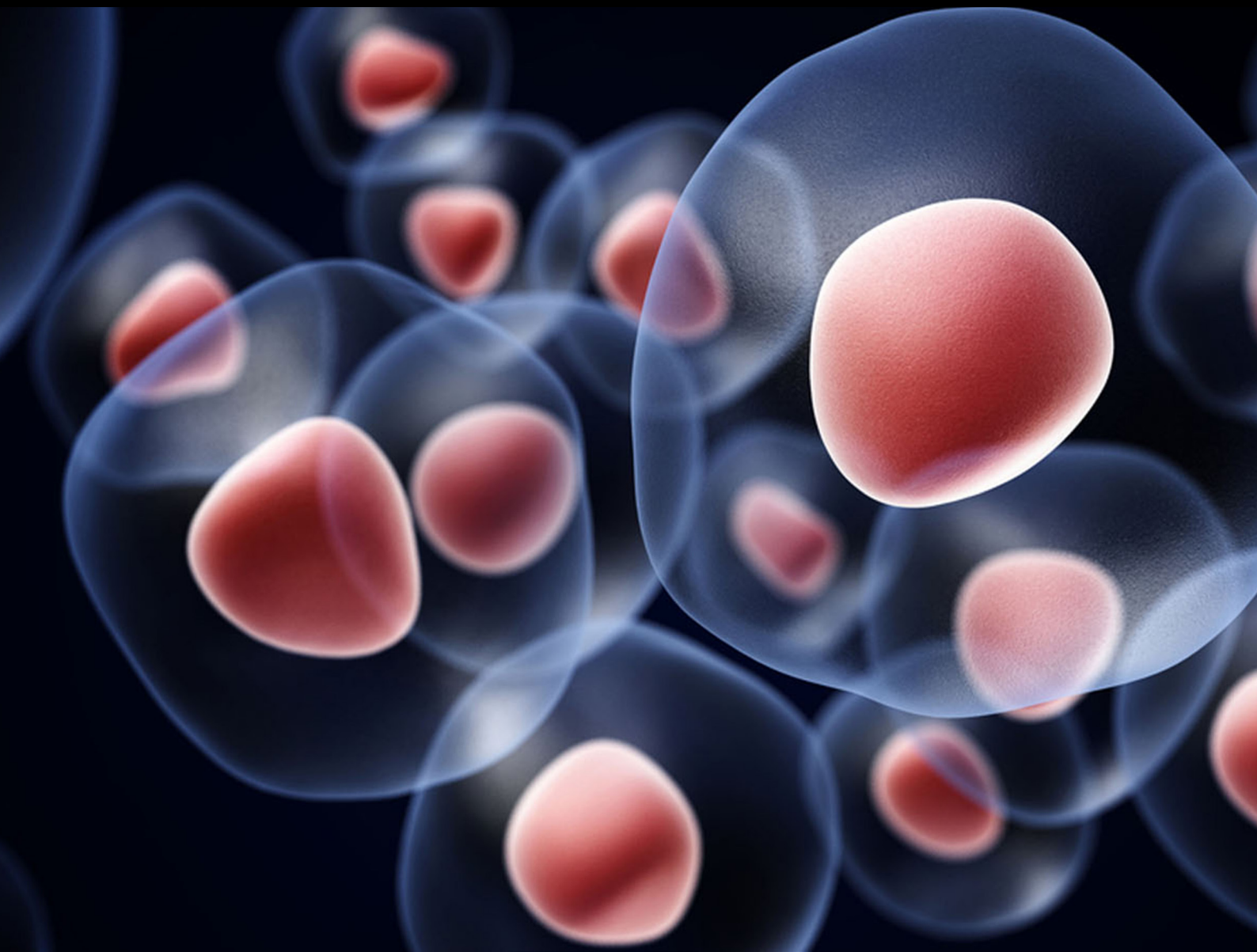
زیست‌وین

دوفصلنامه علمی تخصصی انجمن علمی دانشجویی بیوفیزیک دانشگاه تربیت مدرس - سال سوم / شماره پنجم / بهار و تابستان ۱۴۰۰

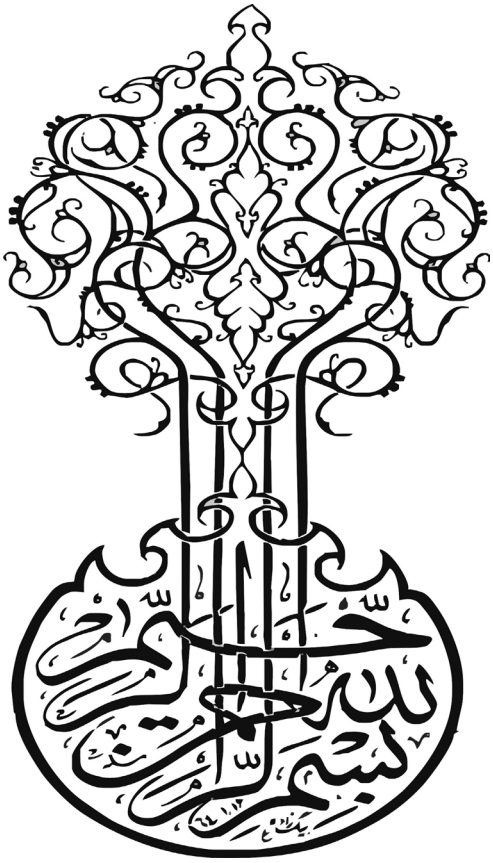


- گفتگوی اختصاصی با دکترفاطمه رهبری‌زاده رئیس مرکز تحقیقات و توسعه زیست‌فناوری دانشگاه تربیت مدرس
- کاربرد آنالیتیکال ماکرومولکول‌های زیستی با رویکرد طراحی و ساخت بیوسنسورهای الکتروشیمیایی
- مطالعه تاثیر بیش بیان ژن OCT4 و مهار همزمان ژن P53 بر بیان ژن‌های پرتوانی در سلول‌های بنیادی بافت چربی انسان
- نشست صمیمی با دکتر محمدباقر محمودی مدیرعامل شرکت دانش بنیان روژه تکنولوژی
- مطالعه سلول‌های بنیادی از منظر بیوفیزیک
- گزارش هفته جهانی بیوفیزیک ۲۰۲۱

دانشگاه تربیت مدرس
معاونت دانشجویی و فرهنگی و اجتماعی

بنـــده در دفـــاع‌ازجامعـــه‌ی‌نخبـــگان و از حرکـــت علمـــی کشـــور، تـــا نَفـــس دارم ذرّه‌ای کوتـــاه نخواهـــم آمـــد.

