Arak Medical University Journal (AMUJ) *Original Article*
2017; 20(126): 57-64

The Study of Inhibition of Lipase Activity in *Pseudomonas aeroginosa*

Majid Talebi[1], Dariush Minaei Tehrani[2*], Mohammad Fazilati[3], Arash Minaei Tehrani[4]

1. PhD Student, Department of Biology, Payam-e Noor University (PNU), Tehran, Iran
2. Associate Professor, Faculty of Life Sciences & Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran
3. Professor, Department of Biology, Payam-e Noor University (PNU), Tehran, Iran
4. Assistant Professor, Department of Nanobiotechnology, Avicenna Research Institute, ACECR, Tehran, Iran

Received: 19 Aug 2017, Accepted: 4 Nov 2017

Abstract

Background: Lipases are one of the groups of enzymes which are important in medicine and industry. In gastrointestinal tract of human, lipase catalysis break down of triglyceride. Bacteria have also lipases which break down triglyceride in their culture medium and can use its fatty acids as carbon source. Dicyclomine is an antispasmodic drug that relieves smooth muscle spasm of the gastrointestinal tract. Few drugs have been determined to inhibit lipase activity, in this research; dicyclomine was introduced as an inhibitor of lipase, for the first time.

Materials and Methods: Lipase was extracted from *Pseudomonas aeruginosa* and the effect of dicyclomine was tested on its activity. The bacterium was cultured in medium with olive oil as carbon source and the supernatant was used for enzyme assay. For monitoring the enzyme activity, Para nitrophenyl palmitate (pNPP) was used as a substrate and the induced product was measured by visible spectrophotometer. Lineweaver-Burk plot was utilized for revealing the type of binding.

Results: This research has shown that dicyclomine can inhibit lipase. Inhibition plot determined that the drug can inhibit the enzyme by competitive manner. Calculation of Ki and IC50 values showed that the drug can bind to the enzyme with high affinity. The study of enzyme activity in different pH and temperature revealed that optimum activity of enzyme, in the presence or absence of the drug, was observed in pH 8 and 60oC.

Conclusion: For the first time, dicyclomine was introduced as an inhibitor of lipase and the kinetics factors of the drug were investigated.

Keywords: Bacterium, Dicyclomine, Drug, Inhibition, Lipase

*Corresponding Author:
Address: Faculty of Life Sciences & Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.
Email: d_mtehrani@sbu.ac.ir

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک
سال ۲۰، شماره ۹ (شماره پیاپی ۱۲۶)، آذر ۱۳۹۶، ۶۴-۵۷

بررسی مهارآنزیم لیپاز در باکتری سودوموناس آئروجینوزا

مجید طالبی[۱]، داریوش مینایی تهرانی[۲*] ، محمد فضیلتی[۳]، آرش مینایی تهرانی[۴]

۱.دانشجوی دکترا، گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران
۲. دانشیار، دانشکده علوم و فن‌آوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی ، تهران، ایران
۳. استاد، گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران
۴. استادیار، گروه نانوبیوتکنولوژی، مرکز تحقیقات ابن سینا، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۵/۲۸، تاریخ پذیرش: ۹۶/۸/۱۳

چکیده

زمینه و هدف: لیپاز ها دسته مهمی از آنزیم‌ها هستند که در پزشکی و صنعت اهمیت زیادی دارند. این آنزیم در دستگاه گوارش انسان سبب شکسته شدن تری گلیسیرید می شود. باکتری‌ها نیز دارای لیپاز بوده که سبب شکسته شدن تری گلیسیرید در محیط رشد آن‌ها شده و از اسید چرب آن به عنوان منبع کربن استفاده می کنند. دی سیکلومین یک داروی ضد اسپاسم عضلانی است که به عنوان مسکن برای دردهای دستگاه گوارش استفاده می شود. با توجه به این‌که تا کنون دارو های اندکی برای مهار لیپاز شناسایی شده اند، در این مطالعه برای اولین بار داروی دی سیکلومین به عنوان مهار کننده آنزیم لیپاز معرفی شد.

مواد و روش‌ها: لیپاز از باکتری سودوموناس آئروجینوزا استخراج شد و تأثیر داروی دی سیکلومین بروی آن آزمایش شد. باکتری در محیط دارای روغن زیتون به عنوان تنها منبع کربن کشت شد و از سوپ کشت به عنوان منبع آنزیم استفاده شد. برای اندازه گیری فعالیت آنزیم از سوبسترای پارانیتروفنیل پالمیتات استفاده شد و مقدار محصول حاصل از تجزیه آن توسط اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. از منحنی لینویور–برک برای بررسی نوع اتصال استفاده شد.

