

The Effect of the Cannabidiol on the Lethality of Protoscolexes of Hydatid Cyst

Mahdis Sharifian Zade¹

Azadeh Khalili²

Mohammad Zibaei¹

Abolfazl Miahipour^{*1}

Abstract

Background and Objective: Hydatid cysts are significant zoonotic diseases, with surgical intervention being the most effective treatment, particularly for large cysts located in critical areas such as the brain or heart. However, the use of chemical scolicidal agents to prevent protoscolex leakage during surgery has been limited due to their adverse side effects. Consequently, there is increasing interest in exploring new antimicrobial compounds, particularly from plants, as promising alternatives. This study aimed to investigate the lethal effects of cannabidiol, a well-known cannabinoid derived from the cannabis plant, on hydatid cyst protoscolexes.

Methods: Protoscoleces were extracted from the livers of animals infected with hydatid cysts and subsequently exposed to various concentrations of cannabidiol (1, 5, and 10 µg/ml) for 10, 30, 60, and 120 minutes. The viability of the protoscoleces was assessed using 0.1% eosin staining, with albendazole serving as a standard control for comparison.

Results: Cannabidiol exhibited significant scolicidal activity across all tested concentrations, demonstrating a direct relationship between concentration and effectiveness. While albendazole produced a scolicidal effect of $30.82 \pm 0.5\%$ after two hours, cannabidiol at concentrations of 5 and 10 µg/ml achieved scolicidal effects of $42.52 \pm 0.2\%$ and $51.04 \pm 0.44\%$, respectively.

Conclusion: This study demonstrates that cannabidiol effectively induces significant destruction of protoscolexes, with efficacy positively correlated to concentration. These findings suggest that cannabidiol could be a valuable candidate for further research as a potential therapeutic agent in the management of hydatid cysts, warranting additional studies to explore its applicability in clinical settings.

Keywords: Hydatid Cyst, Cannabidiol, Protoscolex, Antimicrobial Agents, Zoonoses

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

2.Department of Physiology, Pharmacology and Medical Physics, School of Medicine, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran.

*Corresponding Author:

E-mail: amiahipour@yahoo.com

How to cite this article: Sharifian zade M, Khalili A, Zibaei M, Miahipour A. Assessment of the Cannabidiol on the Lethality of Protoscolexes of Hydatid Cyst. Alborz University Medical Journal 2024; 14 (1): 82-91

تاثیر کانابیدیول (Cannabidiol) بر کشندگی پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید

چکیده

مهدیس شریفیان زاده^۱آزاده خلیلی^۲محمد زیبایی^۱ابوالفضل میاهی پور^{۳*}

زمینه و هدف: کیست هیداتید از بیماری‌های مشترک بین انسان و دام است و جراحی، بهترین روش درمان آن است، به‌ویژه زمانی که کیست‌ها بزرگ هستند و در نواحی حساس مانند مغز یا قلب قرار می‌گیرند. تا به حال ترکیبات ضد پروتواسکولکس^۳های شیمیایی متعددی برای جلوگیری از نشت پروتواسکولکس^۳ها حین عمل جراحی استفاده شده‌اند، اما با توجه به عوارض جانبی آنها، چندان مورد استقبال قرار نگرفته‌اند. از این رو، بررسی منابع جدید ترکیبات ضد میکروبی مانند گیاهان که گنجینه عظیمی از ترکیبات شیمیایی هستند، به‌عنوان جایگزین، بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. این مطالعه به منظور بررسی اثر کشندگی یکی از شناخته شده‌ترین کانابینوئیدهای گیاه شاهدانه، یعنی کانابیدیول، بر روی پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید انجام شده است.

روش کار: در این مطالعه، پروتواسکولکس‌ها از کبدهای آلوده به کیست هیداتید استخراج و به مدت ۳۰، ۶۰، ۱۰ و ۱۲۰ دقیقه در معرض غلظت‌های مختلف کانابیدیول (۱، ۵، ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) قرار گرفتند. میزان زنده‌بودن پروتواسکولکس‌ها به وسیله رنگ‌آمیزی اتوزین ۰/۱ درصد سنجیده شد. از آلبندازول به‌عنوان داروی استاندارد استفاده گردید.

یافته‌ها: میزان کشندگی پروتواسکولکس‌ها در گروه دریافت‌کننده آلبندازول، در زمان ۱۰ دقیقه نسبت به گروه حامل در همین زمان، با افزایش معناداری همراه بوده است ($P < 0/01$). همچنین میزان کشندگی پروتواسکولکس‌ها توسط غلظت ۱ $\mu\text{g/ml}$ و ۵ $\mu\text{g/ml}$ ($P < 0/001$ و $P < 0/001$)، ۱۰ $\mu\text{g/ml}$ ($P < 0/001$) و ۱۰ $\mu\text{g/ml}$ ($P < 0/001$) و ۱۰ دقیقه، به ترتیب نسبت به گروه‌های حامل و آلبندازول، افزایش معناداری را نشان داده است. روند تغییر در میزان کشندگی در سایر بازه‌های زمانی که در معرض آلبندازول و کانابیدیول در دوزهای ۱ $\mu\text{g/ml}$ و ۵ $\mu\text{g/ml}$ و ۱۰ $\mu\text{g/ml}$ قرار گرفته‌اند نیز از الگوی بالا تبعیت کرده است، به‌طوری‌که میزان کشندگی در همه غلظت‌های درمانی و در تمام مقاطع زمانی، نسبت به میزان کشندگی در گروه‌های حامل و آلبندازول، با افزایش معناداری همراه بوده است.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه نشان داده شد که کانابیدیول می‌تواند موجب از بین رفتن معنی‌داری در پروتواسکولکس‌ها شود و با افزایش غلظت نیز، رابطه مستقیم دارد؛ لذا این ترکیب طبیعی می‌تواند به‌عنوان هدف تحقیقاتی برای مطالعات آتی در این زمینه مورد استفاده قرار گیرد.