۹۵/۰۷/۲۸



نشریه علمی تخصصی زیست نوین

انجمن علمی دانشجویی بیوفیزیک دانشگاه تربیت مدرس

تیراژ: ۲۰۰ نسخه چاپی + انتشار الکترونیک / قیمت: ۱۵۰۰۰ تومان

صاحب امتیاز: انجمن علمی دانشجویی بیوفیزیک دانشگاه تربیت مدرس (معاونت دانشجویی و فرهنگی و اجتماعی)

سردبیر: صنم صادقی محمدی

مدیرمسئول: مرضیه دهقانی

مدیرداخلی: محمد توحیدلو

مدیرمالی: امید توحیدلو

زیست نوین

هیئت تحریریه

صنم صادقی محمدی (دکتری نانوبیوتکنولوژی)
محمد توحیدلو (پژوهشگر مرکز تحقیقات و توسعه زیست‌فناوری)
مرضیه دهقانی (دکتری بیوفیزیک)
رضا مهدویان (کارشناسی ارشد بیوفیزیک)
امید توحیدلو (کارشناسی زیست‌شناسی)
محمد عزتی (کارشناسی ارشد بیوشیمی)
هومن محمودی ازناوه (دکتری نانوبیوتکنولوژی)
محمد خالدی (دکتری بیوشیمی)
سیمین سیدپور (دکتری تخصصی بالینی)
سیده نسیم میربهاری (کارشناسی ارشد ژنتیک پزشکی)
سحر خانجانی (کارشناسی ارشد زیست‌شناسی/سیستماتیک گیاهی)
میلاد امیری (دکتری بیوشیمی)
فرشته رمضانی خرسند (دکتری بیوشیمی)
فاطمه عزیزیان (کارشناسی ارشد بیوشیمی)
مریم رحیمی (کارشناسی ارشد بیوفیزیک)
نیما فتاحیان (کارشناسی ارشد بیوشیمی)
ریحانه حسینی (کارشناسی زیست‌فناوری)
نیلوفر ترکزاده (کارشناسی ارشد بیوشیمی)
محدثه ترابیان (کارشناسی هوشبری)
حامد شهریارپور (کارشناسی ارشد بیوفیزیک)
حمیدرضا اخباریون (کارشناسی ارشد بیوشیمی)

اساتید همکار

دکتر پرویز عبدالمالکی (مشاور انجمن)، دکتر رضا حسن ساجدی، دکتر فاطمه رهبری زاده، دکتر محمد ستاری، دکتر رحیم احمدی، دکتر زهرا واعظی

ویراستار: محمد عزتی و امید توحیدلو
طراحی و صفحه‌آرایی: امید توحیدلو و محمد خالدی

کلیه علاقه‌مندان فعالیت به‌عنوان همکار در دوفصل نامه‌ی زیست نوین، صاحب‌نظران، محققین و اساتید محترم می‌توانند با ارسال مطالب و پیشنهادهای خود به آدرس ایمیل این نشریه و یا با تماس با انجمن علمی دانشجویی بیوفیزیک دانشگاه تربیت مدرس نسبت به طرح مطالب خود درهیات تحریریه نشریه زیست نوین اقدام نمایند.

آدرس: تهران، بزرگراه جلال آل احمد، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم زیستی ۱۵۴-۱۴۱۱۵

Email: modaresbiophysic@gmail.com

@Tmubiophysics

این نشریه دارای مجوز شماره ۴۳۸۴۱ /د ۱۹۳ در تاریخ ۲۵ / ۹/ ۱۳۹۷ از معاونت دانشجویی و فرهنگی و اجتماعی دانشگاه تربیت مدرس است.

فهرست

عمومی

. سخن سردبیر ۵
. هفته جهانی بیوفیزیک ۲۰۲۱ ۲۷

مقالات

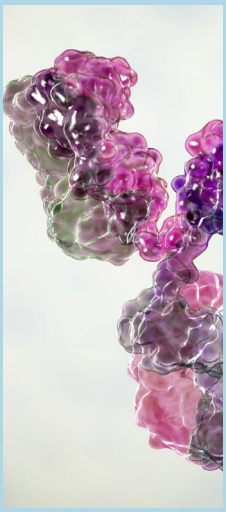
. تکنیک قدرتمند در .... *Bio-Layer interferometry* ۷
. کاربرد آنالیتیکال ماکرومولکول‌های زیستی ۱۷
. اثرات استنشاق بخار بنزین بر بافت بیضه... ۲۳
. مطالعه سلول‌های بنیادی از منظر بیوفیزیک ۲۹
. آیا مهار آنزیم کربنیک انیدراز به عنوان.... ۳۳
. مروری بر کاربرد نانومواد در مهندسی بافت.... ۴۳
. مطالعه تاثیر بیش بیان ژن *OCT4* ۵۳
. اثرات نوروآندوکراین و اپی‌ژنتیکی گازهای بیهوشی.... ۵۸
. مروری بر ماهیت زیست‌شناختی حافظه.... ۶۳

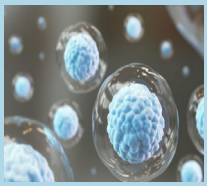
گزارشات

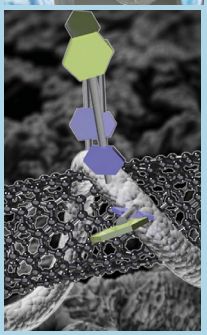
. درآمدی بر نانوکپسولاسیون ترکیبات زیست فعال ۳۹
. بررسی انواع روش‌های *Immune checkpoint Inhibition* ۶۹

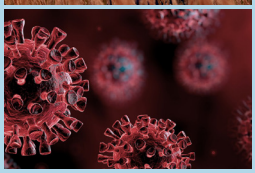
مصاحبه‌وافتخارات

. گفت‌وگوی اختصاصی با سرکار خانم دکتر رهبری‌زاده... ۱۳
. نشست صمیمی با جناب آقای دکتر محمدباقر محمودی.. ۷۳
. افتخارات انجمن علمی-دانشجویی بیوفیزیک... ۸۱









سخن سردبیر

إِنَّمَا يَخْشَى اللَّهَ مِنْ عِبَادِهِ الْعُلَمَاءُ؛

از بندگان خدا تنها دانایان از او می‌ترسند. (سوره فاطر آیه ۲۸)

فرصتی دوباره دست داد تا به بهانه انتشار مجدد نشریه زیست نوین با خوانندگان گران‌مایه به گفتگو بپردازم. علی‌رغم اینکه توسعه پایدار مهم‌ترین شاخص پیشرفت یک کشور و همدلی اجتماعی از ابزارهای مهم توسعه پایدار می‌باشد، ولی آنچه واضح است رشد بی‌تفاوتی اجتماعی است. با ورود فضای مجازی به زندگی‌مان بی‌تفاوتی اجتماعی شدت بیشتری یافته و هر نوع مسئولیت‌پذیری در مقابل جامعه فقط در فضای مجازی نمایانگر می‌شود. فردی که احساس مسئولیتی در مقابل همنوع خود نمی‌کند، تعهد چندانی هم به رشد و پیشرفت جامعه خود و اعتلای فرهنگی، علمی و اقتصادی آن نخواهد داشت. در جامعه‌ای که تک‌تک افراد به جامعه احساس پیوستگی داشته و خود را در قبال سرنوشت هم مسئول می‌دانند ضمن آنکه جامعه‌ای شادتر، پرانرژی‌تر و اخلاق‌گراتر خواهیم داشت، رشد و پیشرفت همه‌جانبه آن با شتاب بیشتری رخ می‌دهد. هم‌دلی ارزشمندترین سرمایه جامعه استارتاپی است و اتحاد و یکدلی مهم‌ترین سرمایه ساکنان زیست‌بوم کارآفرینی و نوآوری است. این مؤلفه، مهم‌ترین دارایی یک جامعه خواهان حرکت به‌سوی نوآوری است. رونق اقتصادی و به حرکت در آوردن موتور پیشرفت، امروزه در قالب هزاران شرکت دانش‌بنیان و استارتاپ به نمایش درآمده است. دارایی فیزیکی و مالی به‌تنهایی موجب تصاحب فناوری و پیشرفت نمی‌شود و جامعه دانش‌بنیان به‌خوبی می‌داند که پول عامل توفیق در این زیست‌بوم نیست؛ بلکه بهره‌گیری از نوآوری و چگونگی استفاده از این سرمایه است. ایران، رشد بیش از ۵۰ پله‌ای را در شاخص‌های جهانی نوآوری (GII) دارد و از نیروهای انسانی فوق‌العاده، دانشگاه‌ها و پارک‌های علم و فناوری مناسب بهره‌مند می‌باشد. ایجاد مراکز رشد نوآوری راه را برای تربیت جوانان و هدایت در مسیر نوآوری هموار می‌کنند. بنده نیز به عنوان عضو کوچکی از این کشور از شما خوانندگان عزیز خواهان با توجه به امر همدلی اجتماعی گامی حتی کوچک در راستای به حرکت در آوردن موتور پیشرفت و رونق اقتصادی جامعه ایران عزیز بردارید و از کنار بی‌تفاوتی اجتماعی بی‌تفاوت نگذرید.

