

## مروری بر بالاموتیا مندریلاریس (*Balamuthia mandrillaris*) و پاتوفیزیولوژی آنسفالیت بالاموتیایی

زهره لاسجودی / دانشجوی کارشناسی ارشد رشته انگل شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی  
دکتر مریم نیتی / نویسنده مسئول: دکتر مریم نیتی؛ استادیار گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

maryamniyati@yahoo.com

### پیش‌گفتار

آمیب‌های آزادی در برگزیده خانواده‌های گوناگونی، از جمله آکانتوموبیده (*Acanthamoebidae*) و والکامفیده (*Vahlkampfiidae*) هستند. امروزه این آمیب‌ها می‌توانند باعث بیماری‌های مختلفی، از جمله بیماری‌های چشمی، مغزی و پوستی شوند.

در خانواده آکانتوموبیده، دو جنس مهم شامل بالاموتیا (*Balamuthia*) و آکانتامبا (*Acanthamoeba*) وجود دارد. در جنس آکانتامبا، ژنوتایپ‌های مختلفی شناسایی شده است که برخی از آن‌ها بیماری‌زا بوده و از عوامل کراتیت‌های چشمی و آنسفالیت‌های مغزی هستند. نیاز به توضیح است که در جنس بالاموتیا تاکنون تنها یک گونه به نام مندریلاریس (*mandrillaris*) شناسایی شده است. در واقع، بالاموتیا مندریلاریس تک‌یاخته پاتوژن نوپدید است که می‌تواند از عوامل آنسفالیت‌های گرانولوماتوز مغزی در انسان و حیوانات باشد.

این آمیب نخستین بار در اواخر سال ۱۹۸۶ از مغز یک میمون باردار جدا شد. آزمایش‌های پاتوفیزیولوژی وجود آنسفالیت خون ریزی دهنده نکروتیک را در حیوان تأیید کرد. در آن زمان *Visvesvara* و همکارانش به دلیل شباهت‌های مورفولوژیک این تک‌یاخته با لپتومیکسیدها آن را جزء آمیب‌های لپتومیکسید (گروهی از آمیب‌های خاک) طبقه‌بندی کردند، اما بعدها بر اساس نتایج سکونسینگ ژن rRNA متوجه شدند که ارتباط نزدیکی بین بالاموتیا و آکانتامبا وجود دارد، به همین دلیل بالاموتیا را در خانواده آکانتوموبیده جای دادند. نخستین آنسفالیت انسانی در سال ۱۹۹۱ از یک فرد دچار نقص سیستم ایمنی گزارش شد و از آن به بعد بیش از ۱۰۰ مورد آنسفالیت ناشی از بالاموتیا تشخیص داده شد.

در چرخه زندگی این تک‌یاخته دو مرحله تروفوزوئیت (فرم تکثیر شونده انگل) و کیست (فرم غیر فعال و مقاوم انگل) دیده می‌شود. در شرایط ناهنجار محیطی (مانند از دست دادن آب، کاهش مواد غذایی، افزایش دما و افزایش اسمولاریته) فرم تروفوزوئیت به کیست تبدیل می‌شود، و زمانی که شرایط مناسب می‌شود عکس این مساله روی می‌دهد. تروفوزوئیت‌ها با اندازه ۵۰-۱۵ میکرومتر دارای پاهای کاذب انگشتی شکل هستند که از آن‌ها جهت فاگوسیت سلول میزبان استفاده می‌کنند. این آمیب‌ها، بیشتر تک‌هسته‌ای هستند، ولی گاهی دو هسته و یا بیش از دو هسته در آن‌ها مشاهده می‌شود. کیست‌ها با اندازه ۳۰-۱۳ میکرومتر دارای سه لایه به نام‌های *endocyst*, *mesocyst*, *ectocyst* بوده و در سطح آن‌ها هیچ‌گونه منفذی مشاهده نمی‌شود.

نکات جالبی در مورد تغذیه آمیب وجود دارد. برخلاف آکانتامبا که از باکتری در محیط آگار غیر مغذی استفاده می‌کند بالاموتیا از هیچ باکتری (نه گرم مثبت و نه گرم منفی) تغذیه نمی‌کند. مشخص شده است که در شرایط آزمایشگاهی بالاموتیا می‌تواند از آمیب‌های آزادی دیگر مانند نگلریا و تروفوزوئیت آکانتامبا به عنوان منبع غذایی استفاده نماید. از طرفی سلول‌های پستانداران مانند فیبروبلاست‌های ریه انسان، سلول‌های اندوتلیال مویرگ‌های مغز انسان، سلول‌های کلیه میمون می‌توانند باعث رشد آمیب در محیط کشت شوند.