کلیدواژه‌ها: کیست هیداتید، کانابیدیول، پروتواسکولکس، عوامل ضدمیکروبی

۱. گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران
۲. گروه فیزیولوژی، فارماکولوژی و فیزیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران

* نویسنده مسئول

amiahipour@yahoo.com

مقدمه

کیست هیداتید، یک بیماری مشترک بین انسان و دام است که توسط مرحله لاروی اکینوкокوس گرانولوزوس ایجاد می‌شود.^۱ این بیماری در مناطق روستایی که در آن، ارتباط نزدیک‌تری بین سگ، دام و انسان وجود دارد؛ شایع‌تر است. این بیماری، علاوه بر آسیب‌های جدی بر سلامت انسان و مرگ احتمالی، با ایجاد هزینه‌های درمانی و همچنین تأثیر بر سلامت دام‌ها، به‌عنوان یک چالش عمده بهداشت عمومی و اقتصادی در نظر گرفته می‌شود.^۲ میزان قطعی، گوشت‌خواران به‌ویژه سگ‌ها هستند و بسیاری از پستانداران ممکن است به‌عنوان میزبان واسط عمل کنند، همچنین انسان در اثر خوردن غذا آلوده به تخم انگل، مبتلا می‌شود.^۳ اکینوкокوس یک مشکل مهم اجتماعی - اقتصادی و بهداشت عمومی در بسیاری از مناطق جهان است. آلودگی به این انگل در کشورهای حوزه مدیترانه، روسیه، خاورمیانه، استرالیا، آمریکا و آفریقا وجود دارد. ایران به‌عنوان یکی از مناطق آندمیک آن با نرخ بالای آلودگی به‌ویژه در جوامع روستایی شناخته شده است.^۴ این بیماری از تمام استان‌های کشور ایران، با بالاترین میزان آلودگی در انسان (۵/۴ درصد) از استان خراسان کمترین آن (۱/۰ درصد) از استان هرمزگان، گزارش شده است.^۵ بیماری هیداتید انسانی، مسئول تقریباً ۱ درصد از پذیرش در بخش‌های جراحی بیمارستان‌های ایران است.^۶ کیست هیداتید در بافت‌های مختلف بدن یافت می‌شود که شایع‌ترین آنها کبد (۷۵٪) و ریه‌ها (۱۵-۵٪) هستند.^۷ علائم بالینی اصلی آن در انسان شامل اختلالات کبدی، مشکلات ریوی، درد شکمی، بزرگی کبد و طحال و اختلالات دستگاه عصبی مرکزی است. یکی از مهم‌ترین خصوصیات بالینی اکینوкокوس این است که عفونت حاصله ممکن است به‌طور کامل بدون علامت باشد.^۸ جراحی هنوز رایج‌ترین شکل درمان است، به‌ویژه زمانی که کیست‌ها بزرگ هستند و در ناحیه‌ای مانند مغز یا قلب قرار می‌گیرند.^۹ طی مطالعه‌ای که عنذلیب علی‌آبادی و همکاران در سال ۲۰۱۵ بر میزان شیوع این بیماری انجام دادند؛ مشخص گردید در ایران، سالانه به‌طور متوسط ۱۳۴/۲ مورد جراحی کیست هیداتید انجام می‌شود.^{۱۰} از آنجا که بهترین راه درمان این بیماری جراحی است و جراحی نیز همیشه از خطر بالایی برخوردار است، لذا استفاده از ترکیبات پروتواسکولکس‌کش مناسب و بی‌خطر، برای محدود کردن این بیماری، می‌تواند کاربرد مناسبی پیدا کند. در جراحی کیست هیداتید، در صورت در نظر نگرفتن تمهیدات لازم، خطر نشت پروتواسکولکس‌ها و پخش شدن آن در احشاء و بافت‌ها،

در حین عمل، وجود خواهد داشت، که این مسأله از دلایل اصلی بازگشت بیماری و تشکیل کیست‌های ثانویه می‌باشد. برای اجتناب از نشت محتویات کیست، استفاده از اسکولکسیدال موثر برای جلوگیری از بازگشت بیماری ضروری است.^{۱۰} تاکنون پروتواسکولکس‌کش‌های شیمیایی زیادی چون، فرمالین ۲ درصد، سرم نمکی - هایپرتونیک ۲۰ تا ۳۰ درصد، محلول ستریماید - اسکولیساید، نیترات نقره و بتادین به کار گرفته شده‌اند. استفاده از این ترکیبات در برخی از موارد، به بروز عوارض جانبی شدیدی از جمله فیبروز مجاری صفراوی، نکروز کبد و بافت‌های سالم مجاور کیست می‌انجامد.^{۱۱} مبنی‌آزول از اولین این ترکیبات بود؛ ولی آلبندازول داروی جدیدتری است که در درمان کیست هیداتید کارایی بهتری دارد.^{۱۲} امروزه مقاومت میکروبی به‌عنوان یکی از اصلی‌ترین مشکلات مراقبت‌های بهداشتی در سراسر جهان شناخته شده است، از این رو، بررسی منابع جدید ترکیبات ضد میکروبی مانند گیاهان، که گنجینه عظیمی از ترکیبات شیمیایی هستند، برای مطالعه اثرات ضد میکروبی، گزینه بسیار ارزشمندی می‌باشد. از جمله این منابع جدید می‌توان به عصاره هیدروالکلی گیاه خوشاریزه (*Echinophora platyloba*)^{۱۳} و یا عصاره بن سرخ^{۱۴} (*Allium jesdianum*) اشاره کرد که هر دو می‌توانند در مدت زمان بسیار کم، ۱۰۰ درصد پروتواسکولکس‌ها را از بین ببرند. از دیگر منابع جدید ترکیبات ضد میکروبی گیاهی، شاهدانه است که در این مطالعه به بررسی خواص پروتواسکولکس‌کشی آن پرداخته شده است.

