DOI: 10.22122/jims.v39i650.14607 Published by Vesnu Publications

مجله دانشکده پزشکی اصفهان سال سی و نهم/شماره‌ی ۶۵۰/هفته‌ی دوم بهمن ۱۴۰۰

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۷/۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۹/۴ تاریخ چاپ: ۱۴۰۰/۱۱/۱۴

بررسی آپوپتوز و غیر باروری کیست هیداتیک

مریم رحمانی دهاقانی[۱]، زهرا غیور نجف‌آبادی[۲]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: هیداتیدوز، عفونتی با انتشار جهانی است که توسط کرم‌های جنس اکینوکوکوس ایجاد می‌شود. امروزه جراحی اولین انتخاب درمان کیست هیداتیک است، اما همیشه موفقیت‌آمیز نیست. به تازگی آپوپتوز به عنوان بخش مهمی از ایمنی ذاتی میزبان، در سرکوب انگل‌ها مورد بررسی قرار گرفته است و شاید بتواند راه مطلوبی برای کشتن پروتواسکولکس‌های کیست هیداتیک باشد. پژوهش حاضر با هدف بررسی نقش آپوپتوز در لایه‌ی زایای کیست هیداتیک غیر بارور در مقایسه با کیست بارور که توسط ایمنی میزبان علیه انگل ایجاد می‌شود، طراحی گردید.

روش‌ها: در این مطالعه، از ۶ نمونه‌ی کیست بارور و غیر بارور کبد گاوهای آلوده به هیداتیدوز استفاده شد. به منظور بررسی بیان ژن Fas-L، ابتدا mRNA استخراج و cDNA از لایه‌ی زایا سنتز گردید. بافت سالم کبد هر کیست نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. سپس میانگین بیان ژن در هر نمونه همراه با ژن Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) به عنوان ژن مرجع با استفاده از روش Real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) اندازه‌گیری گردید. قطعه قطعه شدن DNA نیز با روش الکتروفورز مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: میانگین بیان ژن Fas-L در لایه‌ی زایا- کوتیکول کیست‌های غیر بارور در مقایسه با کیست‌های بارور (سه برابر) و بافت سالم میزبان، در سطح بالاتری گزارش شد. قطعه قطعه شدن DNA نیز در کیست‌های غیر بارور مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: افزایش بیان ژن Fas-L و قطعه قطعه شدن DNA در لایه‌ی زایا- کوتیکول کیست‌های غیر بارور در مقایسه با کیست‌های بارور نشان می‌دهد که ممکن است مسیر ایمنی آپوپتوز در غیر بارور شدن کیست‌ها دخیل باشد.

واژگان کلیدی: آپوپتوز؛ هیداتیدوز؛ Fas-L؛ قطعه قطعه شدن DNA

ارجاع: رحمانی دهاقانی مریم، غیور نجف‌آبادی زهرا. **بررسی آپوپتوز و غیر باروری کیست هیداتیک.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۰؛ ۳۹ (۶۵۰): ۸۸۳-۸۸۸.

مقدمه

هیداتیدوز نوعی عفونت انگلی است که در مرحله‌ی لاروی کرم اکینوکوکوس گرانولوزوس ایجاد می‌شود و به عنوان یک بیماری زئونوز مهم در علم پزشکی و دام‌پزشکی مطرح است. این بیماری از یک سو خسارت‌های اقتصادی قابل توجهی را به جامعه تحمیل می‌نماید و از سوی دیگر، سبب ضررهای مادی به بیماران مبتلا و کاهش نیروی انسانی می‌گردد (۲-۱). اگرچه کنترل این عفونت بسیار آسان و ساده است، اما هنوز به عنوان یک مشکل بهداشتی و پزشکی قابل توجه در بسیاری از نواحی جنوبی و شمالی کره‌ی زمین مطرح می‌باشد (۳).