یافته ها: نتایج این تحقیق نشان داد که دی سیکلومین می تواند به خوبی آنزیم لیپاز را مهار نماید. رسم منحنی مهار آنزیم مشخص کرد که آنزیم به صورت رقابتی توسط دارو مهار می شود. محاسبه مقدار IC50 و Ki نشان داد که دارو با تمایل بالا به آنزیم متصل می شود. مطالعه فعالیت آنزیم درpH ها و دماهای مختلف نشان داد که بیشترین فعالیت آنزیم چه در حضور و چه در غیاب دارو در مقدار pH برابر با ۸ و دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد.

نتیجه‌گیری: داروی دی سیکلومین برای نخستین بار به عنوان مهار کننده آنزیم لیپاز معرفی شد و فاکتورهای کینیتیکی دارو مورد مطالعه قرار گرفت.

واژگان کلیدی: لیپاز، مهارکنندگی، دارو، باکتری، دی سیکلومین

***نویسنده مسئول:** ایران، تهران، دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده علوم و فن‌آوری زیستی

Email: d_mtehrani@sbu.ac.ir

مقدمه

سودوموناس آئروجینوزا یک باکتری گرم منفی است که جهت زیست پالایی ترکیبات آلاینده آلی موجود در خاک و آب به طور گسترده استفاده می‌شود(۱، ۲). این باکتری در صنعت بسیار مفید می باشد به عنوان مثال می تواند بعضی از مواد سمی موجود در خاک و آب را به صورت هوازی تجزیه نماید. هم‌چنین این باکتری به عنوان عامل مهم عفونت های بیمارستانی به ویژه بیمارانی دارای نقص سیستم ایمنی هستند، شناخته شده است. یکی از مهم‌ترین دلایلی که سودوموناس را به عنوان یک پاتوژن فرصت طلب در بیماران معرفی می کند، توانایی این باکتری در استفاده از ترکیبات مختلف به عنوان منبع کربن است(۳). بدین منظوراین باکتری انواع مختلفی از آنزیم ها را جهت تخریب منابع کربن ساده و پیچیده جهت کسب انرژی به کار می برد(۳). استفاده از آنتی بیوتیک ها ممکن است تنها روش برای برخورد با سودوموناس در بیماران باشد. اما این باکتری در برابر بسیاری از آنتی بیوتیک های رایج مقام شده است (۴، ۵).گرچه بسیاری از سویه ها به آنتی بیوتیک‌های جنتمایسین، توبرامایسین، کولیستین و فلوروکینولین حساس هستند ، اما اشکال مقاوم نیز گسترش یافته اند. ترکیب جنتامایسین جهت درمان آلودگی های شدید سودوموناس به طور مکرر استفاده می شود. چندین نوع واکسن در حال آزمایش هستند اما هیچ‌کدام از آن ها برای استفاده عموم به طور رایج در دسترس نیستند(۶). عمده آنزیم های خارج سلولی که توسط سودوموناس آئروجینوزا تولید می شوند عبارت اند از: پروتئاز(۷)، الاستازA و B (۸)، فسفولیپازC (۹) و لیپاز(۱۰، ۱۱). این آنزیم ها سبب مرگ سلولی، آسیب بافتی شدید و نکروز در انسان می شوند(۱۲). لیپاز آنزیمی است که هیدرولیز لیپید ها را کاتالیز می کند. بعضی از لیپاز ها طی عفونت توسط ارگانیسم‌های پاتوژن ترشح می شوند. از طرف دیگر، اگر جنبه تخریبی این آنزیم‌ها را در حالت پاتوژن باکتری در نظر نگیریم، آنزیم‌هایی که این باکتری ترشح می کند، از لحاظ صنعتی کاربرد مهمی دارد. به عنوان مثال، لیپاز میکروبی کاربردهای صنعتی داشته و در شوینده ها، مواد آرایشی، داروها و چرم سازی استفاده می شود(۱۳). بسیاری از میکروارگانیسم ها از قبیل باکتری ها، مخمر و قارچ ها ترشح کننده لیپاز شناخته شده اند. به طوری‌که میکروارگانیسم های تولید کننده لیپاز در زیستگاه های مختلف از قبیل ضایعات صنعتی، کارخانجات پردازش روغن گیاهی ، لبنیاتی ها، خاک آلوده شده با نفت و غیره این آنزیم را ترشح می‌کنند(۱۴). به خاطر اهمیت این آنزیم در صنعت و پزشکی، هر عاملی که بتواند فعالیت لیپاز را مهار کند ممکن است در صنعت و پزشکی مهم باشد. برای مثال، مهار لیپاز ممکن است برای افرادی که از چاقی رنج می‌برند مفید باشد. ارلیاستات یک مهار کننده برای لیپاز پانکراس است که به منظور کاهش جذب لیپید در اشخاص چاق مورد استفاده قرار می‌گیرد(۱۵، ۱۶).