گیاه شاهدانه با نام علمی *Cannabis sativa*، گیاهی علفی یک ساله و به ارتفاع ۱ تا ۴ متر است. خاستگاه این گیاه آسیای مرکزی است. شاهدانه گیاهی بوته‌ای و گلدار، از خانواده کانابیناسه است، که برگ‌های مرکب پنجه‌ای با برگچه‌های دندانه‌ای دارد، همچنین یک گیاه خودرو است که به نام ماری‌جوانا نیز شناخته می‌شود.^{۱۵} گل‌های ماده و برگ‌های اطراف گل، رزین و دانه‌های این گیاه، استفاده دارویی دارند. از شاهدانه به صورت سنتی، در درمان روماتیسم و آسم، بیماری‌های التهابی، بیماری‌های پوستی و بیماری‌های قلبی - عروقی استفاده می‌شود. این گیاه دارای خواص آرامبخش، مسکن، خواب‌آور و دارای ترکیبات ضد تشنجی است.^{۱۶} به روش‌های مختلفی از جمله سیگار کشیدن، تبخیر کردن و به عنوان چای و خوراکی مصرف می‌شود. شروع اثرات آن، در عرض چند دقیقه هنگام دود کردن و حدود ۳۰ تا ۶۰ دقیقه هنگام پختن و یا خوردن است. شیوع مصرف آن توسط افراد، به دلیل داده‌های محدود و

از مهم‌ترین کانابینوئیدهای غیر روان‌گردان گیاه شاهدانه، با آلبندازول، بر روی پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید، در شرایط آزمایشگاهی انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید: کبدهای آلوده به کیست هیداتید گوسفندان، از کشتارگاه کرج تهیه و به آزمایشگاه انگل‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی البرز منتقل شدند. سطح این کبدها توسط پنبه آغشته به الکل ۷۰ درصد شستشو و ضد عفونی شدند. بعد از ضد عفونی، محتویات کیست‌ها، از جمله پروتواسکولکس‌های اکینو کوکوس گرانولوزوس، به‌وسیله سرنگ ۱۰ سی‌سی، به روش آسپتیک، برداشته شده و مایع کیست، در لوله‌های فالتون ۵۰ میلی‌لیتر مکعبی جمع‌آوری شدند. سپس چند دقیقه صبر کرده تا پروتواسکولکس‌ها ته‌نشین شوند و پس از ته‌نشین شدن کامل پروتواسکولکس‌ها، مایع رویی تخلیه و پروتواسکولکس‌های ته‌نشین شده، سه مرتبه با سرم نرمال سالین شستشو داده شدند. به‌طور میانگین برای هر مرحله شست‌وشو، ۲۰ دقیقه زمان صرف ته‌نشین شدن و خارج کردن بادقت مایعات و نگاه‌داشتن پروتواسکولکس‌ها شد. به‌این‌ترتیب تغلیظ انجام شد، به‌نحوی که در یک میلی‌لیتر مایع کیست، حداقل ۵۰۰ پروتواسکولکس با ۹۰ درصد توانایی زنده‌بودن (Viability) حاصل گردد.

تست زنده بودن پروتواسکولکس‌ها: برای تعیین درصد زنده بودن پروتواسکولکس‌ها، به‌وسیله سمپلر، ۲۰ لانداز مایع آماده شده محتوی پروتواسکولکس را روی لام ریخته و به همان حجم (۲۰ لانداز) محلول رنگی ائوزین ۱/۰ درصد در کنار نمونه، قرار داده شد. سپس با گوشه یک لامل و به آرامی، رنگ و پروتواسکولکس‌ها را مخلوط و در نهایت لامل روی محلول آماده شده حاوی رنگ قرار داده شد. پس از ۱۰ دقیقه، پروتواسکولکس‌ها مورد ارزیابی قرار گرفتند. بدین صورت که پروتواسکولکس‌های زنده (یعنی آنهایی که رنگ نگرفتند) مورد شمارش قرار گرفتند. میزان زنده بودن پروتواسکولکس‌ها، حدود ۹۵ درصد تعیین شد.

ارزیابی فعالیت پروتواسکولکس‌کشی در شرایط آزمایشگاهی: CBD موردنیاز از Yunnan Hansu Biotechnology Co., Ltd (China) و DMSO از Sigma-Aldrich خریداری شد. اثر پروتواسکولکس‌کشی سه غلظت ۱ و ۵ و ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از کانابیدیول در زمان‌های ۱۰، ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه، بر روی پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید، در مقایسه با غلظت ۵

نامعتبر از بیشتر کشورها، ناپایدار است. با این حال، ارقام تخمینی، نرخ بالای استفاده بیشتر از ۱۰ درصد جمعیت را در ۱۹ کشور از ۱۶۳ کشوری که داده‌ها در دسترس بودند، نشان می‌دهد.^{۱۷} علاقه جهانی به بررسی کانابیس، کانابینوئیدها و سیستم اندوکانابینوئید در سال‌های اخیر افزایش یافته است و کشورهای متعددی در سراسر جهان، مقرراتی را وضع کرده‌اند، که اجازه تولید و دسترسی به محصولات مشتق شده از آن را برای اهداف پزشکی می‌دهد. در حالی که تصویب مقررات رسمی در زمینه جهانی، نسبتاً جدید است، خواص دارویی و روان‌گردان این گیاه و مشتقات آن، مدت‌هاست مورد بررسی قرار گرفته است.^{۱۸} کانابیس از بیش از صد و بیست ماده شیمیایی مختلف اما مشابه به نام «کانابینوئید» ساخته شده است؛ که تصور می‌شود از نظر شکل و عملکرد بسیار شبیه به گروهی از مولکول‌های درونی بدن ما باشند، مولکول‌هایی به نام اندوکانابینوئیدها که بخشی از سیستم انتقال پیام عصبی در بدن ما را تشکیل می‌دهند. برای حفظ وضعیت پایدار بدن، سیستم عصبی ما توسط مجموعه‌ای از بخش‌های مختلف کار می‌کند؛ یکی از این بخش‌ها، سیستم اندوکانابینوئید (ECS) نام دارد که با ساز و کاری حاصل از تعامل اندوکانابینوئیدها با دو گیرنده آنها، به نام‌های CB₁ و CB₂، عمل می‌کند. به عبارت دیگر، اندوکانابینوئیدها لیگاند‌های لیپیدی درون‌زا هستند، که با رسپتورهای کانابینوئید نوع یک (CB₁) و نوع دو (CB₂) واکنش می‌دهند. این رسپتورها بیشتر در مغز و کلیه بیان می‌شوند.^{۱۹} برخی از کانابینوئیدها اثر روان‌گردان دارند و برخی خیر. تاکنون شناخته شده‌ترین کانابینوئیدها شامل تتراهیدروکانابینول (THC)، کانابیدیول (CBD) و کانابینول (CBN) هستند. THC فراوان‌ترین و متداول‌ترین کانابینوئید در گیاه و تنها کانابینوئید روان‌گردانی است که در *Cannabis sativa* یافت می‌شود. کانابینوئیدهای غیر روان‌گردان مانند کانابیدیول (CBD)، کانابیگرول (CBG) و کانابی کرومن (CBC) هستند که در مقایسه با اثرات THC بدون مسمومیت‌اند.^{۲۰، ۲۱} مطالعات بالینی انجام شده تأکید می‌کند، که CBD سطح سیتوکین‌های پیش التهابی را کاهش می‌دهد، ازدیاد سلول‌های T را مهار می‌کند، باعث آپوپتوز سلول‌های T می‌شود و مهاجرت و چسبندگی سلول‌های ایمنی را کاهش می‌دهد.^{۲۱} با توجه به این که اثرات ضد انگلی کانابیدیول بر روی انگل‌های مختلفی از جمله مالاریا و تریپانوزومیازیس، مورد توجه قرار گرفته و تا حدودی به اثبات رسیده است^{۲۲، ۲۳}، این کانابینوئید، گزینه مناسبی برای بررسی خاصیت پروتواسکولکس‌کشی به نظر می‌رسد. این مطالعه به منظور مقایسه اثر کانابیدیول به عنوان یکی

