Journal of Ardabil University of Medical Sciences

Vol. 16, No. 4, Winter 2017, Pages 353-362

Investigation on Ornithine Decarboxylase Activity and Level of Putrescine, Spermidine and Spermine in Hydatid Cyst

Bahrami S[1*], Najafzadeh H[2], Shahriari A[3], Ahmadi S[1], Razi Jalali MH[1]

1. Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
2. Department of Pharmacology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
3. Department of Biochemistry, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Corresponding author. Tel: +986133738636 Fax: +98613336080 E-mail: s.bahrami@scu.ac.ir

Received: Nov 11, 2015 Accepted: Sep 26, 2016

ABSTRACT

Background & objectives: Polyamines such as putrescine, spermidine, and spermine are ubiquitous in all eukaryotic cells and play an essential role in cell division and differentiation. One way of polyamine biosynthesis is done by ornithine decarboxylase (ODC) which catalyzes the transformation of ornithine to putrescine. The aim of the present study was to evaluate the level of putrescine, spermidine and spermine in protoscolices, hydatid fluid and germinal layer and also to evaluate ODC activity.

Methods: In the present study putrescine, spermidine and spermine levels were investigated in germinal layers, hydatid fluids and protoscolices. To evaluate the activity of ODC, protoscolices were incubated with ornithine and changes in polyamines level were assayed. The samples were homogenized and liquid chromatography (HPLC) was used for polyamines measurement.

Results: Based on the results, putrescine was the lowest polyamine and since its level was not increased in protoscolices incubated with ornithine, ODC activity was not detected. Spermidine was the highest polyamine and the results showed that germinal layer contained the highest level of polyamines.

Conclusion: Overall, the results showed that ODC activity was not detected in hydatid cyst and level of polyamines in germinal layers which contained rapidly proliferating cells was higher than other parts.

Keywords: Hydatid cyst; Polyamines; Ornithine Decarboxylase.

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2026-01-01]

بررسی فعالیت آنزیم اورنیتین دکربوکسیلاز و مقادیر پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین در کیست هیداتیک

سمیه بهرامی[1]*، حسین نجف‌زاده وزیری[2]، علی شهریاری[3]، سارا احمدی[1]، محمد حسین راضی جلالی[1]

۱. بخش انگل‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران ۲. بخش فارماکولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران ۳. بخش بیوشیمی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۶۱۳۳۷۳۸۶۳۶ فاکس: ۰۶۱۳۳۳۶۰۸۰ پست الکترونیک: s.bahrami@scu.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: پلی‌آمین‌هایی نظیر پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین در تمامی سلول‌های یوکاریوتی وجود دارند و نقش مهمی را در تقسیم سلولی و تمایز ایفا می‌کنند. یکی از راه‌های بیوسنتز پلی‌آمین‌ها از طریق آنزیم کلیدی اورنیتین دکربوکسیلاز که تبدیل اورنیتین به پوترسین را کاتالیز می‌کند تنظیم می‌شود. هدف از مطالعه حاضر ارزیابی سطح پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین در پروتواسکولکس‌ها، مایع کیست هیداتیک و لایه‌ی ژرمینال و همچنین ارزیابی فعالیت آنزیم اورنیتین دکربوکسیلاز بوده است.

روش کار: در مطالعه حاضر سطح پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین در لایه ژرمینال، مایع کیست هیداتیک و پروتواسکولکس‌ها اندازه‌گیری گردید. همچنین برای ارزیابی فعالیت آنزیم اورنیتین دکربوکسیلاز، پروتواسکولکس‌ها با اورنیتین مجاور شدند و پس از آن مجدداً تغییرات میزان پلی‌آمین‌ها اندازه‌گیری گردید. برای اندازه‌گیری پلی‌آمین‌ها نمونه‌ها هموژنایز شدند و از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) استفاده شد.

یافته‌ها: بر اساس نتایج بدست آمده پوترسین کمترین پلی‌آمین موجود بوده و از آنجا که سطح آن در پروتواسکولکس‌های مجاور شده با اورنیتین افزایش نیافت، فعالیت آنزیم اورنیتین دکربوکسیلاز تشخیص داده نشد. اسپرمیدین بیشترین پلی‌آمین موجود در کیست بدست آمد و لایه ژرمینال نیز بیشترین میزان پلی‌آمین‌ها را داشت.

نتیجه‌گیری: در مجموع نتایج مطالعه حاضر نشان داد که آنزیم اورنیتین دکربوکسیلاز در کیست هیداتیک فعالیتی نداشته و لایه ژرمینال بدلیل داشتن سلول‌های با تکثیر بالا بیشترین میزان پلی‌آمین را به خود اختصاص می‌دهد.