## راههای انتقال، بیماری ها و علائم بالینی

آمیب از سه راه می تواند وارد بدن انسان و حیوان شود:

### - راه عصب بویایی

(Olfactory neuroepithelium route):

زمانی که آمیب از این طریق وارد بدن می شود، مستقیماً از راه بینی به سیستم عصبی مرکزی (CNS) راه می یابد.

### - دستگاه تنفسی فوقانی (Respiratory route):

آمیب از راه استنشاق وارد ریه ها شده و سپس از طریق گردش خون وارد سیستم عصبی مرکزی می شود.

### - وجود خراش جلدی در بدن میزبان:

آمیب وقتی از راه خراش جلدی وارد بدن می شود، ابتدا وارد ریه ها شده و سپس به همراه گردش خون به CNS راه می یابد.

بنابراین در آنسفالیت گرانولومایی آمیبی انتشار از طریق گردش خون یک مرحله کلیدی و مهم به شمار می آید. بالاموژیا مندریلاریس دو بیماری مهم به نام های آنسفالیت گرانولومایی آمیبی (Balamuthia granulomatous enc ephalitis) و عفونت های جلدی شدید ایجاد می کند. BGE یک عفونت مزمن سیستم عصبی مرکزی است که از چندین هفته تا چند ماه طول می کشد.

بر خلاف آنسفالیت ناشی از آکانتامبا که در افراد با نقص ایمنی رخ می دهد، آنسفالیت حاصل از این آمیب هم در افراد با نقص ایمنی و هم در افراد با ایمنی کامل دیده می شود. این موضوع نشان دهنده پاتوژن بودن بالقوه آمیب می باشد.

در این بیماری زخم های نکروتیک خون ریزی دهنده در نواحی تالاموس و مخچه میزبان آلوده مشاهده می شود. گاهی در یک میزبان آلوده تعداد زیادی کانون های نکروتیک در فضا های بین عروقی در مغز دیده می شود.

نسبت مرگ و میر بیماری در بیشتر گزارش ها بیش از ۹۸٪ است. بیماران مبتلا در شروع عفونت از سردرد، سفتی گردن، تهوع و تب با درجه پایین رنج می برند. با پیشرفت بیماری، مبتلایان دچار خواب آلودگی شده و تغییرات واضحی در رفتار آن ها دیده می شود. اگر آمیب از راه خراش جلدی وارد بدن گردد، اولسرهایی در بیمار مشاهده می شود و با

پیشرفت بیماری آمیب از راه زخم می تواند به خون راه پیدا کند. این زخم ها بیشتر در صورت میزبان دیده می شوند.

## تشخیص BGE

به دلیل ویژگی های مشترکی که بین این بیماری با انواع منگوانسفالیت ها وجود دارد، تشخیص آن در بسیاری از موارد، تنها با اتوپسی انجام می گیرد. همچنین BGE با دیگر عفونت های سیستم عصبی مرکزی مثل سیستی سرکوزیس، توکسوپلاسموزیس، آبسسه ها و تومورهای مغزی به راحتی اشتباه گرفته می شود.

در بیشتر موارد تشخیص بعد از مرگ افراد و با تهیه اتوپسی از بافت مغز آلوده صورت می گیرد، که با استفاده از رنگ های اختصاصی مانند هوماتوکسیلین-ائوزین، گومری منتامین و پریودییک اسید شیف (Periodic Acid Shift) می توان تروفوزوئیت و کیست های بالاموژیا را در بافت آلوده مشاهده کرد.

متاسفانه، تصاویر MRI و CTscan برای تشخیص چندان کمک کننده نیست. آزمایش CSF نیز خیلی کاربرد ندارد، به دلیل این که آمیب به ندرت در این مایع یافت می شود. یکی از روش هایی که امروزه بسیار متداول است استفاده از رنگ آمیزی Indirect immunofluorescence می باشد که در این روش از آنتی بادی ضد بالاموژیا در سرم خرگوش استفاده می شود. این روش برای تشخیص بالاموژیا اختصاصی است.

امروزه، از روش های مولکولی (PCR) نیز برای تشخیص بیماری استفاده می شود.

## درمان

متاسفانه اکثر موارد این بیماری منجر به مرگ افراد می شود و در واقع پیش آگهی این بیماری بسیار ضعیف است. در نمونه های اندکی، ترکیبی از داروهای ضدقارچی و ضد میکروبی موفقیت آمیز بوده است.

## اپیدمیولوژی

اطلاعات کمی در مورد توزیع و پراکندگی بالاموژیا وجود دارد. برخلاف آکانتامبا که به طور گسترده ای در محیط پراکنده است و به راحتی از منابع مختلفی مانند آب، خاک و حتی هوا جدا می شود، جداسازی بالاموژیا از محیط بسیار مشکل است.