یافته‌ها

در این مطالعه میزان از بین رفتن پروتواسکولکس‌های استخراج شده از کبد و ریه‌های آلوده به کیست هیداتید گوسفندان با استفاده از غلظت‌های مختلف کانابیدیول مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از میزان از بین رفتن پروتواسکولکس‌ها در غلظت‌های مختلف، در جدول ۱ آمده است.

نتایج مطالعه نشان داد که میزان کشندگی پروتواسکولکس‌ها در گروه دریافت‌کننده آلبندازول، در زمان ۱۰ دقیقه نسبت به گروه حامل در همین زمان، با افزایش معناداری همراه بوده است ($P < 0/01$). همچنین میزان کشندگی پروتواسکولکس‌ها توسط غلظت $1 \mu\text{g/ml}$ ($P < 0/001$) و $5 \mu\text{g/ml}$ ($P < 0/001$ $P < 0/01$) در زمان ۱۰ دقیقه، به ترتیب نسبت به گروه‌های حامل و آلبندازول، افزایش معناداری را نشان داده است.

روند تغییر در میزان کشندگی در سایر بازه‌های زمانی که در معرض آلبندازول و کانابیدیول در دوزهای $1 \mu\text{g/ml}$ و $5 \mu\text{g/ml}$ و $10 \mu\text{g/ml}$ قرار گرفته‌اند نیز از الگوی بالا تبعیت کرده است، به‌طوری‌که میزان کشندگی در همه غلظت‌های درمانی و در تمام مقاطع زمانی، نسبت به میزان کشندگی در گروه‌های حامل و آلبندازول، با افزایش معناداری همراه بوده است.

مقایسه بین گروهی در گروه‌های دریافت‌کننده کانابیدیول نشان داد که الگوی کشندگی آن یک الگوی وابسته به غلظت است. براین اساس و مطابق با یافته‌های جدول شماره ۱، میزان کشندگی پروتواسکولکس‌ها در غلظت $5 \mu\text{g/ml}$ ، در تمام بازه‌های زمانی [۱۰ و ۳۰ و ۱۲۰ دقیقه ($P < 0/001$)] ۶۰ دقیقه ($P < 0/01$) در مقایسه با غلظت $1 \mu\text{g/ml}$ ، به طور معناداری بیشتر بوده است. همچنین

میزان کشندگی در غلظت $10 \mu\text{g/ml}$ در تمام مقاطع زمانی [۱۰ و ۳۰ و ۱۲۰ دقیقه ($P < 0/001$)] ۶۰ دقیقه ($P < 0/01$) به ترتیب نسبت به غلظت‌های $5 \mu\text{g/ml}$ و $1 \mu\text{g/ml}$ با افزایش معناداری همراه بوده است.

میکروگرم بر میلی‌لیتر آلبندازول، مورد ارزیابی قرار گرفت. از حلال DMSO (دی متیل سولفوکساید) با غلظت یک درصد ($0/1$ میلی‌لیتر DMSO در $9/9$ میلی‌لیتر نرمال‌سالین) استفاده شد. برای آماده‌سازی محلول‌های دارویی شامل آلبندازول و کانابیدیول (CBD)، غلظت‌های موردنظر در حلال DMSO با غلظت یک درصد تهیه و به میزان ۱۰ لاند با محیط حاوی پروتواسکولکس‌ها اضافه شدند. برای رنگ‌آمیزی، از اتوزین $0/1$ درصد ($0/1$ گرم پودر اتوزین در 100 میلی‌لیتر نرمال‌سالین) استفاده شد. به هر کدام از چاهک‌های میکروپلیت، یک میلی‌لیتر از محلول پروتواسکولکس کیست هیداتید حاوی تقریباً 1000 پروتواسکولکس، با کمک سمپلر اضافه شد و به ترتیب غلظت‌های موردنظر از کانابیدیول (CBD) و آلبندازول به چاهک‌ها افزوده شد. گروه شاهد هیچ تیماری را به جز DMSO یک درصد دریافت نکرد. سپس تمامی چاهک‌ها در دمای 37 درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. در زمان‌های ۱۰، 30 ، 60 و 120 دقیقه، به کمک سمپلر و پس از همگن کردن هر چاهک به طور مجزا، 20 لاند از محلول برداشته و روی لام قرار داده و با 20 لاند رنگ اتوزین $0/1$ درصد به کمک لبه لامل مخلوط و روی آن لامل قرار گرفت. پس از 10 دقیقه به کمک میکروسکوپ نوری، نسبت پروتواسکولکس‌های مرده به زنده، تعیین شد. اثر پرواسکولکس‌کشی CBD با داروی آلبندازول مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت. هر آزمایش سه مرتبه تکرار شد و در هر تکرار، ترکیبات مجدداً آماده‌سازی و وسایل مورد استفاده، استریل گردیدند.