واژه های کلیدی: کیست هیداتیک، پلی‌آمین‌ها، اورنیتین دکربوکسیلاز

دریافت: ۱۳۹٤/۱۲/۲۰ **پذیرش:** ۱۳۹۵/۰۷/۰۵

مقدمه

اکینوکوکوس گرانولوزوس[1] از انگل‌های مهم روده باریک سگ بوده و مرحله‌ی نوزادی آن تحت عنوان کیست هیداتیک نام دارد. کیست هیداتیک یکی از بیماری‌های مشترک انسان و علف خوران می‌باشد و علاوه بر ایجاد بیماری شدید و مرگ احتمالی در انسان، با ایجاد هزینه‌های درمانی و همچنین کاهش فرآورده‌های دامی، موجب خسارات اقتصادی نیز می‌شود [۲،۱]. امروزه این بیماری در سراسر جهان حتی کشورهای توسعه یافته دیده می‌شود. تماس مستقیم با سگ آلوده، خوردن سبزیجات یا علوفه آلوده به تخم انگل از راه‌های انتقال آلودگی می‌باشد. اشکال لاروی انگل در میزبانان واسط به صورت کیست‌های بزرگی در اندام‌های داخلی مخصوصاً کبد و ریه ظاهر می‌شوند [۳]. تشخیص به موقع و درمان کیست هیداتیک در کشورهای در حال توسعه به

[1] *Echinococcus granulosus*

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2026-01-01]

عنوان یک معضل مطرح است. درمان کیست هیداتیک شامل درمان داروئی، جراحی و یا ترکیبی از هر دو است. درمان داروئی مستلزم استفاده درازمدت از داروهای ضد انگل است. جراحی درمان اصلی و تنها راه از بین بردن کامل کیست‌ها است، اما ممکن است عوارض جانبی و خطراتی مثل مرگ یا عود کیست پس از عمل را در پی داشته باشد [٤]. به دلیل خطرات استفاده از داروهای شیمیایی و بروز مقاومت نسبت به این داروها در بسیاری از انگل‌ها از جمله کیست هیداتیک گرایش به مطالعه درمورد درمان‌های جدید رو به افزایش است. اخیراً برای درمان و کنترل برخی از بیماری‌های انگلی، پلی‌آمین‌ها و مسیرهای سنتزشان مورد توجه قرار گرفته‌است. پلی‌آمین‌ها ترکیبات پلی‌کاتیونی کوچک با وزن مولکولی کم هستند که در تمام موجودات زنده وجود دارند. آن‌ها در رشد، بقا و تمایز سلول نقش اساسی دارند. بنابراین شناسایی آن‌ها و مسیرهای سنتزشان می‌تواند در شناخت بیولوژی سلول مهم بوده و نهایتاً بعنوان هدف مناسبی برای کنترل رشد سلول مطرح باشند. اصلی‌ترین پلی‌آمین‌ها در سلول شامل پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین می‌باشند و آنزیم اورنیتین دکربوکسیلاز (ODC) به‌عنوان آنزیم اولیه از طریق تبدیل اورنیتین به پوترسین در سنتز پلی‌آمین‌ها نقش دارد [۵]. مطالعات مختلفی نشان داده است که آنزیم اورنیتین دکربوکسیلاز می‌تواند بعنوان یک هدف مناسب برای شیمی درمانی قرارگیرد [۶]. با علم به مطالب گفته شده مطالعات مختلفی در خصوص شناسایی پلی‌آمین‌ها و مسیرهای سنتزشان در تک‌یاخته‌هایی نظیر *تریپانوزوما*، *لیشمانیا*، پلاسمودیوم و برخی نماتودها صورت گرفته‌است [۹-۷]، اما در جستجوهای بعمل‌آمده مطالعه‌ای در خصوص شناسایی پلی‌آمین‌ها در کیست هیداتیک تک‌حفره‌ای انجام نگرفته است. در نتیجه این مطالعه با هدف بررسی برخی از پلی‌آمین‌ها (پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین) و همچنین بررسی فعالیت آنزیم اورنیتین دکربوکسیلاز در کیست هیداتیک طراحی گردید.

روش کار

جمع آوری کیست‌های هیداتیک

تعدادی کبد گوسفندی دارای کیست هیداتیک از کشتارگاه اهواز جمع‌آوری و به آزمایشگاه انگل‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز منتقل گردید. با تکان دادن لایه زایای کیست هیداتیک پروتواسکولکس‌های چسبیده به آن جدا می‌گردید. از هر کبد آلوده یک میلی‌لیتر پروتواسکولکس (حدود یک میلیون پروتواسکولکس)، یک میلی‌لیتر مایع و یک گرم لایه ژرمینال جمع‌آوری گردید و برای هر مورد حداقل ۱۰ نمونه‌ی مجزا در نظر گرفته شد. برای انجام این مطالعه زنده‌مانی پروتواسکولکس‌ها با استفاده از رنگ ائوزین ۰/۱ درصد بررسی می‌گردید. همچنین جهت بررسی زنده‌مانی پروتواسکولکس‌ها حرکت آن‌ها و زنش سلول شعله آن‌ها درنظر گرفته می‌شد. پس از آن نمونه‌ها با استفاده از دستگاه هموژنایزر، هموژنایز گردیدند. محصول ناشی از هموژنایز تا زمان اندازه‌گیری آمین‌های مورد نظر در فریزر ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگه‌داری شدند.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم اورنیتین دکربوکسیلاز