کرم بالغ در روده‌ی کوچک میزبان نهایی (سگ و سگ‌سانان) تخم‌هایی ایجاد می‌کند که بعد از خوردن تخم توسط میزبان واسط (انسان و علف‌خواران)، مرحله‌ی لاروی در ارگان‌های داخلی (اغلب کبد و ریه) رشد و تکامل می‌یابد. کیست هیداتیک، کیسه‌ای چند جداره و پر از مایع است که از خارج به داخل از دو لایه‌ی مشتق از انگل، یکی لایه‌ی مطبق خارجی و یک لایه‌ی زایای هسته‌دار داخلی که توسط یک لایه‌ی فیبروز مشتق از میزبان محاط شده‌اند، تشکیل شده است. پروتواسکولکس‌ها که اشکال تکاملی برای میزبان نهایی می‌باشند، بر روی لایه‌ی زایا در کیست‌های بارور مشاهده می‌شوند. دو نوع کیست در میزبان واسط مشاهده شده

۱- گروه انگل‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- استادیار، گروه انگل‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: زهرا غیور نجف‌آبادی: استادیار، گروه انگل‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: z_ghayour@yahoo.com

است؛ کیست بارور حاوی پروتواسکولکس و کیست غیر بارور که به دلیل عدم تولید پروتواسکولکس، قادر به ادامه‌ی سیکل زندگی انگل نیست (۱).

لایه‌ی زایا به علت تجمع آنتی‌ژن‌ها، نقش مهمی در تحریک پاسخ‌های ایمنی متقابل بین انگل و میزبان دارد. نتایج مطالعات نشان داده است که میزان آنتی‌بادی‌های اختصاصی لایه‌ی زایای کیست‌های غیر بارور، بسیار بالاتر از کیست‌های بارور است که در واقع، آنتی‌بادی‌ها به سلول‌های تکثیری لایه‌ی زایا متصل و منجر به آپوپتوز و عدم توانایی این لایه برای تولید پروتواسکولکس‌ها می‌شود. همچنین، ماکروفاژهای فعال شده توسط سیتوکین‌های Th_1 ممکن است منجر به آپوپتوز و غیر بارور شدن کیست‌ها شوند (۴). از مسیرهای جدید و ناشناخته‌ی ایمنی ذاتی میزبان علیه کیست هیداتیک، می‌توان به مسیر Toll-like Receptor (TLR) و آپوپتوز اشاره کرد (۶-۵). به تازگی آپوپتوز به عنوان بخش مهمی از ایمنی ذاتی میزبان در سرکوب انگل‌ها مورد بررسی قرار گرفته است (۷).

آپوپتوز نوعی مرگ سلولی است که سبب تغییرات مورفولوژیکی شامل کوچک و جمع شدن سلول، تراکم کروماتین، از هم گسیختگی هسته (قطعه قطعه شدن DNA)، جوانه زدن غشای پلاسمایی و ایجاد اجسام آپوپتوزی در سلول‌هایی که متحمل مرگ آپوپتوزی شده‌اند، می‌شود (۸). به طور کلی، مسیرهای درگیر در تحریک فرایند آپوپتوز به دو گروه مسیر داخلی و مسیر خارجی یا مسیر گیرنده‌های مرگ تقسیم می‌شوند که این مسیر اعضای ابرخانواده‌ی Tumor necrosis factor (TNF) است و یکی از شناخته‌ترین آن‌ها CD_{95}/Fas می‌باشد. زمانی که این گیرنده‌ها توسط مولکول‌های مربوط یا لیگاندها تحریک شوند، سبب فعال شدن کاسپازها و القای آپوپتوز می‌گردند. Fas-L (Fas لیگاند) القاکننده‌ی آپوپتوز در مسیر خارجی است که مهم‌ترین نقش را در این پدیده ایفا می‌کند. Fas-L بر روی انواع مختلفی از سلول‌های طبیعی و نابالغ انسان بروز می‌یابد و به رده‌ی خاصی اختصاص ندارد (۱۲-۹). یکی از نشانه‌های بارز آپوپتوز سلول‌ها، قطعه قطعه شدن DNA است که به دنبال فعال شدن کاسپازها در مرحله‌ی پایانی این مسیر به وجود می‌آید. قطعه قطعه شدن DNA به روش‌های Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling (TUNEL) و DNA Ladder قابل اندازه‌گیری است (۱۵-۱۳).

تحقیقات در زمینه‌ی آپوپتوز در انگل اکینوکوکوس در مقایسه با سایر عوامل انگلی محدود می‌باشد. بنابراین، مهم است که فرایند و نقش آپوپتوز که توسط سلول میزبان ایجاد و یا کنترل می‌شود، کشف و شناسایی گردد. پژوهش حاضر به منظور تعیین این که آیا مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی سلولی رخ می‌دهد یا نقش مهمی در تعدیل تولید پروتوسکولکس در لایه‌ی زایشی کیست هیداتیک دارد، طراحی شد. نتایج به دست آمده با این ایده مطابقت دارد که شاید آپوپتوز در عدم تولید پروتوسکولکس‌ها نقش دارد و منجر به ناباروری کیست هیداتیک می‌شود.