موادی که سبب مهار آنزیم لیپاز می‌شوند بسیار کم معرفی شده اند. سیبوترامین و اورلیستات تنها داروهای ضد چاقی تائید شده جهت سرکوب اشتها می‌باشند (۱۷) با این حال مصرف اورلیستات به دلیل عوارض جانبی نا مطبوع مانند بی اختیاری مدفوع، نفخ شکم واستئاتوره استفاده از آن محدود شده است. هم‌چنین داروی سیبوترامین به دلیل عوارض قلبی عروقی و سکته های مغزی در بیشتر کشورها ممنوع اعلام شده است. با وجود دلایل ذکر شده استفاده از مهارکننده‌ی آنزیمی با عوارض جانبی کمتر ارزشمند است (۱۸). در مطالعه ای که در سال ۲۰۰۰ انجام گرفت، استفاده از ترکیبات طبیعی مانند عصاره دانه ی انگور و عصاره چای سبز (۱۹) نیز به عنوان مهار کننده لیپاز بررسی شده است. هم چنین در مطالعه ای که در سال ۲۰۰۸ درکره انجام گرفت، از ریشه‌ی گیاه *Actinidia arguta* استفاده شد. این گیاه در شمال چین، کره، سیبری و ژاپن یافت می شود و در طب سنتی چینی جهت درمان استفاده می گردد. استفاده از ریشه ی این گیاه جهت ارزیابی سنجش فعالیت مهاری لیپاز انجام گرفت(۲۰). در سال ۲۰۰۸ در امریکا از گیاه گل قاصدک با

نام علمی *Taraxacum officinale* استفاده گردید. این گیاه به عنوان یک داروی آنتی اکسیدان ، ضد التهاب و ضد تومور استفاده می شود. جهت انجام این آزمایش از خوک جهت فعالیت لیپاز پانکراس استفاده شد. این فعالیت در زمان های صفر، ۹۰، ۱۸۰ و ۲۴۰ دقیقه دوره ی درمان انجام گرفت و در هر وعده مقدار ۲۵۰ میکرو گرم از عصاره‌ی این گیاه به خوک داده شد. در نهایت با محاسبه IC50، این گیاه به عنوان یک مهار کننده ی آنزیمی و عامل ضد چاقی شناخته شد (۲۱). بیشتر داروها جهت واکنش با گیرنده های خاص یا آنزیم‌ها طراحی شده اند، اما در برخی موارد ممکن است داروهایی به آنزیم و رسپتوری به غیر از آن‌که برای آن طراحی شده متصل شوند و باعث مهار شدن و یا فعال شدن آنزیم دیگری در بدن شوند که این پدیده می‌تواند به عنوان عوارض جانبی دارو مطرح شود. به عنوان مثال، مطالعات گذشته نشان داده است که داروی سایمتیدین که مهار کننده گیرنده هیستامین H2 می باشد و برای کاهش ترشح اسید معده در افرادی که از درد معده رنج می‌برند تجویز می شود می‌تواند به شدت آلکالین فسفاتاز و کاتالاز را نیز مهار کند(۲۲، ۲۳). هم‌چنین نشان داده شده است که کدئین، اسکوپولامین و رانیتیدین فعالیت سوکراز را مهار می کنند(۲۴، ۲۵).

در این مطالعه نشان داده شد که داروی دی سیکلومین که به عنوان مسکن برای دردهای اسپاسم عضلات صاف مصرف می شود، یک مهارکننده قوی لیپاز است. پس از اطمینان از مهارکنندگی این دارو، فاکتورهای کینتیکی اتصال این دارو به لیپاز نیز مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

۱.مواد

مواد شیمیایی ای که برای سنجش آنزیم، محیط کشت و ساخت بافر استفاده شد از شرکت Merck تهیه شد. دارو از شرکت شیمیدارو تهیه شد. از باکتری سودوموناس ائروجنوزا با کد ATCC 27853 استفاده شد.

