REVIEW ARTICLE

Kinetoplast DNA: A Promising Drug Target for Treatment of Leishmaniasis

Elham Kialashaki[1],
Mahdi Fakhar[2],
Javad Akhtari[3],
Roghiyeh Faridnia[1],
Masoud Keighobadi[4]

[1] PhD Student in Parasitology, Student Research Committee, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] Associate Professor, Department of Parasitology, Toxoplasmosis Research Center, Iranian National Registry Center for Lophomoniasis (INRCL), Mazandaran Branch, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3] Associate Professor, Department of Medical Nanotechnology, Toxoplasmosis Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[4]Assistant Professor, Toxoplasmosis Research Center, Iranian National Registry Center for Hydatid Cyst, Mazandaran Branch, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received October 8, 2019 ; Accepted April 5, 2020)

Abstract

Leishmaniasis is a vector-borne zoonotic disease caused by various species of the genus *Leishmania*, (trypanosomatidae family) that is transmitted by phlebotomine sandflies. The disease can present in a range of clinical forms, including dermal lesions, metastasis mucocutaneous forms, and fatal visceral forms. In this non-systematic review, we aimed at introducing the role of kinetoplast DNA (kDNA) and dependent topoisomerases (TPI) as potential chemotherapeutic targets for treatment of leishmaniasis. The *Leishmania* parasite has a mitochondrial DNA located in the attached circles. KDNA replication process is very complex and a large number of proteins are involved. Some of them are classified as topoisomerases, which play major biological roles in the effective cell processes in the topology, synthesis, and organization of kDNA and constitute the main drug target in kinetoplast for leishmaniasis cure. Several studies have shown that the inhibitors of TPI exchange these enzymes into intracellular cell toxins and provide an appropriate tool for killing the parasite in the host. DNA binding drugs have also been reported as therapeutic agents against leishmanial infections.

Keywords: *Leishmania*, kinetoplast, DNA topoisomerase, drug target

J Mazandaran Univ Med Sci 2020; 30 (184): 179-193 (Persian).

* **Corresponding Author: Masoud Keighobadi -** Toxoplasmosis Research Center, Iranian National Registry Center for Hydatid Cyst, Mazandaran Branch, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran (E-mail: keighobadi216@yahoo.com)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-04-19]

مـــروری

مجلـــه دانـشـــگاه عـلـــوم پـــزشـکـــی مـــازنـــدران
دوره سی ام شماره 184 اردیبهشت سال 1399 (193-179)

DNA کینتوپلاستی: یک هدف دارویی امیدبخش در درمان بیماری لیشمانیوز

الهام کیا لاشکی[1]
مهدی فخار[2]
جواد اختری[3]
رقیه فریدنیا[1]
مسعود کیقبادی[4]

چکیده

لیشمانیوز یک بیماری منتقله از پشه خاکی فلبوتومینه است که عامل آن گونه‌های مختلف جنس لیشمانیا (خانواده تریپانوزوماتیده) می‌باشد. از اشکال مختلف بیماری می توان فرم پوستی خوش‌خیم، فرم پوستی - مخاطی متاستاز دهنده تا فرم احشایی را نام برد. در این مطالعه مروری غیر نظام‌مند به معرفی نقش DNA کینتوپلاستی (kDNA) و توپوایزومرازهای وابسته به آن به عنوان تارگت دارویی جهت درمان عفونت‌های لیشمانیایی پرداخته شده است. این انگل‌ها دارای یک DNA میتوکندریایی می‌باشند که در حلقه‌های به هم متصل شده قرار دارند. فرایند همانندسازی kDNA بسیار پیچیده است و تعداد زیادی پروتئین در آن شرکت می‌کنند. بعضی از آن‌ها به‌عنوان توپوایزومرازها دسته‌بندی شده ند که نقش‌های مهم بیولوژیکی خود را در فرایندهای سلولی مؤثر در توپولوژی، سنتز و سازماندهی DNA داخل سلولی ایفا می‌کنند و به‌عنوان یک تارگت دارویی مهم در کینتوپلاست جهت درمان شیمیایی لیشمانیوز دخالت می‌کنند. مطالعات متعدد نشان داده است که مهارکننده‌های توپوایزومرازها، این آنزیم ها را به توکسین های داخل سلولی و یک ابزار مناسب برای کشتن انگل در میزبان تبدیل می‌کنند. همچنین داروهای متصل شونده به DNA به‌عنوان عوامل درمانی عفونت‌های لیشمانیایی گزارش شده‌اند.

واژه های کلیدی: *لیشمانیا*، کینتوپلاست، DNA توپوایزومراز، تارگت دارویی

مقدمه

سازمان جهانی بهداشت، لیشمانیوز را در ردیف ششم بیماری‌های مهم عفونی مناطق گرمسیری دنیا معرفی کرده است. این بیماری به سه شکل عمده جلدی، جلدی مخاطی و احشایی در انسان دیده می‌شود و از شایع‌ترین بیماری‌های مورد غفلت قرار گرفته در مناطق گرمسیری است(3-1).

عامل این بیماری، تک‌یاخته *لیشمانیا* از خانواده تریپانوزوماتیده و راسته کینتوپلاستیدا است. اخیراً یک طبقه‌بندی جدید برای انگل *لیشمانیا* ارائه‌شده است که گونه‌های *لیشمانیا* را به دو رده‌ی فیلوژنی بزرگ به نام گروه یولیشمانیا و پارالیشمانیا تقسیم می‌کند. با توجه به این طبقه‌بندی، 53 گونه شناسایی شد که از این تعداد، 29 گونه در دنیای قدیم، 20 گونه در دنیای جدید، 3 گونه در هر دو دنیای جدید و قدیم و یک گونه در استرالیا مشاهده شد. در میان این گونه‌های شناسایی شده، 20 گونه در انسان ایجاد بیماری می‌کنند(4).

مولف مسئول: مسعود کیقبادی - ساری: کیلومتر 17 جاده فرح‌آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، مرکزتحقیقات توکسوپلاسموز E-mail: keighobadi216@yahoo.com
1. دانشجوی دکتری انگل شناسی پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
2. دانشیار، گروه انگل‌شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات توکسوپلاسموز، مرکز ثبت ملی لوفومونیازیس شاخه مازندران، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
3. دانشیار، گروه نانوفناوری پزشکی، مرکز تحقیقات توکسوپلاسموز، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
4. استادیار، مرکز تحقیقات توکسوپلاسموز، مرکز ثبت ملی کیست هیداتیک شاخه مازندران، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
تاریخ دریافت : 1398/7/16 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات :1398/7/21 تاریخ تصویب : 1399/1/17

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-04-19]

