REVIEW ARTICLE

Cellulose in Acanthamoeba Cyst Wall: A Drug Target for Acanthamoeba Infection Treatment

Samira Dodangeh[1],
Mahdi Fakhar[2]

[1] PhD Student in Parasitologyand Mycology, Student Research Committee, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] Associate Professor, Molecular and Cell Biology Research Center, Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received July 18, 2016 ; Accepted September 17, 2016)

Abstract

Acanthamoeba is a free-living amoeba that is an opportunistic pathogen of humans and animals. Its prognosis is potentially poor that requires fast diagnosis and successful treatment. There are two phases in its life cycle: an active trophozoite form and the double-walled resistant cyst. This amoebic genus is the causative agent of two severe diseases in humans: *Acanthamoeba* keratitis (AK) and fatal granulomatous amoebic encephalitis (GAE). *Acanthamoeba* cysts almost remain viable after treatments and lead to serious and frequent recurrence of infection. Resistance of the double walled cysts is mainly due to cellulose molecules presented in the inner layer of the cysts. Thus, cellulose degradation or inhibiting the cellulose synthesis offers a potential strategy for effective treatment of *Acanthamoeba*. In this non-systematic review we aimed at providing an overview of the cellulose structure, its role in skeletal structure and also physicochemical activity of the protozoa and present it as new drug target for the treatment of amoebic infection. Overall, the degradation of the cyst wall will make amoeba susceptible to chemotherapeutic drugs, and at least inhibition of *Acanthamoeba* excystment, consequently it prevents the recurrence of infection. Furthermore, cellulose synthesis inhibitors cause current drugs to affect on *Acanthamoeba* in lower time and concentrations. Therefore, using compounds or drugs that inhibit the synthesis of cellulose can be a new treatment for amoebic infections.

Keywords: *Acanthamoeba*, cyst wall, cellulose, drug target

J Mazandaran Univ Med Sci 2016; 26 (141): 182-191 (Persian).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و ششم شماره ۱۴۱ مهر سال ۱۳۹۵ (۱۹۱-۱۸۲)

سلولز موجود در دیواره کیست آکانتامبا: یک هدف دارویی برای درمان عفونت آکانتامبایی

سمیرا دودانگه[۱]
مهدی فخار[۲]

چکیده

آکانتامبا آمیب آزادزی و از پاتوژن‌های فرصت‌طلب برای انسان‌ها و حیوانات است. پروگنوز آن به شدت ضعیف است و نیاز به تشخیص سریع و درمان موفقیت آمیز دارد. دو فاز در چرخه زندگی آن وجود دارد: فرم تروفوزوئیت فعال و کیست دو جداره مقاوم. این جنس آمیب عامل دو بیماری در انسان است: کراتیت آکانتامبائی و آنسفالیت آمیبی گرانولوماتوز. کیست‌های آکانتامبا اغلب بعد از درمان زنده می‌مانند و منجر به عودهای جدی و مکرر عفونت می‌شوند. مقاومت کیست‌های دو جداره اساساً به دلیل مولکول‌های سلولز حاضر در در دیواره داخلی کیست‌هاست. بنابراین تخریب سلولز یا مهار سنتز سلولز، یک استراتژی بالقوه در درمان مؤثر آکانتامبا پیشنهاد می‌شود. در این مطالعه مروری غیرنظامند، سعی داریم با مروری بر ساختار سلولز، نقش آن را در ساختار اسکلتی و هم‌چنین فعالیت‌های فیزیکوشیمیایی این تک یاخته به عنوان تارگت جدید دارویی جهت درمان عفونت‌های آکانتامبایی معرفی نماییم. در مجموع تخریب دیواره سلولز، آمیب را حساس به داروهای شیمیایی خواهد ساخت و حداقل مانع آنکیسته شدن (encystment) آکانتامبا می‌شود، بنابراین از عود عفونت جلوگیری می‌نماید. علاوه بر این، مهارکننده‌های سلولز منجر می‌شوند که داروهای رایج علیه آکانتامبا در غلظت و زمان پایین‌تر از حد معمول اثر نمایند. بنابراین استفاده از ترکیبات یا داروهایی که مانع سنتز سلولز شوند، می‌توانند روش درمانی جدید و مناسبی برای عفونت‌های آکانتامبایی باشند.

واژه های کلیدی: آکانتامبا، دیواره کیست، سلولز، تارگت‌های دارویی

مقدمه

آکانتامبا تک یاخته فرصت طلبی است که به طور وسیع در محیط پراکنده می‌باشد. در چرخه زندگی آکانتامبا دو شکل تروفوزوئیت و کیست وجود دارد. آمیب از باکتری‌هایی نظیر اشرشیاکلی و دیگر باسیل‌های گرم منفی تغذیه می‌کند. شرایط نامساعد محیطی و غذایی از جمله کمبود مواد غذایی، اسمولاریته بالا یا پایین، دما و pH بالا و پایین، تراکم زیاد سلول و داروها منجر به القا تبدیل تروفوزوئیت به کیست می‌شود، روندی که به آن آنکیسته شدن گفته می‌شود(۱). کیست فرم مقاوم تک یاخته محسوب می‌شود و تقریباً غیرفعال است. کیست دارای دیواره دو لایه‌ای ضخیمی است که شامل اکتوکیست (لامینار، لایه خارجی فیبروز) و اندوکیست (فین، لایه داخلی فیبر) می‌باشد. این دیواره در مقاومت تک یاخته در برابر شرایط نامساعد نقش مهمی را بر عهده