خونی- مغزی وجود اتصالات قوی به نام Tight junction می باشد، که در میان سلول های اندوتلیال قرار دارد و ورود توکسین و پاتوژن ها به درون CNS را محدود می کنند. این پیوندهای نیرومند از پروتئین های مهمی چون Occludin, Claudin تشکیل شده اند، که باعث می شوند دو سلول اندوتلیال محکم به هم بچسبند.

### مراحل پاتوژنیسیته بالاموتیا

مراحل بیماری زایی آمیب شامل اتصال به سلول هدف، ترشح آنزیم های مختلف، تحریک پاسخ های التهابی در میزبان و فاگوسیتوز می باشد که همه ی این رویدادها منجر به عبور آمیب از سد خونی- مغزی و ورود آن به CNS می شود.

### اتصال آمیب به سلول هدف (Adhesion)

اگر چه عبور موفقیت آمیز آمیب به چند عامل بستگی دارد، اما اتصال یک مرحله مهم و اولیه در پاتوژنیسیته انگل به شمار می آید.

این مرحله یک انتقال وابسته به رسپتور است که در آن آمیب از طریق پروتئینی به نام گالاکتوز بایندینگ پروتئین (GBP) به سلول های اندوتلیال مغز انسان متصل می شود.

اهمیت این موضوع زمانی مشخص گردید که GBP خالص شده را در محیط کشت به همراه سلول های اندوتلیال مغز انسان قرار دادند و متوجه شدند که سیتوتوکسیسیته سلول ها به طرز چشمگیری مهار می شود.

در پی پیوستن آمیب به سلول هدف سطح بالایی از اینترلوکین ۶ ترشح می شود، که سایتوکاین مهمی برای آغاز پاسخ های التهابی میزبان است. از سویی پیوند آمیب با سلول هدف به رویدادهای ثانویه می انجامد، که شامل تداخل با سیگنال های داخل سلولی، ترشح توکسین و .... می باشد که مجموع این حوادث نیز باعث از بین رفتن سلول هدف می شود.

### پاسخ های التهابی میزبان (Inflammatory response)

می دانیم اتصال بالاموتیا به سلول های اندوتلیال مویرگ های مغز انسان منجر به تولید سطح بالایی از اینترلوکین ۶ (IL6)

تعداد نمونه های BAE (BGE) گزارش شده در سراسر دنیا بیش از ۲۰۰ مورد می باشد که با توجه به پراکندگی آمیب های آزادی در محیط آمار بسیار کمی است. تا به حال بالاموتیا دو مورد از خاک در آمریکا و یک مورد از گردو غبار در ایران جدا شده است.

در مطالعه ای که در ایران توسط نیتی و همکاران در سال ۲۰۰۹ انجام شد، بالاموتیا از گرد و غبار یک بیمارستان در تهران با استفاده از محیط آگار غیر مغذی ایزوله شد. تأییدیه وجود بالاموتیا در گرد و غبار با آزمایشات ملکولی و تعیین توالی قطعه اختصاصی ژن 16 SrRNA صورت گرفت. این موضوع نمایانگر خطرات بالقوه موجود در محیط برای انسان می باشد. تاکنون عفونت انسانی ناشی از بالاموتیا در ایران گزارش نشده است.

### پاتوژنیسیته بالاموتیا مندریلا ریس

روبهم رفته در عفونت های وابسته به سیستم عصبی مرکزی، شرط لازم برای ورود عامل بیماری زا به داخل CNS رد شدن آن از سد خونی- مغزی (Blood Brain Barrier) است.

بالاموتیا نیز از این قاعده مستثنی نیست و پس از عبور از این سد منجر به آسیب آن و سرانجام آنسفالیت می شود. سد خونی- مغزی (BBB) یک سد انتخابی قوی است که ورود توکسین، پاتوژن و مواد مضر را به داخل CNS توسط مکانیسم های خاص خود محدود می کند. از طرفی دارای نفوذ پذیری انتخابی است، یعنی به موادی که برای فعالیت نرمال مغز لازم هستند اجازه عبور می دهد ولی از ورود مواد مضر جلوگیری می کند. این سد خون را از CNS جدا می کند و تمامی این شرایط باعث می شود که مغز دارای عملکرد نرمال باشد.

یکی از جاهای مهم مغز که سد خونی- مغزی در آنجا واقع شده است، سلول های اندوتلیال مویرگ های مغز انسان است.

در این جایگاه افزون بر سلول های اندوتلیال، سلول های بافت عصبی بنام آستروسیت ها و پرسیت ها وجود دارند. آستروسیت ها به صورت برآمدگی های شبیه پا (Foot-like) هستند که در پیرامون سلول های اندوتلیال قرار می گیرند و آن ها را احاطه می کنند.