در انتها لازم می‌دانم از همکاران عزیزم که در انتشار مجدد نشریه تلاش نمودند قدردانی نمایم. استقبال شما و ارسال مقالات نغز و پرمایه باعث شکوفائی نشریه زیست نوین خواهد گردید. انتظار داریم مثل همیشه با ارسال مقالاتی که حاصل فعالیت‌های پژوهشی شماست بر غنای علمی نشریه بیافزائید.

صنم صادقی محمدی

Bio-Layer Interferometry (BLI)
تکنیک قدرتمند در سنجش تمایل و سینتیک اتصال

فرشته رمضانی خرسند[1]، فاطمه عزیزیان[2]

[1]دانشجوی دکتری بیوشیمی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

[2]دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

چکیده

سیستم‌های Octet® مجموعه‌ای از ابزارها، زیست‌حسگرها، معرف‌ها و کیت‌های تشخیصی می‌باشند. که در آن‌ها از روش dip and read برای سنجش استفاده می‌شود این ویژگی نیاز به مایعات سیال خارجی جهت جریان نمونه درطی فرآیند سنجش را حذف و امکان بررسی پارامترهای سینتیکی و تمایلی را بدون نیاز به حضور نشانگر فراهم کرده است. برخلاف سیستم‌های سنجش سنتی همچون ELISA، بیوسنسورهای مبتنی بر روش‌های بدون نشان‌گذاری می‌توانند میان‌کنش بین لیگاند و آنالیت را به‌صورت زمان-واقعی بسنجند. در این روش از بیوسنسورهای یکبار مصرف فیبر نوری استفاده می‌شود. در هنگام سنجش با این سیستم ابتدا نور سفید طول بیوسنسور را طی می‌کند تا اینکه در بخش انتهایی به خط مرزی میان دو سطح لایه‌ی زیست‌سازگار و لایه‌ی مرجع داخلی می‌رسد. نوری که به این دو سطح برخورد می‌کند بعد از بازتاب به آشکارساز بر می‌گردد و پیک‌های سنسوگرام را ایجاد می‌کند. هر قدر سطح حسگر به دلیل اتصال بیشتر لیگاند و آنالیت ضخیم‌تر شود، بازتاب حاصل از لایه زیست‌سازگار از لایه مرجع داخلی بیشتر فاصله می‌گیرد و آشکارساز این تغییر ضخامت را به صورت تغییر در طول موج نور بازتاب شده، تفسیر می‌کند و طیف سنسوگرام را به عنوان تابعی از تعداد مولکول‌های متصل شده به سطح بیوسنسور ترسیم می‌کند. از این تکنیک برای مقاصد گوناگونی همچون بررسی سینتیک اتصال، مطالعات طراحی واکسن، کمی‌سازی مقدار نمونه،شناسایی جایگاه اپی‌توپ استفاده می‌شود.

کلمات کلیدی: سیستم‌های Octet®، سیستم‌های بدون نشان‌گذاری، سنجش تمایل اتصال، سنجش سینتیک اتصال

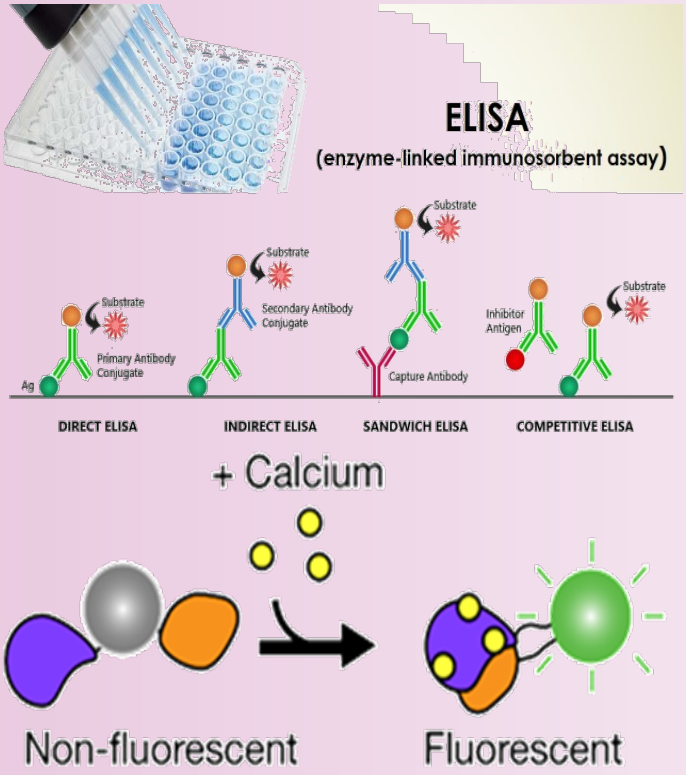
۱. مقدمه

سیستم‌های Octet® به طور کلی مجموعه‌ای از ابزارها، زیست‌حسگرها، معرف‌ها و کیت‌های تشخیصی می‌باشند [۱،۲]. در سیستم‌های Octet® از روش dip and read برای سنجش استفاده می‌شود، این ویژگی نیاز به ابزارهای میکروفلوئیدیک (و مایعات سیال خارجی جهت جریان نمونه) در سنجش را حذف و امکان بررسی پارامترهای سینتیکی و تمایلی را بدون نیاز به حضور نشانگر فراهم می‌کند [۱-۴]. در سیستم‌های Octet® امکان بررسی همزمان ۹۶ یا ۳۸۴ نمونه وجود دارد، زیرا فرآیند بررسی در میکروپلیت‌های ۹۶ و ۳۸۴ خانه‌ای انجام می‌گیرد [۱-۳]. در شکل ۱ نمایی از دستگاه Bio-Layer interferometry به عنوان یکی از نمونه‌های سیستم‌های Octet® قابل مشاهده است. از جمله نقاط قوت این سیستم می‌توان به توانایی آن در سنجش برهم‌کنش‌های پروتئین با ثابت تمایل در حد پیکومولار تا میلی‌مولار اشاره کرد و همچنین این سیستم در انتخاب نوع بافر برای سنجش محدودیتی ندارد. زیرا در این سیستم‌ها می‌توان از بافرهایی با ترکیبات دارای چگالی بالا مثل دی متیل سولفوکسید و گلیسرول هم استفاده کرد. در این سیستم امکان بررسی نمونه‌های Crude نیز وجود دارد و سنجش به صورت زمان-واقعی انجام می‌گیرد. از طرف دیگر از آنجا که در سیستم‌های Octet® از تغییر طول موج نور برای بررسی تغییرات استفاده می‌شود لذا روشی آسان سریع و مقرون به صرفه است [۱-۳].