روش‌ها

این مطالعه با کد اخلاق IR.MUI.REC.1394.3.906 در آزمایشگاه انگل‌شناسی دانشکده‌ی پزشکی اصفهان انجام شد.

جمع‌آوری کیست‌ها: با مراجعه به کشتارگاه فساران اصفهان، کبدهای آلوده به کیست هیداتیک گاوی به آزمایشگاه انگل‌شناسی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انتقال داده شد. جهت مشخص کردن بارور یا غیر بارور بودن کیست‌ها، مایع کیست از نظر وجود یا عدم وجود پروتواسکولکس بررسی گردید. استخراج DNA با استفاده از کیت Genet Bio (کره‌ی جنوبی) مخصوص نمونه‌های بافت طبق دستورالعمل کیت انجام و نوع ژنوتایپ با روش High-Resolution Melting (HRM) بررسی شد (۱۶). سپس برای بررسی میانگین بیان ژن Fas-L در لایه‌ی زایا- کوتیکول کیست‌های بارور و غیر بارور، قطعه‌ای از لایه‌ی زایا- کوتیکول در شرایط استریل و همچنین، بافت سالم کبد هر کیست به عنوان شاهد، به کمک تیغه‌ی بیستوری و پنس استریل برش زده و در میکروتیوب حاوی ۵۰۰ میکرولیتر از RNA Later جمع‌آوری شد.

استخراج RNA و سنتز cDNA از لایه‌ی زایا- کوتیکول کیست‌های بارور و غیر بارور: ۵۰-۲۰ میلی‌گرم از قطعه‌ی بافت نگهداری شده در محلول RNA Later وزن گردید و به هاون RNase Free دارای کاغذ آلومینیوم نازک انتقال داده شد. سپس مقداری نیتروژن مایع (ازت) روی نمونه ریخته شد و پس از انجماد کامل و سخت شدن بافت، بافت مورد نظر با دسته‌ی هاون کوبیده و به طور کامل همگن شد. بقیه‌ی مراحل طبق دستورالعمل کیت استخراج RNA (Jena Bioscience PP-210S) انجام و بلافاصله سنتز cDNA با کیت سنتز cDNA فرمنتاز (Fermentas, #k1621) در دو مرحله انجام گردید.

Real-time polymerase chain reaction (RT-PCR): توالی ژن‌های Fas-L و Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) از سایت http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene گرفته و طراحی پرایمر اختصاصی با استفاده از برنامه‌های Gene Runner و OligoAnalyzer انجام شد. با استفاده از سایت National Center for Biotechnology Information (NCBI)، عدم اتصال پرایمرها به توالی‌های غیر اختصاصی، BLAST شدند. ژن GAPDH در مطالعه‌ی حاضر به عنوان ژن مرجع و یا Housekeeping مورد استفاده قرار گرفت.

برای انجام آزمایش RT-PCR، از کیت SYBR Green (Ampliqon, A325402) استفاده شد. ۱۰ میکرولیتر Master Mix و ۱/۵ میکرولیتر cDNA و ۱ میکرولیتر از پرایمر رفت (F- TGTGTCTCCTTGTGATGTTTTTC) و ۱ میکرولیتر از پرایمر برگشت (R-AGATGATGCTGTATGCCTTTG) با ۶/۵ میکرولیتر آب مقطر مخلوط گردید و داخل دستگاه ترموسایکلر RT-PCR (شرکت ABI، آمریکا) قرار داده شد و طبق برنامه‌ی دمایی، ۱۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد، یک سیکل و ۹۵ و ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به ترتیب ۱۵ و ۶۰ ثانیه در ۴۰ سیکل تنظیم شد. در این مرحله برای هر نمونه سه بار تکرار صورت گرفت و از cDNA بافت سالم کبد هر کیست به عنوان شاهد منفی استفاده شد. پس از انجام واکنش، میزان Cycle threshold (CT) نمونه‌ها با استفاده از دستگاه به صورت مقادیر کمی اندازه‌گیری گردید.

