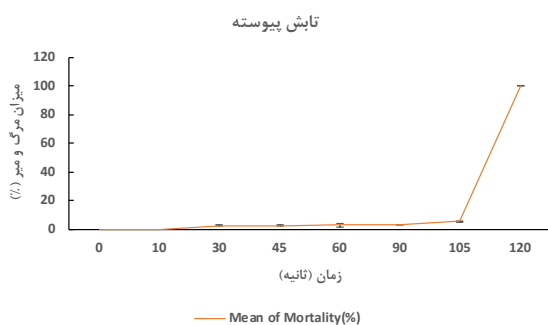
آکانتامبا، ارگاناسمی پاتوژن است که مولد عفونت‌های شدیدی مانند کراتیت و انسفالیت گرانولوماتوزی آمیبی است. حضور این انگل در محیط اطراف ما غیر قابل انکار است. این ارگاناسم جهانی در نمونه‌های خاک، هوا و آب و نیز بافت‌های حیوانی شناسایی شده است [۱۶]. این ارگاناسم قادر است به کیست‌های مقاوم و خفته تبدیل شود که باعث شکست در درمان بیماری‌های ناشی از

و ۶۰ ثانیه تفاوت معنی‌دار وجود دارد ($P < 0.0001$).

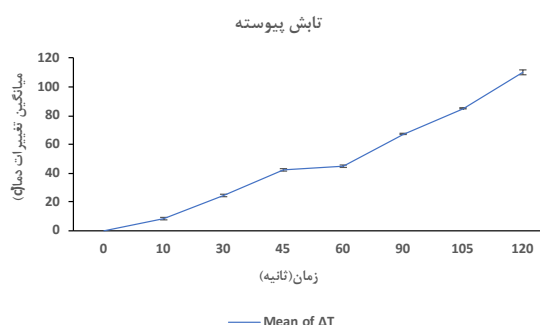
بحث

نتایج مطالعه کنونی که به منظور بررسی اثر کشندگی امواج مایکرو بر روی کیست‌های انگل آکانتامبا انجام شد نشان داد که اثرات کشندگی این امواج وابسته به مدت زمان تابش امواج است.

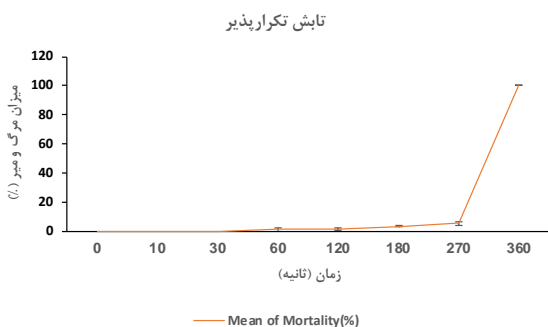
A1



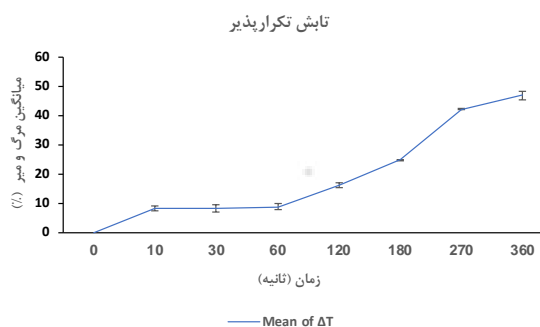
A2



B1



B2



تصویر ۲. مقایسه روند مرگومیر کیست‌های انگل آکانتامبا در طول زمان پس از تابش پیوسته (A1) و تکرارپذیر (B1) امواج مایکرو و مقایسه روند تغییرات دما در طول زمان پس از تابش پیوسته (A2) و تکرارپذیر (B2) امواج مایکرو

حاصل از این امواج باعث تخریب لایه زیای کیست و غیرفعال شدن آن می‌شود [۲۱، ۲۲]. در مطالعه کنونی تأثیر این نوع موج به عنوان پرتو غیر یونیزان با فرکانس بالا با اثرات گرمایی بر روی کیست‌های بسیار مقاوم انگل آکانتامبا بررسی شد. در این مطالعه به اثبات رسید که اثر امواج مایکرو بر روی کیست‌های آکانتامبا به مدت زمان تابش امواج بستگی دارد. از طرفی میزان مرگ‌ومیر انگل آکانتامبا در تابش پیوسته و تکرارپذیر امواج مایکرو به ترتیب در طی مدت ۱۰۵ و ۲۷۰ ثانیه از شش در صد تجاوز نکرد، ولی وقتی مدت تابش به ترتیب به ۱۲۰ و ۳۶۰ ثانیه افزایش یافت میزان مرگ‌ومیر سریعاً به ۱۰۰ درصد رسید و تمام انگل‌ها از بین رفت.