۲.محیط کشت باکتری

آنزیم لیپاز از باکتری سودوموناس ائروجینوزا به دست آمد. محیط کشت این باکتری محیط پایه نمکی با ترکیب ۲/۵ گرم KH2PO4 ، ۲/۵ گرم Na2HPO4 ، ۱ گرم NH4NO3 ، ۰.۰۲ گرم MgSO4 و ۰/۰۱ گرم CaCO3 در ۱ لیتر آب بود که به pH ۷ رسانده شد. روغن زیتون به عنوان منبع کربن با غلظت نهایی ۱ درصد استفاده شد. محیط کشت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت هوادهی شد. سپس سلول ها به وسیله سانتریفیوژ رسوب داده شدند و سوپرناتانت برای سنجش آنزیم مورد استفاده قرار گرفت.

۳.سنجش آنزیم

بافر تریس با pH۸ و ۰/۱ مولار تهیه شد و با اضافه کردن غلظت های مختلف (۰/۰۶ تا ۰/۵ میلی مولار) پارانیتروفنیل پالمیتات به عنوان سوبسترا به بافر تریس محلول سنجش آنزیم ساخته شد. واکنش با اضافه کردن ۲۰ ماکرولیتر سوپرناتانت (دارای آنزیم) به محلول سنجش آنزیم در تیوب آغاز شد. فعالیت کاتالیزی لیپاز به طور پیوسته با جذب افزایشی در طول موج۴۱۰ نانومتر خوانده شد. سنجش آنزیم در حضور و غیاب دارو با غلظت ۰/۳ تا ۱/۵ میلی مولار انجام شد. آنزیم در کنار پارانیتروفنیل پالمیتات به مدت ۱۰ دقیقه در حضور و غیاب دی سیکلومین انکوبه شد و تغییرات جذب ثبت گردید. این زمان برای رسیدن آنزیم به حالت پلاتو (plateau) کافی بود. برای به دست آوردن فعالیت آنزیم لیپاز در حضور سوبسترای پارانیتروفنیل پالمیتات، ضریب خاموشی محصول یا همان پارانیتروفنل $18.8 \times 10^3\ mol^{-1}.cm^{-1}$ در نظر گرفته شد. نمودار لینویوربرک برای به دست آوردن Km و Vmax آنزیم به کار برده شد. تمام سنجش هادر دمای آزمایشگاه (۲۵ تا ۲۸ درجه سانتی‌گراد) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر

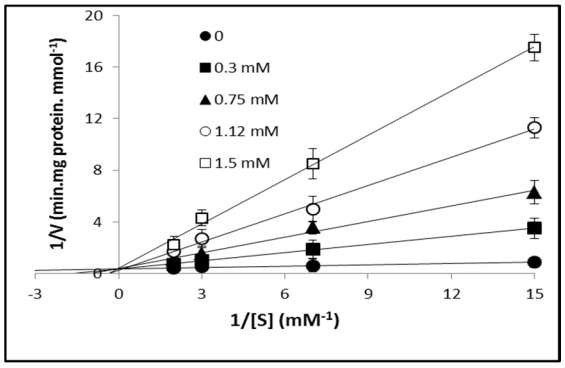
Perkin-Elmer visible انجام شد. برای تعیین غلظت پروتئین از روش بیوره استفاده شد. آزمایشات به صورت سه تکرار مجزا انجام شد(۲۶).

تأثیر دما و pH

فعالیت آنزیم در حضور و غیاب دارو در دماها و pHهای مختلف طبق روش بالا اندازه گیری شد. برای این منظور فعالیت آنزیم در pHهای بین ۲ تا ۱۱ اندازه گیری شد. هم‌چنین فعایت آنزیم در دماهای بین صفر تا ۹۰ درجه اندازه گیری شد.

