

Cytotoxický efekt nového derivátu metronidazolu na patogénne kmene akantaméb

Aneta Dušeková¹, Mária Garajová¹, Martin Mrva¹, Miloš Lukáč²

¹Katedra zoológie, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského v Bratislave

²Katedra chemickej teórie liečiv, Farmaceutická fakulta Univerzity Komenského v Bratislave

Amfizoické meňavky rodu *Acanthamoeba* sú pôvodcami závažných infekcií človeka (granulomatózna amébová encefalitída, akantamébová keratitída) s problematickou terapiou. Skúmaný bol cytotoxický účinok novej fosfóniovej soli – derivátu metronidazolu na dvoch klinických izolátoch druhov *Acanthamoeba lugdunensis* a *Acanthamoeba quina*, ktorý bol definovaný pomocou minimálnej trofocídnej koncentrácie – MTC počas 3 časových intervalov. Fosfóniová soľ bola výrazne účinnejšia, než metronidazol a predstavuje amébostatickú zlúčeninu.

Kľúčové slová: *Acanthamoeba*, klinické izoláty, amébicídny efekt

Cytotoxic effect of a new metronidazole derivate on pathogenic strains of acanthamoebae

Amphizoic amoebae of the genus *Acanthamoeba* are causative agents of severe human infections (granulomatous amoebic encephalitis, *Acanthamoeba* keratitis) with problematic therapy. The cytotoxic effect of a new phosphonium salt, a metronidazole derivate, was investigated on two clinical isolates of species *Acanthamoeba lugdunensis* and *Acanthamoeba quina*. The minimal trophocidal concentrations – MTC was measured during three different time intervals. The phosphonium salt was significantly more effective than metronidazole. It represents an amoebostatic compound.

Keywords: *Acanthamoeba*, clinical isolates, amoebicidal effect

NewsLab, 2020; roč. 11 (2): 91 – 92

Úvod

Akantaméby sú kozmopolitne rozšírené voľne žijúce meňavky s výskytom v rôznych typoch biotopov. Ich trofozoity dokážu vplyvom nepriaznivých podmienok encystovať⁽¹⁾. Akantaméby sú pôvodcami závažných infekcií človeka (granulomatózna amébová encefalitída, akantamébová keratitída, kožné a diseminované infekcie)⁽²⁾, na ktoré doposiaľ neexistuje jednotná a spoľahlivá terapia. To je dôvodom pre hľadanie nových potenciálnych terapeutík.

Amébicídny efekt metronidazolu sa úspešne využíva v liečbe amébozy spôsobenej druhom *Entamoeba histolytica*⁽³⁾. Aplikácia v prípade akantamébových infekcií nepreukázala dostatočný terapeutický účinok⁽⁴⁾. Výskumy sa sústreďujú aj na testovanie cytotoxicity fosfóniových solí. Nedávne štúdie potvrdili ich amébicídny účinok aj na kmeňoch akantaméb⁽⁵⁾.

Cieľom výskumu bolo definovanie cytotoxicity nového metronidazolového derivátu (fosfóniovej soli) na dvoch izolátoch rodu *Acanthamoeba*. Nakoľko je testovaný derivát nosyntetizovanou zlúčeninou, jeho cysticídny účinok bude predmetom ďalšieho skúmania.