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم اورنیتین دکربوکسیلاز پروتواسکولکس‌ها با میزان مشخصی از اورنیتین مجاور گردیدند. با توجه به نقش آنزیم اورنیتین دکربوکسیلاز در تبدیل اورنیتین به پوترسین، با اندازه‌گیری پوترسین به‌طور غیر مستقیم تا حدودی می‌توان به فعالیت و یا عدم فعالیت آنزیم مذکور پی‌برد [۱۰]. برای این منظور یک میلیون پروتواسکولکس در یک میلی‌لیتر PBS استریل با pH حدود ۷/٤ در پلیت ریخته شد و پس از آن اورنیتین با غلظت ۵ میکرومولار در اختیار پروتواسکولکس‌ها قرار داده شد. نمونه‌ها به مدت

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2026-01-01]

یک ساعت در ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه گردیدند. پس از انکوباسیون پروتواسکولکس‌ها هموژنایز شده و نهایتاً در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان آزمایش بعدی نگه‌داری شدند. قابل ذکر است که غلظت مناسب اورنیتین و همچنین مدت زمان انکوباسیون در چند آزمایش ابتدایی مشخص گردید. برای این مرحله نیز حداقل ۱۰ نمونه درنظر گرفته شد.

اندازه‌گیری آمین‌ها

برای اندازه‌گیری آمین‌های پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین در پروتواسکولکس‌ها، مایع کیست هیداتیک، لایه ژرمینال و پروتواسکولکس‌های مجاور شده با اورنیتین از روش HPLC[1] بر اساس منبع داوود[2] و همکاران استفاده گردید [۱۱]. برای این منظور استخراج و مشتق‌سازی از نمونه‌ها صورت گرفت. بدین ترتیب که یک میلی‌لیتر از محلول هموژنیزه شده از هر کدام از قسمت‌های ذکر شده کیست با ۸۰۰ میکرولیتر تری‌کلرواستیک اسید ۶ درصد مخلوط گردید. پس از گذشت ۱۰ دقیقه نمونه‌ها سانتریفوژ شدند و مایع رویی آن‌ها جمع‌آوری گردید. حجم مایع جمع‌آوری شده با تری‌کلرواستیک اسید ۶ درصد به ۲ میلی‌لیتر رسانده شد. پس از آن یک میلی‌لیتر سود ۲ نرمال و ۱۰ میکرولیتر بنزیل کلراید به نمونه‌ها اضافه شد. نمونه‌ها ۳۰ دقیقه در انکوباتور ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از انکوباسیون دو میلی‌لیتر نمک اشباع به محلول‌ها اضافه گردید. در مرحله بعد سه میلی‌لیتر دی‌اتیل‌اتر به نمونه‌ها اضافه شد. به مدت ۱۰ دقیقه نمونه‌ها با دور ۳۰۰۰ بر دقیقه سانتریفوژ شدند. در نهایت لایه‌ی آلی بالایی به لوله آزمایش دیگری منتقل شد و در آون با دمای ۷۰ درجه‌ی سانتی‌گراد تا خشک شدن نمونه‌ها قرار داده شد و در نهایت نمونه‌ها تا زمان تزریق به دستگاه HPLC در فریزر قرار داده شدند.

[1] High- Performance Liquid Chromatography
[2] Dawood

کالیبراسیون دستگاه HPLC و رسم منحنی‌های کالیبراسیون

بر اساس پروتوکل‌های موجود، دمای مختلف برای گرم‌خانه و همچنین درصد مختلف فاز متحرک و سرعت فاز متحرک بر روی دستگاه HPLC موجود در آزمایشگاه بررسی شد و پس از چندین روز تزریق نمونه‌های استاندارد و بررسی منحنی خروجی دستگاه، بهترین دمای گرمخانه دستگاه ٤٠ درجه سانتی‌گراد و بهترین جریان فاز متحرک ۱ میلی‌لیتر در دقیقه تعیین گردید. همچنین طول موج مناسب آشکارساز UV برای آشکارسازی آمین‌های پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین ٢٥٤ نانومتر در نظر گرفته شد. با استفاده از فاز معکوس با سیستم ایزوکراتیک، فاز متحرک شامل استونیتریل (٤٢٪) و آب خالص (٥٨٪) بوده و زمان قرائت، ۱۵ دقیقه تعیین شد. برای تعیین مقادیر پلی‌آمین‌های مورد نظر (پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین) رقت‌های مختلفی از استاندارد تهیه شد و از این رقت‌ها به میزان ۲۰ میکرولیتر به دستگاه HPLC تزریق گردید. این تزریق در چندین نوبت و روزهای مختلف تکرار گردید. بر اساس سطح زیر منحنی[3] و غلظت‌های بالای هرکدام از آمین‌ها منحنی استاندارد آن‌ها و معادله خطشان تعیین شد که با استفاده از این معادله خط، مقادیر آمین‌ها در نمونه‌های مورد نظر بدست آمد. برای تزریق نمونه‌ها به دستگاه HPLC نمونه‌ها از فریزر خارج شده و سپس محلول از میکروفیلتر ٠/٤٥ میکرونی عبور داده شد و بعد ۲۰ میکرولیتر از این محلول با سرنگ هامیلتون به دستگاه تزریق شد. در ضمن راندمان[4] دستگاه برای آمین‌های بیوژنیک ۸۵-۷۵ درصد تعیین شد [۹].