۲. سیستم‌های سنجش سنتی

سیستم‌های سنتی که برای اندازه‌گیری فعالیت اتصال و تمایل اتصال مورد استفاده قرار می‌گیرند، غالباً نیازمند نشان‌گذاری‌های آنزیمی یا فلورسانسی می‌باشند (شکل ۲ – الف). تولید مولکول زیستی نشان‌دار علاوه بر صرف زمان و مواد، می‌تواند منجر به تغییر فعالیت پروتئین و

شکل ۱. نمایی از دستگاه Bio-Layer Interferometry به عنوان یک سیستم بدون نیاز به نشان‌گذاری



شکل ۲. سیستم‌های سنجش سنتی مبتنی بر حضور نشانگر الف. سیستم الایزا ب. سیستم مبتنی بر حضور نشانگر فلورسانس.

ایجاد ممانعت در جایگاه اتصالی پروتئین هدف شود. برخلاف سیستم‌های سنجش زمان-توقف همچون ELISA، بیوسنسورهای مبتنی بر روش‌های بدون نشانگذاری قادر به بررسی میانکنش پروتئین‌ها به صورت زمان واقعی می‌باشند (شکل ۲- ب) [۴].

۳. Bio-Layer Interferometry

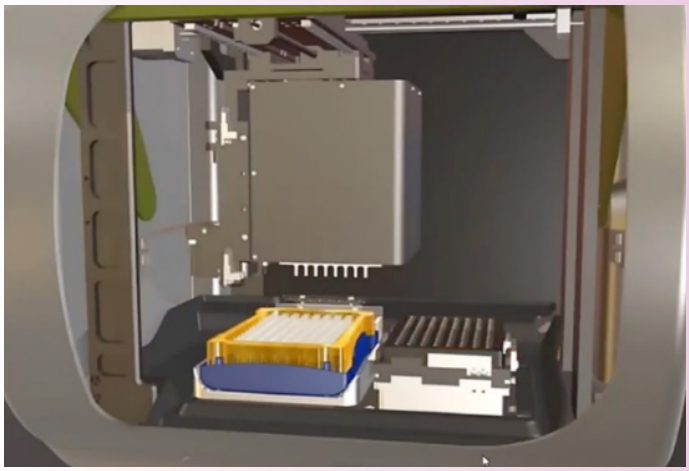
این روش، روشی نوری مبتنی بر سیستم‌های Octet® که در آن از بیوسنسورهای یکبار مصرف فیبر نوری استفاده می‌شود. این بیوسنسورها از جنس شیشه‌اند و با یکسری ماتریکس زیست سازگار اختصاصی که اتصالات غیراختصاصی را به حداقل می‌رسانند و امکان اتصال اختصاصی لیگاندها را فراهم می‌آورد، پوشیده شده‌اند بیوسنسورهای مورد استفاده در این سیستم بسیار مقرون به صرفه هستند و بعد از انجام سنجش می‌توان آن‌ها را دور انداخت ولی گاهاً در صورتی که شرایط آزمایشات مشابه باشد، می‌توان بعد از انجام پروسه جداسازی لیگاند و آنالیت از یکدیگر مجددا آن‌ها را مورد استفاده قرار داد. در مواردی می‌توان بیوسنسورها را به طور برگشت‌پذیر از طریق جدا کردن آنالیت از سطح‌شان مجدد احیا نمود. این فرآیند کمک می‌کند تا حسگرهای زیستی با لیگاندهای کوچک مجدداً قابل استفاده گردند تا بتوانند غلظت‌های دیگری از آنالیت مورد نظر را مورد سنجش قرار بدهند. استفاده مجدد از بیوسنسور نیازمند صرف زمان و هزینه و تلاش زیاد جهت احیا کردن سطح بیوسنسور است. لذا به طور کلی بهتر است که از بیوسنسورهای

جدید برای سنجش استفاده شود زیرا این کار آسان‌تر و مقرون به صرفه‌تر است [۴، ۵]. سنجش در این سیستم نیازمند نشانگذاری نمی‌باشد [۶]. همانطور که در شکل ۳ نیز نشان داده شده است در درون دستگاه Bio-Layer interferometry یک بازوی مکانیکی که بر روی آن یک ابزار شانه مانند قرار دارد، وجود دارد این بازوی مکانیکی ابتدا به سمت ظرف محتوی حسگرها حرکت کرده و پس از برداشت ۸ حسگر به سمت پلیت محتوی نمونه حرکت می‌کند.

در این تکنیک با دو نوع مولکول آنالیت و لیگاند رو به رو هستیم. جهت سنجش نمونه در این سیستم ابتدا نور سفید طول بیوسنسور را طی می‌کند تا این که در بخش انتهایی به خط مرزی میان دو سطح لایه‌ی زیست سازگار و لایه‌ی مرجع داخلی می‌رسد. نوری که به این دو سطح برخورد می‌کند بعد از بازتاب به آشکار ساز بر می‌گردد و پیک‌هایی را ایجاد می‌کند. هر گونه تغییری که درسطح لایه‌ی زیست‌سازگار ایجاد شود منجر به ایجاد تغییر پیک در آشکارساز می‌شود. این تکنیک کاربردهای گوناگونی دارد که از جمله مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به بررسی سینتیک اتصال [۷]، فعالیت اتصال [۸]، تمایل اتصال [۹]، مطالعات طراحی واکسن [۱۰]، کمی‌سازی مقدار نمونه [۱۱]، شناسایی جایگاه اپی‌توپ [۱۲]، اتصال پروتئین به DNA [۱۳]، اتصال پروتئین با لیپوزوم [۱۴]، اتصال پروتئین با کربوهیدرات [۱۵] اشاره کرد. اگر بخواهیم در آزمایشات خود از روش BLI استفاده کنیم باید مراحل زیر را به ترتیب انجام بدهیم [۵، ۶].

۳. ۱. مرحله اول: اضافه کردن بافرها و نمونه‌ها به میکروپلیت

جهت سنجش ابتدا در ردیف اول پلیت بافر اضافه می‌شود تا خط پایه در نمودار ترسیم شود. ردیف دوم محلول حاوی لیگاند اضافه می‌شود تا لیگاند به سطح انتهایی بیوسنسور متصل شود، به ردیف سوم مجدداً بافر



شکل ۳. نمایی از دستگاه Bio-Layer Interferometry به عنوان یک سیستم بدون نیاز به نشان‌گذاری

اضافه می‌شود تا مجدداً خط پایه در حضور لیگاند متصل به سطح بیوسنسور ترسیم شود. ردیف چهارم محلول حاوی آنالیت اضافه می‌شود تا مرحله اتصال که مربوط به اتصال آنالیت به لیگاند است انجام بگیرد. ردیف پنجم بافر اضافه می‌شود تا مرحله تفکیک که مربوط به جداسازی آنالیت از لیگاند است انجام شود [۵، ۱۶].