پرسیت ها در غشاء پایه و اندوتلیوم فرو رفته اند و جریان خون مویرگی را تنظیم می کنند. اما ویژگی مهم سد



## فاگوسیتوز (Phagocytosis)

همچنان که گفته شد بالاموتیا دارای پاهای کاذب انگشتی شکل است که توسط آن ها سلول های میزبان را فاگوسیت می کند.

از طرفی در این آمیب مانند نگلریا و آکانتامبا ساختارهای ویژه ای به نام Food cup وجود دارد که آن ها را در سلول های هدف فرو برده و تغذیه می کند.

همچنین آمیب در هنگام فاگوسیتوز به راحتی می تواند شکل مورفولوژیک خود را تغییر دهد، بنابراین همه این عوامل موجب می شوند که توانایی بالاموتیا برای فاگوسیت کردن سلول های هدف به طرز چشمگیری افزایش یابد. مشخص شده است که ماده ای به نام سایتوکالازین D زمانی که در محیط کشت در مجاورت بالاموتیا قرار می گیرد، نقش مهمی دارد و می تواند عملکرد فاگوسیتوز آمیب و به دربی آن سایتوتوکسیسیته را مهار کند.

## جمع بندی

روبهم رفته بالاموتیا مندریلاریس با استفاده از فاکتورهای پاتوژنیسیته یاد شده ، می تواند از سد خونی- مغزی عبور کند و منجر به ایجاد آنسفالیت گرانولوماتوز آمیبی شود. تشخیص افتراقی این بیماری از سایر بیماری های مغزی در شروع درمان و بهبودی بیماران بسیار کلیدی می باشد. این روزها، پژوهش های گسترده ای در باره ی این آمیب در دست انجام است.

## Reference:

- 1.Martinez AJ, Schuster FL, Visvesvara GS. Balamuthia mandrillaris: its Pathogenic Potential. J Eukaryot Microbiol. 2001;6s-9s
- 2.Albrecht F, Kiderlen A, Phiroze S, Tata A, Muhsin O, Zel B, Elke R. cyopathogenicity of Balamuthia mandrillaris, an Opportunistic Causative Agent of Granulomatous Amebic Encephalitis. J Eukaryot Microbiol. 2006; 53(6): 456-463

می شود، که نقش مهمی در شروع پاسخ های التهابی در بدن میزبان دارد . به این صورت که IL6 به کمپلکس رسپتورهای سطح سلول متصل شده ، باعث افزایش ترشح مولکول های چسبنده مانند VCAM1 می شود.

از طرفی سلول های فاگوسیت کننده مثل ماکروفاژها و نوتروفیل ها به محل عفونت هجوم می آورند. علاوه بر IL6 سایتوکاین های پیش التهابی دیگر مانند GM-CSF IL8,IL1 و TNF $\alpha$  نیز در این فرآیند نقش دارند. همه ی این رویدادها باعث افزایش نفوذپذیری سد خونی- مغزی و تسهیل در عبور آمیب از آن می شود.

## ترشح آنزیم (Enzymatic secretion)

از آنزیم های مهمی که بالاموتیا ترشح می کند ، آنزیم های هیدرولیتیک هستند که شامل متالوپروتئازها، -ECTO ATPase لیپاز و فسفولیپاز A می باشد.

آنزیم متالوپروتئاز با خاصیت پروتئازی خود تماس بین دو سلول را از بین می برد که این مساله منجر به از بین رفتن ماتریکس خارج سلولی و سرانجام افزایش نفوذ پذیری سلول های اندوتلیال برای عبور آمیب می شود. حاصل این فعالیت تخریب سلول های اندوتلیال مویرگ های مغز و پارانشیم مغز می باشد.

در واقع متالوپروتئازها به پروتئین های ماتریکس خارج سلولی مانند کلاژن، لامینین و فیبرونکتین متصل شده و با فعالیت پروتئولیتیک خود باعث از بین رفتن آن ها می شوند.

نکته جالب توجه این است که کلاژن به دلیل داشتن ساختار مارپیچی به سختی تخریب می شود، اما بررسی ها نشان داده که بالاموتیا می تواند که نوع اول و سوم کلاژن را در pH طبیعی از بین ببرد و باعث تخریب ماتریکس خارج سلولی شود. از بین رفتن ماتریکس خارج سلولی نیز منجر به افزایش نفوذپذیری سلول های اندوتلیال و سرانجام ایجاد آسیب در این سلول ها و پارانشیم مغز شود.

آنزیم ECTO-ATPase با اثر بر روی ATP خارج سلولی و هیدرولیز آن موجب افزایش میزان ADP داخل سلولی شده که به عنوان ماده سمی برای سلول عمل می کند و آن را از بین می برد.