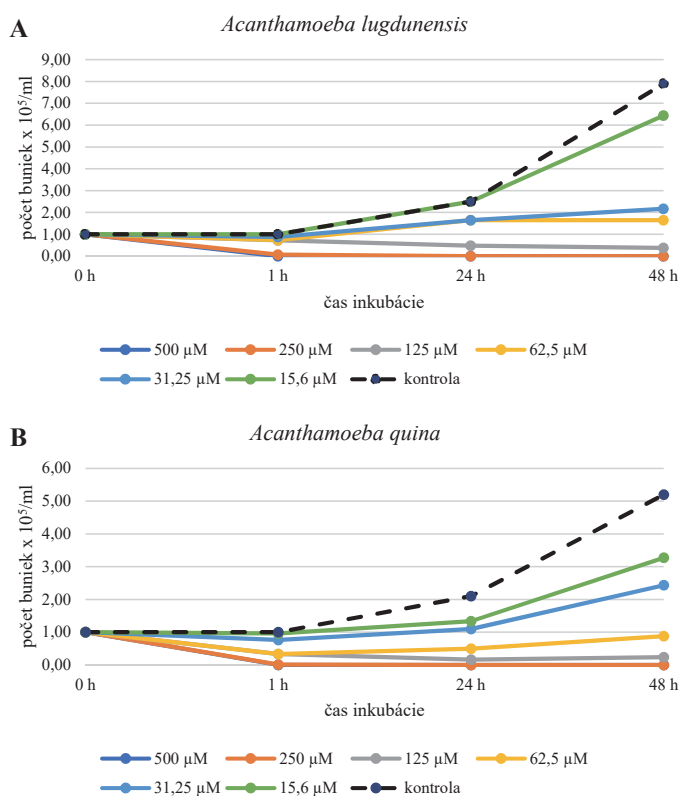
Materiál a metodika

Experimentálne bol testovaný cytotoxický účinok derivátu metronidazolu – fosfóniovej soli (FS) a metronidazolu na dvoch klinických izolátoch: *A. lugdunensis* (AcaVNAK02), *A. quina* (AcaVNAK03). Na axenických kultúrach trofozoitov bolo celkovo testovaných 6 koncentrácií zlúčenín: 500 µl; 250 µl; 125 µl; 62,5 µl; 31,25 µl a 15,6 µl, pri teplote 37 °C v sterilných podmienkach. Výsledky boli odčítané po 1, 24 a 48 hodinách. Stanovená bola minimálna trofocídna koncentrácia (MTC) – najnižšia koncentrácia zlúčeniny so 100 % trofocídnym účinkom.

Výsledky

V priebehu experimentu všetky koncentrácie FS prejavili inhibičný efekt (**obrázok 1**) na oba kmene akantaméb. Pri kmene *A. lugdunensis* boli hodnoty MTC po 1 aj 24 hodinách

Obrázok 1. Vplyv zlúčeniny FS na klinické izoláty akantaméb. (A) *A. lugdunensis*. (B) *A. quina*.



na rovnakej úrovni 500 μM , vyššia cytotoxicita zlúčeniny sa prejavila až po 48 hodinách (MTC 250 μM) (**tabuľka 1**). Kmeň *A. quina* prejavil vyššiu citlivosť, s hodnotami MTC 500 μM po 1 hodine a 250 μM po 24 aj 48 hodinách. Získané hodnoty MTC potvrdili vyššiu účinnosť metronidazolového derivátu v porovnaní s referenčným metronidazolom. MTC metronidazolu dosahovalo pri oboch kmeňoch rovnaké, vysoké hodnoty > 500 μM vo všetkých troch časových intervaloch.

Diskusia

Testovaný metronidazolový derivát – fosfóniová soľ, preukázal výrazne väčší cytotoxický účinok v porovnaní s referenčným metronidazolom. Amebicídny účinok na rovnakých kmeňoch akantaméb preukázali nedávno aj fosfóniové soli kyseliny rozmarínovej⁽⁵⁾. Tieto zistenia naznačujú potrebu ďalšieho skúmania metronidazolu ako východiskovej zlúčeniny pre syntézu nových potenciálne amebicídnych zlúčenín, ako aj nutnosť ďalšieho testovania amebicídneho účinku fosfóniových solí.

LITERATÚRA

- Schuster FL, Visvesvara GS. Free-living amoebae as opportunistic and non-opportunistic pathogens of humans and animals. *International Journal for Parasitology* 2004; 34(9): 1001-1027.
- Marciano-Cabral F, Cabral G. *Acanthamoeba* spp. as agents of disease in humans. *Clinical Microbiology Reviews* 2003; 16(2): 273-307.
- Hernández Ceruelos A, Romero-Quesada LC, Ruvalcaba Ledezma JC, et al. Therapeutic uses of metronidazole and its side effects: an update. *Archives of Medical Research* 2019; 23(1): 397-401.

Tabuľka 1. Minimálna trofocídna koncentrácia MTC (μM) testovaných zlúčenín na klinických izolátoch akantaméb po 1, 24 a 48 hodinách

Testovaná zlúčenina	<i>Acanthamoeba lugdunensis</i>			<i>Acanthamoeba quina</i>		
	1 h	24 h	48 h	1 h	24 h	48 h
Metronidazol	> 500	> 500	> 500	> 500	> 500	> 500
FS	500	500	250	500	250	250

Záver

Zo získaných výsledkov možno potvrdiť vyššiu účinnosť novosyntetizovaného derivátu oproti metronidazolu. Na základe výsledkov vyplýva potreba ďalšieho skúmania daného derivátu na iných kmeňoch akantaméb.

PodĎakovanie: Práca vznikla s podporou grantov VEGA 1/0389/19, VEGA 1/0054/19, KEGA 013TTU-4/2019 a UK/173/2020. Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-15-0123 a APVV-19-0056.

- Bunsuwansakul C, Mahboob T, Hounkong K, et al. *Acanthamoeba* in southeast Asia – Overview and challenges. *Korean Journal of Parasitology* 2019; 57(4): 341-357.
- Bittner Fialová S, Kello M, Čoma M, et al. Derivatization of rosmarinic acid enhances its in vitro antitumor, antimicrobial and antiprotozoal properties. *Molecules* 2019; 24(6): 1078.

Mgr. Aneta Dušeková

Katedra zoológie, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského v Bratislave
 Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava
 e-mail: dusekova4@uniba.sk