انسان از طریق نیش پشه خاکی ماده به *لیشمانیا* مبتلا می‌شود. پشه خاکی معمولاً در مناطق جنگلی، غارها و لانه جوندگان کوچک زندگی می‌کند. در حال حاضر 12 میلیون نفر مبتلا به *لیشمانیا* در دنیا وجود دارند. سالیانه 2 میلیون مورد جدید بیماری گزارش می‌شود که نیم میلیون نفر مبتلا به لیشمانیوز احشایی و 1/5 میلیون نفر مبتلا به لیشمانیوز جلدی می‌باشند. این بیماری بار اقتصادی سنگینی بر خانواده‌ها، جوامع و کشورها خصوصاً کشورهای درحال توسعه تحمیل می‌کند(1). آنتی‌موآن‌های پنج ظرفیتی، خط اول درمان انتخابی برای هر دو نوع لیشمانیوز احشایی و جلدی دربسیاری از نقاط جهان هستند، اما به‌علت بروز مقاومت دارویی، استفاده از آن‌ها محدود شده است. از جمله مشکلات و عوارض جانبی داروی گلوکانتیم، دردهای عضلانی، بی‌اشتهایی، حالت تهوع، دردهای شکمی، سرفه، احساس خستگی و بیحالی، نامنظم شدن ضربان قلب و مشکلات کلیوی می‌باشد. این دارو در دوران شیردهی و در افراد با مشکلات قلبی، کبدی یا کلیوی منع مصرف دارد(1). داروهای جایگزین مانند آمفوتریسین B (Amphotericin B)، میلتفوسین (Miltefosine) و پاراومایسین (Paromomycin) به عنوان خط دوم درمان دارویی لیشمانیوز مطرح هستند، ولی به دلیل سمیت و قیمت بالا، مصرف آن‌ها نیز محدودشده است(5،6). یکی از ضروریات اجتناب‌ناپذیر در توسعه داروها، شناسایی تارگت (هدف) مناسب در مسیر فعالیت‌های منجر به حیات یک موجود زنده (شامل مسیرهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیک) است. از نظر تئوری، در طی روند شناسایی یک تارگت در یک عامل بیماری‌زا، نکته مهم این است که هدف مورد نظر در بدن انسان وجود نداشته باشد و یا از هومولوگ خود در بدن انسان متفاوت باشد. با توجه به این‌که ساختار انگل‌های *لیشمانیا* که جز یوکاریوت‌های تک یاخته‌ای هستند، به‌طور قابل توجهی متفاوت از سلول‌های پستانداران است و بنابراین پیدا کردن تارگت دارویی انحصاری این تک‌یاخته بیماریزا دست یافتنی است. از سوی دیگر، تارگت دارویی انتخاب شده کاملا باید برای بقای عامل بیماریزا ضروری باشد. به‌طور مثال، اگر پروتئین، هدف یک آنزیم است، مهار آن باید به از دست دادن حیات سلول منجرشود. نکته مهم آخر این‌که که تارگت انتخابی باید با ابزارها و روش‌های مختلف آزمایشگاهی مختلف قابل شناسایی و ارزیابی باشد(7). اهداف دارویی مختلفی در انگل *لیشمانیا* شناسایی، معرفی و ارزیابی شدند که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به مسیرهای بیوشیمیایی مهم در چرخه زندگی انگل از جمله مسیر گلیکولیز (هدف داروی گلوکانتیم)، بیوسنتز استرول (هدف داروهای آزولی) و پروتئین کینازها (هدف داروی میلتفوسین) و توپوایزومرازها (اهدف داروی پنتوستام و برخی داروهای ضد سرطان دارای اثرات ضد لیشمانیایی مانند دوکسوروبیسین) اشاره نمود(5،7). با توجه به این‌که، امروزه درمان لیشمانیازیس به یک معضل بهداشتی جهانی تبدیل شده است، شناسایی داروهای جدید و مؤثر به منظور جایگزینی یا مکمل درمان امروزی مهم می‌باشد. توپوایزومرازها، آنزیم‌هایی هستند که در متابولیسم DNA کینتوپلاستی (kDNA) نقش دارند و از طرفی میزبان این انگل (انسان و حیوانات) این نوع DNA را ندارند، بنابراین kDNA و توپوایزومرازها می‌توانند تارگت‌های دارویی مناسبی برای درمان عفونت‌های تریپانوزوماتیدی از جمله عفونت‌های لیشمانیایی باشند(7). در مطالعه مروری حاضر درباره‌ی نقش kDNA و توپوایزومرازهای وابسته به آن به‌عنوان تارگت دارویی جهت درمان عفونت‌های لیشمانیایی شناخته شده، بررسی می‌شود.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع مروری غیرنظام‌مند است. مقالات مورد استفاده از پایگاه‌های اطلاعاتی قابل دسترس نظیر Magiran، Irandoc، (SID) Scientific Information Database، IranMedex، SienceDirect، PubMed، Google Scholar و در محدوده‌ی زمانی 1987 تا 2019 گردآوری شدند.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-04-19]

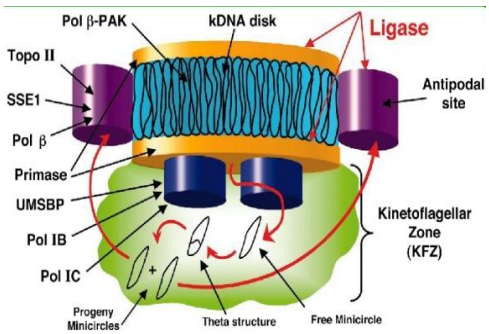
کلیدواژه‌های جستجو شامل *لیشمانیا*، DNA توپوایزومرازها، کینتوپلاست که این کلمات به تنهایی و یا این که به صورت ترکیبی مورداستفاده قرار گرفتند.

ساختار DNA کینتوپلاستی و نقش آن

جنس *لیشمانیا* همانند سایر اعضای راسته کینتوپلاستیدا مثل *تریپانوزوما* دارای ویژگی منحصر به فردی هستند. آن‌ها علاوه بر DNA هسته‌ای، kDNA نیز دارند که در کینتوپلاست این ارگانیسم‌ها قرار دارد. درواقع kDNA، DNA میتوکندریایی انگل های راسته کینتوپلاستیدا بوده و 10 تا 20 درصد کل DNA انگل را شامل می‌شود. kDNA شبکه‌ای از DNA حلقوی است که به دو دسته، حلقه‌های بزرگ هموژن (50-25 مولکول با طول 20 هزار جفت باز) و حلقه‌های کوچک هتروژن (تقریباً به طول 0/8 کیلو جفت باز) تقسیم می‌شود و تقریبا 10^4 کپی از آن در هر سلول وجود دارد. حلقه‌های بزرگ، قسمت عملکردی DNA میتوکندریایی است و نقش آن در ویرایش اوراسیل اضافی موجود در نوکلئوتیدهای mRNA به اثبات رسیده است. حلقه‌های کوچک در کدگذاری RNA های راهنما به منظور ویرایش زیر واحد سوم mRNA اکسیداز سیتوپلاسم نقش دارند. همچنین استیو و سیمپسون (1999)(10) یافته‌هایی را در مورد ناحیه متغیر یکی از توالی‌های حلقه‌های کوچک *لیشمانیا دنوانی* شرح داده‌اند که نسخه برداری و ترجمه آن منجر به تولید یک پروتئین شده است. در تمام انواع لیشمانیا، حلقه‌های کوچک دارای یک قسمت ثابت با طول تقریبی 100-200 جفت باز می‌باشند و بقیه ساختمان را قسمت متغیر تشکیل می‌دهد که در گونه‌های مختلف لیشمانیا، ردیف‌های بازآلی متفاوت بوده و می‌تواند در تشخیص گونه به کار رود. حلقه‌های بزرگ مانند DNA میتوکندریایی در سلول‌های پستانداران و نیز قارچ‌ها، انواع RNA ریبوزومی و نیز برخی پروتئین‌های ضروری جهت فعالیت‌های بیو انرژتیک میتوکندری را کد می‌کنند. حلقه‌های بزرگ از نظر ساختمان و خواص ژنتیک شبیه به DNA میتوکندریایی سایر یوکاریوت‌ها می‌باشند. بعضی RNA های رونویسی شده از حلقه‌های بزرگ پس از نسخه‌برداری دچار تغییرات می‌شوند که این تغییرات به‌صورت واردسازی یا حذف یوریدین اضافی می باشد که جهت تشکیل اسکلتی با خاصیت قابل خوانده شدن می‌شودکه این فرایند را RNA-editing می‌نامند. چگونگی و مختصات این فرایند توسط gRNA مشخص می گردد. gRNA توسط حلقه‌های کوچک کدگذاری می‌شود(11-8).

مراحل همانندسازی kDNA

امروزه الگوی همانندسازی kDNA در جنس *لیشمانیا*، گونه‌های *لیشمانیا تارنتولا* و *لیشمانیا دنوانی* می‌باشند. البته روش تکثیر kDNA در *لیشمانیا* با سایر جنس‌های تریپانوزوماتیده مانند *کریتیدیا فاسیکولا تا*، *تریپانوزوما بروسئی* و *تریپانوزوما کروزی* تفاوت چندانی ندارد. در طول این پروسه، تعداد حلقه‌های بزرگ و حلقه‌های کوچک دو برابر شده و به‌طور مساوی در سلول‌های دختر توزیع می‌شود. در فرایند تکثیر، حلقه‌های کوچک به‌صورت تکی توسط آنزیم‌های توپوایزومراز II از شبکه kDNA آزاد شده و به منطقه کینتوفلاژلار (KFZ) وارد می‌شوند که بین دیسک kDNA و بازال‌بادی قرار دارد. در این منطقه‌ی تخصص‌یافته، پروتئین‌هایی وجود دارند که در شروع تکثیر حلقه‌های کوچک نقش دارند مانند پروتئین‌های متصل شونده به‌توالی عمومی حلقه‌های کوچک (UXSBP)، پرایماز و DNA پلیمراز (تصویر شماره 1).



تصویر شماره 1: تصویر شماتیک ساختمان کینتوپلاست و پروتئین‌های وابسته به آن (15)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-04-19]

UXSBP به‌توالی از حلقه‌های کوچک که مسئول شروع تکثیر است، متصل می‌شود و تکثیر رخ می‌دهد. حضور پرایماز و DNA پلیمراز نیز الزامی است.