مولف مسئول: مهدی فخار–ساری، کیلومتر ۱۷ جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده پزشکی E-mail: Mahdi53@yahoo.com
۱. دانشجوی دکتری تخصصی انگل شناسی و قارچ شناسی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. دانشیار، گروه انگل شناسی، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۵/۴/۲۸ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۵/۵/۶ تاریخ تصویب : ۱۳۹۵/۶/۲۷

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]

دارد(۲). آکانتامبا مسئول دو بیماری مهم شامل آنسفالیت گرانولومایی آمیبی و کراتیت آمیبی است. آنسفالیت گرانولوماتوز آکانتامبایی عفونتی نادر، مزمن و پیشرونده سیستم اعصاب مرکزی بوده و غالباً منجر به مرگ می‌شود. کراتیت آکانتامبایی یک عفونت قرنیه با سیر مزمن است که می‌تواند تهدیدکننده بینایی باشد. این بیماری معمولاً طی چند هفته یا چند ماه با درد شدید قرنیه و تورم که از مشخصات آن است، پیشرفت می‌کند و اگر به درستی تشخیص و درمان نشود، منجر به نابینایی می‌شود(۳). ابتدا تصور می‌شد که این بیماری نادر است، ولیکن در حال حاضر اهمیت کراتیت آکانتامبایی در سلامت انسان مورد توجه بسیار قرار گرفته است. این موضوع به علت افزایش استفاده‌کنندگان لنزهای تماسی است. براساس مطالعه‌ای که طی ۱۰ سال توسط رضائیان و همکاران بر روی ۱۴۲ فرد مبتلا به کراتیت چشمی انجام شد، در ۳۴/۵ درصد موارد، انگل آکانتامبا عامل این بیماری عنوان شد(۴).

درمان عفونت آکانتامبایی مشکل می‌باشد. پیش‌آگهی خوب این عفونت، مستلزم تشخیص سریع همراه با درمان مناسب این عفونت است. اگرچه ترکیبات ضدمیکروبی متعددی شامل عوامل موثر بر غشاء، مهارکننده‌های سنتز DNA و RNA یا بلوکه‌کننده‌های متابولیک در آزمایشات برون تنی (in vitro)، فعالیت آمیب‌کشی و کیست‌کشی مورد بررسی قرار گرفته‌اند. یکی از ترکیبات غشاء که در مطالعه‌ای مورد بررسی قرار گرفت، ارگوسترول بود. ارگوسترول یکی از مهم‌ترین استرول‌ها در غشاء آکانتامبا می‌باشد. به همین دلیل، ترکیبات مختلف آزولی که بیوسنتز ارگوسترولی را مورد هدف قرار می‌دهند، آزمایش شدند که شامل کتوکونازول، میکونازول و فلوکونازول بودند. عموماً اثرات ضد آکانتامبایی ترکیبات آزولی علیه ایزوله های بالینی بیش از این که خاصیت ضد ترفوزوئیت یا ضد کیست داشته باشند، خاصیت مهاری بر روی رشد ترفوزوئیت‌ها دارند(۵). بر اساس مطالعات انجام شده، تاکنون هیچ دارویی به تنهایی بر روی تمام ایزوله های آکانتامبا مؤثر نبوده است(۶). بنابراین ضرورت یافتن ترکیبات ضد آکانتامبایی جدید اهمیت ویژه ای داشته و باید در راستای چگونگی کنترل بیماری و عفونت در سطح مولکولی و فیزیولوژیکی صورت گیرد. لذا مطالعه حاضر، قصد دارد با مروری بر نقش سلولز در ساختار اسکلتی و هم چنین فعالیت‌های فیزیولوژیک این تک‌یاخته، تارگت جدید دارویی جهت درمان عفونت‌های آکانتامبایی را معرفی نماید.

مواد و روش ها

مطالعه حاضر از نوع مروری غیرنظاممند است. مقالات مورد استفاده از پایگاه‌های اطلاعاتی قابل دسترس نظیر Scientific Information Database (SID)، Google Scholar، Pubmed، SienceDirect، IranMedex، Magiran، Irandoc و کتاب‌های مرجع آمیب‌های آزادزی گردآوری شدند.