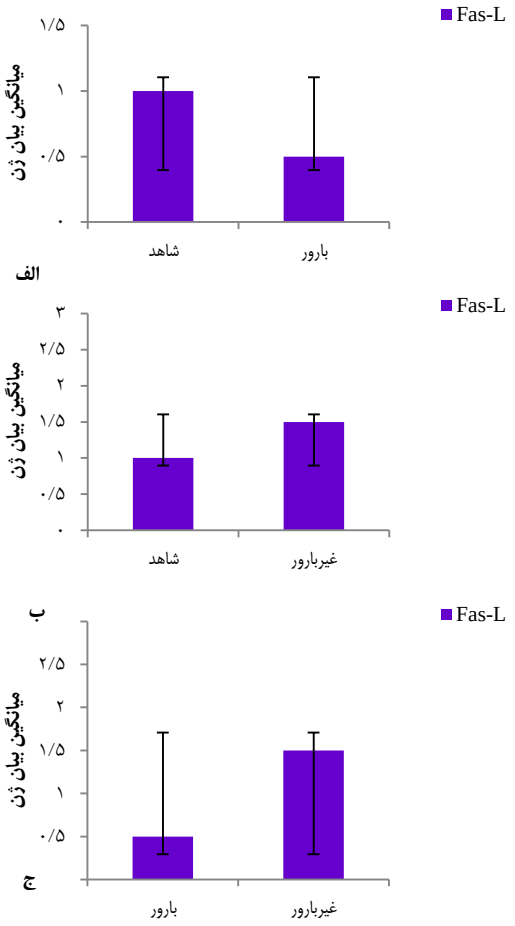
قطعه قطعه شدن DNA: به منظور بررسی قطعه قطعه شدن DNA، الکتروفورز DNA لایه‌ی زایا- کوتیکول کیست‌های غیر بارور و بارور انجام شد. پس از استخراج DNA از لایه‌ی زایا- کوتیکول کیست‌ها، ژل آگارز ۰/۸ درصد برای الکتروفورز DNAها تهیه گردید. الکتروفورز نمونه‌ها با ولتاژ ۸۰ در ۹۰ دقیقه صورت گرفت. سپس ژل در داخل دستگاه ترانس‌لومیناتور قرار داده شد و باندهای ایجاد شده مشاهده گردید.

آنالیز نتایج واکنش RT-PCR به منظور بررسی اختلاف میان بیان ژن‌های Fas-L و نمونه‌ی شاهد با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ و نرم‌افزارهای REST (version 2.0.13, 2009) و SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version 20, IBM Corporation, Armonk, NY) با استفاده از آزمون One-way ANOVA و سطح معنی‌داری ۰/۰۵ انجام شد.

یافته‌ها

نتایج بررسی ژنوتایپ نشان داد که همه‌ی ژنوتایپ کیست‌های بارور و غیر بارور از نوع G1 بودند. بیان ژن پروآپوپتوز Fas-L به عنوان یک القاکننده‌ی آپوپتوز در لایه‌ی زایا- کوتیکول کیست‌های بارور نسبت به بافت سالم میزبان (شاهد منفی) کمتر بود (شکل ۱، قسمت الف)، اما بیان ژن Fas-L لایه‌ی زایا- کوتیکول کیست‌های غیر بارور نسبت به بافت سالم میزبان بالاتر بود (شکل ۱، قسمت ب). به عبارت دیگر، بیان ژن Fas-L در لایه‌ی زایا- کوتیکول کیست‌های غیر بارور نسبت به کیست بارور ۳ برابر بود، اما معنی‌دار نبود (شکل ۱، قسمت ج).

قطعه قطعه شدن DNA: قطعات DNA بافت آپوپتوز شده، پس از تفکیک به وسیله‌ی الکتروفورز بر روی ژل آگارز، الگوی نردبانی مشخصی را ایجاد می‌کنند که در نمونه‌های لایه‌ی زایا- کوتیکول کیست‌های غیر بارور الگوی نردبانی مشاهده شد.



