تشخیص آزمایشگاهی
Tashkhis Azmayeshgahi
سال دهم
شماره ۵۵
فروردین و اردیبهشت ۱۳۸۷

سیستئین پروتئاز در انگل‌ها

دکتر اورمزد
(استاد و مدیرگروه گروه انگل‌شناسی و قارچ شناسی، دانشگاه علوم پزشکی ایران)
راحله رفیعی سفید دشتی
(کارشناس ارشد انگل‌شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی ایران)
دکتر لامع اخلاقی
(دانشیار گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی ایران)
دکتر الهام رزمجو
(استادیار گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی ایران)

چکیده
سیستئین پروتئازها نقش مهمی در بیولوژی ارگانیسم‌های انگلی بازی می‌کنند. علاوه بر نقش‌های شناخته شده پروتئازی، نقش‌های کلیدی دیگری نیز در انگل‌ها از قبیل تهاجم، کیسته شدن، خروج از کیست، پوست‌اندازی، تهاجم سلولی و بافتی و ... دارند. سیستئین پروتئازهای انگلی معمولا ایمونوژنیک هستند و به عنوان مارکری برای تشخیص‌های سرولوژیکی و یا حتی اهدافی برای واکسن‌ها مطرح می‌شوند. بنابراین می‌توان انتظار داشت که در آینده بسیاری از درمان‌ها، کنترل‌ها و پیشگیری از بیماری‌ها توسط مهار این آنزیم صورت پذیرد.

معرفی:
پروتئازها که در تمام سیستم‌های بیولوژیکی وجود دارند، پیوندهای آمیدی را در پروتئین‌ها و پپتیدها از هم جدا نموده و بسته به محل اثر آن به ۲ گروه اندوپپتیداز و اگزوپپتیداز تقسیم می‌گردند. سیستئین پروتئازها گروهی از پروتئازها هستند که پروتئازهای تیول یا سولفیدریل نیز خوانده می‌شوند و استفاده از مهارکننده‌های این پروتئازها در درمان عفونت‌های انگلی رو به گسترش است.

ساختمان و طبقه‌بندی:
تمام سیستئین پروتئازها، به یک اسید آمینه سیستئین در جایگاه فعالشان برای هیدرولیز پیوند آمیدی احتیاج دارند. در جایگاه فعال این آنزیم‌ها اسیدآمینه‌های هیستیدین، آسپارژین و گلوتامین برای تثبیت عمل آنزیم وجود دارد. سیستئین پروتئازها در انگل‌ها به ۲ گروه اصلی CA [یا شبه پاپاین که دارای ۲ خانواده C_1 (شبه کاتاپسین L, B) و C_2 (شبه کالپین) می‌باشد] و CD [یا شبه لگومایین] تقسیم می‌شوند. آنزیم‌های پاپائین برای اولین بار در گیاه Papain کشف شد و آنزیم‌های لگومایین برای اولین بار از گیاهی به نام legume جداسازی شده است و از آن به بعد آنزیم‌های مشابه با نام شبه پاپاین و شبه لگومایین نامگذاری گردید. یادآور می‌گردد به طور اساسی این تقسیم‌بندی‌ها از طرز قرار گرفتن اسیدآمینه‌های Cys/His/Asn/Gln در جایگاه فعال آنزیم، انجام می‌گیرد. برای مثال در CA، در جایگاه فعال آنزیم Cys/His و در CD،

در جایگاه فعال آنزیم His/Cys قرار دارد. علاوه بر آن CA نسبت به مهارکننده‌های سیستئین پروتئازی حساس ولی CD مقاوم می‌باشند.

فعالیت سیستئین پروتئازها در انگل‌ها:

پروتئازهای انگلی برخلاف پروتئازهای پستانداران که احتیاج به pH اسیدی دارند، در pH خنثی فعال‌تر و پایدارترند. سیستئین پروتئازها در انگل‌ها کارهای مختلفی را انجام می‌دهند که در ذیل لیست شده است:

۱- تغذیه: این آنزیم پروتئین‌های میزبان را شکسته و باعث استفاده انگل از اسیدآمینه‌ها و پپتیدهای کوچکتر می‌شود. مثلا در شیستوزوما مانسونی و پلاسمودیوم فالسیپاروم این آنزیم جهت استفاده از هموگلوبین وجود دارد.