خصوصیات کیست آکانتامبا

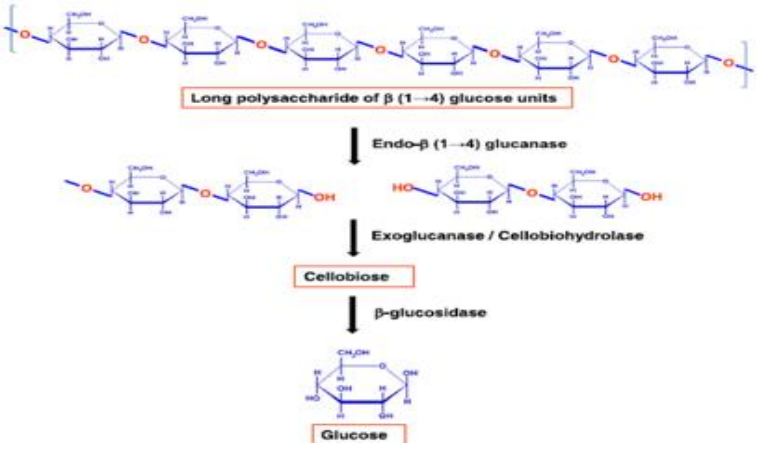
نگران‌کننده‌ترین جنبه عفونت‌های آکانتامبا، عود آن‌ها به دلیل شکست درمان و توانایی انگل برای تبدیل به فرم مقاوم کیست است. کیست‌ها، سلول‌های زنده و معلق در هوا هستند که قادرند عدم وجود مواد غذایی به مدت طولانی، ضدعفونی‌کننده‌ها، سرما و گرما را تحمل نمایند و بنابراین این نکته به انتشار آکانتامبا در محیط و یا انتقال این پاتوژن‌ها به میزبانان حساس کمک می‌نماید(۷). ماهیت انعطاف‌پذیر دیواره‌های کیست نشان‌دهنده حضور پلی ساکارید است. آنالیز کربوهیدرات دیواره کیست آکانتامبا کاستلانی *(Acanthamoeba castellanii)* با استفاده از کروماتوگرافی به دلیل حضور 4-linked-glucopyranose (۲۲ درصد)، حضور سلولز را تایید کرده است(۹،۸). هم‌چنین Dudley و همکاران مهار آنکیسته شدن آکانتامبا را درحضور 6-2 دی‌کلروبنزونیتریل (مهارکننده سنتز سلولز) مشاهده نمودند. علاوه بر این، وجود آنزیم‌های سنتز و تجزیه سلولز در آکانتامبا کاستلانی نشانگر حضور سلولز در دیواره‌های کیست

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]

این ارگانیسم است(۱۱،۱۰). طبق مطالعات انجام شده مشاهده شده که در اولین ۴ ساعت آنکیسته شدن، میزان گلیکوژن فسفوریلاز افزایش یافته که منجر به تجزیه گلیکوژن ذخیره در آمیب می‌گردد و درنهایت گلوکز تبدیل به سلولز می‌شود. در مطالعه‌ای که توسط Trevisan انجام شد، پرایمر 8399/8400 در آکانتامبا کاستلانی و آکانتامبا پلی فاگا *(Acanthamoeba castellanii)* موجب تایید تکثیر گلیکوژن فسفوریلاز به روش RT-PCR گردید(۱۲). از این رو ماهیت محکم کیست‌های آکانتامبا به سلولز نسبت داده شده است، بنابراین سلولز می‌تواند به عنوان تارگت دارویی مناسبی مطرح باشد. قابل ذکر است که تخریب دیواره کیست، آمیب را مستعد به داروهای شیمیایی موجود خواهد ساخت.

سلولز

سلولز فراوان‌ترین پلیمر روی زمین است که ترکیب بزرگی از توده گیاهی است. هم‌چنین در مقادیر قابل توجهی توسط جلبک سبز، دیکتیوستلیوم، برخی باکتری‌ها، حیوانات دریایی و جانداران دیگر مثل تونیکات‌ها و غیره تولید می‌شود(۱۴،۱۳). یک ویژگی استثنایی سلولز، ساختار کریستالی آن است. سلولز آکانتامبا، پلیمری از گلوکز می باشد و پلی مر تکرار شونده آن β-1,4 است(۱۵) (تصویر شماره ۱). گلوکز تجزیه شده از گلیکوژن ذخیره‌ای جهت تبدیل به گلوکز -۱- فسفات، توسط ATP فسفریله شده و نهایتاً ترکیب مذکور منجر به تحریک تشکیل سلولز با استفاده از UDP- گلوکز (اوریدین دی فسفات گلوکز) می شود. شایان ذکر است که آدنوزین -۵-دی فسفات گلوکز (ADP-glucose)، تیمیدین-۵-دی فسفات گلوکز (TDP-glucose، سیتیدین-۵-دی فسفات گلوکز (CDP-glucose) و گوآنین -۵- دی فسفات گلوکز (GDP-glucose) قادر به جایگزینی UDP-glucose به عنوان دهنده گلوکوزیل نبودند. مطلب مذکور مبین این است که در دسترس بودن UDP-glucose در طی آنکیسته شدن از فاکتورهای اصلی در بیوسنتز دیواره سلولی می باشد. بتاگلوکان سنتاز، تشکیل (۱ به ۴) β گلوکان را کاتالیز می‌نماید(۱۶). حدود ۳۰ مولکول منفرد سلولز به هم متصل می‌شوند و واحد بزرگ‌تری به نام فیبرهای ابتدایی (پروتوفیبریل) را ایجاد می کنند و سپس واحد بزرگ‌تری به نام میکروفیبریل را منجر می‌شوند(۱۷). زنجیره‌ها در میکروفیبریل‌ها دارای پیوند هیدروژنی می‌باشند. پیوندهای هیدروژنی بین لایه‌های موازی متعدد سلولز، منجر به شکل گیری محکم میکروفیبریل می گردند. علاوه بر این، سلولز حاوی بی‌نظمی‌های متعددی در ساختارش است که منجر به دهیدراته شدن سلولز توسط سلولاز در محیط آبی می‌شود(۲۰،۱۵). به طور کلی سلولز بخشی از دیواره سلول در گیاهان، جلبک، باکتری‌ها، دیکتیوستلیوم و آمیب‌های آزادزی مثل کیست آکانتامبا است.