[3] Area
[4] Recovery

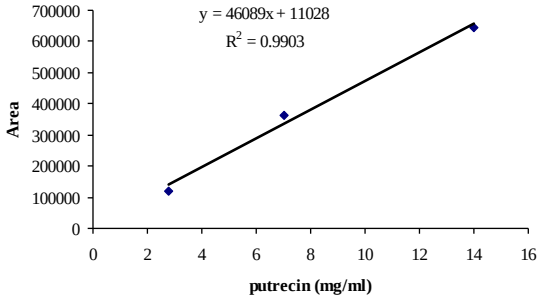
[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2026-01-01]

مطالعه آماری

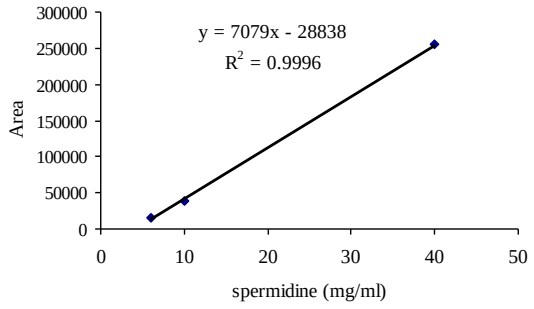
نتایج حاصل از آزمایش‌های مختلف به‌صورت میانگین± انحراف معیار بیان شد. داده‌ها با استفاده از SPSS-16 و آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و پساآزمون توکی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. $p<۰/۰۵$ سطح معنی‌داری درنظر گرفته شد.

یافته‌ها

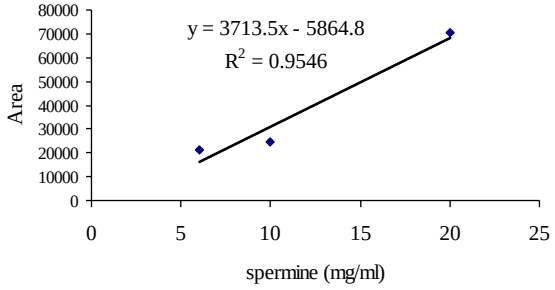
در مطالعه حاضر، سه آمین بیوژنیک پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین در پروتواسکولکس‌ها، مایع کیست هیداتیک، لایه ژرمینال و پروتواسکولکس‌های مجاور شده با اورنیتین به روش HPLC اندازه‌گیری شدند. پس از کالیبراسیون دستگاه HPLC و تزریق غلظت‌های مختلفی از مقادیر استاندارد پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین، بر اساس نرم افزار، منحنی استاندارد و معادله‌های خط به‌دست آمد که به ترتیب در نمودارهای ۱، ۲ و ۳ نشان داده شده است.



نمودار ۱. منحنی استاندارد و معادله خط مربوط به پوترسین

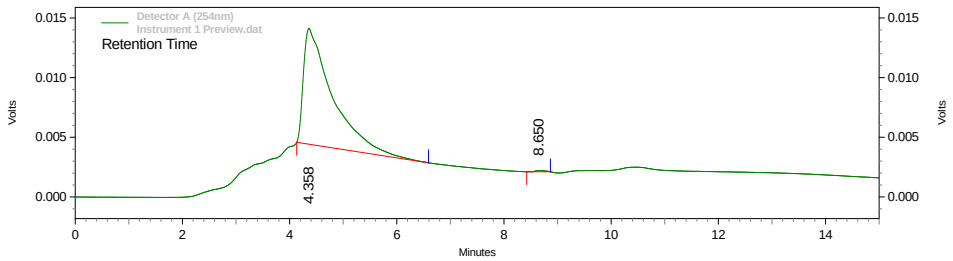


نمودار ۲. منحنی استاندارد و معادله خط مربوط به اسپرمیدین



نمودار ۳. منحنی استاندارد و معادله خط مربوط به اسپرمین

همچنین تصویرهای ۱، ۲ و ۳ به ترتیب کروماتوگراف‌های مربوط به پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین را نشان می‌دهند. همچنین برای مثال کروماتوگراف مربوط به یک نمونه مایع کیست هیداتیک در تصویر ٤ نشان داده شده است.

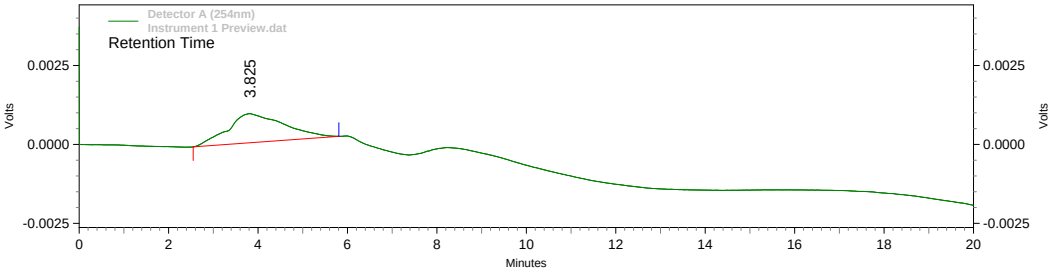


تصویر ۱. کروماتوگراف مربوط به پوترسین

تصویر ۱ کروماتوگراف مربوط به پوترسین را نشان می‌دهد. برای کالیبراسیون دستگاه HPLC و رسم منحنی استاندارد، غلظت های مختلفی از پوترسین به دستگاه تزریق شد تا بر اساس سطح زیر منحنی و