آنالیز آماری: داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری Graphpad Prism تجزیه و تحلیل شدند. ابتدا بررسی توزیع نرمال داده‌ها به وسیله آزمون شاپیرو - ویلک انجام شد. در مرحله بعد از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه One-way ANOVA و پس‌آزمون Tukey برای بررسی اختلاف میان گروه‌های مختلف استفاده شد. سپس از آزمون آنالیز واریانس دوطرفه یا Two-way ANOVA و پس‌آزمون Tukey برای بررسی وجود اختلاف معنی‌دار در زمان‌های مختلف استفاده شد. مقادیر کمتر یا مساوی $0/05$ به عنوان شاخص معنی‌دار بودن، در نظر گرفته شد.

جدول ۱: مقایسه اثر پروتواسکولکس کشی کانابیدیول و آلبندازول علیه پروتواسکولکسهای اکینوкокوس

زمان (دقیقه)	کانابیدیول			آلبندازول	کنترل DMSO یک درصد
	۱۰ µg/ml	۵ µg/ml	۱ µg/ml		
۱۰	۳۸/۲۷ ± ۰/۳۳ ** ### ○○○ ◆◆◆	۲۸/۹۸ ± ۰/۴۶ *** ### ○○○	۱۹/۸۵ ± ۰/۳ *** ###	۱۲/۵۵ ± ۰/۲۷ **	۸/۴۶ ± ۰/۴۳
۳۰	۴۱/۹۲ ± ۰/۱ *** ## ○○○ ◆◆◆	۳۲/۴۷ ± ۰/۹۲ *** ### ○○○	۲۲/۶۱ ± ۰/۳۶ *** ###	۱۶/۲۷ ± ۰/۵۸ ***	۸/۷۸ ± ۰/۳۲
۶۰	۴۵/۴۴ ± ۰/۵۱ ** ### ○○○ ◆◆	۳۷/۴۸ ± ۰/۱۸ *** ## ○○○	۲۷/۶۷ ± ۰/۶۳ *** ##	۲۶/۰۸ ± ۰/۱ **	۹/۰۸ ± ۰/۴۴
۱۲۰	۵۱/۰۴ ± ۰/۴۴ *** ### ○○○ ◆◆◆	۴۲/۵۲ ± ۰/۲۹ *** ### ○○○	۳۱/۲۸ ± ۰/۳۳ *** ###	۳۰/۸۲ ± ۰/۵ **	۹/۷۷ ± ۰/۳۶

گرانولوزوس در غلظت‌ها و زمان‌های مختلف، داده‌ها به صورت میانگین و خطای استاندارد بیان شده‌اند.

علامت‌های $P \leq 0.05$ * $P \leq 0.01$ ** و $P \leq 0.001$ *** نشان‌دهنده تفاوت‌های معنادار در مقایسه با گروه کنترل DMSO یک درصد

علامت‌های $P \leq 0.05$ # $P \leq 0.01$ ## و $P \leq 0.001$ ### نشان‌دهنده تفاوت‌های معنادار در مقایسه با گروه آلبندازول

علامت‌های $P \leq 0.05$ ○ $P \leq 0.01$ ○○ و $P \leq 0.001$ ○○○ نشان‌دهنده تفاوت‌های معنادار در مقایسه با غلظت ۱ µg/ml کانابیدیول

علامت‌های $P \leq 0.05$ ◆ $P \leq 0.01$ ◆◆ و $P \leq 0.001$ ◆◆◆ نشان‌دهنده تفاوت‌های معنادار در مقایسه با غلظت ۵ µg/ml کانابیدیول

بحث

فعالیت پروتواسکولکس کشی، بیشتر از اسانس‌ها و عصاره‌ها استفاده شده است. ۲۴، مانند مطالعه محمودوند و همکاران در سال ۲۰۱۶ در بررسی اثر عصاره گیاه زیره سیاه بر روی پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید ۲۵، مطالعه حسینی و همکاران در سال ۱۳۹۶، در بررسی اثر اسانس درمنه دشتی (*Artemisia sieberi*) بر روی پروتواسکولکس‌ها ۲۶، مطالعه سجادی و همکاران در سال ۲۰۰۸ در بررسی اثرات عصاره‌های مختلف سیر (۲۷) (*Allium sativum*)، مطالعه طبری و همکاران در سال ۲۰۱۹ در

یافته‌های به دست آمده از مطالعه حاضر نشان داد که اثر پروتواسکولکس کشی کانابیدیول بر روی پروتواسکولکس‌های کیست هیداتید در غلظت‌های ۱ و ۵ و ۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر، در مقایسه با داروی آلبندازول به طور معناداری بیشتر بوده است. مطالعات متعددی در سال‌های اخیر با استفاده از گیاهان دارویی مختلف بر روی اکینوкокوس گرانولوزوس انجام شده است و برای ارزیابی

گیاه شاهدانه، می‌تواند از رشد بتاهماتین (هموزوئین مصنوعی) و رشد انگل مالاریا جلوگیری کند. البته با توجه به اثرات روان گردانی THC، CBD که از دیگر کانابینوئیدهای اصلی فاقد اثرات روان گردان است، نیز آزمایش شد و آن هم بتاهماتین را مهار میکرد، اما فقط یک فعالیت ضد مالاریا خفیف را نشان داد.^{۳۵}

Andrew J Nok در سال ۱۹۹۴، اثر شاهدانه بر موش های صحرایی آلوده به تریپانوزومیازیس آفریقایی را مورد بررسی قرار داد و بیان کرد که عصاره آبی شاهدانه میتواند با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم در روز، حیوانات آلوده به انگل های Trypanosome brucei brucei را درمان کند.^{۳۶}

یافته های اخیر به دست آمده در سال ۲۰۲۲ در رابطه با اثر CBD بر لیشمانیوز جلدی نشان می دهد که دلتا-۹-تتراهیدروکانابینول دارای بهترین انرژی اتصال با سایت های فعال لیشمانیا و آرژینازهای انسانی است. علاوه بر Delta-۹-THC، کانابیدیول نیز مهار خوبی در برابر لیشمانیا نشان داده است.^{۳۷}

در پاکستان نیز مطالعاتی در رابطه با میزان کشندگی عصاره C. sativa بر روی Rhipicephalus microplus (یکی از انواع کنه های دامی)^{۳۸} و نماتود Meloidogyne incognita^{۳۹} انجام شده است.