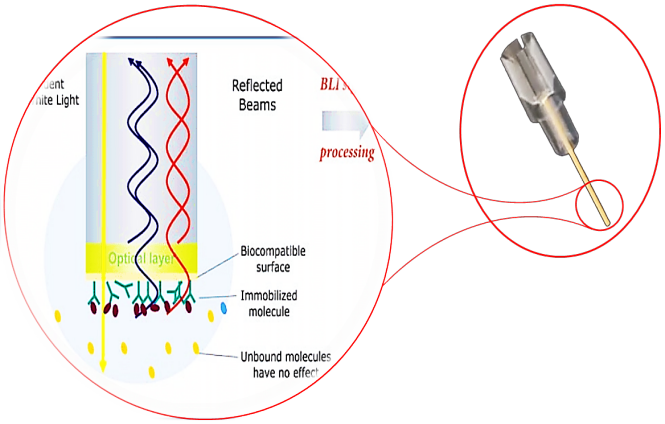
۳. ۲. مرحله دوم: قرار دادن میکروپلیت در دستگاه و آغاز سنجش توسط دستگاه

همانطور که پیش از این نیز اشاره شد تکنیک BLI مبتنی بر روش Dip and Read می‌باشد که در آن بیوسنسوری که با استفاده از روش‌های کووالان و یا capturing لیگاند به انتهای آن متصل شده به درون نمونه فرو برده می‌شود و سنجش انجام می‌گیرد (شکل ۵). به منظور افزایش ارتباط بیوسنسور با ترکیبات داخل نمونه یک سیستم همزن در دستگاه وجود دارد که با تکان دادن میکروپلیت باعث گردش دورانی محلول در چاهک‌های میکروپلیت می‌شود [۴، ۵].

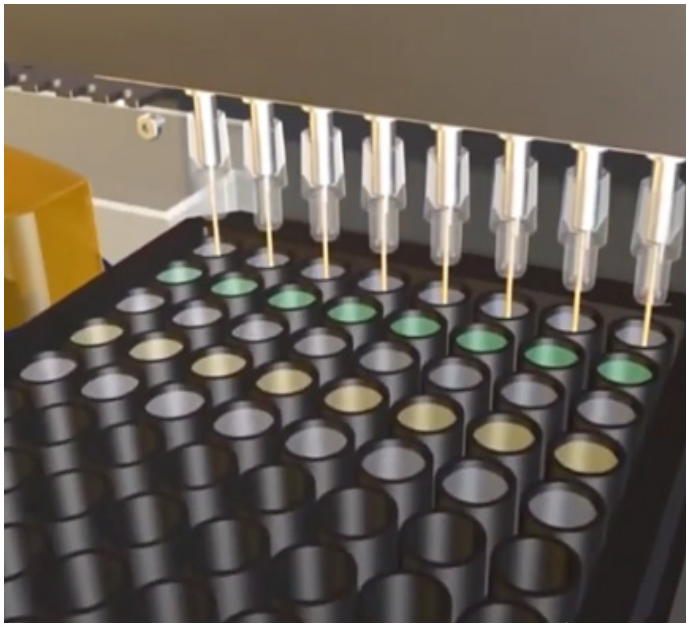
ابتدا بیوسنسور به داخل چاهک اول فرو برده می‌شود و خط پایه در نمودار ترسیم می‌شود. به دنبال این مرحله بیوسنسور به چاهک‌های بعدی وارد شده که در این طی این مراحل به ترتیب اتصال لیگاند به بیوسنسور و سپس مرحله اتصال که مربوط به اتصال آنالیت به لیگاند است، انجام می‌گیرد. در هر مرحله وقتی بیوسنسور به درون چاهک‌ها فرو برده می‌شود، سیگنالی از سطح بیوسنسور به دتکتور می‌رسد که به صورت پیک در صفحه دیده می‌شود. هر تغییری که با اتصال آنالیت و لیگاند در سطح بیوسنسور ایجاد می‌شود بر روی پیک ایجاد شده اثر می‌گذارد (شکل ۶) [۵، ۶].

۴. تغییرات حاصل از اتصال آنالیت و لیگاند به سطح بیوسنسور چگونه توسط دستگاه سنجیده می‌شود؟

زمانی که نوک حسگر وارد نمونه می‌شود، به ترتیب



شکل ٤. نمایی از نحوه‌ی برخورد و بازتاب نور در حسگر زیستی BLI



شکل ۵. نمایی از سیستم Dip and Read در تکنیک BLI

لیگاند و آنالیت به سطح آن اتصال پیدا می‌کنند. این اتصال یک لایه مولکولی ایجاد می‌کند که با افزایش تعداد مولکول‌های متصل شده، ضخامت آن نیز افزایش پیدا می‌کند. هر قدر ضخامت نوک حسگر به دلیل اتصال بیشتر لیگاند و آنالیت بیشتر شود، بازتاب حاصل از لایه زیست سازگار از لایه مرجع داخلی بیشتر فاصله می‌گیرد و آشکارساز این تغییر ضخامت را به صورت تغییر در طول موج نور بازتاب شده، تفسیر می‌کند.

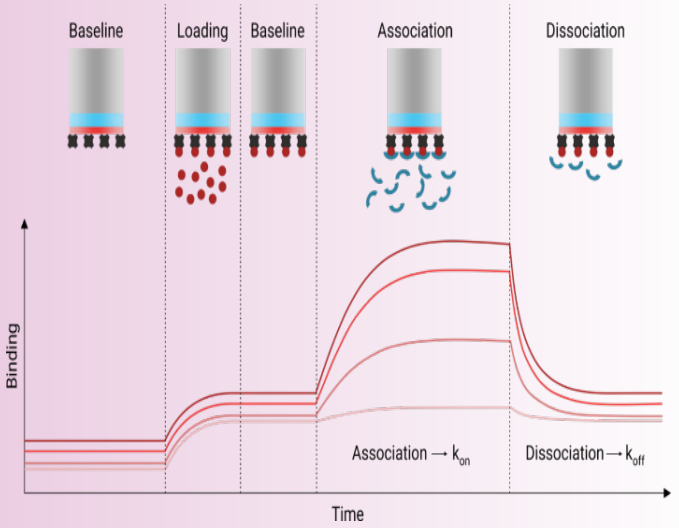
به عبارت دیگر می‌توان گفت که الگوی این طیف، تابعی از تعداد مولکول‌های متصل شده به سطح بیوسنسور می‌باشد. این تغییر توسط آشکار ساز ردیابی شده و در سنسوگرام به صورت تغییر در طول موج بر حسب نانومتر گزارش می‌شود (هر نانومتر که به ضخامت اضافه می‌شود، ۱ نانومتر طول موج به سمت نور آبی شیفت پیدا می‌کند) (شکل ۶). مولکول‌هایی که به سطح بیوسنسور متصل نشده و در درون محلول وجود دارند بر روی الگوی تداخلی طیف نهایی اثر نمی‌گذارند به همین خاطر از این سیستم می‌توان برای سنجش نمونه‌های خام هم استفاده کرد. نمونه‌های مورد سنجش در طی بررسی مصرف و تخریب نمی‌شود لذا بعد از سنجش مجدد قابل استفاده‌اند [۴، ۵].