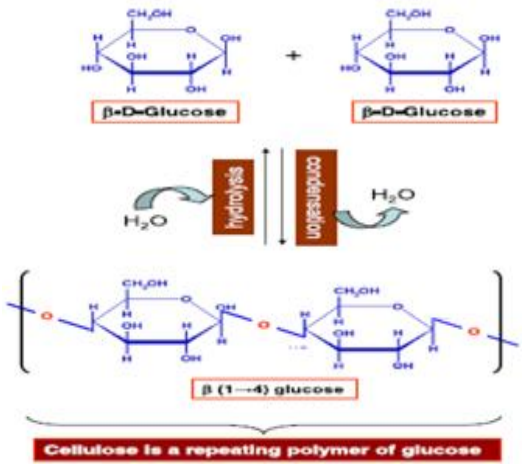
تصویر شماره ۱: بتا دی گلوکز واحد اصلی سلولز (ترکیب مهم اجزای دیواره داخلی کیست آکانتامبا) (۱۵)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]

سلولاز

تخریب سلولز توسط آنزیم‌های سلولاز صورت می‌گیرد. سلولاز مسئول هیدرولیز β-1,4 حاضر در گلوکز است(۱۹). با توجه به ساختار سلولز، هیدرولیز آن توسط یک آنزیم غیرممکن است. بنابراین سلولز توسط انواعی از آنزیم‌های فعال (حداقل ۳ نوع) از جمله اندوگلوکاناز، اگزوگلوکاناز (سلودکستریناز یا سلوبیوهیدرولاز) و بتا گلوکوزیداز هیدرولیز می‌شود(۱۴،۲۰،۲۱). اثر اندوگلوکاناز بر روی سلولز، موجب ایجاد الیگوساکاریدهای با طول مختلف (زنجیره‌های جدید) می‌گردد(۱۴،۲۱). علاوه بر این، اگزوگلوکاناز بر روی سلوبیوز و یا سلوگلیکوساکاریدها اثر می‌کند. این سلودکسترین‌ها و سلوبیوز در نهایت توسط بتاگلوکوزیداز به گلوکز تجزیه می‌شوند(۲۲) (تصویر شماره ۲).

هم‌چنین ساختار بیش تر سلولازها حاوی یک دومین باند شده با سلولز (CBD) و یک دومین کاتالیتیک (CD) است.



تصویر شماره ۲: اندوگلوکاناز بر روی سلولز و اگزوگلوکاناز (سلوبیوهیدرولاز) بر روی سلوبیوز اثر می کند. سلوبیوز توسط بتاگلوکوزیداز به گلوکز تجزیه می شود(۱۵)

CBD

CBD، لایه در دسترسی توسط بی ثبات کردن ساختار سلولز، برای CD ایجاد می‌کند(۲۴،۲۳). محل اتصال CBD در یک زنجیره پلی‌پپتیدی می‌تواند C یا N ترمینال یا به طور مرکزی باشد(۲۵). CBDها در سلولازها توسط سکانس متصل کننده غنی از پرولین و تروئونین به CDها متصل می‌شوند(۲۶). آن‌ها برای آغاز و پردازش آنزیم‌ها به ویژه اگزوگلوکانازها مهم هستند. حذف CBD از واحد آنزیماتیک، فعالیت واحد آنزیمی را کاهش می‌دهد. علاوه بر این CBD برای سلوبیوهیدرولاز نقش اساسی دارد.

CD

سلولازها در ۱۱ خانواده مختلف(۹-۵،۱۲،۳۰-۲۷) یافت می‌شوند(۱۴). از نظر تکامل خانواده ۹، سلولازهای قارچ‌ها، باکتری‌ها، حیوانات و گیاهان را شامل می‌شود. در مقابل خانواده ۷، فقط هیدرولازهای منشأ قارچی را شامل می‌گردد. در صورتی که خانواده ۸ فقط هیدرولازهای باکتری‌ها را موجب می‌گردد(۳۱).

مکانیسم‌های تخریب سلولز

تاکنون حداقل چهار مکانیسم مختلف برای تخریب سلولز مطرح شده است:

سلولایزیز کمپلکس: اساساً برای میکروارگانیسم‌های بی‌هوازی استفاده می‌شود(۳۲).

سلولایزیز بدون سلولازهای processive: این استراتژی حداقل دو سلولز مختلف، مثل Cytophagahutchinsonii (ارگانیسم سلولیتیک خاکی هوازی) و Fibrobactersuccinogenes (باکتری شکمبه‌ای بی‌هوازی) را تخریب می‌کند(۳۳).

سلولایزیز به وسیله آنزیم‌های نان هیدرولیتیک: در قارچ‌های رشته‌ای مشاهده شده است(۳۴).