حلقه‌های کوچک آزاد به‌عنوان واسط نوع θ تکثیر یافته و از KFZ به 180 درجه مخالف کینتوپلاست مهاجرت می‌کنند. در مکان‌های مخالف، پرایمرها به‌وسیله اندونوکلئاز ویژه (SSEI) آزاد شده و فضای خالی ایجاد شده در پروسه‌ی تکثیر توسط DNA پلیمراز β پر می‌گردد. حلقه‌های کوچک تازه تکثیر شده توسط آنزیم های توپوایزومراز II به آنتی پودال سایت یا محیط شبکه متصل می‌شوند. بعد از تکثیر، حلقه‌های کوچک حداقل دارای یک شکاف هستند و تا زمانی که همه حلقه‌ها تکثیر یابند، باز می‌مانند. حلقه‌های تازه تکثیر شده به‌طور سازماندهی شده‌ای در طول شبکه kDNA توسط نوسان و یا چرخش کینتوپلاست در ارتباط با سایت‌های آنتی‌پودال تقسیم می‌شوند. برش kDNA مضاعف قبل از سایتوکینز رخ داده و دارای یک توپویزومراز II برای تولید 2 شبکه مساوی در هر سلول دختر است. در مورد تکثیر حلقه‌های بزرگ، اطلاعات کمی در دست است، البته برخلاف حلقه‌های کوچک، آن‌ها از شبکه‌ی kDNA آزاد نمی‌شوند تا حلقه‌های جدید بسازند و به‌طور معکوس به دیسک متصل هستند(14-12).

DNA توپوایزومرازها

DNA توپوایزومرازها، آنزیم‌هایی هستند که نقش مهمی در بسیاری از فرآیندهای ضروری مانند همانندسازی DNA، رونویسی، ترمیم و بازنویسی دارند. آن‌ها به توپوایزومراز نوع اول و نوع دوم طبقه‌بندی می‌شوند که به ترتیب به DNA تک رشته‌ای و دو رشته‌ای می‌چسبند. توپوایزومرازها به عنوان اهداف دارویی در درمان بیماری‌های باکتریایی و انگلی به‌کار می‌روند(15،16).

این آنزیم‌ها با ایجاد تغییرات توپولوژیکی و فضایی در DNA دو رشته‌ای نقش مهمی در تنظیم ماهیت دینامیک این مولکول دارند. همچنین توپوایزومرازها با الحاق یا برداشت مولکول‌های حلقوی DNA در کنترل پروسه‌های بیولوزیکی مهم ایفای نقش می‌کنند. این عملکردها، به‌طور عمده به متابولیسم اسیدنوکلئیک مانند نسخه‌برداری، رونویسی، بازنویسی و ویرایش بستگی دارد. به عبارتی دیگر، DNA در فضا می‌تواند بر روی خودش تاب بخورد و خم شود و درنتیجه توپولوژی آن تغییر کند که نتیجه‌ی آن ایجاد سوپرکویل‌های مثبت و منفی می‌باشد. باز شدن پیچ‌های DNA در یک ناحیه از مارپیچ DNA که دو انتهای آن فیکس شده‌اند، باعث ایجاد استرسی می‌شود که با سوپرکویل شدن آزاد می‌شود. آنزیم‌هایی که توپولوژی DNA را در چندین مرحله‌ی مختلف در همانندسازی و دیگر فعالیت‌های سلولی، در یوکاریوت‌ها و هم در پروکاریوت‌ها کنترل می‌کنند، توپوایزومراز نامیده می‌شوند(16).

همه DNA توپوایزومزارها دارای 2 ویژگی معمول هستند؛ اول توانایی ایجاد شکاف‌های قابل برگشت در DNA با شکستن پیوند فسفودی استری DNA و توانایی تشکیل دوباره پیوند می‌باشد. در طول این پروسه، یک گروه تیروزینی در آنزیم با پیوند کووالانسی به گروه فسفریل DNA متصل می‌شود. دوم این‌که وقتی فرم حد واسط توپوایزومراز -DNA تشکیل می‌شود، آنزیم به جدا شدن انتهای DNA کمک می‌کند و فضایی برای عبور DNA دو رشته‌ای و یا تک‌رشته‌ای دیگر ایجاد می‌کند. بعد از عبور DNA، آنزیم آزاد می‌شود و DNA تنظیم می‌گردد(17). ازآن‌جایی‌که DNA توپوایزومرازها دارای نقش‌های‌کلیدی درفرایندهای بیولوژیکی، توپولوژی و سازمان‌دهی DNA هستند، تعیین پایه مولکولی نقش و فعالیت فیزیولوژیک آن‌ها حائز اهمیت می‌باشد.

انواع DNA توپوایزومرازها

به‌طور معمول DNA توپوایزومرازها در نوع IA، IB،IIA و IIB دسته‌بندی می‌شوند (جدول شماره 1). نوع I، توپولوژی DNA را با ایجاد شکاف در یک‌رشته تغییر می‌دهد. درواقع یک‌رشته DNA را می‌شکند و

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-04-19]

رشته دیگر را از آن عبور می‌دهد؛ یعنی سوپرکویل منفی را به DNA شل یا relaxed DNA تبدیل می‌کند. در یوکاریوت‌ها توپوایزومراز نوع I روی هر دو نوع Negative و Positive کار می‌کند و نهایتاً فرم ریلکس مشاهده می‌شود.

آنزیم نوع IA شامل توپویزومرازهای تایپ III و I در یوباکترها، قارچ‌ها و پستانداران و reverse ژیرازها در یوباکترها و ارکی ها می باشد. این آنزیم ها به انتهای 5́ فسفات DNA متصل می‌شوند. فعالیت کاتالایتیک آن‌ها به‌وسیله منیزیم و پلی کاتیون‌ها تحریک می‌شود. توپوایزومرازهای نوع IA تنها سوپرکویل‌های منفی DNA و سوپرکویل‌های ایجاد شده پس از رونویسی را حذف می‌کنند. آنزیم نوع IB که به انتهای 3́ فسفات DNA متصل می‌شود در یوباکترها، یوکاریوت ها و ویروس واکسینا یافت می‌شود. توپوایزومرازهای نوع II سوپرکویل مثبت را به منفی تبدیل می‌کند. یعنی به منظور بازکردن پیچ‌های اضافی، دو رشته‌ی DNA را قطع می‌کند و سپس آنها را به هم متصل می‌کند. پس از آن، سوپرکویل منفی توسط آنزیم نوع I به relaxed DNA تبدیل می‌شود. در واقع این آنزیم‌ها با شکستن و بستن دو رشته DNA، توپولوژی DNA را تغییر می‌دهند. در طول این فرایند، هر زیر واحدی از آنزیم با پیوند کووالانسی (پیوند فسفوتیروزینی) به انتهای 5́ DNA متصل می‌شود. شکاف و گسستگی DNA دو رشته‌ای، یک دریچه باز یا بخش G برای عبور DNA دو رشته‌ای دیگر ایجاد می‌کند. آنزیم‌های نوع II در پروکاریوت دارای دو زیر واحد متفاوت هستند که یک ساختار هتروتترامریک را عرضه می‌کنند، در حالی که توپوایزومرازهای یوکاریوتیک هوموداِیمر هستند. در سلول‌های پروکاریوتی و یوکاریوتی توپوایزومرازهای نوع II جهت تکثیر DNA، خارج کردن سوپرکویل‌های مرتبط با رونویسی و تفکیک کروموزومی در طول میتوز لازم و ضروری هستند. کشف توپوایزومرازهای نوع II در ارکی‌ها باعث شد این آنزیم‌ها به دو نوع IIA و IIB طبقه‌بندی شوند. آنزیم‌های نوع IIA شامل DNA ژیرازهای یوباکترها (که مطابق با توپوایزومراز II یوکاریوتی است)، توپوایزومراز تایپ IV یوباکترها و توپوایزومراز II یوکاریوتیک پستانداران و قارچ‌ها (در پستانداران دو نوع توپوایزومراز IIA وجود دارد: توپوایزومراز IIα, IIß) می‌شوند. نوع IIB شامل توپوایزومراز تایپ VI ارکی‌ها از *سولفولوبوس شیباتی* (*Sulfolobus shibatae*) می‌شود(17،18).