۲- مهاجرت و تخریب‌های بافتی- سلولی: مروزئیت‌های پلاسمودیوم فالسیپاروم جهت لیز گلبول‌های قرمز و آزاد شدن انگل و یافتن مخزن جدید برای تغذیه این آنزیم را ترشح می‌کنند. انگل‌های لیشمانیایی که به عمد در شرایط آزمایشگاهی فاقد سیستئین پروتئازها شوند در حمله به ماکروفاژها ناکارآمد بودند. دلیل این امر هنوز مشخص نشده است. افزایش فعالیت سیستئین پروتئاز در انتاموبا هیستولیتیکا سبب تخریب بیشتر باکتری‌های روده‌ای و استفاده از باقیمانده پروتئین‌های غذایی می‌شود و در نتیجه انگل به فرم مهاجم در نمی‌آید. در صورت کاهش این آنزیم احتمال مهاجم شدن انگل بالا می‌رود. تاکنون ۵ نوع از این آنزیم در انتاموباهیستولیتیکا شناسایی شده است که CP_5 هم در هیستولیتیکاو هم در دیسپار وجود دارد ولی فعالیت آن فقط در هیستولیتیکا دیده شده است. تریکوموناس واژینالیس برای گذر از لایه موکوسی غنی از موسین و رسیدن به سلول‌های اپیتلیال واژن دارای مقادیر زیادی سیستئین پروتئاز می‌باشد. در راپتری توکسوپلاسما گوندی، لارو L_3 استرونژیلوئیدس، لارو L_3 نکاتور آمریکانوس، پلروسرکوئید اسپیرومترا مانسونی، فاسیولا هپاتیکا و ... سیستئین پروتئازهایی برای تهاجم انگل وجود دارد.

۳- کیسته شدن، خروج از کیست و تخم، پوست‌اندازی: خروج ژیاردیا از کیست همانند خروج متاسرکرپاراگونیموس وسترمانی از کیستش نیاز به سیستئین پروتئازها دارد. توانایی پوست‌اندازی لارو L_4 انکوسرکا ولولوس و L_4 نکاتور آمریکانوس در صورت مهار سیستئین پروتئازشان از بین می‌رود. خروج شیتوزوما مانسونی از تخم به علت ترشح سیستئین پروتئازها از غدد راسی میراسیدیوم صورت می‌گیرد.

۴- اثرات پاتولوژیک عمومی و اختصاصی بر میزبان: کریپتوسپوریدیوم پاروم، آنزیم Caspase میزبان را فعال و سبب آپوپتوزیس سلول میزبان به وسیله راه افتادن آبشار سیستئین پروتئازی خود میزبان می‌گردد و یا توکسوپلاسما دارای یک پروتئین سطحی به نام MIC2 است که فعالیت سیستئین پروتئازی دارد و در تهاجم سلولی نقش دارد.

۵- فرار از سیستم ایمنی: تخریت آنتی‌بادی‌های میزبان به وسیله سیستئین پروتئازهای انگل‌های نامبرده انجام می‌گیرد: تریکوموناس واژینالیس، ژیاردیا لامبلیا، فاسیولاهپاتیکا، انتاموبا هیستولیتیکا، تنیاسولیوم، تریپانوزم کروزی و ... سیستئین پروتئاز تریکوموناس واژینالیس باعث تخریب C3 در مسیر آلترناتیو کمپلیمان شده و در نتیجه از لیز انگل جلوگیری می‌کند. در پاراگونیموس وسترمانی سیستئین پروتئازها تولید تحمل ایمنی می‌نمایند. در تریپانوزوم کروزی این آنزیم سبب فراخوانی ماکروفاژها، برای تهاجم انگل به آنها می‌شود.

۶- فعالیت ایمونوژنیسته: سیستئین پروتئازها در انگل‌هایی مثل فاسیولا هپاتیکا، توکسوکاراکانیس، لیشمانیا ماژور، تریکوموناس واژینالیس، انتاموباهیستولیتیکا، پاراگونیموس وسترمانی، شیتوزوما مانسونی، پلاسمودیوم فالسیپاروم و تریپانوزوم کروزی فعالیت ایمونوژنیسیته دارد و روی پاسخ‌های هومورال و ترشح IgE اثر گذاشته و سبب پاسخ‌های آلرژیک در میزبان می‌گردد. با توجه به این خاصیت آنزیم می‌توان امید داشت که از آن در واکسیناسیون و ایمنی‌زایی علیه انگل‌ها استفاده کرد

انوار دانش
کارشناسی - کارشناسی ارشد - دکترای تخصصی

مثل واکسن ضدسیستئین پروتئاز فاسیولا هپاتیکا که در گوسفندان می‌تواند ایمنی بالایی ایجاد کند.