سلولایزیز نان کمپلکس: غالباً در ارگانیسم های هوازی مشاهده شده است(۳۴). بهترین مثال، سلولاز قارچ هوازی مثل *تریکودرما رسئی* (*Trichoderma reesei*) است(۳۵)، که شامل پنج اندوگلوکاناز (EG1، EG2، EG3، EG4، EG5)، دو اگزوگلوکاناز (CBH1، CBH2) و دو بتاگلوکوزیداز (BGL1، BGL2) می‌باشد(۳۶).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]

مکانیسم چهارم بسیار با اهمیت است، چرا که در مطالعه ای، از سلولاز کنژوگه شده *تریکودرما رسئی* جهت تشخیص آکانتامبا استفاده شده و به نتایج رضایت بخشی دست یافتند(۳۷).

درمان شیمیایی آکانتامبا

درمان کنونی آنسفالیت گرانولوماتوز معمولاً به صورت ترکیبی و با استفاده از داروهایی شامل کتوکونازول، فلوکونازول، سولفادیازین، پنتامیدین ایزتیونات، آمفوتریسین B، آزیترومایسین، ایتراکونازول همراه با ریفامپسین است که ندرتاً به پیش آگهی خوب منتهی می شوند(۳۸). درمان رایج بیماری کراتیت آمیبی در ایران استفاده از داروهای ترکیبی پروپامیدین ایزوتیونات (برولن ۰/۱ درصد) و کلرهگزیدین ۰/۰۲ درصد است. از دیگر داروهای مورد استفاده در بیماری کراتیت آکانتامبایی، نئومایسین و پلی میکسین B۰می‌باشد(۳۹). داروهای مذکور دارای اثرات درمانی کمی هستند. هم‌چنین بعضی از ژنوتایپ‌های آکانتامبا به این داروها پاسخ مناسب نمی‌دهند و تنها نیمی از بیماران با استفاده از داروهای نامبرده بهبود می‌یابند(۴۰). لازم به ذکر است که طول درمان با داروهای نامبرده می‌تواند به بیش‌تر از شش ماه برسد(۴۱). اما پیش‌آگهی موفق و رضایت بخش عفونت‌های آکانتامبایی شدیداً به درمان سریع بیماری وابسته است.

مقاومت دارویی

به نظر می‌آید که مهم ترین دلیل درمان ناموفق عفونت آکانتامبایی، حضور کیست‌های دو جداره است که با ایجاد سد فیزیکی، مقاومت بالایی به داروهای موجود نشان می دهند. به علاوه، ترکیبات ضدمیکروبی در غلظت های توصیه شده ممکن است علیه اشکال کیستی آمیب مؤثر نبوده که دلیل آن عدم تکثیر و یا فعالیت بسیار کم آن ها است. توانایی آکانتامبا در بروز مقاومت علیه داروهای موجود، نگرانی جدی در درمان موفق این عفونت است و بروز مقاومت به داروی پروپامیدین ایزتیونات در طول درمان نیز گزارش شده است(۴۲). از مکانیزم‌های احتمالی مقاومت دارویی می‌توان به موارد زیر اشاره نمود:

۱- تبدیل دارو به اشکال غیر فعال توسط آنزیم
۲- ایجاد تغییر در ناحیه حساس دارو
۳- تغییر در نفوذپذیری دارو
۴- مسیرهای آلترناتیو درجهت ایجاد واکنش‌های مهاری
۵- افزایش آنزیم هایی که دارو به آن‌ها حساسیت دارد.

اما در مجموع مکانیزم‌های مقاومت دارویی در آکانتامبا ناشناخته است(۴۲).

استفاده از حامل برای جابه جایی دارو در بدن

آزمایشی تحت این عنوان که آیا دی متیل سولفوکساید (DMSO) می‌تواند منجر به افزایش نفوذپذیری غشاء کیست شود و به دنبال آن دارو با سهولت بیش‌تری وارد آمیب شده و نهایتاً سبب القا مرگ کیست شود، صورت گرفته است. هیچ‌کدام از سه داروی استاندارد یعنی پروپامیدین ایزتیونات ۰/۱ درصد، نئومایسین ۱ درصد و میکونازول ۱ درصد در مواجهه با کیست‌های آمیب‌خاصیت کیست کشی قابل‌توجهی نداشتند. در مقابل، وقتی پروپامیدین ایزتیونات با دی متیل سولفوکساید ۳۰ درصد ترکیب شد، خاصیت کیست کشی پیدا کرد. بر اساس این مطالعات به نظر می‌رسد که استفاده از حامل برای داروهای شناخته شده ضد آکانتامبایی می‌تواند به افزایش نفوذ آن‌ها به داخل کیست ارگانیسم که در حالت عادی به داروها مقاوم هست، منتهی شود. از آن‌جائی‌که در گذشته دی‌متیل سولفوکساید به صورت موضعی در چشم استفاده می‌شود و بی‌ضرر بودن آن نسبتاً ثابت شده است، لذا استفاده از ترکیب فوق می‌تواند درمان جدیدی برای این بیماری به ارمغان آورد(۴۳).