شکل ۱. مقایسه‌ی میانگین بیان ژن Fas-L در گروه بارور و بافت سالم (الف)، مقایسه‌ی میانگین بیان ژن Fas-L در گروه غیر بارور و بافت سالم (ب) و مقایسه‌ی میانگین بیان ژن Fas-L در گروه بارور و غیر بارور (ج)

بحث

در پژوهش حاضر، میانگین بیان ژن Fas-L به عنوان یک القاکننده‌ی آپوپتوز در لایه‌ی زایا- کوتیکول در کیست‌های غیر بارور در مقایسه با کیست بارور و بافت سالم میزبان نزدیک کیست‌ها به‌دست آمد. نتایج نشان داد که میزان بیان Fas-L کیست‌های غیر بارور در مقایسه با کیست‌های بارور و گروه شاهد بالاتر می‌باشد. مسیر Fas-L یک مسیر مشخص آپوپتوز است که تکثیر سلول و ترمیم بافت را رهبری می‌کند. با اتصال Fas-L به Fas، سیگنال فعالیت آپوپتوز سلول شروع می‌شود (۱۷-۱۸). مطالعه‌ی Spotin و همکاران نشان داد که شدت مولکول‌های القاکننده‌ی آپوپتوز TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) و Fas-L در لایه‌ی زایا- کوتیکول کیست‌های غیر بارور در مقایسه با کیست بارور و بافت اطراف کیست‌ها در سطح نسبتاً بالایی قرار دارد (۱۹) که با یافته‌های تحقیق حاضر همخوانی داشت و به نظر

می‌رسد آپوپتوز ایجاد شده توسط Fas-L، ممکن است نقش مهمی در ناباروری کیست‌های بارور داشته باشد.

اگرچه گاوها میزبان حساس برای عفونت با تخم اکینوکوکوس گرانولوزوس می‌باشند، اما اغلب کیست‌ها در گاو غیر بارور است و پروتواسکولکس‌ها در آن‌ها به وجود نمی‌آید. در مقابل، در گوسفند بیشتر کیست‌ها بارور هستند. فرض بر این است که این اختلاف ممکن است ناشی از تنوع استرین انگل باشد (۲۰)، اما گزارش‌هایی مبنی بر وجود کیست‌های بارور و غیر بارور از یک ژنوتیپ ارایه شده است. نتایج به دست آمده از ژنوتایپ لایه‌ی زایا- کوتیکول کیست‌های بارور و غیر بارور در پژوهش حاضر مشخص کرد که ژنوتایپ تمامی کیست‌ها G1 است. بنابراین، بارور و غیر بارور بودن کیست‌ها به ژنوتایپ انگل بستگی ندارد و احتمالاً می‌تواند مربوط به وضعیت سیستم ایمنی میزبان باشد. G_1 استرینی است که در گاو، گوسفند و انسان ایجاد کیست می‌کند. این که یک استرین می‌تواند در میزبان‌های متفاوت، کیست‌های بارور و غیر بارور ایجاد نماید، شاید ناشی از ایمنی طبیعی میزبان‌ها است که از رشد و تکامل پروتواسکولکس جلوگیری می‌کند وکیست غیر بارور می‌گردد (۲۱).

یکی از نشانه‌های بارز آپوپتوز سلول‌ها، قطعه قطعه شدن DNA است. بنابراین، به منظور تأیید آپوپتوز انجام شده در لایه‌ی زایا- کوتیکول کیست‌های غیر بارور در مقایسه با کیست‌های بارور توسط سیستم ایمنی میزبان، قطعه قطعه شدن DNA از طریق الکتروفورز DNA لایه‌ی زایا- کوتیکول کیست‌های غیر بارور و بارور بررسی شد. بررسی نتایج قطعه قطعه شدن DNA در مطالعه‌ی حاضر نشان داد که این پدیده در کیست‌های غیر بارور بیش از کیست بارور می‌باشد که با تحقیقات دیگر (۲۳-۲۲) همخوانی دارد. نتایج پژوهش Cabrera و همکاران نشان داد که در مرگ پروتواسکولکس‌ها و آپوپتوز لایه‌ی زایا که منجر به غیر بارور شدن کیست شده است، میزان آسیب DNA بیشتر از ترمیم آن می‌باشد (۲۲). همچنین، نتایج مطالعات Paredes و همکاران حاکی از آن بود که افزایش میزان فعالیت کاسپاز ۳، ایمنوگلوبولین G (Immunoglobulin G یا IgG) و قطعه قطعه شدن DNA در لایه‌ی زایا- کوتیکول کیست غیر بارور در مقایسه با کیست بارور بالاتر بوده است (۲۴-۲۳). در تحقیق حاضر، میانگین بیان Fas-L در کیست غیر بارور، سه برابر کیست بارور گزارش گردید. علاوه بر این، قطعه قطعه شدن DNA نیز که یکی از مکانیسم‌های اپوپتوز می‌باشد که در کیست غیر بارور مشاهده شد. در پژوهش Spotin و همکاران، علاوه بر Fas-L، مولکول TRAIL نیز اندازه‌گیری شده که در کیست غیر بارور بالاتر از کیست بارور بوده است (۱۹). نتایج مطالعات مذکور (۲۴-۲۲، ۱۹) و بررسی حاضر بیان‌کننده‌ی این مطلب است که حضور واکنش‌های فوق می‌تواند مانع تکثیر و تمایز سلول‌ها در تشکیل پروتواسکولکس و عامل آپوپتوز و در نهایت، غیر باروری کیست‌ها شوند. ضمن این که نتایج نشان می‌دهد که مکانیسم و مولکول‌های دخیل در بروز آپوپتوز، توسط سیستم ایمنی میزبان اعمال می‌شود که البته در این زمینه تحقیقات بیشتری لازم است.