مهارکننده‌های سیستئین پروتئازی، درمانی برای عفونت‌های انگلی:

علل استفاده از این مهارکننده‌ها در درمان عبارتند از: **۱**- بدون توجه به نوع مهارکننده سیستئین پروتئازی، تاثیرات مشابهی در انگل‌ها به وجود می‌آورند. مثلا در تریپانوزوم کروزی، لیشمانیا ماژور و مالاریا به طرق مختلف مثل اختلال در عملکرد دستگاه گلژی و تجمع مواد هضم نشده، ایجاد شوک اسموتیک کرده و در نهایت نابودی انگل را سبب می‌شود. **۲**- ثابت شده است که مهارکننده‌ها به طور کاملا اختصاصی با سیستئین پروتئاز درون انگلی اتصال برقرار می‌کند. **۳**- در صورت از بین بردن ژنوم این آنزیم، تاثیرات مشابه استفاده از مهارکننده‌ها در انگل اتفاق می‌افتد.

امروزه داروهای فلورومتیل کتونوز و ونیل سولفون به عنوان مهارکننده‌های آنزیمی در جایگاه فعال سیستئین پروتئازهای انگلی با اپیوند کوولان به طور محکم و اختصاصی و غیرقابل بازگشت، در حال تجربه شدن هستند. لازم به ذکر است داروسازان معتقدند داروهایی با این اتصال جدانشدنی سبب واکنش‌های اتوایمیون می‌گردد، ولی مشاهده شده است که اولا اپیتوپ‌های چندگانه سبب این اتفاق می‌شوند در حالی که مهارکننده‌های آنزیمی دارای فقط ۱ اپی‌توپ می‌باشند، ثانیا بیماری‌های اتوایمیون نتیجه درمان بیماری‌های مزمن در طی چند سال می‌باشد، حال آنکه درمان عفونت‌های انگلی معمولا یک دوره کوتاه می‌خواهد. مسئله دیگری که داروسازان مطرح می‌کنند اثر این مهارکننده‌ها روی آنزیم‌های مشابه آنها در میزبان می‌باشد که در جواب آنها می‌توان گفت: اولا غلظت پروتئازهای مشابه در میزبان بیشتر است. ثانیا طیف گسترده‌تری از این آنزیم‌ها در میزبان پستاندارد وجود دارد. ثالثا این مهارکننده‌ها به طور مستقیم توسط انگل در داخل سلول‌ها وخارج آن بلعیده می‌شوند. رابعا آنزیم‌های مهمی مثل پروتئازوم‌ها برای عمل خود حداقل به یک تری‌پپتید احتیاج دارند در حالی‌که مهارکننده‌ها معمولا دی‌پپتید فنیل‌آلانین و هوموفنیل آلانین می‌باشند.

نتیجه‌گیری:

سیستئن پروتئازها آنزیم‌های حیاتی و اختصاصی در تمام جانداران می‌باشند و با استفاده از مهار آنها می‌توان از فعالیت طبیعی سلول جلوگیری کرد. امروزه با توجه به درک اهمیت این آنزیم با استفاده از مهارکننده‌های آن سعی در درمان سلول‌های توموری، بیماری‌های التهابی، استئوپورزیس و ... می‌کنند. با توجه به اهمیت و اختصاصیت بالای سیستئین پروتئازها می‌توان انتظار داشت که در آینده بسیاری از درمان‌ها و کنترل‌ها و پیشگیری از بیماری‌ها توسط مهار این آنزیم صورت پذیرد.

مراجع:

1- M.sajid, J .H. McKerrrow. Cysteine proteases of parasitic organisms. J molecular & biochemical parasitology 120 (2002) 1-20.

2- James H.McKerrow. development of cysteine protease inhibitors as chemotherapy for parasitic disease. J international journal tor parasitology 29 (1999) 833-837.

3-÷ James H. Mckerrow, Juan C. Engel & Cnor R. Caffrey. Cysteine protease inhibitors as chemotherapy for parasitic infections. J bioorganic & medicinal chemistry 7 (1999) 639-644.