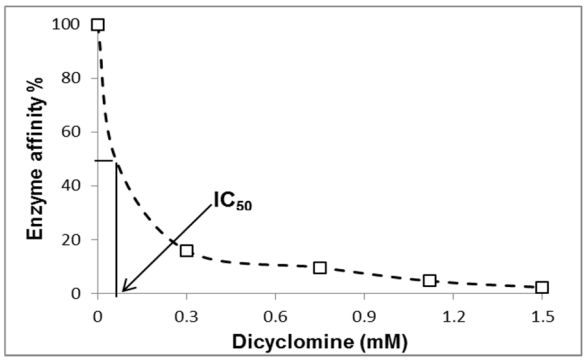
یافته‌ها

برای بررسی نوع مهار کنندگی دارو بر آنزیم لیپاز، سرعت عملکرد آنزیم در حضور غلظت‌های مختلف دارو اندازه‌گیری شد. با رسم منحنی عکس سرعت بر علیه عکس غلظت سوبسترا، نوع مهارکنندگی دارو مشخص شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت دارو مقدار Km آنزیم افزایش یافته، در حالی‌که Vmax آن ثابت باقی می ماند و در واقع آنزیم به صورت رقابتی مهار شده است (شکل ۱).

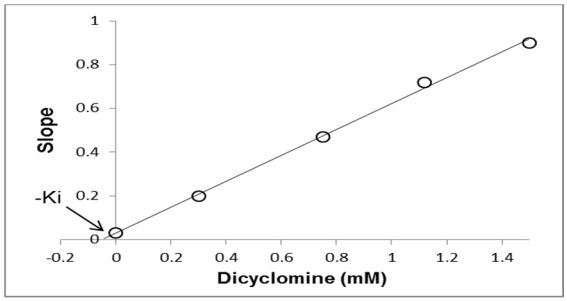


شکل۱. منحنی عکس سرعت بر علیه عکس غلظت. مهار آنزیم لیپاز از نوع رقابتی بوده است. دارو با غلظت ۰.۳ تا ۱.۵ میلی مولار استفاده شد. اعداد به دست آمده حاصل سه تکرار مستقل بوده است.

محاسبه تغییرات Km در حضور غلظت‌های مختلف سوبسترا نشان داد که تمایل اتصال آنزیم به سوبسترا با افزایش غلظت دارو کاهش می یابد و IC50 دارو در حدود ۶۰uM محاسبه شد (مقدار دارویی که قادر است ۵۰ درصد از فعالیت آنزیم را کاهش دهد.) (شکل ۲) . هم‌چنین با استفاده از منحنی ثانویه که از منحنی شکل ۱ مشتق می شود، مقدار Ki دارو محاسبه شد. پایین بودن مقدار(۳۰uM) Ki نشان داد که دارو با تمایل زیاد به آنزیم متصل می شود (شکل ۳).



شکل۲. منحنی تغییرات تمایل آنزیم لیپاز برای سوبسترا که در مجاورت غلظت‌های مختلف دارو به دست آمده است. برای رسم این منحنی از تغییرات فاکتور Km آنزیم کمک گرفته شده است. مقدار IC50 دارو مشخص شده است.

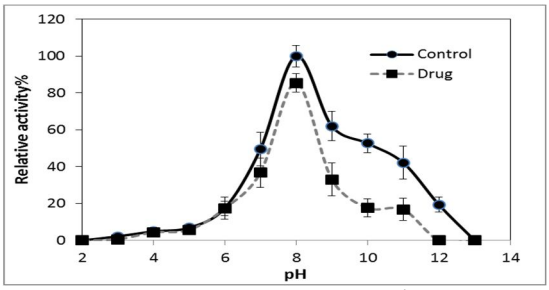


شکل۳ .منحنی ثانویه که از منحنی اولیه (شکل۱) مشتق می شود. برای محاسبه Ki از شیب خطوط در منحنی اولیه استفاده شده است.

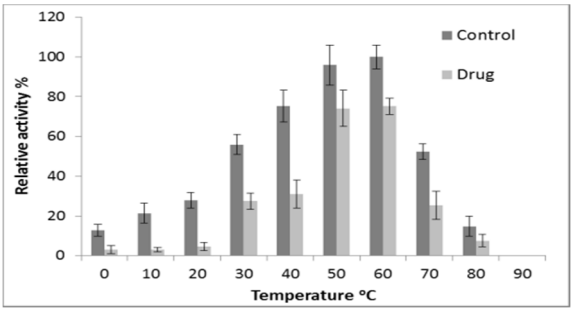
تأثیر pH و دما بر فعالیت آنزیم

فعالیت آنزیم درpH های مختلف(۲ تا ۱۳) نیز بررسی شد. شکل۴ تأثیر pHهای مختلف را بر فعالیت لیپاز در حضور و غیاب دارو را نشان می دهد. حداکثر فعالیت آنزیم چه درحضور و چه در غیاب دارو در ۸pH مشاهده شد. افزایش pH باعث کاهش فعالیت آنزیم شد (شکل ۴). فعالیت

آنزیم در چندین دما نیز تعیین شد. دمای اپتیمم برای فعالیت آنزیم دمای ۶۰ درجه سانتیگراد بود و الگوی نمودارهای دما در هر دو صورت (در حضور و غیاب دارو) نیز یکسان بود(شکل۵).