در سال ۱۳۹۸ یوسفی و همکاران در مطالعه ای، اثر برون تنی اسانس شاهدانه را، بر روی پروتواسکولکس های کیست هیداتید بررسی کردند. نتایج این مطالعه نشان داد که بعد از ۲ ساعت، غلظت های ۲ μg/ml و ۱۰ μg/ml این اسانس، به ترتیب ۲۰/۹ درصد و ۲۶/۰۸ درصد، اثر کشندگی داشتند. در مقایسه با نتایج مطالعه حاضر، می توان بیان کرد که با توجه به اینکه کانابیدیول، یکی از شناخته شده ترین کانابینوئید های گیاه شاهدانه است، اثر پروتواسکولکس کشی قوی تری هم نسبت به اساس آن دارد.^{۴۰}

کلارا ماریا آلبانی و همکاران در آژانتین اخیراً (۲۰۲۴)، در مطالعه ای اثربخشی in vitro و in vivo کانابیدیول را بر علیه E. granulosus بررسی کردند. این مطالعه که به صورت همسو و تکمیل کننده مطالعه حاضر، ارائه شد، نشان داد که استفاده از ۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر CBD با کاهش ۸۰ درصدی در زنده ماندن پروتواسکولکس ها پس از ۲۴ ساعت همراه بوده است. همچنین اثربخشی دراز مدت کانابیدیول بر وزن کیست های بازبایی شده از موش ها در مقایسه با گروه کنترل مشاهده گردید.^{۴۱} مشابه یافته های مطالعه حاضر، در این مطالعه نیز میزان کشندگی کانابیدیول وابسته به غلظت و زمان، دیده شده است، با این تفاوت که علی رغم مطالعه

بررسی اسانس های شمعدانی عطری (Pelargonium roseum) و باریجه (Ferula gummosa)^{۳۸}، مطالعه زیبایی و همکاران در سال ۲۰۱۲ بر روی عصاره های دو گیاه مرزه خوزستانی (Satureja khuzestanica) و زیتون (Olea europaea)^{۳۹} و یا مطالعه سروسستانی در سال ۲۰۲۱ در بررسی اثر پروتواسکولکس کشی عصاره گزنه (Urtica dioica)^{۳۰}.

در مطالعه حاضر برخلاف سایر مطالعات ذکر شده، به بررسی خواص پروتواسکولکس کشی یکی از کانابینوئیدهای تشکیل دهنده گیاه کانابیس ساتیوا، یعنی کانابیدیول پرداخته شد و مشاهده شد که این کانابینوئید، خواص پروتواسکولکس کشی بیشتری نسبت به داروی استاندارد درمان کیست هیداتید یعنی آلبندازول دارد.

کانابیس ساتیوا در درمان بیماری های مختلفی از جمله روماتیسم و آسم، بیماری های التهابی، بیماری های پوستی و بیماری های قلبی - عروقی مؤثر بود، اما اثرات روان گردان و استفاده تفریحی آن باعث شد که برای مدت طولانی به عنوان یک ماده ممنوعه در نظر گرفته شود.^{۳۱} علاقه علمی به شاهدانه از زمان کشف سیستم اندوکانابینوئید (لیگاند های درون زاء، گیرنده های کانابینوئید و سازوکارهای آنزیمی) در دهه ۱۹۹۰ و اذعان به نقش آن در سلامت و بیماری، به طور قابل توجهی افزایش یافته است.^{۳۲} کانابیدیول (CBD) اصلی ترین کانابینوئید غیر روان گردان موجود در گیاه شاهدانه است و به دلیل فقدان اثرات روان گردان و مشخصات ایمنی آن، کانابینوئید مناسبی برای بررسی اثرات فارماکولوژیک محسوب می شود. از کانابیدیول برای بیماری های مختلف التهابی و عصبی، صرع، ام اس، آرتریت، اسکیزوفرنی و سرطان استفاده می شود.^{۳۳} علاوه بر این، اخیراً استفاده بالقوه CBD در برابر عفونت انگلی برجسته شده است.^{۳۴}

در مطالعه ای برنت و همکاران در برزیل در سال ۲۰۱۵ گزارش کردند که درمان با ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم از CBD به مدت ۷ روز در موش دارای عفونت مغزی با پلاسمودیوم برگه ای، باعث کاهش بار انگل در مغز شده و از نقص حافظه و رفتارهای اضطرابی، جلوگیری می کند.^{۲۳} همچنین مطالعه ای در سال ۲۰۱۸ در دانشگاه ایلورین در نیجریه نشان داد که ترکیبات جدا شده کانابیس مانند کانابیدیول دارای فعالیت ضد مالاریا خفیف تا متوسط در شرایط آزمایشگاهی هستند و میتوانند باعث کاهش قابل توجهی در علائم بیماری شوند.^{۱۷}

در مطالعه ای که در سال ۲۰۲۱ در آفریقای جنوبی انجام شد، گزارش شد که THC (تتراهیدروکانابینول) به عنوان یکی دیگر از کانابینوئیدهای

ارزشمندی برای مطالعات آتی در این زمینه مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی البرز به خاطر تأمین مالی این پژوهش سپاسگزاری می‌شود.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافع اعلام نکرده‌اند.