۵. سنسوگرام

نمودار حاصل از این سیستم همانند تشدید پلاسمون سطحی، سنسوگرام نامیده می‌شود و به طور کلی دارای ۴ ناحیه اصلی Baseline، loading، Association، Dissoci-ation است (شکل ۷) [۵، ۶].

۶. بهینه سازی سنجش

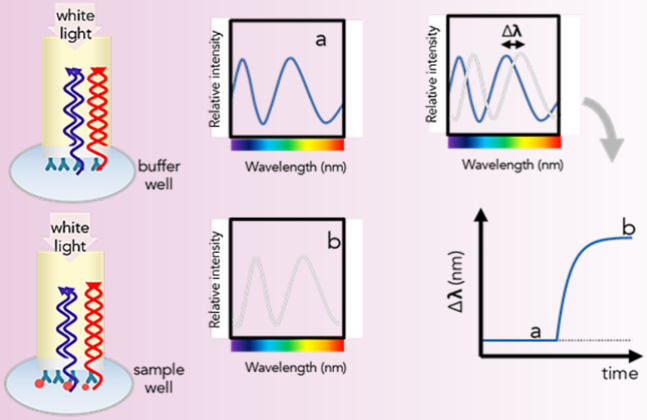
اتصالات غیر اختصاصی: مولکول‌های زیستی دارای نواحی هیدروفوب و باردار متعددی هستند که می‌توانند از



شکل ٦. هر تغییری که با اتصال آنالیت و لیگاند در سطح بیوسنسور ایجاد می‌شود بر روی پیک ایجاد شده در سنسوگرام اثر می‌گذارد.

طریق این نواحی به طور غیر اختصاصی به سطح جامد اتصال پیدا نمایند. اتصالات غیر اختصاصی به طور معمول بر روی نوک بیوسنسور، میکروپلیت و سایر محفظه‌هایی که محتوی نمونه می‌باشند، اتفاق می‌افتد. در تکنیک‌های بدون نشان، اتصال مولکول‌های زیستی به بیوسنسور منجر به بروز سیگنال می‌گردد. اتصالات غیر اختصاصی هم می‌توانند در بروز این سیگنال‌ها دخیل باشند به همین خاطر بسیار ضروری است که شرایط آزمایش را برای جلوگیری از چنین اتصالاتی بهینه نماییم [۴]. اگرچه لایه‌ی زیست سازگار سطح بیوسنسورهای مبتنی بر BLI این اتصالات غیر اختصاصی را کاهش میدهد، ولی با این وجود در هر بررسی حتما باید یک نمونه کنترل وجود داشته باشد [۴].

رفرنس دوتایی: گاهی نیاز است که علاوه بر نمونه مرجع، از بیوسنسور مرجع هم به عنوان رفرنس استفاده شود (شکل ۸) گاهاً در زمان‌هایی که به دلیل بروز اتصالات غیر اختصاصی سیگنال‌های زمینه‌ای در سنجش



شکل ۷. سنسوگرام در BLI به طور کلی دارای ۴ ناحیه اصلی Base-line، loading، Association، Dissociation می‌باشد که به ترتیب حاصل سنجش بافر، اتصال لیگاند به سطح بیوسنسور، اتصال آنالیت به لیگاند و جدا شدن آنالیت از لیگاند است.

دیده می‌شود یا در زمان‌هایی که نسبت سیگنال به نویز خیلی کم می‌باشد لازم است که از رفرنس‌های دوتایی استفاده شود [۴].

زیست حسگر مرجع: در برداندە پروتئین‌های غیر فعال ولی مشابه به لیگاند می‌باشد. بنابراین در چنین شرایطی هر اتصالی که به سطح بیوسنسور صورت بگیرد، اتصال غیر اختصاصی است. به این بیوسنسورها، بیوسنسورهای zero ligand گفته می‌شود که جهت بررسی اتصالات غیر اختصاصی آنالیت به بیوسنسور بسیار حائز اهمیت هستند [۴].

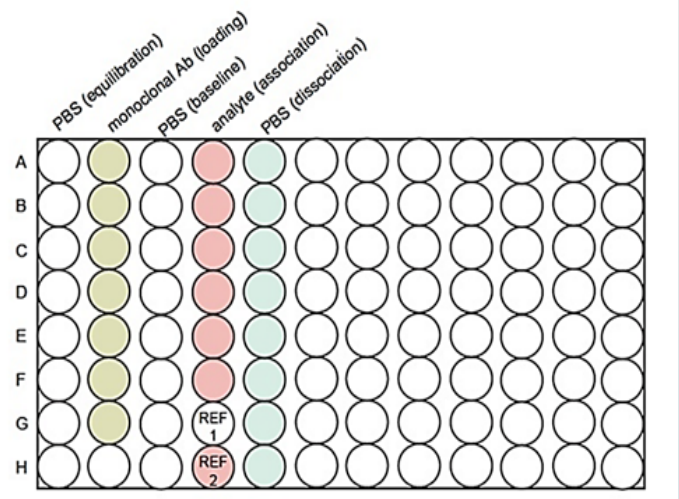
انتخاب این که در یک جفت اتصالی لیگاند – آنالیت چه مولکول‌هایی می‌توانند به عنوان لیگاند و آنالیت انتخاب شوند و در چه غلظت‌هایی باید مورد استفاده قرار بگیرند، اهمیت دارد. از جمله نکات حائز اهمیت در این پروسه می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

۱. در دسترس بودن پروتئین: باید لیگاند انتخابی به صورت خالص خصوصاً در زمانی که از روش اتصال کووالان استفاده می‌شود در دسترس باشد [۳].

۲. پایدار بودن پروتئین: لیگاند انتخابی به هنگام تثبیت بر روی سطح بیوسنسور باید پایدار باشد به طوری که خصوصیات و عملکرد آن تغییر نکند [۳].

۳. حساسیت تشخیص: سیگنال حاصل از BLI به عنوان تابعی از اندازه مولکول، ضخامت و دانسیته لایه‌ی اتصال یافته می‌باشد بنابراین بهتر است که از میان جفت‌های اتصالی مواردی را که سایز آنالیت آن‌ها بزرگتر است را انتخاب بنماییم تا حساسیت تشخیصی به دلیل تغییر زیاد میزان ضخامت به حداکثر خود برسد [۴].

۴. غلظت لیگاند: مقدار لیگاند مورد استفاده برای تثبیت بر روی سطح بیوسنسور باید در حد بهینه باشد و خیلی



شکل ۸. رفرنس دوتایی در BLI، گاهی به دلیل بروز اتصالات غیر اختصاصی و وجود سیگنال‌های زمینه‌ای در سنجش علاوه بر نمونه مرجع، از بیوسنسور مرجع هم به عنوان رفرنس استفاده می‌شود.