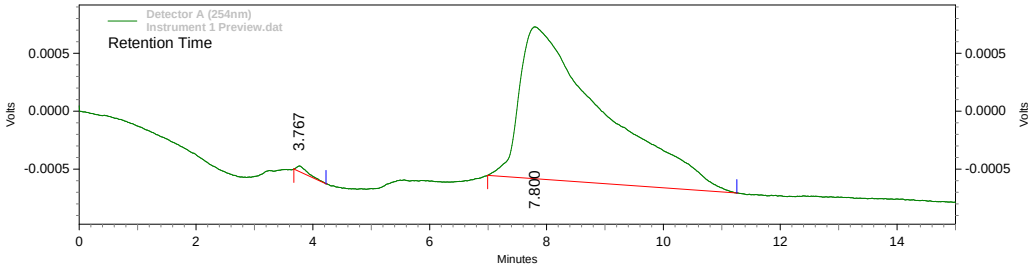
[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2026-01-01]

غلظت‌های تزریق شده معادله منحنی استاندارد تعیین شود. کروموتوگراف فوق یکی از منحنی‌های غلظت های تزریق شده می‌باشد که زمان احتباس برای پوترسین حدود ٤/٤ دقیقه تعیین شد.



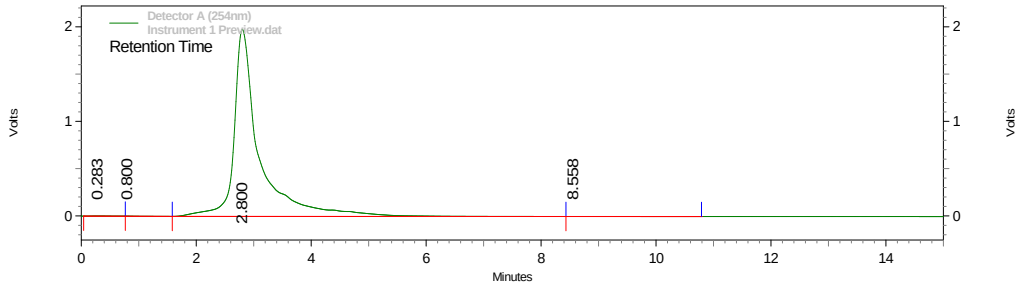
تصویر ۲. کروماتوگراف مربوط به اسپرمیدین

تصویر ۲ کروماتوگراف مربوط به اسپرمیدین را نشان می‌دهد. برای رسم منحنی استاندارد، غلظت های مختلفی از اسپرمیدین به دستگاه تزریق شد تا بر اساس سطح زیر منحنی و غلظت‌های تزریق شده معادله منحنی استاندارد تعیین شود. کروموتوگراف فوق یکی از منحنی های غلظت‌های تزریق شده می‌باشد که زمان احتباس برای اسپرمیدین حدود ۳/۸ دقیقه تعیین شد.



تصویر ۳. کروماتوگراف مربوط به اسپرمین

تصویر ۳ کروماتوگراف مربوط به اسپرمین را نشان می‌دهد. برای رسم منحنی استاندارد، غلظت های مختلفی از اسپرمین به دستگاه تزریق شد تا بر اساس سطح زیر منحنی و غلظتهای تزریق شده معادله منحنی استاندارد تعیین شود. کروموتوگراف فوق یکی از منحنی های غلظت های تزریق شده می باشد که زمان احتباس برای اسپرمین حدود ۷/۸ دقیقه تعیین شد.



تصویر ٤. کروماتوگراف مربوط به یک نمونه مایع کیست هیداتیک

تصویر ٤ کروماتوگراف مربوط به یک نمونه مایع کیست هیداتیک را نشان می‌دهد. بعد از کالیبراسیون دستگاه HPLC نمونه های استخراج و مشتق سازی شده از فیلتر سرنگی عبور داده شدند و به دستگاه

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2026-01-01]

تزریق شدند تا منحنی مربوط به هریک از آمین های کالیبره شده مشخص شود و در صورت شناسایی شدن، مقدار آنها بر اساس سطح زیر منحنی و معادله منحنی استاندارد محاسبه شوند. کروموتوگراف فوق یکی از منحنی های نمونه مایع کیست هیداتیک تزریق شده می‌باشد.

بر اساس نتایج بدست آمده از این مطالعه میزان پوترسین در نمونه‌های مختلف کم‌تر از سایر آمین‌های بیوژنیک بود. در مورد میزان پوترسین در پروتواسکولکس‌های تیمار شده با اورنیتین میزان پوترسین غیرقابل تشخیص بود. با توجه به آن‌که میزان پوترسین در پروتواسکولکس‌های مواجه شده با اورنیتین افزایش معنی‌داری نداشته است میزان فعالیت آنزیم اورنیتین دکربوکسیلاز نیز قابل اندازه‌گیری نبود. اما مقادیر اسپرمیدین و اسپرمین در نمونه‌های مختلف قابل بررسی بود. جدول ۱ میزان آمین‌های بیوژن اسپرمیدین و اسپرمین را در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد. میانگین میزان اسپرمیدین در لایه ژرمینال به شکل معنی‌داری بیش از میزان اسپرمیدین در پروتواسکولکس‌ها بود (p=۰/۰۱)، در حالی‌که در سایر گروه‌ها اختلاف میزان اسپرمیدین معنی‌دار نبود.