روش های مهار سلولز در آکانتامبا

در مطالعه ای Moon و همکاران در سال ۲۰۱۵ از 2,6-dichlorobenzonitrile (DCB) و isoxaben به

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]

عنوان مهارکننده‌های سنتز سلولز، مانع آنکیسته شدن آکانتامبا شدند. در این مطالعه از داروی ترکیبی پلی‌هگزامتیلن بی‌گوآنید (PHMB) به همراه DCB و isoxaben استفاده نمودند و نتایج مبین این بود که این نوع داروی ترکیبی موجب از بین رفتن کیست‌های آکانتامبا در غلظت و زمان کم‌تر از معمول (PHMB به تنهایی) شد و حتی بر روی سلول‌های قرنیه اثر سمی نداشتند(۴۴). علاوه بر این Dudley و همکاران در سال ۲۰۰۷ نیز از داروی ترکیبی پنتامیدین ایزوتیونات وDCB علیه آکانتامبا استفاده نمودند و به نتایج رضایت‌بخشی دست یافتند(۴۵). نکته قابل تامل این است که با تکمیل ژنوم آکانتامبا، ژن مسئول سنتز و تجزیه سلولز در آکانتامبا کاستلانی تشخیص داده شده است. با استفاده از این داده در مطالعه‌ای با استفاده از روشی به نام Down-Regulation سلولز، مانع از آنکیسته شدن آکانتامبا گردید(۴۶). لازم به ذکر است، بر اساس داده‌های سکانس، سلولازهای آکانتامبا کاستلانی شبیه به پروتئین‌های باکتریال می‌باشند و شامل هیدرولاز گلیکوزیل خانواده ۵ است(۴۷،۲۷).

کایتوسان (ترکیب طبیعی)

کایتوسان، یک پلیمر طبیعی آب دوست و کاتیونی است که از حذف گروه‌های استیل کیتین در محیط بازی به دست می‌آید و از نظر ساختار، کیتین شباهت زیادی با سلولز دارد. کایتوسان به شکل‌های مختلف و با درجه‌های داستیلاسیون و وزن‌های مولکولی مختلف وجود دارد و با درجه خلوص بالا برای سیستم‌های حامل دارویی کاربرد دارد، به طوری که به عنوان یک حامل دارویی قرن بیست و یکم نام برده شده است. کایتوسان با درجه خلوص مناسب در سیستم‌های آزادسازی دارویی، همودیالیز، پوست مصنوعی، لنزهای تماسی، بانداژ چشمی، ارتوپدی، نخ جراحی و دندان پزشکی به عنوان یک ماده طبیعی غیر سمی برای انسان و دارای سازگاری زیستی بالا به کار می‌رود(۴۹،۴۸،۲۸). فرضیات زیادی مبنی بر مکانیسم‌های ضد میکروبی کایتوسان بیان شده است. تداخل بین کایتوسان و غشا میکروب منجر به از هم گسیختگی غشا و خروج محتویات سلول به بیرون می‌گردد. هم‌چنین به‌طور غیر مستقیم سنتز DNA و RNA را مهار می‌کند(۲۹). کایتوسان خاصیت ضدمیکروبی گسترده‌ای علیه سوش‌های گرم مثبت و گرم منفی باکتریایی و گونه‌های مختلف قارچ‌ها و انگل‌های کرمی و تک یاخته‌ای نشان داده است(۵۳-۴۹). هم‌چنین Rassu و همکاران در سال ۲۰۰۸ از کایتوسان به عنوان حامل داروی Rokitamycin (داروی ضد آکانتامبا) استفاده کردند و مشاهده نمودند که اثر ضدآکانتامبایی دارو به همراه کایتوسان افزایش یافت(۵۴). بنابراین با توجه به مطالعات وسیع انجام شده در خصوص خواص ضد میکروبی و ضد انگلی کایتوسان و از سوی دیگر مکانیسم اثر این ترکیب طبیعی و بیومولکول با تداخل در غشاء سلول می‌توان نتیجه گرفت که کایتوسان می‌تواند به عنوان یک ماده آسیب رسان به سلولز موجود در دیواره کیست‌های آکانتامبا به طور مستقیم و یا غیر مستقیم (به عنوان حامل) باعث از بین رفتن کیست‌ها شوند.

وجود کیست‌های دو جداره از کلیدی‌ترین چالش‌ها در عدم کارایی داروهای رایج هستند. کیست‌ها در اغلب مواقع به داروهای شیمیایی معمول و شرایط فیزیولوژیکی مقاوم بوده و عموماً جهت کشته شدن کیست‌های زنده نیاز به زمان و غلظت‌های بالاتر از حد مجاز می‌باشد، که استفاده از داروهای با غلظت بالا خود اثر سمی قابل توجهی بر سلول‌های قرنیه دارد. با توجه به مطالب ارائه شده، استفاده از ترکیبات یا داروهایی با منشاء طبیعی مانند کیتوسان و یا داروهای سنتتیک که مانع سنتز سلولز می‌شوند، می‌تواند روش درمانی جدید و مناسبی برای عفونت‌های آکانتامبایی باشند.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]