نتایج مطالعه کنونی نشان داد که در طی تابش پیوسته امواج مایکرو به مدت ۱۰۵ ثانیه با اینکه اختلاف دمای ابتدایی تا انتهای آزمایش به بیش از ۸۳ درجه سانتی‌گراد رسید، میزان مرگ‌ومیر کیست‌های آکانتامبا فقط ۵/۷ درصد بود. در حالی که در طی تابش امواج تکرارپذیر مایکرو به مدت ۲۷۰ ثانیه که اختلاف دمای ابتدا و انتهای تابش حدود ۴۲ درجه سانتی‌گراد بود، میزان مرگ‌ومیر انگل تقریباً مشابه حالت پیوسته ۵/۳ درصد بود. به نظر می‌رسد که در این آزمایش گرمای حاصل از امواج به تنهایی در افزایش مرگ‌ومیر انگل مؤثر نیست، بلکه خواص دیگر این امواج در مرگ کیست‌های آکانتامبا نقش ایفا می‌کنند که برای شناخت این خواص نیاز به مطالعات بیشتری است.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که با اینکه تغییر در شیوه تابش امواج از نوع پیوسته به تکرارپذیر، تا حدودی اثرات دمایی امواج مایکرو را کاهش داده، ولی میزان مرگ‌ومیر کیست، تقریباً مشابه حالت پیوسته است. بنابراین به نظر می‌رسد تأثیر امواج مایکرو فقط ناشی از افزایش حرارت محیط نیست، بلکه خاصیت دیگری از این نوع موج نیز در مرگ انگل آکانتامبا دخالت دارد. البته مدت‌زمان لازم برای مرگ کیست‌های آکانتامبا در حالت تکرارپذیر حدود سه برابر زمان حالت پیوسته بود. به منظور دستیابی به نتایج دقیق‌تر نیاز به تکرار این آزمایشات توسط امواجی با قدرت و فرکانس متفاوت در محیط برون‌تنی است. این تحقیق جهت بررسی اثر امواج مایکرو به عنوان پرتو غیر یونیزان و با فرکانس بالا در محیط برون‌تنی انجام شده است و جهت ادامه آزمایشات در محیط درون‌تنی نیاز به انتخاب فرکانس بهینه در محدوده مایکرو و با توجه به شرایط محیط فیزیولوژیکی انتخاب شده خواهد بود.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این طرح پژوهش با کد اخلاق 92-143-19 در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اراک به تصویب رسیده است.

این انگل می‌شود. به عبارت دیگر وجود کیست‌های آکانتامبا علت مهم عدم کارایی داروهای رایج بر ضد این انگل است. کیست‌ها در برابر داروهای شیمیایی مقاوم‌اند و معمولاً برای اینکه این داروها مؤثر واقع شوند به دُز بیش از حد مجاز و طولانی‌مدت از داروها نیاز است که منجر به اثرات سمی روی سلول می‌شود؛ بنابراین یافتن و استفاده از داروهایی با منشأ طبیعی یا سایر روش‌های درمانی که دیواره کیستی را از بین برده و یا مانع سنتز دیواره شود، مورد توجه قرار گرفته است [۱۷].

تاکنون امکان استفاده از عصاره‌ها و اجزای برخی گیاهان در درمان آکانتامبازیس بررسی شده یا در حال بررسی است [۱۸].

مصرف برخی از این گیاهان در طب سنتی رایج است؛ زیرا خواص آنتی‌سپتیک یا ضدباکتریایی دارند. نتایج مطالعات نشان داده که ترکیبات برخی از این گیاهان از رشد آمیب ممانعت به عمل می‌آورند و برخی مانع کیست‌شدن آن می‌شوند. همچنین برخی از آن‌ها فقط روی تروفوزوئیت اثر دارند و هیچ تأثیری بر روی کیست‌ها ندارند [۱۸]. خاصیت مطلوب عصاره‌های گیاهی، خاصیت آمیبواستاتیک و آمیبوسیدال (کشندگی آمیبی) آن‌ها بر علیه تروفوزوئیت‌ها و کیست‌هاست. تا سال ۲۰۱۶ گیاهی که روی هر دو شکل انگل مؤثر باشد، شناسایی نشده بود تا اینکه خاصیت تخریب‌کننده گیاه گندواش بر روی تروفوزوئیت و کیست‌های این انگل به اثبات رسید [۲].