کمترین میزان اسپرمین، در مایع کیست هیداتیک وجود داشت و این میزان به لحاظ آماری به شکل معنی‌داری کمتر از اسپرمین موجود در لایه‌ی ژرمینال بود (p=۰/۰۱۲). در لایه‌ی ژرمینال بیشترین میزان اسپرمیدین و اسپرمین وجود داشت.

جدول ۱. میزان آمین‌های بیوژنیک پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین به‌صورت میانگین ± خطای معیار در هر میلی‌لیتر نمونه هموژنایزشده

آمین بیوژنیک	پروتواسکولکس	پروتواسکولکس تیمار شده	مایع کیست هیداتیک	لایه‌ی ژرمینال
پوترسین (mg/ml)	[a]۵/۱۲±۱/۵۶	ND	ND	[a]۱۳/۱۲±٤/۶۲
اسپرمیدین (mg/ml)	[a]۲۳/۱۲±۶/۸۲	[a,b]۷۲/۳±۱۸/۷۲	[a,b]۷۳/٤۹±۲٤/۷	[b]۱۵۶/۷۸±۳۶/۵۶
اسپرمین (mg/ml)	[a,b]٤۰/۲۱±۱۹/٤	[a,b]٤٤/٤۷±۲۱/۱۰	[b]۹/۰۲±۲	[a]۶۹/۳۷±۲۰/۹

حروف غیر متشابه در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی دار آن است. Not detectable (ND): غیر قابل تشخیص

بحث

اخیراً برای درمان و کنترل برخی از بیماری‌های انگلی پلی‌آمین‌ها و مسیرهای سنتزشان مورد توجه قرار گرفته‌است. مشخص شده است که پلی‌آمین‌ها در غلظت‌های پایین برای قابلیت زنده مانی سلول لازم هستند و اینکه سطوح آن‌ها در طی رشد، تمایز و تکثیر سلولی افزایش می‌یابد. پلی آمین‌های رایج شامل پوترسین، اسپرمین و اسپرمیدین هستند که در همه سلول‌ها تقریبا یافت می‌شوند [۱۲]. مطالعات نشان داده است که در آلودگی با *تریپانوزوما بروسه‌ای بروسه‌ای* و یا *تریپانوزوما بروسه‌ای گامبینس* استفاده از دی‌فلورومتیل اورنیتین با جلوگیری از فعالیت آنزیم اورنیتین دکربوکسیلاز و ممانعت از تولید آمین‌های بیوژنیک باعث از بین رفتن انگل و آلودگی می‌گردد [۱۳]. بنابراین توجه به مسیرهای سنتز آمین‌های بیوژنیک می‌تواند از نگاه درمان حائز اهمیت باشد.

از طرف دیگر به طور کلی با توجه به نتایج مطالعات مختلف به‌نظر می‌رسد که میزان و نوع آمین‌های بیوژنیک در کرم‌ها متغیر است. برای مثال گوردون[1] و همکاران با توجه به نتایج مطالعه‌شان به این نتیجه رسیدند که در کرم‌ها بر خلاف پستانداران میزان پوترسین اندک بوده و در عوض از میزان اسپرمیدین و اسپرمین قابل توجهی برخوردار می‌باشند [۱٤].

[1] Gordon

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2026-01-01]

هامانا[1] و همکاران نیز نشان دادند که اسپرمیدین و اسپرمین بیشترین پلی‌آمین در *هیمنولپیس نانا* و *هیمنولپیس دیمینوتا* می‌باشند [۱۵] درحالی‌که میاجی[2] و همکاران گزارش کرده‌اند که در لاروهای *تنیا هیداتیژنا*، *تنیا تنی‌فورمیس*، *تنیا کراسیسپس* و *اکینوکوکوس مولتی‌لوکولاریس* مقدار قابل توجهی از پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین وجود دارد [۱۶]. بنابراین شناسایی آمین‌های بیوژنیک و مسیرهای سنتز آن‌ها در انگل‌ها می‌تواند در خور توجه باشد. در جستجوهای به‌عمل آمده مشخص گردید که تاکنون میزان و نوع آمین‌های بیوژنیک در کیست هیداتیک تک‌حفره‌ای بررسی نشده‌است. در نتیجه این مطالعه با هدف بررسی آمین‌های بیوژنیک که مهمترین آن‌ها پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین می‌باشد و همچنین ارزیابی فعالیت آنزیم اورنیتین دکربوکسیلاز در کیست هیداتیک طراحی گردید.

در مطالعه حاضر میزان پوترسین در پروتواسکولکس‌های تیمار شده و تیمار نشده به ترتیب اندک و غیر قابل تشخیص بوده است. نقش آنزیم اورنیتین دکربوکسیلاز تبدیل اورنیتین به پوترسین می‌باشد [۱۰]. با توجه به عدم تغییر میزان پوترسین در پروتواسکولکس‌های مواجه شده با اورنیتین، بنابراین به‌نظر نمی‌رسد که آنزیم اورنیتین دکربوکسیلاز در تولید پوترسین در کیست هیداتیک نقشی داشته باشد. با توجه به اندک بودن میزان پوترسین در پروتواسکولکس‌های تیمار نشده و عدم افزایش آن در پروتواسکولکس‌های تیمار شده در این ارتباط سه احتمال درنظر گرفته می‌شود.