شکل٤. منحنی تأثیر تغییرات pH بر فعالیت آنزیم در غیاب دارو (شاهد) و در حضور دارو. بیشترین فعالیت در مقدارpH۸ مشاهده می‌شود.



شکل۵ .منحنی تأثیر تغییرات دما بر فعالیت آنزیم لیپاز. بیشترین فعالیت در غیاب دارو (شاهد) و حضور دارو ٦٠ درجه می باشد.

بحث

مهارکنندگی آنزیم بخش مهمی از مطالعات آنزیمی را در بر می‌گیرد. داروها همواره برای اتصال به یک رسپتور و یا آنزیم خاص در بدن طراحی می شوند ولی برخی از داروها به آنزیم‌هایی دیگری به غیر از آن‌چه برای آن‌ها طراحی شده اند متصل می شوند که بدن را دچار مشکل می کند. از جمله این موارد می توان به رانیتیدین و اسکوپولامین که آنزیم سوکراز را مهار می‌کنند اشاره کرد و هم‌چنین سایمتیدین و ترامادول که آلکالین فسفاتاز و کاتالاز را مهار می کنند. مهارکننده های لیپاز ممکن است برای کاربردهای صنعتی مفید نباشند، اما برای مهار لیپاز دستگاه گوارشی به منظور جلوگیری از جذب لیپید در افراد چاق مفید هستند. تعداد کمی از داروها به عنوان مهارکننده لیپاز مشخص شده اند. اخیرا ارلیاستات به عنوان مهارکننده لیپاز معرفی شده و در افراد چاق به منظور جلوگیری از جذب لیپید استفاده می‌شود. در مطالعه حاضر برای اولین بار داروی رایج دیگری به عنوان مهار کننده لیپاز معرفی شد. دی سیکلومین یک داروی آنتی اسپاسم و آنتی کولینرژیک می باشد که برای تسکین دردهای روده‌ای و درد شکمی (کولیک) تجویز می شود. نتایج این تحقیق نشان داد که دی سیکلومین علاوه بر عملکرد اصلی خود به صورت رقابتی قادر به مهار آنزیم لیپاز نیز می باشد و می تواند از تمایل لیپاز برای اتصال به سوبسترا کم کند. محاسبه Ki و IC50 دارو نشان داد که دارو با تمایل بسیار بالا به آنزیم وصل می شود. مهار لیپاز با تمایل بالا در علم پزشکی دارای اهمیت است. آنزیم‌ها، نقش مهمی در بیماری‌زایی باکتری به عهده دارند، زیرا قادر به ایجاد آسیب در بافت میزبان می‌باشند که برای ایجاد عفونت مهم است(۲۷). حذف ژن لیپاز C در سودوموناس آئروژینوزا تشکیل بیوفیلم را کاهش داد(۲۸). فیلتراسیون محیط کشت اپیدرم استافیلوکوکوس باعث مهار آنزیم لیپاز و هم‌چنین مهار تشکیل بیوفیلم در کاندیدا آلبیکنز می‌شود(۲۹).

مطالعات گذشته نشان داده است که برخی از داروها می توانند بر تمایل آنزیم ها نسبت به سوبسترا اثر بگذارند. برای مثال، سایمتیدین تمایل کاتالاز را نسبت به سوبسترا (پراکسید هیدروژن) کاهش می دهد و آنزیم را به صورت رقابتی مهار می کند(۳۰). ترامادول تمایل آنزیم الکالین فسفاتاز کبد را افزایش می دهد و این دارو به روش نارقابتی آنزیم را مهار می کند(۳۱). با این حال متاکاربامول آنزیم سوکراز را با روش غیررقابتی مهار می کند و تمایل سوکراز را به سوبسترا را تغییر نمی دهد.(۳۲). بررسی اثر pH بر تمایل لیپاز در حضور و غیاب دی سیکلومین نشان داد که منحنی اتصال در pHهای مختلف در حضور و غیاب دارو از یک الگو پیروی می کند که اظهار می‌گردد تغییرات pH