جدول شماره 1: انواع DNA توپوایزومرازها (19)

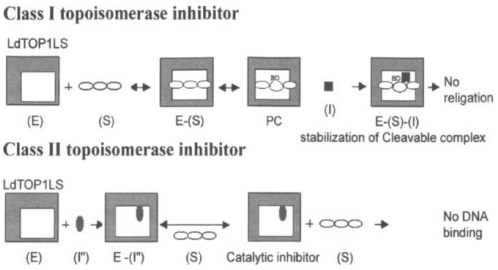
انواع DNA توپوایزومرازهای یوکاریوتی و پروکاریوتی	زیرمجموعه
DNA توپوایزومراز I و II باکتریال، DNA توپوایزومراز III قارچی، DNA توپوایزومراز IIIß و IIIα دروزفیلا، DNA توپوایزومراز IIIß و IIα پستانداران	IA
توپوایزومراز I مونومریک یوکاریوتی، DNA توپوایزومراز I میتوکندریال پستانداران، DNA توپوایزومراز I زیر واحد دو کینتوپلاستید، توپوایزومراز I پاکس ویروس	IB
ژیراز باکتریال، DNA توپوایزومراز IV، DNA توپوایزومراز فاژ T4، DNA توپوایزومراز II قارچی، DNA توپوایزومراز II دروزفیلا، DNA توپوایزومراز IIα و IIß پستانداران	IIA
DNA توپوایزومراز VI *سولفولوبیس شیباتی*	IIB

DNA توپوایزومراز: هدف دارویی مناسب در درمان لیشمانیوز؟

اگرچه ژن‌ها و پروتئین‌های توپوایزومرازهای لیشمانیایی در بسیاری از خصوصیات با همولوگ انسانی مشابه‌اند، اما تفاوت‌های خاصی مانند اختلاف در فعالیت آنزیمی و حساسیت به توکسین‌های توپوایزومراز، درمان ضدانگلی بر پایه‌ی این تارگت دارویی را توجیه می‌کند. ژن‌های توپوایزومراز در تریپانوزوماتیدهای گوناگونی گزارش‌شده‌اند از جمله: *بلاستوکریتیدیا کولیسس*(20)، *کریتیدیا فاسیکولاتا*(21)، *لیشمانیا اینفانتوم*(22) *تریپانوزوما بروسئی*(23)، *لیشمانیا شاگاسی*(24) و *لیشمانیا دنوانی*(25،26). ساختن عاملی که جلوی فعالیت DNA توپوایزومرازها را بگیرد، از حفظ شکل توپولوژیک جلوگیری می‌کند و همانندسازی روند نرمال خود را طی نمی‌کند و ارگانیسم از بین می‌رود. جهت استفاده از بازدارنده‌ها، مطالعات بسیاری در مورد تفاوت بین توپوایزومرازهای نوع II هسته‌ای و میتوکندریایی انجام شده است و برای درمان ضد انگلی، مهار انتخابی توپوایزومراز میتوکندریایی در نظر گرفته می‌شود(27).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-04-19]

معمولاً داروهای DNA توپوایزومراز، دو واکنش کاملاً متمایز را نشان می‌دهند: این داروها می‌توانند با ATP برای اتصال به توپوایزومراز رقابت کنند و در فعالیت کاتالیتیک آنزیم مداخله کنند (کلاس II) یا فرم حد واسط توپوایزومراز -DNA که منجر به شکستن DNA می‌شود را محصور و تثبیت کنند (کلاس I) (تصویر شماره 2)(28).



تصویر شماره 2: نمایش شماتیک مکانیسم مهار DNA توپوایزومراز I دو زیر واحدی در *لیشمانیا دنوانی* (28)

در مورد اول، داروها به‌عنوان مهارکننده‌های توپوایزومراز معرفی می‌شوند و مهارکننده‌ی توپوایزومرازهای II یوکاریوتیک و ژیراز باکتریال هستند مانند کومرماسین A (coumermycin A)، نوویبوسین (Novobiocin) و کلروبیوسین (Chlorobiocin) که در مجموع کومارین‌ها (Coumarins) نامیده می‌شوند. در مورد دوم، داروهایی که مجموعه‌ی کووالانت DNA-آنزیم را تثبیت می‌کنند، توکسین (سم) توپوایزومراز نامیده می‌شوند. چنین داروهایی مسیرهایی مانند وقفه چرخه سلولی و آپوپتوزیس را فعال می‌کنند و مهارکننده‌های توپوایزومراز I وII یوکاریوتیک، ژیراز و عوامل ضد توموری را شامل می‌شوند. کینولون‌هایی (Quinolones) مثل نالیدیکسیک اسید (Nalidixc acid)، اکسولینیک اسید (Oxolinic acid) و ترکیبات مرتبط، ژیراز باکتریال را مهار می‌کنند. کامپتوتسین (Camptothecin) روی توپوایزومراز I یوکاریوتی عمل می‌کند، در حالی که امساکرین (Amsacrine)، اتوپوساید (Etoposide) و تنیپوساید (Teniposide) به‌عنوان عوامل ضد تومور، توپوایزومراز II یوکاریوتی را متوقف می‌کنند(32-29). لیست مهارکننده‌های DNA توپوایزومراز در جدول شماره 2 نشان داده‌شده است.

جدول شماره 2: انواع مهارکننده های DNA توپوایزومراز (56،57)

هدف	مکانیسم اثر	داروها/ بازدارنده ها	گروه دارویی
توپو II	سم توپوایزومراز	m-AMSA 9-آمینواکریدین	اکریدین ها
توپو IIمتصل به DNA	الحاق در DNA	اکریفلاوین	اکریدین ها
توپو IIمتصل به DNA	الحاق در DNA	پنتاتریدین	اتیدیوم بروماید
توپو IIمتصل به DNA	اتصال با شکاف کوچک DNA	برنیل دیستامایسین	دیمیازن استورات
توپوIB	مهارکننده توپوایزومراز	سدیم استیوگلوکونات استیامین اوره	آنتی موان 5ظرفیتی
توپو I وII	سم توپوایزومراز دوگانه	کورستین لوتئین	فلاونوییدها
توپو I و II لیشمانیا	سم توپوایزومراز دوگانه	بتولینیک اسید دی هیدرو بتولینیک اسید	ترپن‌پنوید ها
توپو I	سم توپوایزومراز	کامپتوتسین توپوتکان ایرینوتکان 9-امینو -کامپتوتسین	الکالوییدها
توپو I	سم توپوایزومراز	اماروزنتین	گلیکوزیدها
توپو I	سم توپوایزومراز	دیوسپیرین	یس نفتوکینون
توپو II	سم توپوایزومراز	اتوپوساید تنیوساید	پودوفیلاتوکسین
ژیراز باکتریال،توپو IV و توپوII	سم توپوایزومراز	نالیدیکسیک اسید اکسولینیک اسید	کینولون ها
توپو II	سم توپوایزومراز	نورفلوکساسین سیروفلوکساسین افلوکساسین	فلوروکینولون ها
توپو I و II	سم توپوایزومراز دوگانه	2(2-دی کلرو استامید-وینیل)-3-(3'ایندولیل)-کینولون مشتقات Br	ایندولیکینولون ها
توپو I و II	سم توپوایزومراز دوگانه	سایتوپین ایتوپلسین	آنتی بیوتیک ها
ژیراز و توپو II	مهارکننده توپوایزومراز	نوویبوسین کلروبیوسین	کومارین ها
توپو I	مهارکننده توپوایزومراز	بتا لاپاکون و مشتقات	اورتونفتوکینون
Topo II	مهارکننده توپوایزومراز	ارکتیژنین تراکلوزنین	لیگانولیدها

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-04-19]

توکسین های توپوایزومراز

به دلیل تاثیر توپوایزومراز نوع I بر روی فعالیت *لیشمانیا دونووانی* و سایر تریپانوزوماتیده، به نظر می‌رسد برای درمان ضد لیشمانیایی مناسب باشد(33). مهارکننده‌های توپوایزومراز I در تریپانوزوماتیدهایی مانند *لیشمانیا*، کمپلکس‌های پایداری با DNA میتوکندریال و هسته‌ای ایجاد می‌کنند که منجر به اختلال همانندسازی DNA و مرگ سلولی می‌شود(34). سدیم استیبوگلوکونات (Sodium stibogluconate) با نام تجاری پنتوستام و استیبامین اوره (urea stibamine) دو داروی ضد *لیشمانیا* هستند که با مهار DNA توپوایزومراز I و تثبیت کمپلکس دوتایی به‌عنوان سم‌های توپوایزومراز تلقی می‌شوند(35). کامپتوتسین به‌عنوان بازدارنده DNA توپوایزومراز یوکاریوتی شناخته‌شده است که برای سلول‌های توموری سمی می‌باشد(36).