امروزه جراحی اولین درمان انتخابی کیست هیداتیک است، اما در بیماران با چندین کیست در ارگان‌های مختلف یا بیماران با شرایط فیزیکی نامناسب، این روش همیشه سودمند نیست و منجر به عود موضعی یا تشکیل کیست‌های ثانویه می‌شود. حدود ۲۰ درصد بیماران مبتلا به هیداتیدوز، با علایم آلرژیک شامل ادم، تنگی نفس و شوک آنافیلاکتیک در نتیجه‌ی پاره شدن خود به خودی یا تحریکی کیست‌ها همراه هستند. علاوه بر این، وجود پروتواسکولکس و آنتی‌ژن‌های سیکلوفیلین، آنتی‌ژن B، آنتی‌ژن ۵ و فاکتور طویل‌کننده‌ی ۱-بتا/ دلتا در کیست هیداتیک بارور، در ایجاد واکنش‌های آنافیلاکتیک در حین جراحی کیست نقش مهمی دارند (۲۵). بنابراین، وجود مکانیسم‌هایی که بتواند به طور درون‌تنی سبب نابارور کردن کیست‌ها شود، ضروری به نظر می‌رسد و آپوپتوز شاید راه مطلوبی برای کشتن پروتواسکولکس‌های کیست هیداتیک باشد (۲۵). نتایج مطالعات نشان داده است که استفاده از اشعه‌ی گاما و داروهای H_2O_2 و دگزامتازون، قادر به القای آپوپتوز در کیست هیداتیک و پروتواسکولکس‌ها می‌باشند. این یافته‌ها حاکی از آن است که آپوپتوز کیست‌های بارور ممکن است یکی از مکانیسم‌های تضعیف انگل توسط سیستم ایمنی میزبان باشد (۲۷-۲۶).

در پاسخ به این سؤال که آیا می‌توان از آپوپتوز به عنوان یک هدف درمانی استفاده کرد؟ می‌توان گفت که بررسی داروهای القای آپوپتوز، یک فرصت درمانی برای درمان بیماری‌های انگلی است که می‌تواند منجر به کاهش مرگ غیر قابل قبول این بیماری‌ها شود (۳۰-۲۸).

نتیجه‌گیری

تحقیقات بیشتر در ارتباط با مکانیسم آپوپتوز پروتواسکولکس‌ها، تئوری درمان جدید بیماری هیداتیک را در آینده پیشرفت می‌دهد. بنابراین، انجام پژوهش‌های بیشتر جهت شناسایی وجود مکانیسم‌هایی که منجر به غیر بارور شدن کیست‌ها در بدن میزبان می‌شوند، ضروری به نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

مطالعه‌ی حاضر برگرفته از پایان‌نامه‌ی مقطع کارشناسی ارشد رشته‌ی انگل‌شناسی با شماره‌ی ۳۹۴۹۰۶، مصوب دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد. بدین وسیله از همکاری معاونت پژوهش و فن‌آوری و مسؤولان بخش انگل‌شناسی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه و کشتارگاه فساران اصفهان تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References