احتمال اول آن است‌که مسیر سنتز پوترسین از طریق آنزیم اورنیتین دکربوکسیلاز نبوده و درواقع مسیر آگماتین در تولید آن نقش داشته‌است. پوترسین که نام دیگر آن تترا متیلن دیامین[3] است به صورت بیولوژیک از دو مسیر متفاوت که البته هر دو با آرژینین آغاز می‌گردند تولید می‌شود. در یک مسیر آرژینین توسط آنزیم آرژنین دکربوکسیلاز به آگماتین تبدیل شده و پس از آن آگماتین توسط آگماتین ایمینوهیدروکسیلاز به N- کرباموئیل پوترسین تبدیل می‌شود و نهایتاً ان- کرباموئیل پوترسین به پوترسین تغییر می‌یابد. در مسیر دیگر آرژینین به اورنیتین تبدیل شده و بعد اورنیتین توسط آنزیم اورنیتین دکربوکسیلاز به پوترسین تبدیل می‌شود [۱۷].

احتمال دیگر آن است که در تبدیل اورنیتین به پوترسین از آنزیم اورنیتین دکربوکسیلاز میزبان استفاده می‌شود و یا این‌که انگل پوترسین مورد نیازش را از میزبان اخذ می‌کند. چرا که اخذ پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین از محیط کشت در برخی فیلرهای نماتودها اثبات شده‌است [۱۸]. احتمال سوم نیز آن است که پوترسین در کیست هیداتیک فاقد اهمیت می‌باشد. در این صورت مسیر تولید اسپرمیدین و اسپرمین از طریق متیونین می‌باشد. متیونین پس از فسفریله شدن با آدنوزین ترکیب شده و اس آدنوزیل متیونین ایجاد می‌گردد. S- آدنوزیل متیونین توسط S-آدنوزیل متیونین دکربوکسیلاز، دکربوکسیله شده و در نهایت اسپرمیدین و اسپرمین تولید می‌گردد [۱۹]. بنابراین ممکن است با توجه به کم بودن میزان پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین از طریق مسیرهای یاد شده تولید گردد.

در ارتباط با مشخص نمودن آمین‌های بیوژنیک در کیست هیداتیک و یا گونه‌های انگل *اکینوکوکوس* تنها یک مطالعه در دسترس بود. در مطالعه میاجی و همکاران پس از آلوده نمودن موش‌ها به کیست هیداتیک آلوئولار ناشی از انگل *اکینوکوکوس مولتی لوکولاریس*، موش‌ها تحت درمان با آلفا دی فلورومتیل اورنیتین قرار گرفتند. آلفا دی‌فلورومتیل اورنیتین به‌صورت برگشت ناپذیری در سلول‌های

[1] Hamana
[2] Miyaji
[3] Tetramethylenediamine

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2026-01-01]

یوکاریوتی آنزیم اورنیتین دکربوکسیلاز را مهار می‌کند. به موجب این ماده میزان پلی‌آمین‌ها کم شده و بدلیل نقش پلی‌آمین‌ها در تکثیر و تمایز سلولی، از رشد و گسترش سلول جلوگیری می‌شود. پس از درمان موش‌ها، تعداد کیست‌های آلوئولار، وزن و اندازه آن‌ها و همچنین میزان سه پلی‌آمین پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین اندازه‌گیری شد. نتایج مطالعه‌ی مذکور نشان داد که اندازه، تعداد و میزان پلی‌آمین‌ها در گروه درمان شده با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت. در این مطالعه تنها میزان پوترسین به میزان کمی در گروه تحت درمان کاهش یافته بود که این میزان تغییر نیز معنی‌دار نبود. آن‌ها در مجموع به این نتیجه رسیدند که انگل *اکینوکوکوس مولتی‌لوکولاریس* فاقد آنزیم اورنیتین دکربوکسیلاز می‌باشد [۲۰]. مطالعه ذکر شده از این نظر با نتایج مطالعه حاضر همخوانی داشته است. در مطالعه حاضر میزان پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین در لایه ژرمینال بیش از سایر قسمت‌ها بود و همچنین فراوان‌ترین آمین بیوژن در پروتواسکولکس‌ها، مایع کیست هیداتیک و لایه ژرمینال اسپرمیدین تشخیص داده شد. محتوای آمین‌های بیوژنیک در بافت‌های مختلف کاملاً با یکدیگر متفاوت می‌باشند. مطالعات نشان داده‌اند که در سلول‌ها و بافت‌های در حال تکثیر و تمایز میزان آمین‌های بیوژنیک افزایش می‌یابد [۲۱]. این مساله با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد چرا که لایه ژرمینال یک لایه زایا است که سلول‌های آن در حال تکثیر و تمایز می‌باشند. به‌همین دلیل میزان آمین‌های بیوژن در این لایه بالاتر بوده‌است.