کامپتوتسین برای *لیشمانیا* سایتوتوکسیک است و باعث تخریب DNA هسته‌ای می‌شود. البته این دارو حلقه‌های کوچک DNA را نیز با آنزیم محصور می‌کند و تأثیر دارو در تکثیر سلولی مشاهده می‌شود، چون کامپتوتسین تلفیق [H^3] تیمیدین را در *لیشمانیا دنووانی* مهار می‌کند(37). لاکتون کامپتوتسین (Camptothecinlactone) و آنالوگ های آن نسبت به کامپتوتسین در کشتن تریپانوزوم‌ها در شرایط آزمایشگاهی 40 برابر تاثیرگذارتر هستند. چنین مشتقاتی با مهار انتخابی فعالیت توپوایزومراز I عملکرد ضد انگلی خود را نشان می‌دهند(36). درسال 2016، ماميدالا و همکارانش با روش intuitive scaffold hopping و با تغییرات زیست سنجی مهارکننده‌های شناخته شده‌ی Top1 مانند کامپتوتسین، اندوتکارین (Andotecarin)، دیفلوموتکان (Diflomotecan) و روستاکین (Rosettacin)، یک سری مشتقات فوروپایریدین دیون (furopyridine dione) را به‌عنوان مهارکننده‌های LdTop1 (توپوایزومرازI *لیشمانیا دنووانی*) گزارش کردند(38). مطالعات نشان داده است دیگر مشتقات کامپتوتسین مانند توپوتکان (Topotecan)، ایرینوتکان (Irinotecan) و 9-امینو کامپتوتسین (9-amino-campthothecin) نیز فعالیت کاتالایتیک توپوایزومراز I را در سلول های توموری مهار می‌کنند(39،31). بنابراین باید مطالعات بیش‌تری در زمینه پتانسیل درمانی این داروها در درمان عفونت‌های تریپانوزوماتیدی مانند عفونت‌های لیشمانیایی انجام شود. آماروژنتین (Amarogentin) جز فعال عصاره گیاهی مریم کوهی (Swertia chirata) می‌باشد و با جلوگیری از تشکیل کمپلکس DNA -آنزیم، توپوایزومراز نوع I را در تریپانوزوماتیدها مهار می‌کند. در *لیشمانیا دنووانی*، این دارو relaxation DNA را مهار می‌کند؛ آماروژنتین در مقایسه با کامپتوتسین نتایج مهارکنندگی مشابهی دارد(40). دیوسپیرین (Diospyrin) با جلوگیری از فعالیت کاتالایتیک DNA توپوایزومراز نوع I، شبیه به کامپتوتسین می‌باشد و یک سم توپوایزومراز است. این دارو بر روی توپوایزومراز II تأثیر ندارد. همچنین یک ترکیب گیاهی است که از رشد پروماستیگوتهای *لیشمانیا دنووانی* جلوگیری می‌کند(34،41). البته تأثیرات بیوشیمیایی و ساختاری دیوسپیرین بر روی شبکه kDNA هنوز هم نیاز به مطالعات گسترده‌تری دارد.

در مطالعه‌ای گزارش شده است یکی دیگر از ترکیبات ضد توموری، 9-انیلینو اکریدین (9-anilino acridines) و مشتقات آن که به صورت سم توپوایزومرازی عمل می‌کنند، دارای فعالیت قوی ضد لیشمانیایی می‌باشند(42). 9-انیلینواکریدین به‌عنوان مهارکننده‌ی توپوایزومراز II، از رشد آماستیگوت و پروماستیگوت لیشمانیا ماژور جلوگیری می‌کند(43). این ترکیبات، کمپلکس‌های قابل شکاف در هسته و کینتوپلاست *لیشمانیا شاگاسی* را نیز تثبیت می‌کنند. این ترکیبات در مقابل آنزیم‌های انسانی اثر سایتوتوکسیسیته نشان می‌دهند و عوامل انتخابی نیستند(44). امساکرین (m-AMSA, acridinyl anisidide) نیز با افزایش سطح توپوایزومراز II وابسته به DNA نقش خود را ایفا

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-04-19]

می‌کند و این آنـزیم را بـه یـک توکسـین سـلولی قـوی تبدیل می‌کنـد. در سـلول‌هـای پسـتانداران، آنـزیم‌هـای میتوکندریایی و هسته‌ای، بعـد از مواجهـه بـا امسـاکرین تحت تـأثیر قـرار مـی گیرنـد. اتوپوسـاید (VP16-213) یک بازدارنده دیگـر یوکـاریوتی بـرای توپـوایزومراز II است که باعث تشکیل کمپلکس پایدار بین توپوایزومراز II و حلقه‌های کوچک یا حلقه‌های بزرگ کینتوپلاسـت می‌شود و فعالیـت آنزیمـی را مختـل مـی‌کنـد؛ بنـابراین تریپانوزوماتیـدهای درمـان شـده بـا اتوپوسـاید شـبکه kDNA ایی را عرضه می‌کنند کـه عملکـرد خـود را از دست داده است. البته اتوپوساید هیچ تأثیری روی رشـد سلولی یا ساختمان فضایی کینتوپلاست پروماستیگوت‌هـای *لیشـمانیا آمازوننسـیس* نداشـته اسـت، حتـی زمـانی کـه تک‌یاخته بـا دوز بـالای (500µg/ml) ایـن دارو کشـت داده می‌شود.

در مطالعـه سـایر محققـین نیـز نشـان داده شـد کـه اتوپوساید در کاهش پروماستیگوت‌هـای متحـرک *لیشـمانیا دنووانی* کاهش چندانی نداشـته اسـت(47-45). بـا توجـه بـه بررسـی‌هـای متعـدد گـزارش شـده اسـت بتولینیـک اسـید (Betulinic acid) یـک مهارکننـده‌ی قـوی توپـوایزومراز تاثیرات I و II می‌باشد. همچنـین مطالعـات نشـان داده اسـت دی هیـدروبتولینیک اسـید (DHBA) یکـی از مشـتقات بتولینیک اسید، عـلاوه برخاصـیت ضـد HIV، بازدارنـده‌ی دیگر توپوایزومراز I و II *لیشمانیا* نیـز مـی باشـد، بـه طـوری که در بررسی با میکروسکوپ الکترونی انتقـالی (TEM) بـا مواجه پروماستیگوت های *لیشمانیا* بـا 5 میکرومـول DHBA به مدت 8 ساعت، توده‌هـای کروماتینی فنجـانی شـکل در حاشیه هسته‌ی سلول مشاهده شد که ویژگی بارز آپوپتـوز و مـرگ سـلولی می‌باشـد. ایـن مطالعـات نشـان داده اسـت DHBA یک ترکیـب ضـد لیشـمانیایی قـوی اسـت کـه بـا هـدف قـرار دادن توپوایزومرازهـای انگلـی، آپپتـوز را القـا مـی‌کنـد(50-48). کینولـون‌هـا زیـر واحـد ADNA ژیـراز باکتریال و توپوایزومراز IV که در واکنش‌هـای شـکافت و اتصال مجدد DNA دخیل هستند مورد هدف قرار می‌دهـد.

کینولون‌ها از جملـه نالیدیکسـیک اسـید، اثـر خـود را روی توپوایزومراز نـوع II تریپانوزوماتیـدی از طریـق مهـار رشـد سلولی و تغییرات سـاختمان kDNA اعمـال مـی‌کننـد. ایـن مهارکننده روی رشد وقفـه سـلولی *لیشـمانیا آمازوننسـیس* و سـایر تریپانوزوماتیـدها نسـبت بـه اتوپوسـاید (مهارکننـده توپوایزومراز IIیوکاریوتی) مؤثرتر می‌باشد.

بـا توجـه بـه مطالعـات انجـام شـده، داروهـایی که توپوایزومراز باکتریال را مورد هدف قرار مـی‌دهنـد، برای درمان ضد تریپانوزوماتیدی اهمیت بیش‌تری دارنـد. فعالیت انتخابی فلوروکینولـون هـایی (Fluoroquinolones) ماننـد انوکساسـین (enoxacin)، سیپروفلوکساسـین (Ciprofloxacin) و افلوکساسـین (Ofloxacin) در مقابـل اماسـتیگوت *لیشـمانیا پانامننسـیس* در شـرایط برون‌تنی نشان داد که این ترکیبات توپوایزومراز II را در غلظت‌های قابـل دسـترس مهـار مـی‌کنـد(51). همچنـین فلوروکینولون‌ها در شرایط درون‌تنی و برون‌تنی بر روی *لیشمانیا دنووانی* اثر دارند. آنالوگ‌هـای دو حلقـه‌ای آن آنزیم‌های میتوکندریال را مورد هدف قـرار مـی‌دهنـد و ترکیبات چهار حلقه‌ای آن بیش از 50 فولـد سـمی‌تـر از افلوکساسـین اسـت (چـون یـک حلقـه تیـازول بـیش‌تـر دارد)(52). البتـه ایندولیل کینولـون‌هـای سـنتتیک ماننـد 2-(۲′-دی کلرو استامیدوبنزیل) -3- (3′ ایندولیل)- کینولـــــــون (-2-(2"-dichloro-acetamidobenzo)-3-(3'-indolyl)-quinolone) و مشـتقات (Br) نیـز از فعالیت تریپانوسیدال قوی برخوردار هستند. این ترکیبات بـا مهـار توپوایزومرازهـای I و II روی همانندسـازی kDNA *لیشـمانیا دونـووانی* تـأثیر مـی‌گذارنـد، سـم‌های توپـوایزومرازی دوگانـه نامیـده مـی‌شـوند. در حقیقـت توپوایزومرازهای تریپانوزوماتیدی از سـایر آنـزیم هـای یوکاریوتی به اندولیل کینولون ها مستعدتر هستند و بـه یافتن افق‌های جدید در درمان دارویی کمک مـی‌کننـد. ساینتوپین و اینتوپلیسین آنتی‌بیوتیک‌هایی هستند که هـر دو نوع توپوایزومراز را مهار می‌کنند و فعالیت آن‌ها را با تثبیـت کمپلکس آنزیم - DNA کاهش می‌دهند(55-53).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-04-19]

مهارکننده توپوایزومرازها

نوبیوسین و آنالوگ‌های ساختاری آن مانند کلروبیوسین و کومرمایسین، زیرواحد B توپوایزومرازهای II باکتریال یا ژیرازها را مورد هدف قرار می‌دهند. این دسته از داروها، مهارکننده‌های رقابتی فعالیت ATPase کاتالیز شده به وسیله GyrB هستند و با ATP برای اتصال به آنزیم رقابت می‌کنند(58،59).

