

بررسی تأثیر داروهای پلی‌هگزامتیلین بی‌گوانید و پنتامیدین ایزتیونات متصل به نانو ذرات طلا بر مراحل تروفوزوئیت و کیست برخی از ژنوتایپ‌های بیماری‌زای آکانتامبا در شرایط *in-vitro*

چکیده فارسی

ضرورت اجرا و هدف: آکانتامبا از آمیب‌های آزادی و فرصت‌طلبی است که انتشار وسیعی در منابع طبیعی دارد و در خاک، آب، گرد و غبار شناسایی شده است. آکانتامبا می‌تواند باعث بیماری‌های شدید شامل کراتیت آمیبی، آنسفالیت گرانولوماتوز و زخم‌های پوستی شود. درمان این بیماری‌ها با داروهای نظیر پروپامیدین ایزتیونات، پلی‌هگزامتیلین بی‌گوانید و پنتامیدین ایزتیونات به فرم آزاد دارو و یا ترکیبی انجام می‌شود. اما، در بیشتر مطالعات، درمان قطعی برای کراتیت آمیبی به علت تبدیل شدن تروفوزوئیت‌ها به کیست‌های مقاوم و در نتیجه مقاومت کیست‌ها به دارو، گزارش نشده است.

داروهای متداول به همراه نانو ذرات طلا با سطح تماس و پایداری شیمیایی بالا، ابزاری مناسب و قابل استفاده در مطالعات بیولوژیک بوده است از مهم‌ترین اهداف مطالعه حاضر، بررسی تأثیر کارایی ضد آکانتامبایی داروهای پلی‌هگزامتیلین بی‌گوانید (PHMB) و پنتامیدین متصل به نانو ذرات طلا بر روی تروفوزوئیت‌ها و کیست‌های ژنوتایپ‌های T4 و T11 آکانتامبا در شرایط برون‌تنی است.

روش اجرا: در این مطالعه طی سال‌های ۹۶ تا ۹۸، تعداد ۵۰ نمونه لنز و تراشه قرنیه از بیماران مشکوک به کراتیت آکانتامبایی از مراکز درمانی شهر تهران، جمع‌آوری شد. سپس نمونه‌های بیماران بر روی آگار غیرمغذی کشت داده شده، بررسی میکروسکوپی، کلونینگ و جداسازی آمیب انجام شد. DNA استخراج شده با استفاده از روش PCR، تعیین توالی و ژنوتایپ‌های آمیب‌ها مشخص شد. دو نمونه از نمونه‌های مثبت با ژنوتایپ‌های T4 و T11 انتخاب شد. برای سنتز داروی PHMB متصل به نانو ذرات طلا، محلول کلراید طلا (III ظرفیتی) با داروی موردنظر ترکیب و با تزریق سریع گرانول‌های سدیم بروهایدراید در شرایط دمایی سرد، احیا شد. به منظور ارزیابی سمیت داروی PHMB، Au-PHMB و پنتامیدین ایزتیونات، از روش MTT استفاده شد. مشخصه یابی نانو ذرات طلای متصل به داروی PHMB با استفاده از روش‌های اندازه‌گیری از جمله TEM و بررسی‌های اسپکتروفتومتری، محاسبه و از نظر تست پایداری مورد آزمایش قرار گرفت.

نتایج: در خصوص تأثیر داروی پنتامیدین ایزتیونات بعد از ۲۴ ساعت با IC50 ۴۷۰ میکرومولار برای کیست‌های آکانتامبا و IC50 ۹۷/۴ میکرو مولار برای تروفوزوئیت‌های این انگل محاسبه و ثبت شد. با توجه به IC50 به دست آمده از آزمون MTT که پس از ۲۴ ساعت ۱۱۵/۴ میکرو مولار محاسبه شد و نیاز به غلظت‌های بالاتری که موجب اثربخشی داروبر روی کیست‌ها بود و در آستانه سمیت دارو قرار می‌گرفت، موجب شد از اتصال دارو با نانو ذرات طلا صرف‌نظر گردد.