ملاحظات اخلاقی

این پژوهش در قالب پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد انگل‌شناسی پزشکی در دانشگاه علوم پزشکی البرز با کد اخلاق (کد اخلاق طرح: IR.ABZUMS. REC.۱۴۰۲.۱۳۳) انجام گرفته است.

مشارکت نویسندگان

مهدیس شریفیان زاده: نگارش پروپوزال، جمع آوری داده‌ها

آزاده خلیلی: ارائه طرح، نگارش مقاله

محمد زیبایی: تحلیل داده‌ها، نگارش مقاله

ابوالفضل میاهی پور: ارائه طرح، نگارش مقاله

متن نهایی توسط کلیه نویسندگان بررسی و مورد توافق قرار گرفت.

مهدیس شریفیان زاده و آزاده خلیلی نویسندگان مشترک اول داری

شرایط کاملاً مساوی و برابر در مقاله هستند.

آلبانی و همکاران، مطالعه حاضر اثرات کشندگی کوتاه مدت کانابیدیول را بر پروتواسکولکس‌های انگل نشان داده است. این دو مطالعه در کنار هم میتوانند نتایج تکمیل‌کننده‌ای در رابطه با اثرات کشندگی کانابیدیول بیان کنند.

کانابیدیول اصلی‌ترین کانابینوئید غیر روان‌گردان موجود در گیاه شاهدانه است که تا ۴۰ درصد از عصاره آن را تشکیل می‌دهد (۴۲). باوجود مطالعات متعدد انجام شده و تأثیرات مثبت درمانی کانابیس و کانابیدیول تا به حال، هنوز نیز مطالعات بیشتری برای بررسی اثر پروتواسکولکس‌کشی کانابیدیول، مکانیسم عمل آن و احتمال فعالیت سینرژیستیک آن با داروی استاندارد آلبندازول، ضروری به نظر می‌رسد. امید است باتوجه به منشأ طبیعی این تیمار، مطالعات بیشتر، زمینه استفاده از این ماده را حین اعمال جراحی کیست هیداتید، به‌تنهایی یا همراه با داروی استاندارد فراهم آورد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که کانابیدیول به‌عنوان یکی از کانابینوئیدهای گیاه شاهدانه، در تمام غلظت‌ها، می‌تواند موجب از بین رفتن معناداری در پروتواسکولکس‌ها شود و با افزایش غلظت نیز، رابطه مستقیم دارد. این مطالعه بیان کرد که کانابیدیول می‌تواند به‌عنوان هدف تحقیقاتی

References

- Muller R, Wakelin D. Worms and human disease: CABI; 2002
- Dakkak A. Echinococcosis/hydatidosis: a severe threat in Mediterranean countries. Vet Parasitol. 2010 Nov; 174(1-2): 2-11. doi: 10.1016/j.vetpar.2010.08.009
- Abunna F, Fentaye S, Megersa B, Regassa A. Prevalence of bovine hydatidosis in Kombolcha ELFORA abattoir, North Eastern Ethiopia. 2012.
- Dakkak A. Echinococcosis/hydatidosis: a severe threat in Mediterranean countries. Veterinary Parasitology. 2010; 174(1-2):2-11.
- Hadadian M, Ghaffarifar F, Dalimi ASL A, Roudbar Mohammadi S. Seroepidemiological survey of hydatid cyst by ELISA in Kordestan province. Pathobiology Research. 2008;10:13-8.
- Aliabadi ZA, Berenji F, Abdolmajid F, Jarahi L. Human hydatidosis/echinococcosis in north eastern Iran from 2003–2012. Iranian Journal of Parasitology. 2015; 10(4):658.
- Nasrieh M, Abdel-Hafez S, Kamhawi S, Craig P, Schantz P. Cystic echinococcosis in Jordan: socioeconomic evaluation and risk factors. Parasitology research. 2003; 90(6):456-66.
- Morar R, Feldman C. Pulmonary echinococcosis. European Respiratory Journal. 2003; 21(6):1069-77.
- Shiee MR, Kia EB, Zahabiun F, Naderi M, Motevaseli E, Nekoeian S, et al. In vitro effects of tropisetron and granisetron against Echinococcus granulosus (ss) protoscoleces by involvement of