نوبیوسین در کینتوپلاست تریپانوزوماتیدها تغییرات فراساختاری ایجاد می‌کند، البته بعضی گونه‌ها ساختمان kDNA را حفظ می‌کنند. این دارو تکثیر سلولی اماستیگوت *لیشمانیا* را متوقف می‌کند و انگل‌هایی با مورفولوژی غیرطبیعی ایجاد می‌کند. اگر انگل در محیط حاوی کلروبیوسین کشت داده شود، این تأثیر 5 برابر قوی‌تر می‌شود. مطالعات نشان داده است که پروماستیگوت‌های *لیشمانیا آمازونسیس* کشت داده شده در محیط حاوی نوبیوسین به مدت 48 ساعت، دچار اختلال در رشد و لیز سلولی می‌شوند(60). بتا لاپاکون (ß-lapachone) یک اورتونفتوکینون می‌باشد و منشأ آن درختی است که سال‌ها عصاره آن برای مصارف پزشکی استفاده شده است. این دارو بدون تشکیل کمپلکس آنزیم-DNA فعالیت کاتالایتیک توپوایزومراز I را مهار می‌کند. همچنین β–لاپاکون باعث مرگ سلولی در سلول‌های سرطانی انسان می‌شود. در مطالعات متعددی نشان داده شده است که آپپتوز القا شده توسط لاپاکون β مستقل از P53 وکاسپاز و وابسته به NAD(P)H–کینون اکسیدوردکتاز 1(NQA1) عمل خواهد کرد(61). قابل ذکر است که اخیراً ترکیبات دیگری از اورتونفتوکینون‌ها با مهار توپوایزومراز II و بدون اثرات توکسیک خاصی بر روی پروماستیگوت‌های *لیشمانیا امازونسیس* و *لیشمانیا برازیلینسیس* عملکرد خوبی نشان داده‌اند(62).

داروهای متصل شونده به DNA: داروهای الحاقی و غیرالحاقی

آکریفلاوین (Acriflavine) یک داروی الحاقی می‌باشد که بازدارنده انتخابی سنتز DNA کیتوپلاستی است، درحالی که در تکثیر DNA هسته‌ای بی‌تأثیر می‌باشد. ارتباط این داروها با فعالیت ضد لیشمانیایی در مقایسه با سایر تارگت‌های کینتوپلاستی مانند توپوایزومرازها به خوبی روشن نیست. از آن‌جائی که تأثیر مواد الحاقی می‌تواند منجر به کمبود kDNA فیبریل مرکزی شود، این پدیده در ابتدا به نام آکینوپلاستی شناخته شد. بعدها واژه آکینوپلاستی به دیس‌کینتوپلاستی تغییر یافت. چون پس از درمان با اکریفلاوین بازآرایی یا فقدان kDNA رخ می‌دهد و کینتوپلاست به‌عنوان یک ساختار محصور شده با غشا در سلول باقی می‌ماند. سلول های دیس کینتوپلاستی در نتیجه مهار انتخابی سنتز kDNA و توزیع بی‌قاعده آن‌ها در طول تقسیم سلولی حاصل می‌شوند. مطالعات بعدی با آکریفلاوین نشان داد که استرین دیس کینتوپلاستیک القا شده با رنگ، یک ابزار قوی جهت مطالعه نقش‌های بیولوژیک مرتبط با kDNA ایجاد می‌کند. گزارش شده است که آکریفلاوین با تنفس میتوکندریایی، رشد سلولی، تکثیر kDNA و تقسیم آن بین سلول‌های دختر مداخله می‌کند. علاوه بر این، اکریفلاوین تغییرات فراساختاری روی تریپانوزوماتیدها اعمال می‌کند، به‌طوری‌که در *لیشمانیا تارنتولا*، *کریتیدیا فاسیکولاتا* و *تریپانوزوما بروسئی* میتوکندری های متورم با کریستاهای وسیع و یک kDNA متراکم مشاهده می‌شود که بعد از مواجه با دارو ناپدید می‌شوند(63،64). سلول های دیسکینتوپلاستیک بعد از مواجه با داروهای غیر الحاقی مانند برنیل (Berenil)، پنتامیدین (pentamidine) و آنتری سایید (Antrycide) نیز حاصل می‌شوند(65). برخلاف داروهای الحاقی این دسته از ترکیبات در جایی که سکانس‌های DNA غنی از آدنین و تیمین باشد، با شکاف کوچک DNA پیوند می‌خورند(66).

ژنوم لیشمانیا و تریپانوزوما دارای ژن کدکننده TopIA پروکاریوتی و TopIB یوکاریوتی می‌باشد(67). توپوایزومرازهای نوع II قادر به واکنش با DNA که شکاف کوچک آن با برنیل اشغال شده است، نمی‌باشند و داروی دریافتی نیز سبب کاهش سطح آنزیم

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-04-19]

می‌شود. علاوه بر آن، برنیل مانع از تفکیک kDNA شده و ممکن است با مهار آزادسازی حلقه‌های کوچک همانندسازی را مختل کند(68). همچنین در سال 2012 مطالعه‌ی دیگری در هند نشان داده است مولکول secohydroxy-aza-CBI-TMI یک تارگت دارویی متصل شونده به DNA جهت درمان لیشمانیوز است(69). داروهای متصل شونده به DNA (الحاقی و غیرالحاقی)، به عنوان بازدارنده‌های فعالیت توپوایزومراز میتوکندریایی سلول های پستانداران شرح داده شده است؛ اما احتمال آن‌که DNA هسته‌ای را تحت تأثیر قرار بدهند کم است، به این دلیل که کمپلکس‌های قابل شکاف با DNA توپوایزومرازهای نوع II هسته‌ای مشاهده نشده است(72-70). اطلاعات ذکر شده مؤید این مطلب است که چنین داروهایی ترجیحاً با DNA میتوکندریال مداخله می‌کنند. درمان دارویی لیشمانیازیس تا به امروز رضایت‌بخش نبوده و معمولاً دوزهای دارویی مورد نیاز جهت حذف انگل از بدن منجر به توکسیسیته در میزبان می‌شود. چالش در درمان دارویی لیشمانیازیس به منظور یافتن تارگت‌های مولکولی ویژه‌ای است که توکسیسیته در میزبان را به حداقل برسانند. بنابراین تحقیقات برای یافتن موردی مناسب برای این امر، شامل تعیین تارگت دارویی کامل و فهم مکانیسم اثر دارو همچنان ادامه دارد. به‌طور کلی توپوایزومرازها نوع I یا II، در یوکاریوت‌ها یا در پروکاریوت‌ها به علت داشتن نقش‌های مهم بیولوژیکی در همانندسازی DNA، رونویسی و بسیاری از فرایندهای حیاتی سلول تارگت‌های دارویی بسیار مناسبی هستند. مطالعات متعدد نشان داده است مهارکننده‌های توپوایزومرازها، این آنزیم‌ها را به توکسین‌های داخل سلولی و یک ابزار مناسب برای کشتن انگ در میزبان تبدیل می‌کنند.