نتیجه‌گیری

در مجموع مطالعه حاضر نشان داد که بیشترین آمین بیوژن در قسمت‌های مختلف کیست هیداتیک اسپرمیدین بوده و لایه ژرمینال بیشترین میزان آمین‌های بیوژنیک را داشته‌است. همچنین به نظر نمی‌رسد که در کیست هیداتیک تک حفره‌ای آنزیم اورنیتین دکربوکسیلاز نقش مهمی را در تولید آمین‌های بیوژنیک داشته باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله مراتب تشکر و امتنان خود را از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز که هزینه این تحقیق را درقالب پژوهانه از طریق هزینه‌کرد پایان‌نامه‌های دانشجویان (پایان نامه دکتری عمومی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز) فراهم نموده‌اند، اعلام می‌دارند.

References

1- Altintas N. Past to Present: echinococcosis in turkey. Acta Trop. 2003 Feb; 85(2): 105-112.
2- Budke CM, Deplazes P, Torgerson PR. Global socioeconomic impact of cystic echinococcosis. Emerg Infect Dis. 2006 Feb; 12(2): 296-303.
3- Wen H, New RRC, Craig PS. Diagnosis and treatment of human hydatidosis. Br J Clin Pharmacol. 1993 Jun; 35: 565-574.
4- Adas G, Arikan S, Kemik O, Oner A, Sahip N, Karatepe O. Use of albendazole sulfoxide, albendazole sulfone, and combined solutions as scolicidal agents on hydatid cysts (in vitro study). World J Gastroenterol. 2009 Jan; 15(1): 112-116.
5- Wallace HM, Fraser AV, Hughes A. A perspective of polyamine metabolism. Biochem J. 2003 Nov; 376: 1-14.
6- Pegg AE. Polyamine metabolism and its importance in neoplastic growth and a target for chemotherapy. Cancer Res. 1988 Feb; 48(4): 759-774.

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2026-01-01]

7- Reigada C, Sayé M, Valera Vera E, Balcazar D, Fraccaroli L, Carrillo C, et al. Trypanosoma cruzi polyamine transporter: its role on parasite growth and survival under stress conditions. J Membrane Biol. 2016 Aug; 249(4): 475-481.
8- Roberts SC, Jiang Y, Gasteier J, Frydman B, Marton LJ, Heby O, et al. Leishmania donovani polyamine biosynthetic enzyme overproducers as tools to investigate the mode of action of cytotoxic polyamine analogs. Antimicrob Agents Chemother. 2007 Feb; 51(2):438-45.
9- Dholakia N, Dhandhukia P, Roy N. Screening of potential targets in Plasmodium falciparum using stage-specific metabolic network analysis. Mol Divers. 2015 Nov; 19(4):991-1002.
10- Badolo L, Berlaimont V, Helson-Cambier M, Hanocq M, Dubois J. Simple and rapid enzymatic assay of ornithine decarboxylase activity. Talanta. 1999 Jan; 48(1): 127-134.
11- Dawood AA, Karkalas J, Ray RN, Williams CS. The occurrence of non-volatile amine in chilled-stored Rainbow trout (salmo irideus). Food Chem. 1988 Oct; 27(1): 33-45.
12- Pandey S, Ranande SA, Nagar PK, Kumar N. Role of polyamine and ethylene as modulators of plant senescence. J Biosci. 2002 Sep; 25(3): 291-299.
13- Heby O, Roberts SC, Ullman B. Polyamine biosynthetic enzymes as drug targets in parasitic protozoa. Biochem Soc Trans. 2003 Apr; 31(2): 415-419.
14- Gordon R, Cornect M, Walters BM, Hall DE, Brosnan ME. Polyamine synthesis by the mermithid nematode Romanomermis culicivorax. J Nematol. 1989 Jan; 21(1): 81-6.
15- Hamana K, Sakamoto A, Nishina M, Niitsu M. Polyamine distribution profiles within the phyla Nematoda, plathyhelminths, annelida and cnidarian. Ann Gunma Health Sci. 2006 Dec; 27: 17-25.
16- Miyaji S, Katakura K, Matsufuji S, Murakami Y, Hayashi S, Takami H, et al. Polyamine metabolism in taeniid metacestodes. Japan J Parasitol. 1992 Dec; 41: 327-333.
17- Srivinugopal KS, Adiga PR. Enzymic conversion of agmatine to putrescine in Lathyrus sativus seedlings: Purification and properties of a multifunctional enzyme (putrescine synthase). J Biol Chem. 1981 Sep; 256: 9532-41.
18- Singh RP, Saxena JK, Ghatak S, Shukla OP, Wittich RM, Walter RD. Polyamine metabolism in Setaria cervi, the bovine filarial worm. Parasitol Res. 1989; 75(4): 311-5.
19- Tabor CW, Tabor H. 1,4-Diaminobutane (putrescine), spermidine and spermine. Annu Rev Biochem. 1976; 45: 285-306.
20- Miyaji S, Katakura K, Matsufuji S, Murakami Y, Hayashi S, Oku Y, et al. Failure of treatment with alpha-difluoromethylornithine against secondary multilocular echinococcosis in mice. Parasitol Res. 1993; 79(1): 75-76.
21- Minois N, Carmona-Gutierrez D, Madeo F. Polyamines in aging and disease. Aging. 2011 Aug; 3(8): 716-732.

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2026-01-01]