زیاد نباشد چرا که افزایش میزان لیگاندهای تثبیت شده بر روی بیوسنسور منجر به بروز پدیده‌ی mass transfer و اتصالات تصنعی ثانویه و کاذب شده که لذا نتایج کاذبی را در اندازه گیری پارامترهای سینتیکی به ما می‌دهد (به طور کلی به عنوان یک قانون می‌توان گفت که حداقل میزان لیگاندی که قادر به ایجاد یک سیگنال قابل قبول برای شناسایی آنالیت می‌باشد باید مورد استفاده قرار بگیرد) [۵].

۵. غلظت آنالیت: یکی دیگر از عوامل مهم در تعیین صحیح ثابت‌های اتصال و تمایل غلظت لیگاند می‌باشد در انجام سنجش‌های سینتیکی وجود حداقل ۴ سریال رقت از نمونه مورد نظر ضروری است سریال‌های رقتی باید در محدوده ده برابر بالاتر و ده برابر پایین‌تر از ثابت‌های تمایل و اتصال مورد انتظار باشند. برای انجام آزمایشاتی با هدف غربالگری و یا کمی کردن آنالیت‌ها وجود یک غلظت از نمونه هم کفایت می‌کند. به طور کلی در بررسی‌های تک غلظتی باید از غلظت‌های بالای آنالیت برای مرحله بهینه‌سازی غلظت لیگاند استفاده کرد چرا که استفاده از غلظت‌های بالای آنالیت امکان انتخاب آنالیت توسط غلظت‌های پایین لیگاند را بیشتر می‌کند [۴، ۵].

۶. دما: از جمله نکات دیگری که در سنجش باید مورد توجه قرار بگیرد انجام سنجش در شرایط دمایی ۳۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد چرا که اتصال لیگاند و آنالیت در این روش به نوسات دمایی حساس می‌باشد و از طرف دیگر ثابت بودن دما باعث کاهش میزان نسبت سیگنال به نویز می‌شود [۴].

۷. سرعت shacking: در زمان‌هایی که میزان معرفها به لحاظ غلظت کم است و یا اینکه اتصالاتشان ضعیف است افزایش سرعت shacking منجر به افزایش حساسیت سنجش می‌شود [۴].

۸. مدت زمان مراحل: بهتر است برای هر محله‌ای که کندتر از بقیه است مدت زمان بیشتری اختصاص داده شود به طور معمول این مدت زمان برای مرحله baseline ۱ دقیقه، برای loading ۱۰-۵ دقیقه، برای baseline بعد از مرحله loading ۱۰-۳ دقیقه، برای association ۱۰-۵ دقیقه، برای dissociation ۵ دقیقه تا ۱ ساعت زمان لازم است [۴، ۵].

۷. مزایا و معایب

تکنیک BLI به عنوان روشی که برای سنجش نمونه به نشان‌گذاری نیاز ندارد در کنار مزایای خود معایبی نیز دارد که در جدول ۱ مزایا و معایب تکنیک BLI به طور خلاصه معرفی شده است [۴، ۱۶].

جدول ۱. مزایا و معایب تکنیک BLI

مزایا	معایب
سنجش بدون نیاز به نشانگر	نیازمند تثبیت لیگاند بر روی نوک حسگر
عدم نیاز به کانال مرجع	عدم قابلیت کنترل دما
سنجش زمان-واقعی	حساسیت پایین (حساسیت آن در مقایسه با SPR ۱۰۰ برابر کمتر است)
قابلیت خوانش نمونه‌های Crude	–
اطلاعات زیادی در خصوص مکانیسم برهمکنش میان لیگاند و آنالیت هدف در اختیار قرار می‌دهد که شامل (k_d) (k_a) (K_D)، می‌باشد.	–
عدم نیاز به سیستم‌های فلوئیدیک و نیاز به میزان نگهداری کمتر	–
قابل استفاده برای طیف گسترده‌ای از مولکول‌ها	–

۸. BLI در مقایسه با SPR

دو تکنیک BLI و SPR به عنوان سیستم‌های سنجش بدون نیاز به نشان‌گذاری اگرچه شباهت‌های زیادی با یکدیگر دارند ولی تفاوت‌هایی نیز در بین آن‌ها دیده می‌شود که باعث متمایز شدن آن دو ار یکدیگر می‌گردد، بر حسب این تفاوت‌ها می‌توان یکی از این دو سیستم را برای سنجش‌های گوناگون تحت شرایط متفاوت مورد استفاده قرار داد. در جدول ۲ خلاصه‌ای از شباهت‌ها و تفاوت‌های میان این دو سیستم آورده شده است [۴، ۱۶، ۱۷].

جدول ۲. بررسی شباهت و تفاوت BLI و SPR

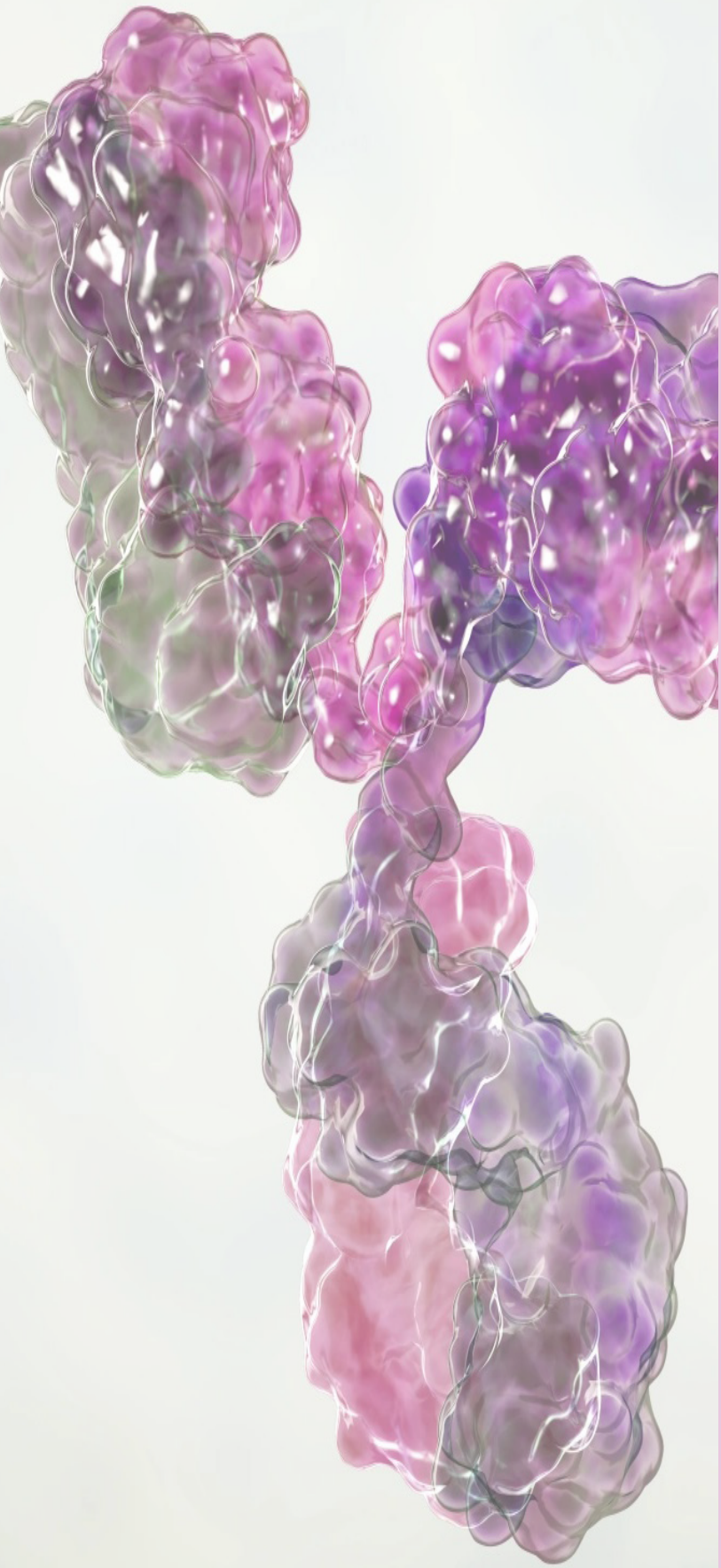
شباهت	تفاوت
عدم نیاز به نشانگر برای شناسایی	SPR دستگاه گران قیمت‌تری نسبت به BLI است
قابلیت کمی سازی تمایل، سینتیک وترمودینامیک اتصال	حساسیت و دقت بالاتر SPR نسبت به BLI (حساسیت آن در مقایسه با SPR ۱۰۰ برابر کمتر است)
سنجش زمان-واقعی	هزینه نگهداری SPR بیشتر از BLI است
قابلیت سنجش نمونه‌های Crude	BLI برخلاف SPR به سیستم‌های فلوئیدیک نیاز ندارد.
نیاز به تثبیت لیگاند بر روی سطح	