داروهای متعددی همچون داروهایی که در درمان تومورها مؤثرند، به‌عنوان عوامل درمانی بالقوه مورد توجه واقع شده‌اند. تاکنون اکثر ترکیباتی که بر روی انگل *لیشمانیا* آزمایش شده‌اند و کینتوپلاست را تحت تأثیر قرار می‌دهند، بازدارنده‌های انتخابی توپوایزومراز نوع II هستند. مهارکننده‌های توپوایزومراز I و داروهای متصل شونده به DNA نیز باید به‌طور گسترده‌تری به‌عنوان ترکیبات درمانی ضدعفونت لیشمانیایی کاربرد داشته باشند(73). با توجه به مطالعات مختلف، استنباط می‌شود کلاس‌های اصلی مهارکننده‌های توپوایزومراز تاثیرات فیزیولوژیک متفاوتی ایجاد می‌کنند که می‌تواند به فاکتورهایی مانند نفوذپذیری به غشاهای سلولی، مقاومت ناشی از تغییرات جایگاه‌های اتصالی آنزیم به دارو و خصوصیات فارماکوکینتیک مرتبط باشند. کشف داروهای جدید از منابع طبیعی و سنتتیک که نسبت به انگل ها نفوذپذیرترند و سمیت کمتری در سلول‌های پستانداران دارند، دارای اهمیت ویژه‌ای بوده و مستلزم بررسی‌های بیش‌تری می‌باشند.

References

1. Alvar J, Vélez ID, Bern C, Herrero M, Desjeux P, Cano J, et al. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. PLoS One 2012, 7(5): e35671.
2. Faridnia R, Kalani H, Fakhar M, Akhtari J. Investigating in vitro anti-leishmanial effects of silibinin and silymarin on *Leishmania major*. Annals of Parasitology 2018; 64(1): 29-35.
3. Akhtari J, Faridnia R, Kalani H, Bastani R, Fakhar M, Rezvan H, Beydokhti AK. Potent in vitro antileishmanial activity of a nanoformulation of cisplatin with carbon nanotubes against *Leishmania major*. J Glob Antimicrob Resist 2018; 16(2019): 11-16.
4. Akhoundi M, Kuhls K, Cannet A, Votýpka J, Marty P, Delaunay P, et al. A Historical Overview of the Classification, Evolution,

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-04-19]

and Dispersion of *Leishmania* Parasites and Sandflies. PLoS Negl Trop Dis 2016; 10(3): e0004349.

5. Keighobadi M, Akhtari J, Fakhar M, Emami S, Mirzaei H. An overview on anticancer drugs with antileishmanial activity. J Mazandaran Univ Med Sci 2018; 28(161): 154-165 (Persian).
6. Keighobadi M, Fakhar M, Emami S. Hypothesis: the potential application of doxorubicin against cutaneous leishmaniasis. Trop Parasitol 2015; 5(1): 69-70.
7. Chawla B, Madhubala R. Drug targets in *Leishmania*. J Parasit Dis 2010; 34(1):1–13.
8. Fakhar M, Mohebali M, Ahmadpour E. Visceral Leishmaniasis. Gorghan: Noruzi publisher; 1393. (Persian).
9. Shokri A, Akhtari J, Keighobadi M, Fakhar M, Teshnizi SH, Emami S, et al. Promising antileishmanial effectiveness of doxorubicin and Doxil against Leishmania major: an in vitro assay. Asian Pac J Trop Med 2017; 10(6): 544-548.
10. Esteves AM, Simpson L. Uridine insertion/ deletion RNA editing in trypanosome mitochondria – a review. Gene 1999; 240(2): 247-260.
11. Morris JC, Drew ME, Klingbeil MM, Motyka SA, Saxowsky TT, Wang Z, et al. Replication of kinetoplast DNA: an update for the new millennium. Int J Parasitol 2001; 31(5-6): 453-458.
12. Shlomai J. The structure and replication of kinetoplast DNA. Curr Mol Med 2004; 4(6): 623-647.
13. Liu B, Liu Y, Motyka SA, Agbo EEC, Englund PT. Fellowship of the rings: the replication of kinetoplast DNA. Trends Parasitol 2005; 21(8): 363-369.
14. Liu Y, Englund PT. The rotational dynamics of kinetoplast DNA replication. Mol Microbiol 2007; 64(3): 676-690.
15. Klingbeil MM, Englund PT. Closing the gaps in kinetoplast DNA network replication. Proc Nat Acad Sci USA 2004; 101(13):4333-4334.
16. Pommier Y. Drugging topoisomerases: lessons and challenges. ACS Chem Biol 2013; 8(1): 82-95.
17. Champoux JJ. DNA topoisomerases: structure, function and mechanism. Annu Rev Biochem 2001; 70: 369-413.
18. Buhler C, Gadelle D, Forterre P, Wang JC, Bergerat A. Reconstitution of DNA topoisomerase VI of the thermophilic archeon Sulfolobusshibatae from subunits separately overexpressed in *Escherichiacoli*. Nucleic Acids Res 1998; 26(22): 5157-5162.
19. Das BB, Sen N, Dasgupta SB, Ganguly A, Das R, Majumder HK. Topoisomerase research of kinetoplastid parasite *Leishmania*, with special reference to development of therapeutics. Indian J Med Res 2006; 123(3): 221-232.
20. Lourenço EE, Cavalcanti DP, Picchi GFA, De Souza W, Krieger MA, Motta MCM, et al. Molecular characterization of type II topoisomerase in the endosymbiont-bearing trypanosomatid *Blastocrithidia culicis*. FEMS Microbiol Lett 2006; 257(1): 163-170.
21. Pasion SG, Hines JC, Aebersold R, Ray DS. Molecular cloning and expression of the gene encoding the kinetoplast-associated type II DNA topoisomerase of *Crithidia fasciculata*. Mol Biochem Parasitol 1992; 50(1): 57-68.
22. Hanke T, Ramiro MJ, Trigueros S, Roca J, Larraga V. Cloning, functional analysis and post-transcriptional regulation of a type II DNA topoisomerase from *Leishmania infantum*: a new potential target for anti-

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-04-19]

parasite drugs. Nucleic Acids Res 2003; 31(16): 4917-4928.

23. Bodley AL, Chakraborty AK, Xie S, Burri C, Shapiro TA. An unusual type IB topoisomerase from African trypanosomes. Proc Natl Acad Sci USA 2003; 100(13): 7539-7544.
24. De Sousa JM, Lareau SM, Pearson RD, Carvalho EM, Mann BJ, Jeronimo SM. Characterization of *Leishmania chagasi* DNA topoisomerase II: a potential chemotherapeutic target. Scand J Infect Dis 2003; 35(11-12): 826-829.
25. Chakraborty AK, Majumder HK. Mode of action of pentavalent antimonials: specific inhibition of type I DNA topoisomerase of *Leishmania donovani*. Biochem Biophys Res Commum 1988; 152(2): 605-611.
26. Chakraborty AK, Majumder HK. Decatenation of kinetoplast DNA by an ATP-dependent DNA topoisomerase from the kinetoplast hemoflagellate *Leishmania donovani*. Mol Biochem Parasitol 1987; 26(3): 215-224.
27. Fragoso SP, Goldenberg S. Cloning and characterization of the gene encoding *Trypanosoma cruzi* DNA topoisomerase II. Mol Biochem Parasitol 1992; 55(1-2): 127-134.
28. Majumder HK. Drug targets in kinetoplastid parasite. Preface. Adv Exp Med Biol 2008; 625: 103-113.
29. Gellert M, O´Dea MH, Itoh T, Tomizawa J. Novobiocin and coumermycin inhibit DNA supercoiling catalyzed by DNA gyrase. Proc Natl Acad Sci USA 1976; 73(12): 4474-4478.
30. Kaufmann SH. Cell death induced by topoisomerase-targeted drugs: more questions than answers. Biochem Biophys Acta 1998; 1400(1-3): 195-211.
31. Bodley AL, Wani MC, Wall ME, Shapiro TA. Antitrypanosomal activity of camptothecin analogs. Structure-activity correlations. Biochem Pharmacol 1995; 50(7): 937-942.
32. Bodley AL, Shapiro TA. Molecular and cytotoxic effects of camptothecin, a topoisomerase I inhibitor, on trypanosomes and *Leishmania*. Proc Natl Acad Sci USA 1995; 92(9): 3726-3730.
33. Chakraborty AK, Gupta A, Majumber HK. A type I DNA topoisomerase from the kinetoplast hemoflagellate *Leishmania donovani*. Indian J Biochem Biophys 1993; 30(5): 257-263.
34. Ray S, Hazra B, Mittra B, Das A, Majumder HK. Diospyrin, a bisnaphthoquinone: a novel inhibitor of type I DNA topoisomerase of *Leishmania donovani*. Mol Pharmacol 1998; 54(6): 994-999.
35. Chakraborty AK, Majumder HK. An ATP independent catenating enzyme from the kinetoplast hemoflagellate *Leishmania donovani*. Biochem Biophys Res Commun 1991; 180(1): 279-785.
36. Bodley AL, Wani MC, Wall ME, Shapiro TA. Antitryp anosomal activity of camptothecin analogs. Structure–activity correlations. Biochem Pharmacol 1995; 50(7): 937-942.
37. Bodley AL, Shapiro TA. Molecular and cytotoxic effects of camptothecin, a topoisomerase I inhibitor, on trypanosomes and *Leishmania*. Proc Natl Acad Sci USA 1995; 92(5): 3726-3730.
38. Mamidala R, Majumder P, Jha K, Bathula C, Aqarwal R,Chary MT et al. Identification of *Leishmania donovani* Topoisomerase 1 inhibitors via intuitive scaffold hopping and bioisosteric modification of known Top 1inhibitors. Sci Rep 2016; 6: 26603.
39. Yanaihara T, Yokoba M, Yamamoto M, Ryuge S, Hagiri S, Katagiri M, et al. Phase I and pharmacologic study of irinotecan and amrubicin in advanced non-small cell lung cancer. Cancer Chemother Pharmacol 2007; 59(4): 419-427.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-04-19]