References

1. Clarke DW, Neiderkorn JY. The pathophysiology of *Acanthamoeba*keratitis. Trend Parasitol 2006; 22(4): 175-180.
2. Gagnon MR, Walter KA. A case of *Acanthamoeba*keratitis as a result of a cosmetic contactlens. Eye Contact Lens 2006; 32(1): 37-38.
3. Selby DM, Chandra RS, Rakusan TA, Loechelt B, Markle B, Visvesvara GS. Amoebic osteomyelitis in a child with Pediatr. Pathol Mol Med 1998; 18(1): 89-95.
4. Rezaeian M, Niyyati M. Pathogenic free living amoebae in human. 1th ed. Tehran: University of Medical Sciences; 2011. (Persian).
5. Nagington J, Richards E. Chemotherapeutic compounds and *Acanthamoebae* from eye infections. J Clin Pathol 1976; 29(7): 648-651.
6. Lorenzo-Morales J, Khan NA, Walochnik J. An update on *Acanthamoeba*keratitis: diagnosis, pathogenesis and treatment. Parasite 2015; 22.
7. Gagnon MR, Walter KA. A case of *Acanthamoeba*keratitis as a result of a cosmetic contact lens. Eye Contact Lens 2006; 32(1):37-38.
8. Barrett RA, Alexander M. Resistance of cysts of amoebae to microbial decomposition. Appl Environ Microbiol 1977; 33(3): 670-674.
9. Neff RJ, Neff RH. The biochemistry of amoebic encystment. Symp Soc Exp Biol 1969; 23: 51-81.
10. Dudley R, Alsam S, Khan NA. Cellulose biosynthesis pathway is a potential target in the improved treatment of *Acanthamoeba* keratitis. Appl Microbiol Biotechnol 2007; 75(41): 133-140.
11. Deichmann U, Jantzen H. The cellulase enzyme system during growth and development of *Acanthamoeba castellanii*. Arch Microbiol 1977; 113(3): 309-313.
12. Trevisan BC. Encystment of Acanthamoeba and Evaluating the Biobus Program. Georgia State University. 2010. Summer, 8-18.
13. Schwarz WH. The cellulosome and cellulose degradation by anaerobic bacteria. Appl Microbiol Biotechnol 2001; 56(5-6): 634-649.
14. Lynd LR, Weiner PJ, Zyl WH, Pretorius IS. Microbial cellulose utilization: Fundamentals and biotechnology. Microbiol MolBiol Rev 2002; 66(3): 506-577.
15. Beguin P, Aubert JP. The biological degradation of cellulose. FEMS Microbiol Rev 1994; 13(1): 25-58.
16. Khan N. *Acanthamoeba* Biology and pathogenesis. UK: University of Nottingham; Caister Academic Press; 2009.
17. Potter JL, Weisman RA. Correlation of cellulose synthesis in vivo and in vitro during the encystment of *Acanthamoeba*. Dev Biol 1972; 28(3): 472-427.
18. Brown RM, Saxena IM. Cellulose biosynthesis: a model for understanding the assembly of biopolymers. Plant Physiol Biochem 2000; 38(1-2): 57-67.
19. Perez S, Mazeau K. Conformations, structures and morphologies of celluloses. In: Dumitriu S, editor. Structural Diversity and Functional Versatility. 2nd ed. 2005. ISBN: 978-0-8247-5480-8.
20. Bishop JD, Byoung CM, Harrow F, Ratner D, Gomer RH, Dottin RP, et al. A second UDP-glucose pyrophosphorylase is required for differentiation and development in *Dictyosteliumdiscoideum*. J Biol Chem 2002; 277(36): 32430-32437.
21. Haan RD, Rose SH, Lynd LR, Zyl WH.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]

Hydrolysis and fermentation of amorphous cellulose by recombinant *Saccharomyces cerevisiae*. Metab Eng 2007; 9(1): 87-94.