نمی تواند از اتصال دارو به آنزیم جلوگیری کند یا به عبارت دیگر می‌توان فرض نمود که دارو از طریق باند یونی برای اتصال به آنزیم استفاده نکرده است. هم‌چنین تاثیر دما بر فعالیت لیپاز در حضور و غیاب دارو مشخص نمود که الگوی اتصال سوبسترا هر دو حالت (در حضور و غیاب دارو) نیز یکسان است و بالا رفتن دما نتوانسته که این الگو را تغییر دهد. درنتیجه مفروض است که دارو ممکن است از طریق پیوند هیدروژنی نیز برای اتصال به آنزیم استفاده نکرده باشد. بر خلاف نتایج این گزارش، برخی از مطالعات نشان داده اند که تغییرات pH بر اتصال دارو ها به آنزیم ها تاثیر دارند. به عنوان مثال، نشان داده شد که تغییر pH، اتصال ترامادول به الکالین فسفاتاز کبد را تغییر می دهد (۳۱).

نتیجه‌گیری

این اولین مطالعه ای است که مهار لیپاز توسط دی سیکلومین را گزارش می دهد. نتایج نشان داد که این دارو، لیپاز را به روش رقابتی مهار می‌کند. دارو با تمایل بالا به آنزیم متصل می شود و از پیوند یونی یا هیدروژنی برای اتصال به آنزیم استفاده نمی‌کند. با توجه به این‌که مهار کننده های لیپاز می‌توانند در درمان چاقی موثر باشند، بررسی تاثیر این دارو بر روی لیپاز پانکراسی احتیاج به مطالعه و تحقیقات بیشتر دارد. .

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از زحمات سرکار خانم دکتر زهرا سبحانی دماوندی فر به دلیل کمک های ایشان جهت پیشبرد تحقیقات این مقاله تشکر فراوان می شود.

منابع

1. Mrozik A, Piotrowsks-Seget Z, Labuzek S. Bacterial degradation and bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons. Pol J Environ Stud 2003; 12: 15-25.
2. Timmis KN, Pieper DH. Bacteria designed for bioremediation. Trends Biotechnol 1999; 17: 201-204.
3. Stover CK, Pham XQ, Erwin AL, Mizoguchi SD, Warrener P, Hickey MJ, et al. Complete genome sequence of Pseudomonas aeruginosa PA01, an opportunistic pathogen. Nature 2000; 406: 959-64.
4. Hancock REW, Speert DP. Antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa: mechanisms and impact on treatment. Drug Resist Updates 2000; 3: 247–255.
5. Lambert PA. Mechanisms of antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa. J R Soc Med 2002; 95: 22–26.
6. Todar K. Todar's Online Textbook of Bacteriology. The Good, the Bad, and the Deadly. SCIENCE Magazine 2004; 304:1421.
7. Frimmersdorf E, Horatzek S, Pelnikevich A, Wiehlmann L, Schomburg D. How Pseudomonas aeruginosa adapts to various environments: a metabolomic approach. Environ Microbiol 2010; 12: 1734-1747.
8. Cryz SJ, Iglewski BH. Production of alkaline protease by Pseudomonas aeruginosa. J Clin Microbiol 1980; 12: 131-133.
9. Bever RA, Iglewski BH. Molecular characterization and nucleotide sequence of the Pseudomonas aeruginosa elastase structural gene. J Bacteriol 1988; 170: 4309-4314.
10. Ostroff RM, Vasil ML. Identification of a new phospholipase C activity by analysis of an insertional mutation in the hemolytic phospholipase C structural gene of Pseudomonas aeruginosa. J Bacteriol 1987; 169: 4597-4601.
11. Stuer W, Jaeger KE, Winkler UK. Purification of extracellular lipase from Pseudomonas aeruginosa. J Bacteriol 1986; 168: 1070-1074.
12. Martinez A, Ostrovsky P, Nunn DN. LipC, a second lipase of Pseudomonas aeruginosa, is LipB and Xcp dependent and is transcriptionally regulated by pilus biogenesis components. Mol Microbiol 1999; 34: 317-326.
13. König B, Jaeger KE, Sage AE, Vasil ML, König W. Role of Pseudomonas aeruginosa lipase in inflammatory mediator release from human inflammatory effector cells (platelets,