نتایج مطالعاتی که بر روی اثر درمانی گیاهان و اجزای طبیعی آن‌ها انجام شد، دانشمندان را تشویق کرد که به دنبال روش‌های جدید یا از قلم‌افتاده با خواص درمانی مناسب باشند. استفاده از خواص درمانی عوامل مکانیکی از جمله امواج نیز در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است.

دنیای امروز در معرض دائم امواج رادیویی و الکترومغناطیس حاصل از گوشی موبایل، مایکروفر و سایر دستگاه‌هاست. اکثر محققان از عوارض خطرناک این امواج نگران هستند، ولی برخی از محققان به استفاده از این امواج جهت از بین بردن ارگان‌های بیماری‌زا و درمان بیماری‌ها توجه نشان داده و پیشرفت‌هایی در این زمینه به دست آورده‌اند. از جمله رایف و همکارانش نشان دادند که سلول‌های نامطلوب (سرطانی) و میکروب‌ها را می‌توان با امواج رادیویی از بین برد، در حالی که این امواج بر روی سلول‌های سالم بی‌تأثیر بودند [۱۹]. به عبارت دیگر یکی از اولین کاربردهای پزشکی امواج الکترومغناطیسی جهت تخریب سلول‌های سرطانی بوده است [۲۰].

بررسی اثر امواج بر روی انگل‌ها اخیراً آغاز شده است؛ به طوری که در برخی از مطالعات اثر امواج فراصوت با شدت بالا و امواج مایکرو بر روی پروتواسکولکس‌های کیست هیداتیک بررسی و تأثیر آن‌ها در افزایش مرگ‌ومیر انگل مذکور به اثبات رسیده است [۱۵، ۹، ۸]. همچنین اثر امواج رادیویی در درمان بیماری انگلی کیست هیداتیک استفاده شده است؛ زیرا گرمای

حامی مالی

این پژوهش با حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی اراک انجام شد.

مشارکت نویسندگان

نویسندگان به یک اندازه در نگارش پژوهش مشارکت داشتند.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله تصریح می کنند هیچ گونه تضاد منافی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