- calcineurin and calmodulin. *Parasites & Vectors*. 2021; 14(1):1-12.
10. Topcu O, Sumer Z, Tuncer E, Aydin C, Koyuncu A. Efficacy of chlorhexidine gluconate during surgery for hydatid cyst. *World journal of surgery*. 2009; 33(6):1274-80.
11. Tappe, Khosrow Hazrati, Seyyed Javad Mousavi, and Afshin Barazesh. "Prevalence and fertility of hydatid cyst in slaughtered livestock of Urmia city, Northwest Iran." *Journal of Parasitology and Vector biology* 3.2 (2011): 29-32.
12. Todorov, T., et al. "Chemotherapy of human cystic echinococcosis: comparative efficacy of mebendazole and albendazole." *Annals of Tropical Medicine & Parasitology* 86.1 (1992): 59-66.
13. Sadeghi Dehkordi, Ghorbanipour, Sazmand, Garne Khani, Fallah, Mohammad, & Sari. (2023). Optimization of extraction conditions (solvent concentration and extraction time) of aqueous, alcoholic and hydroalcoholic extracts of Khoshariz plant, antioxidant properties and its lethal effect on protoscolexes of hydatid cysts in laboratory conditions. *Iranian Journal of Food Science and Industry*, 19(132), 313-326.
14. Milad Ghorbanipour, Zainab Sadeghi Dehkordi*, Alireza Sazmand, Amir Chaina Garne Khani, Abbas Ali Sari. 1402. Investigating the antioxidant properties and the effect of aqueous, alcoholic and hydroalcoholic extracts of the red bean plant on the inactivation of *Echinococcus granulosus* protoscolex in laboratory conditions. *Nutritional Sciences and Food Industries of Iran* 2. 61-73
15. Small, Ernest, and Arthur Cronquist. "A practical and natural taxonomy for Cannabis." *Taxon* (1976): 405-435.
16. Borhade, Shobha S. "Chemical Composition and Characterization of Hemp (*Cannabis sativa*) Seed oil and essential fatty acids by HPLC Method." *Archives of applied science research* 5.1 (2013): 5-8.
17. Akinola, Olugbenga, et al. "Oral ingestion of Cannabis sativa: risks, benefits, and effects on malaria-infected hosts." *Cannabis and Cannabinoid Research* 3.1 (2018): 219-227.
18. Clarke, Tristyn L., et al. "The endocannabinoid system and invertebrate neurodevelopment and regeneration." *International journal of molecular sciences* 22.4 (2021): 2103.
19. Larrinaga, Gorka, et al. "Expression of cannabinoid receptors in human kidney." *Histology and histopathology* (2010).
20. Silver, Robert J. "The endocannabinoid system of animals." *Animals* 9.9 (2019): 686.
21. Jean Gilles, Lucie, et al. "Effects of pro inflammatory cytokines on cannabinoid CB 1 and CB 2 receptors in immune cells." *Acta Physiologica* 214.1 (2015): 63-74.
22. Land, M. Hunter, et al. "Effect of cannabidiol on the long-term toxicity and lifespan in the preclinical model *Caenorhabditis elegans*." *Cannabis and Cannabinoid Research* 6.6 (2021): 522-527.
23. Campos, Alline Cristina de, et al. "Cannabidiol increases survival and promotes rescue of cognitive function in a murine model of cerebral malaria." *Neuroscience* 289 (2015): 166-180.
24. Jayawardene, KLT Dilrukshi, Enzo A. Palombo, and Peter R. Boag. "Natural products are a promising source for anthelmintic drug discovery." *Biomolecules* 11.10 (2021): 1457.
25. Mahmoudvand, Hossein, et al. "Efficacy and safety of *Bunium persicum* (Boiss) to inactivate protoscoleces during hydatid cyst operations." *Surgical infections* 17.6 (2016): 713-719.
26. Hosseini, M. J., M. R. Yousefi, and M. Abouhosseini. "Comparison of the effect of *Artemisia sieberi* essential oil and albendazole drug on protoscolices of hydatid cyst under in vitro conditions." *Journal of Babol University of Medical Sciences* 19.12 (2017): 63-68.
27. Sadjjadi, Seyed Mahmoud, Mohammad Reza Zoharizadeh, and Mohammad Reza Panjeshahin. "In vitro screening of different *Allium sativum*

- extracts on hydatid cysts protoscoleces.” *Journal of Investigative Surgery* 21.6 (2008): 318-322.
28. Tabari, Mohaddeseh Abouhosseini, et al. “Towards green drugs against cestodes: Effectiveness of *Pelargonium roseum* and *Ferula gummosa* essential oils and their main component on *Echinococcus granulosus* protoscoleces.” *Veterinary parasitology* 266 (2019): 84-87.
 29. Zibaei, Mohammad, et al. “Scolicidal effects of *Olea europaea* and *Satureja khuzestanica* extracts on protoscolices of hydatid cysts.” *The Korean journal of parasitology* 50.1 (2012): 53.
 30. Sarvestani, Amirmehdi, et al. “Scolicidal effects of *Cassia fistula* and *Urtica dioica* extracts on protoscoleces of hydatid cysts.” *Journal of Parasitic Diseases* 45.1 (2021): 59-64.
 31. Takakuwa, Kevin M., and Raquel M. Schears. “A history of the US medical cannabis movement and its importance to pediatricians: science versus politics in medicine’s greatest catch-22.” *Clinical Pediatrics* 58.14 (2019): 1473-1477.
 32. Schofs, Laureano, Mónica D. Sparo, and Sergio F. Sanchez Bruni. “The antimicrobial effect behind *Cannabis sativa*.” *Pharmacology Research & Perspectives* 9.2 (2021): e00761.
 33. Pisanti, Simona, et al. “Cannabidiol: State of the art and new challenges for therapeutic applications.” *Pharmacology & therapeutics* 175 (2017): 133-150.
 34. Argüello-García, Raúl. “*Cannabis sativa*: A source of antiparasitic compounds.” *J. Sci. Tech. Res* 50 (2023): 41701-41707.
 35. de Sousa, Ana Carolina C., et al. “THC shows activity against cultured *Plasmodium falciparum*.” *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 54 (2021): 128442.
 36. Nok, A. J., et al. “The trypanocidal effect of *Cannabis sativa* constituents in experimental animal trypanosomiasis.” *Veterinary and Human Toxicology* 36.6 (1994): 522-524.
 37. Assouab, Aicha, Hajar El Filaly, and Khadija Akarid. “Inhibiting Human and *Leishmania* Arginases Using *Cannabis sativa* as a Potential Therapy for Cutaneous Leishmaniasis: A Molecular Docking Study.” *Tropical Medicine and Infectious Disease* 7.12 (2022): 400.
 38. Nasreen N., Niaz S., Khan A., Zaman M.A., Ayaz S., Naeem H., Khan N., Elgorban A.M. The potential of *Allium sativum* and *Cannabis sativa* extracts for anti-tick activities against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Exp. Appl. Acarol.* 2020;82:281–294.
 39. Mukhtar, Tariq, Muhammad Zameer Kayani, and Muhammad Arshad Hussain. “Nematicidal activities of *Cannabis sativa* L. and *Zanthoxylum alatum* Roxb. against *Meloidogyne incognita*.” *Industrial Crops and Products* 42 (2013): 447-453.
 40. Youssefi, Amir Reza, Mohammad Reza Youssefi, and Mohaddeseh Abouhosseini Tabari. “Comparison of the in vitro effect of *Cannabis sativa* essential oil with albendazole on protoscolices of hydatid cyst.” *Journal of Gorgan University of Medical Sciences* 21.4 (2020): 107-113.
 41. Albani, Clara María, et al. “Anthelmintic Effect of Cannabidiol against *Echinococcus granulosus sensu stricto*.” *Tropical Medicine and Infectious Disease* 9.2 (2024): 35.
 42. Campos, Alline Cristina, et al. “Multiple mechanisms involved in the large-spectrum therapeutic potential of cannabidiol in psychiatric disorders.” *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 367.1607 (2012): 3364-3378.