در مطالعه حاضر اثر داروی پلی هگزامتیلن بی گوانید متصل به طلا (Au-PHMB) بر روی تروفوزوئیت‌های ژنوتیپ‌های T4 و T11 آکانتامبا، در مقایسه با داروی آزاد تفاوت معنی داری داشت ($p < 0.05$). همچنین تأثیر Au-PHMB بر روی کیست‌های ژنوتیپ T4 آکانتامبا نسبت به PHMB به فرم اختلاف معنی داری نداشت ($p > 0.05$). اما اثر داروی Au-PHMB بر روی کیست‌های ژنوتیپ T11 نسبت به فرم آزاد دارو، در مقایسه با ژنوتیپ T4 موثرتر بود و تفاوت معنی داری مشاهده گردید ($p < 0.05$). نتایج حاصل از داروی پنتامیدین ایزتیونات در غلظت‌های متفاوت بر روی تروفوزوئیت‌ها و کیست‌های ژنوتیپ T4 آکانتامبا توانسته با اختلاف معنی دار ($p < 0.05$)، آمیب‌ها را از بین ببرد.

بحث: نتایج مطالعه ما در ارزیابی سمیت سلولی مربوط به تروفوزوئیت‌های ژنوتیپ T4 آکانتامبا در مجاورت سلول‌های Vero، همراه با غلظت‌های صفر، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرومولار از داروی Au-PHMB در مقایسه با PHMB بررسی شد. نتایج به دست آمده نشان داد غلظت ۱۲/۵ میکرو مولار Au-PHMB نسبت به فرم آزاد دارو توانسته انگل‌های بیشتری را از بین ببرد. طبق آنالیز آماری ANOVA، اختلاف معنی داری در گروه‌های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرو مولار مشاهده شد ($p < 0.05$). در این غلظت‌ها، طلا به واسطه سمیت خود، نه تنها انگل‌ها، بلکه سلول‌ها را نیز از بین می‌برد.

در ارزیابی پاتوژنیسیته یا سمیت سلولی مربوط به تروفوزوئیت‌های ژنوتیپ T11، بر روی سلول‌های Vero در مجاورت غلظت‌های مشخص شده در بالا از داروهای Au-PHMB و PHMB طبق آنالیز آماری ANOVA در غلظت ۱۲/۵ میکرومولار Au-PHMB نسبت به PHMB، میزان انگل‌ها کاهش یافته و سلول‌های Vero بیشتری زنده ماندند. این نتایج همچنین بیانگر آن است که طلا به واسطه سمیت خود، سلول‌های Vero را نیز از بین می‌برد. نتایج ارزیابی پاتوژنیسیته به وسیله تست‌های اسموتولرانس و ترموتولرانس با داروهای PHMB و Au-PHMB بر روی ژنوتیپ‌های T4 و T11 آکانتامبا، بیانگر اثر پاتوژنیسیته ضعیف‌تر ژنوتیپ T11 آکانتامبا در مقایسه با ژنوتیپ T4 آکانتامبا است. نتایج حاصل از بررسی داروی پنتامیدین ایزتیونات در تعیین پاتوژنیسیته به وسیله آزمون‌های اسموتولرانس و ترموتولرانس روی ژنوتیپ T4 آکانتامبا نشان دهنده مقاومت بالای ژنوتیپ T4 در غلظت‌های بیشتر دارو بود.

نتیجه‌گیری: افزایش کشندگی داروی Au-PHMB نتیجه واکنش بالای نانو ذرات طلا با سلول‌های زنده و همچنین انتقال آسان فرم داروی به داخل سلول زنده است. لازم به ذکر است که مکانیسم دقیقی از افزایش تأثیرات کشندگی آمیب با داروی متصل به نانو ذرات طلا تا کنون مورد بررسی قرار نگرفته است.

کلمات کلیدی: درمان، دارو، آکانتامبا، پلی‌هگزامتیلن بی‌گوانید، پنتامیدین ایزتیونات، نانو ذرات طلا، تروفوزوئیت، کیست، برون‌تنی