40. Ray S, Majumder HK, Chakravarty AK, Mukhopadhyay S, Gil RR, Cordell GA. Amarogentin, a naturally occurring secoiridoid glycoside and a newly recognized inhibitor of topoisomerase I from *Leishmania donovani*. J Nat Prod 1996; 59(1): 27-29.
41. Yardley V, Snowdon D, Croft SL, Hazra B. In vitro activity of diospyrin and its derivatives against *Leishmania donovani*, *Trypanosomacruzi* and *Trypanosoma brucei brucei*. Phytother Res 1996; 10(7): 559-562.
42. Figgitt D, Denny W, Chavalitshewinkoon P, Wilairat P, Ralph R. In vitro study of anticancer acridines aspotential antitrypanosomal and antimalarial agents. Antimicrob Agents Chemother 1992; 36(8): 1644-1647.
43. Gamage SA, Figgitt DP, Wojcik SJ, Ralph RK, Ransijn A, Mauel J, et al. Structure-activity relationships for the antileishmanial and antitrypanosomal activities of 1'-substituted 9-anilinoacridines. J Med Chem 1997; 40(16): 2634-2642.
44. Werbovetz KA, Spoors PG, Pearson RD, Macdonald TL. Cleavable complex formation in *Leishmania chagasi* treated with anilinoacridines. Mol Biochem Parasitol 1994; 65(1): 1-10.
45. Shapiro TA, Klein VA, Englund PT. Drug-promoted cleavage of kinetoplast DNA minicircles. J Biol Chem 1989; 264(7): 4173-4178.
46. Shapiro TA, Englund PT. Selective cleavage of Kinetoplast DNA minicircles promoted by antitrypanosomal drugs. Proc Natl Acad Sci USA 1990; 87(3): 950-954.
47. Werbonetz KA, Lehnert EK, Macdonald TL, Pearson RD. Cytotoxicity of Acridine Compounds for *Leishmania* Promastigotes In Vitro. Antimicrob Agents Chemother 1992; 36(2): 495-497.
48. Chowdhury AR, Mandal S, Mittra B, Sharma S, Mukhopadhyay S, Majumder HK. Betulinic acid, a potent inhibitor of eukaryotic topoisomerase I: identification of the inhibitory step, the major functional group responsible and development of more potent derivatives. Med Sci Monit 2002; 8(7): 254-265.
49. Kashiwada Y, Hashimoto F, Cosentino LM, Chen CH, Garrett PE, Lee KH. Betulinic acid and Dihydrobetulinic acid derivatives as potent anti-HIV agents. J Med Chem 1996; 39(5): 1016-1017.
50. Chowdhury AR, Mandal S, Goswami A, Ghosh M, Mandal L, Chakraborty D, et al. Dihydrobetulinic acid induces apoptosis in *Leishmania donovani* by primarily targeting DNA topoisomerase I and II: implications in antileishmanial therapy. Mol Med 2003; 9(1-2): 26-36.
51. Romero IC, Saravia NG, Walker J. Selective Action of Fluoroquinolones against Intracellular Amastigotes of *Leishmania* (*Viannia*) panamensis In vitro. J Parasitol 2005; 91(6): 1474-1479.
52. Croft SL, Hogg J. Limited activity of bacterial DNA topoisomerase II inhibitors against Leishmania donovani and Trypanosoma cruzi amastigotes in vitro. Trans R Soc Trop Med Hyg 1988; 82(6): 856.
53. Ray S, Sandhukhan PK, Mandal NB, Mahato SB, Majumder HK. Dual inhibition of DNA topoisomerases of *Leishmania donovani*by novel indolyl quinolones. Biochem Biophys Res Comuon 1997; 230(1): 171-175.
54. Poddevin B, Riou JF, Lavelle F, Pommier Y. Dual topoisomerase I and II inhibition by intoplicine (RP-60475), a new antitumor agent in early clinical trials. Mol Pharmacol 1993; 44(4): 767-774.
55. Leteurtre F, Fujimori A, Tanizawa A, Chabra A, Mazumder A, Kohlhagen G, et al. Saintopin,

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-04-19]

a dual inhibitor of DNA topoisomerases I and II, as a probe for drug-enzyme interactions. J Biol Chem 1994; 269(46): 28702-28707.

56. Das A, Dasgupta A, Sengupta T, Majumder HK. Topoisomerases of kinetoplastid parasites as potential chemotherapeutic targets. Trends Parasitol 2004; 20(8): 382-387.
57. Keighobadi M, Emami S, Tarsi AK, Fakhar M. Down-regulation of peroxin synthesis by silencing RNA (siRNA): A novel hypothesis for treatment of leishmaniasis. Indian J Dermatol, Venereol Leprol 2016; 82(4): 436-437.
58. Lewis RJ, Tsai FT, Wigley DB. Molecular mechanisms of drug inhibition of DNA gyrase. Bioessays 1996; 18(8): 661-671.
59. Maxwell A. DNA gyrase as a drug target. Trends Microbiol 1997; 5(3): 102-109.
60. Cavalcanti DP, Fragoso SP, Goldenberg S, De Souza W, Motta MCM. The effect of topoisomerase II inhibitors on the kinetoplast ultrastructure. Parasitol Res 2004; 94(6): 439-448.
61. Pardee AB, Li YZ, Li CJ. Cancer therapy with beta-lapachone. Curr Cancer Drug Targets 2002; 2(3): 227-242.
62. de Araújo M, de Souza PS, de Queiroz AC, da Matta CB, Leite AB, da Silva AE et al. Synthesis, Leishmanicidal Activity and Theoretical Evaluations of a Series of Substituted bis-2-Hydroxy-1,4-Naphthoquinones. Molecules 2014; 19(9): 15180-15195.
63. Trager W, Rudzinska MA. The riboflavin requirement and the effects of acriflavin on the fine structure of the kinetoplast of *Leishmania tarentolae*. J Protozool 1964; 11: 133-145.
64. Schnaufer A, Domingo GJ, Stuat K. Natural and induced dyskinetoplastic trypanosomatids. Int J Parasitol 2002; 32(9): 1071-1084.
65. Hajduk SL. Influence of DNA complexing compounds on the Kinetoplast of trypanosomatids. Prog Mol Subcell Biol 1978; 6: 158-200.
66. Dervan PB. Design of sequence-specific DNA-binding molecules. Science 1986; 232(4749): 464-471.
67. Chowdhury SR, Majumder HK. DNA Topoisomerases in unicellular pathogens: Structure, function, and druggability. Trends Biochem Sci 2019; 44(5):415-432.
68. Portugal P. Berenil acts as a poison of eukaryotic topoisomerase II. FEBS Lett 1994; 344(2-3): 136-138.
69. Chauhan N, Vidyarthi AS, Poddar R. Comparative Analysis of Different DNA-Binding Drugs for Leishmaniasis Cure: A Pharmacoinformatics Approach. Chem Biol Drug 2012; 80(1): 54-63.
70. Fairfield FR, Bauer WR, Simpson MV. Mitochondria contain a distinct DNA topoisomerase. J Biol Chem 1979; 254(19): 9352-9354.
71. Tewey KM, Rowe TC, Yang L, Halligan BD, Liu LF. Adriamycininduced DNA damage mediated by mammalian DNA topoisomerase II. Science 1984; 226(4673): 466-468.
72. Reguera RM, Elmahallawy EK, García-Estrada C, Carbajo-Andrés R, Balaña-Fouce R. DNA topoisomerases of *Leishmania* parasites; druggable targets for drug discovery. Current Med Chem 2019; 26(32): 5900-5923.
73. Zuma AA, Cavalcanti DP, Maia MC, De Souza W, Motta MC. Effect of topoisomerase inhibitors and DNA-binding drugs on the cell proliferation and ultrastructure of *Trypanosoma cruzi*. Int J Antimicrob Agents 2011; 37(5): 449-456.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-04-19]