References

- [1] Niyati M, Rezaeian M. Current status of Acanthamoeba in Iran: A narrative review article. *Iranian Journal of Parasitology*. 2015; 10(2):157-63. [PMID] [PMCID]
- [2] Derda M, Hadaś E, Cholewiński M, Skrzypczak Ł, Grzondziel A, Wojtkowiak-Giera A. *Artemisia annua* L. as a plant with potential use in the treatment of acanthamoebiasis. *Parasitology Research*. 2016; 115:1635-9. [DOI:10.1007/s00436-016-4902-z] [PMID] [PMCID]
- [3] Anwar A, Siddiqui R, Hameed A, Shah MR, Khan NA. Synthetic dihydropyridines as novel antiacanthamoebic agents. *Medicinal Chemistry*. 2019; 15:1. [DOI:10.2174/1573406415666190722113412] [PMID]
- [4] Feiz Haddad MH, Shokri A, Habibpour H, Heidar Nejadi SM. A review of Acanthamoeba keratitis in the Middle East and Iran. *Journal of Acute Disease*. 2019; 8(4):133-41. [DOI:10.4103/2221-6189.263705]
- [5] Müller GG, Kara-José N, de Castro RS. Antifungals in eye infections: Drugs and routes of administration. *Revista Brasileira de Oftalmologia*. 2013; 72(2):132-41. [DOI:10.1590/S0034-72802013000200014]
- [6] Siddiqui R, Aqeel Y, Khan NA. The development of drugs against acanthamoeba infections. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2016; 60(11):6441-50. [DOI:10.1128/AAC.00686-16] [PMID] [PMCID]
- [7] Hadaś E, Derda M, Cholewiński M. Evaluation of the effectiveness of tea tree oil in treatment of Acanthamoeba infection. *Parasitology Research*. 2017; 116(3):997-1001. [DOI:10.1007/s00436-017-5377-2] [PMID] [PMCID]
- [8] Liu AB, Cai H, Ye B, Chen LL, Wang MY, Zhang J, et al. The damages of high intensity focused ultrasound to transplanted hydatid cysts in abdominal cavities of rabbits with aids of ultrasound contrast agent and superabsorbent polymer. *Parasitology Research*. 2013; 112(5):1865-75. [DOI:10.1007/s00436-013-3340-4] [PMID]
- [9] Eslamirad Z, Soleimani H, Hajihosseini R, Rafiei F. Evaluation of lethal effect of microwave exposure on protoscolices of hydatid cyst in vitro. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. 2015; 5(10):821-4. [DOI:10.1016/S2222-1808(15)60938-0]
- [10] Salmen SH, Alharbi SA, Faden AA, Wainwright M. Evaluation of effect of high frequency electromagnetic field on growth and antibiotic sensitivity of bacteria. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2018; 25(1):105-10. [DOI:10.1016/j.sjbs.2017.07.006] [PMID] [PMCID]
- [11] Ozdemir F, Kargi A. Electromagnetic waves and human health. In: Zhurbenko V, editor. *Electromagnetic Waves*. Rijeka: InTech; 2011. [DOI:10.5772/16343]
- [12] Cairang Y, Zhang L, Ren B, Ren L, Hou L, Wang H, et al. Efficacy and safety of ultrasound-guided percutaneous microwave ablation for the treatment of hepatic alveolar echinococcosis: A preliminary study. *Medicine*. 2017; 96(27):e7137. [DOI:10.1097/MD.0000000000007137] [PMID] [PMCID]
- [13] Meighani M, Eslamirad Z, Hajihosseini R, Ahmadi A, Saki S. Isolation and genotyping of acanthamoeba from soil samples in Markazi Province, Iran. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*. 2018; 6(12):2290-4. [DOI:10.3889/oamjms.2018.454] [PMID] [PMCID]
- [14] El-Sayed NM, Hikal WM. Several staining techniques to enhance the visibility of Acanthamoeba cysts. *Parasitology Research*. 2015; 114:823-30. [DOI:10.1007/s00436-014-4190-4] [PMID]
- [15] Eslamirad Z, Soleimani H. [Investigating the potential of protoscolices for cyst formation under in vivo microwave radiation (Persian)]. *Complementary Medicine Journal*. 2019; 9(1):3598-606. <http://cmja.arakmu.ac.ir/article-1-647-en.html>
- [16] Mosayebi M, Hajihosseini R, Ghorbanzadeh B, Kalantari S. A risk for nosocomial infection: contamination of hospital air cooling systems by Acanthamoeba spp. *International Journal of Hospital Research*. 2016; 5(1):17-21. [DOI:10.15171/ijhr.2016.04]
- [17] Anwar A, Khan NA, Siddiqui R. Combating Acanthamoeba spp. cysts: What are the options? *Parasites & Vectors*. 2018; 11:26. [DOI:10.1186/s13071-017-2572-z] [PMID] [PMCID]
- [18] Parasitology T, Ghaffarifar F, Fakhar M, Saberi R. Medicinal plants with anti-Acanthamoeba activity: A systematic review. *Infectious Disorders - Drug Targets*. 2019; 19:1. [DOI:10.2174/1871526519666190716095849] [PMID]
- [19] Atari Lar S, Ebrahimi M. [A reflection on the healing power of the waves (Persian)]. *Journal of Vibration & Sound*. 2018; 7(13):104-19. http://jvs.isav.ir/article_32705.html
- [20] Hedrick WR, Hykes DL, Strachman DE. *Ultrasound physics and instrumentation*. St. Louis: Mosby; 2005. <https://books.google.com/books?id=QoVsQgAACAAJ&dq>
- [21] Botsa E, Thanou I, Nikas I, Thanos L. Treatment of hepatic hydatid cyst in a 7-year-old boy using a new type of radiofrequency ablation electrode. *The American Journal of Case Reports*. 2017; 18:953-8. [DOI:10.12659/AJCR.904432] [PMID] [PMCID]
- [22] Du XL, Ma QJ, Wu T, Lu JG, Bao GQ, Chu YK. Treatment of hepatic cysts by B-ultrasound-guided radiofrequency ablation. *Hepatobiliary & Pancreatic Diseases International*. 2007; 6(3):330-2. [PMID]