22. Teeri TT. Crystalline cellulose degradation: new insight into the function of cellobiohydrolases. Trends Biotechnol 1997; 15(5): 160-167.
23. Beguin P. Molecular biology of cellulose degradation. Annu Rev Microbiol 1990; 44: 219-248.
24. Reese ET, Sui RGH, Levinson HS. The biological degradation of soluble cellulose derivatives and its relationship to the mechanism of cellulose hydrolysis. J Bacteriol 1950; 59(4): 485-497.
25. Din N, Damude HG, Gilkes NR, Miller RC, Warren RAJ, Kilburn DG. C1-Cx revisited: intramolecular synergism in a cellulase. Proc Natl Acad Sci U S A 1994; 91(24): 11383-11387.
26. Shoseyov O, Shani Z, Levy I. Carbohydrate binding modules: biochemical properties and novel applications. Microbial Mol Boil Rev 2006; 70(2): 283-295.
27. Teeri TT, Koivula A, Linder M, Wohlfahrt G, Divne C, Jones TA. Trichdermarees Cellobiohydrolases: why so efficient on crystalline cellulose? BiochemSoc Trans 1998; 26(2): 173-178.
28. Rouvinen J, Bergfors T, Teeri T, Knowles JK, Jones TA. Three-dimensional structure of cellobiohydrolase II from *Trichoderma reesei*. Science 1990; 249(4967): 380-386.
29. Tomme P, Warren RA, Gillces NR. Cellulose hydrolysis by bacteria and fungi. Adv Microbial Physiol 1995; 37: 1-81.
30. Wilson DB. Cellulases and biofuels. Curr Opin Biotechnol 2009; 20(3): 295-299.
31. Xie G, Bruce DC, Challacombe JF, Chertkov O, Detter JC, Gilna P, et al. Genome sequence of the cellulolytic gliding *bacterium Cytophaga hutchinsonii*. Appl Environ Microbiol 2007; 73(11): 3536-3546.
32. Mandels M, Reese ET. Induction of cellulase in Trichodermaviride as influenced by carbon sources and metals. J Bacteriol 1957; 73(2): 269-278.
33. Nogawa M, Goto M, Okada H, Morikawa Y. L-Sorbose induces cellulase gene transcription in the cellulolytic fungus *Trichoderma reesei*. Curr Genet 2001; 38(6): 329-334.
34. Derda M, Winiecka-Krusnell J, Linder MB, Linder E. Labeled *Trichodermareesei* cellulase as a marker for *Acanthamoeba* cyst wall cellulose in infected tissues. Appl Environ Microb 2009; 75(21): 6827-6830.
35. Webster D, Umar I, Kolyvas G, Bilbao J, Guiot MC, Duplisea K, et all. Treatment of granulomatous amoebicencephalitis with voriconazole and miltefosine in an immunocompetent soldier. Am J Trop Med Hyg 2012; 87(4): 715-718.
36. Schuster FL, Visvesvara GS. Free-living amoebae as opportunistic and non-opportunistic pathogens of humans and animals. Int J Parasitol 2004; 34(9): 1001-1027.
37. Ficker L, Seal D, Warhurst D,Wright P. *Acanthamoeba* keratitis resistance to medical therapy. Eye (lond) 1990; 4(pt6): 835-838.
38. Reinhard T, Sundmacher R. Clinical aspects and therapy of *Acanthamoeba* keratitis. Ophthalmologe 2000; 97(6): 446–459.
39. Saunders PP, Proctor EM, Rollins DF, Richards JS. Enhanced killing of *Acanthamoeba* cysts in vitro using dimethylsulfoxide. Ophthalmology 1992; 99(8): 1197-1200.
40. Moon EK, Hong Y, Chung DI, Goo YK, Kong HH. Potential Value of Cellulose Synthesis Inhibitors Combined With PHMB in the Treatment of Acanthamoeba Keratitis.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]

Cornea 2015; 34(12): 1593-1598.

41. Dudley R, Alsam S, Khan NA. Cellulose biosynthesis pathway is a potential target in the improved treatment of Acanthamoeba keratitis. Appl Microbiol Biotechnol 2007; 75(1): 133-140.
42. Moon E K, Hong Y, Chung DI, Goo YK, Kong HH. Down-Regulation of Cellulose Synthase Inhibits the Formation of Endocysts in *Acanthamoeba*. Korean J Parasitol 2014; 52(2): 131-135.
43. Anderson IJ, Watkins RF, Samuelson J, Spencer DF, Majoros WH, Gray MW, et al. Gene discovery in the *Acanthamoebacastellanii* genome. Protist 2005; 156(2): 203-214.
44. Clarke M, Lohan AJ, Liu B, Lagkouvardos I, Roy S, Zafar N, et al. Genome of *Acanthamoebacastellanii* highlights extensive lateral gene transfer and early evolution of tyrosine kinase signaling. Genome Biol 2013; 14(2): R11.
45. Austin PR, Brine CJ, Castel JE, Zikakies JP. Chitin: New facets of research. Science (AAAS) 1981; 212(4496): 749-753.
46. Hirano S. Chitin and chitosan as novel biotechnological materials. Polymer International 1999; 48(8):732-734.
47. Jings SB, Li L, Ji D, Takiguchi Y, Yamaguchi T. Effect of chitosan in renal function in patient with chronic renal failure. J Pharm Pharmacol 1997; 49(7): 721-723.
48. KongM, Chen XG, Xing K, Park HJ. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: a state of the art review. Int J Food Microbiol 2010; 144(1): 51-63.
49. Fakhar M, Rahimi-Esboei B, Rezaei F. In vitro protoscolicidal effects of fungal chitosan isolated from *Penicilliumwaksmanii* and *Penicilliumcitrinum*. J Parasit Dis 2015; 39(2): 162-167.
50. Yarahmadi M, Fakhar M, Ebrahimzadeh MA, Chabra A, Rahimi-Esboei B. The anti-giardial effectiveness of fungal and commercial chitosan against *Giardiaintestinalis* cysts in vitro. J Parasit Dis 2016; 40(1): 75-80.
51. Rahimi-Esboei B, Fakhar M, Chabra A, Hosseini M. In vitrotreatments of *Echinococcusgranulosus* with fungal chitosan, asa novel biomolecule. Asian Pac J Trop Biomed 2013; 3(10): 930-934.
52. Hoseini MH, Moradi M, Alimohammadian MH, Shahgoli VK, Darabi H, Rostami A. Immunotherapeutic effects of chitin in comparison with chitosan against Leishmania major infection. Parasitol Int 2016; 65(2): 99-104.
53. Rassu G, Gavini E, Mattana A, Giunchedi P. Improvement of Antiamoebic Activity of Rokitamycin Loaded in Chitosan Microspheres. Open Drug Deliver J 2008; 5(2): 38-43.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-28]