1. Sadjjadi SM. Present situation of echinococcosis in the Middle East and Arabic North Africa. Parasitol Int 2006; 55(Suppl): S197-S202.
2. Conchedda M, Bortoletti G, Ecca AR, Gabriele F, Palmas C. Study on immunobiology in endoparasites of public health interest: Echinococcosis-hydatidosis. Parassitologia 2001; 43 Suppl 1: 11-9.
3. Eckert J, Deplazes P. Biological, epidemiological, and clinical aspects of echinococcosis, a zoonosis of increasing concern. Clin Microbiol Rev 2004; 17(1): 107-35.
4. Rogan MT, Bodell AJ, Craig PS. Post-encystment/established immunity in cystic echinococcosis: Is it really that simple? Parasite Immunol 2015; 37(1): 1-9.
5. Formigli L, Conti A, Lippi D. "Falling leaves": A survey of the history of apoptosis. Minerva Med 2004; 95(2): 159-64.
6. Kanan JH, Chain BM. Modulation of dendritic cell differentiation and cytokine secretion by the hydatid cyst fluid of Echinococcus granulosus. Immunology 2006; 118(2): 271-8.
7. Verbrugge I, de VE, Tait SW, Wissink EH, Walczak H, Verheij M, et al. Ionizing radiation modulates the TRAIL death-inducing signaling complex, allowing bypass of the mitochondrial apoptosis pathway. Oncogene 2008; 27(5): 574-84.
8. Ola MS, Nawaz M, Ahsan H. Role of Bcl-2 family proteins and caspases in the regulation of apoptosis. Mol Cell Biochem 2011; 351(1-2): 41-58.
9. Solodeev I, Meilik B, Volovitz I, Sela M, Manheim S, Yarkoni S, et al. Fas-L promotes the stem cell potency of adipose-derived mesenchymal cells. Cell Death Dis 2018; 9(6): 695.
10. Wang M, Su P. The role of the Fas/FasL signaling pathway in environmental toxicant-induced testicular cell apoptosis: An update. Syst Biol Reprod Med 2018; 64(2): 93-102.
11. Zhu J, Petit PF, Van den Eynde BJ. Apoptosis of tumor-infiltrating T lymphocytes: a new immune checkpoint mechanism. Cancer Immunol Immunother 2019; 68(5): 835-47.
12. Yajima T, Hoshino K, Muranushi R, Mogi A, Onozato R, Yamaki E, et al. Fas/FasL signaling is critical for the survival of exhausted antigen-specific CD8(+) T cells during tumor immune response. Mol Immunol 2019; 107: 97-105.
13. Huerta S, Goulet EJ, Huerta-Yepez S, Livingston EH. Screening and detection of apoptosis. J Surg Res 2007; 139(1): 143-56.
14. Kitazumi I, Tsukahara M. Regulation of DNA fragmentation: The role of caspases and phosphorylation. FEBS J 2011; 278(3): 427-41.
15. Majtnerova P, Rousar T. An overview of apoptosis assays detecting DNA fragmentation. Mol Biol Rep 2018; 45(5): 1469-78.
16. Mohaghegh MA, Yousefi-Darani H, Azami M, Ghomashlooyan M, Hashemi N, Jabalameli Z, et al. Analysis of the cox1 gene in Echinococcus granulosus from sheep in northeast Iran using PCR high-resolution melting (qPCR-HRM) curve analysis. Trop Biomed 2018; 35(1): 91-9.
17. Yang R, Xu S, Zhao Z, Li J. Fas ligand expression and mediated activation of an apoptosis program in bovine follicular granulosa cells. Gene 2012; 493(1): 148-54.
18. Zeghir-Bouteldja R, Amri M, Bouaziz S, Mezioug D, Touil-Boukoffa C. Comparative study of nitric oxide (NO) production during human hydatidosis: relationship with cystic fluid fertility. Parasitol Res 2013; 112(2): 649-54.
19. Spotin A, Majdi MM, Sankian M, Varasteh A. The study of apoptotic bifunctional effects in relationship between host and parasite in cystic echinococcosis: A new approach to suppression and survival of hydatid cyst. Parasitol Res 2012; 110(5): 1979-84.
20. Moro P, Schantz PM. Echinococcosis: a review. Int J Infect Dis 2009; 13(2): 125-33.
21. Zhang W, Li J, McManus DP. Concepts in immunology and diagnosis of hydatid disease. Clin Microbiol Rev 2003; 16(1): 18-36.
22. Cabrera G, Cabrejos ME, Morassutti AL, Cabezon C, Orellana J, Hellman U, et al. DNA damage, RAD9 and fertility/infertility of Echinococcus granulosus hydatid cysts. J Cell Physiol 2008; 216(2): 498-506.
23. Paredes R, Jimenez V, Cabrera G, Iraguen D, Galanti N. Apoptosis as a possible mechanism of infertility in Echinococcus granulosus hydatid cysts. J Cell Biochem 2007; 100(5): 1200-9.
24. Paredes R, Godoy P, Rodriguez B, Garcia MP, Cabezon C, Cabrera G, et al. Bovine (Bos taurus) humoral immune response against Echinococcus granulosus and hydatid cyst infertility. J Cell Biochem 2011; 112(1): 189-99.
25. Siracusano A, Rigano R, Ortona E, Profumo E, Margutti P, Buttari B, et al. Immunomodulatory mechanisms during Echinococcus granulosus infection. Exp Parasitol 2008; 119(4): 483-9.
26. Hu H, Kang J, Chen R, Mamuti W, Wu G, Yuan W. Drug-induced apoptosis of Echinococcus granulosus protoscoleces. Parasitol Res 2011; 109(2): 453-9.
27. Alam-Eldin YH, Badawy AF. Destructive effect of gamma irradiation on Echinococcus granulosus metacestodes. Parasitol Res 2015; 114(8): 3145-50.
28. Flores-Perez I, Fragoso GG, Sciutto E, de Aluja AS. Apoptosis induced by gamma irradiation of Taenia solium metacestodes. Parasitol Res 2003; 90(3): 203-8.
29. Dolai S, Pal S, Yadav RK, Adak S. Endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis in Leishmania through Ca2+-dependent and caspase-independent mechanism. J Biol Chem 2011; 286(15): 13638-46.
30. Cheema HS, Prakash O, Pal A, Khan F, Bawankule DU, Darokar MP. Glabridin induces oxidative stress mediated apoptosis like cell death of malaria parasite Plasmodium falciparum. Parasitol Int 2014; 63(2): 349-58.