granulocytes, and monocytes. Infect Immun 1996; 64: 3252-3258.
14. Seitz EW. Industrial application of microbial lipases: A review. J Amer Oil Chem Soc 1974; 51: 12-16.
15. Sztajer H, Maliszewska I, Wieczorek J. Production of 3. exogenous lipase by bacteria, fungi and actinomycetes. Enzyme Microb Technol 1998; 10: 492-7.
16. Zhi J, Melia AT, Eggers H, Joly R, Patel IH. Review of limited systemic absorption of orlistat, a lipase inhibitor, in healthy human volunteers. J Clin Pharmacol 1995; 35: 1103–1108.
17. Jandacek RJ, Woods SC. Pharmaceutical approaches to the treatment of obesity. Drug Discov. Today 2004; 15: 874-880.
18. Shi JE, Han MJ, Kim DH. 3-Methylethergalangin isolatedfrom Alpinia officinarum inhibits pancreatic lipase. Biol Pharm Bull 2003; 26: 854-857.
19. Juhel C, Armand M, Pafumi Y, Rosier C, Vandermander J, Lairon D. Green tea extract (AR25) inhibits lipolysis of triglycerides in gastric and duodenal medium in vitro. J Nutr Biochem 2000; 11: 45-51.
20. Jang DS, Lee GY, Kim J, Lee YM, Kim JM, Kim YS, et al. A New Pancreatic Lipase Inhibitor Isolated from the Roots of Actinidia argute. Arch Pharm Res 2008; 31: 666-670.
21. Zhang J, Kang MJ, Myung-Jin, Kim MJ, Kim M E, Ji-Hyun Song JH, et al. Pancreatic lipase inhibitory activity of taraxacum officinale in vitro and in vivo. Nutr Res Pract 2008; 2(4): 200-203.
22. Mancini MC, Halpern A. Pharmacological treatment of obesity. Arq Bras Endocrinol Metab 2006; 50: 377–89.
23. Minai-Tehrani1 D, Khodai1 S, Aminnaseri S, Minoui S, Sobhani-Damavadifar Z, Alavi S, Osmani R, Ahmadi S. Inhibition of renal alkaline phosphatase by cimetidine. Drug Metab Lett 2011.
24. Minai-Tehrani D, Minoui S, Sepehre M, Sharif-Khodai Z, Aavani T. Inhibitory effect of codeine on sucrase activity. Drug Metab let 2009; 3: 58–60.
25. Minai-Tehrani D, Fooladi N, Minoui S, Sobhani-Damavandifar Z, Aavani T, Heydarzadeh S, et al. Structural changes and inhibition of sucrase after binding of scopolamine. Eur J Pharmacol 2010; 635: 23-26.
26. Selvamohan T, Ramadas V, Sathya TA. Optimization of Lipase Enzyme Activity Produced By Bacillus Amyloliquefaciens Isolated From Rock Lobster Panlirus Homarus. IJMER 2012; 2: 4231-4234.
27. Thomas R, Hamat RA, Neela V. Extracellular enzyme profiling of stenotrophomonas maltophilia clinical isolates. Virulence 2014; 5: (2): 326-30.
28. Rosenau F, Isehardt S, Gdynia A, Tielker D, Schmidt E, Tielen P, et al. Lipase LipC affects motility, biofilm formationand rhamnolipid production in Pseudomonas Aeroginosa. FEMS Microbiol Lett 2010; 309(1): 25-34.
29. Bhattacharyya S, Gupta P, Banerjee G, Jain A, Singh M. Inhibition of biofilm formation and lipase in Candida albicans by culture filtrate of Staphylococcus epidermidis in vitro. Int J Appl Basic Med Res 2014; 4(1): 27-30.
30. Masoud M, Ebrahimi F, Minai-Tehrani D. Effect of cimetidine on catalase activity of Pseudomonas aeruginosa: A suggested mechanism of action. J Mol Microbiol Biotechnol 2014; 24: 196–201.
31. Minai-Tehrani D, Eslami M, Khazaei N, Katebian E, Azizi L, Yazdi F, et al. Inhibition and structural changes of liver alkaline phosphatase by tramadol. Drug Metab Lett, in press.
32. Minai-Tehrani D, Masoudnia A, Alavi S, Osmani R, Lotfi L, Asghari M, et al. Interaction of methocarbamol and yeast sucrase induces an inhibition. Drug Metab Drug Interact 2012; 27: 225-228.