DOI: *10.22122/jims.v39i650.14607* *Published by Vesnu Publications*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 39, No. 650, 2nd Week, February 2022**

Received: 29.09.2021 Accepted: 25.11.2021 Published: 12.02.2022

A Survey on Apoptosis and Hydatid Cyst Infertility

Maryam Rahmani-Dehaghani[1], Zahra Ghayour-Najafabadi[2]

Original Article

Abstract

Background: Hydatidosis is an infection with global distribution caused by the genus of Echinococcus. Although surgery is regarded as the first choice of hydatid cyst treatment, it has not always been successful. Apoptosis has recently been studied as an important part of host innate immunity in suppressing parasites and probably, it can be an ideal mechanism for killing protoscolices of parasites. This study was designed to compare the outcomes of apoptosis in the germinal layer in infertile and fertile hydatid cysts.

Methods: 6 samples of fertile and infertile cysts were used from bovine liver infected with hydatidosis. To survey gene expression of Fas-L, the mRNA was extracted from laminated-germinal layer and normal tissue of each cyst as the control, and cDNA synthesis was done. Then, the mean of gene expression in each sample along with the glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) gene as the reference gene was measured by real-time polymerase chain reaction (RT-PCR). Moreover, DNA fragmentation was evaluated by electrophoresis.

Findings: The mean expression of Fas-L gene in the laminated-germinal layer of infertile cysts was higher than fertile cysts and host normal tissue. DNA Fragmentation was seen in infertile cysts.

Conclusion: Increasing the expression of Fas-L gene and DNA Fragmentation in laminated-germinal layer of infertile cysts represents that apoptosis may be involved in hydatid cyst infertility.

Keywords: Apoptosis; Hydatidosis; Fas ligand; DNA fragmentation

Citation: Rahmani-Dehaghani M, Ghayour-Najafabadi Z. **A Survey on Apoptosis and Hydatid Cyst Infertility.** J Isfahan Med Sch 2022; 39(650): 883-8.

1- Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Iran
2- Assistant Professor, Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Iran
Corresponding Author: Zahra Ghayour-Najafabadi, Assistant Professor, Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Iran; Email: z_ghayour@yahoo.com