۹. نتیجه‌گیری

برهمکنش‌های پروتئین-پروتئین از جمله فاکتورهای اساسی تقریباً همه فرایندهای سلولی هستند. درک ساختار کمپلکس‌های پروتئینی و میل پیوندی برای درک عملکرد بیولوژیکی برهمکنش‌های پروتئینی بسیار حائز اهمیت است. حتی برهم کنش‌های ضعیف و گذرا پروتئین-پروتئین نیز می‌توانند برای عملکرد سلول در طول فرآیند پیام‌رسانی یا تنظیم متابولیسم اهمیت عملکردی داشته باشد [۱۸].

هم چنین برهم‌کنش پروتئین و پروتئین برای تنظیم رونویسی و سایر فرایندهای بیولوژیکی نیز بسیار مهم است. این برهم‌کنش‌ها اغلب از طریق سنجش‌های pull down مورد مطالعه قرار می‌گیرند. اگرچه شناسایی این بر همکنش‌ها از طریق سنجش‌های pull down نسبتاً آسان است، اما این روش‌ها غالباً خیلی کم قابلیت کمی‌سازی دارند و ممکن است نتوانند برهمکنش‌های بیولوژیکی ضعیف اما معنی‌دار را تشخیص دهند. در مقایسه با این روش‌ها، تکنیک BLI با فراهم آوری امکان تشخیص اتصال و تفکیک لیگاند و آنالیت در زمان واقعی امکان سنجش ثابت‌های اتصال و تفکیک و همچنین میزان تمایل کلی را فراهم می‌کند. روش BLI حساسیت بالایی دارد به عنوان مثال، بر هم کنش میان GrgA با σ28 با غلظت آنالیتی کمتر از نانومولار توسط BLI تشخیص داده می‌شود، تکنیک BLI به حضور آنتی‌بادی که ممکن است حساسیت تشخیص را به طور قابل توجهی تحت تأثیر قرار دهد متکی نیست و مهم‌تر از همه، تجزیه و تحلیل BLI می‌تواند یک بینش مکانیکی را در مورد بر همکنش بین پروتئین‌ها ارائه دهد [۱۹].

در یک جمع‌بندی کلی می‌توان اظهار داشت که تکنیک BLI یک تکنیک ساده نوری است که برای اندازه‌گیری برهمکنش بین پروتئین‌ها، پپتیدها، اسیدهای نوکلئیک، مولکول‌های کوچک و/یا لیپیدها به صورت زمان-واقعی کاربرد دارد. اتصال بین لیگاند تثبیت شده بر روی حسگر BLI و مولکول آنالیت باعث ایجاد تغییر در ضخامت نوک حسگر و متعاقباً تغییر طول موج بازتاب شده از سطح زیست حسگر می‌شود. BLI مبتنی بر استرپتو آویدین برای تجزیه و تحلیل برهمکنش DNA-پروتئین و پروتئین-پروتئین بسیار کاربردی است. هم چنین با استفاده از آن به راحتی می‌توان اتصالات را کمی کرد و ثابت‌های تعادلی (Kd) و اتصال (ka) و تفکیک (kd) را محاسبه نمود [۱۹].



منابع

[1] Abdiche YN, Malashock DS, Pinkerton A, Pons J. Exploring blocking assays using Octet, ProteOn, and Biacore biosensors. Anal Biochem. 2009 Mar 15;386(2):172-80. doi: 10.1016/j.ab.2008.11.038. Epub 2008 Dec 7. PMID: 19111520.

[2] Sun Y S. Optical biosensors for label-free detection of biomolecular interactions. Instrumentation Science & Technology, 2014, 42(2): 109-127.

[3] Kumaraswamy S, Tobias R. Label-free kinetic analysis of an antibody-antigen interaction using biolayer interferometry. Methods Mol Biol. 2015;1278:165-82. doi: 10.1007/978-1-4939-2425-7_10. PMID: 25859949.

[4] Cheryl L. Meyerkord and Haian Fu (eds.), Protein-Protein Interactions: Methods and Applications, Methods in Molecular Biology,vol. 1278, DOI 10.1007/978-1-4939-2425-7_10, © Springer Science+Business Media New York 2015

[5] Wilson JL, Scott IM, McMurry JL. Optical biosensing: Kinetics of protein A-IGG binding using biolayer interferometry. Biochem Mol Biol Educ. 2010 Nov;38(6):400-7. doi: 10.1002/bmb.20442. PMID: 21567869.

[6] Rich, Rebecca L; Myszka, David G (1 February 2007). "Higher-throughput, label-free, real-time molecular interaction analysis". Analytical Biochemistry. 361 (1):1–6.

[7] Shah, N. B., & Duncan, T. M. (2014). Bio-layer interferometry for measuring kinetics of protein-protein interactions and allosteric ligand effects. Journal of visualized experiments : JoVE, (84), e51383.

[8] Müller-Esparza, H., Osorio-Valeriano, M., Steube, N., Thanbichler, M., & Randau, L. (2020). Bio-Layer Interferometry Analysis of the Target Binding Activity of CRISPR-Cas Effector Complexes. Frontiers in molecular biosciences, 7, 98.

[9] Yang, D., Singh, A., Wu, H., & Kroe-Barrett, R. (2017). Determination of High-affinity Antibody-antigen Binding Kinetics Using Four Biosensor Platforms. Journal of visualized experiments : JoVE, (122), 55659.

[10] Petersen RL. Strategies Using Bio-Layer Interferometry Biosensor Technology for Vaccine Research and Development. Biosensors (Basel). 2017 Oct 31;7(4):49.

[11] Usta-Bony, M.A., Fernández, A., & Mathé, S. (2018). Bio-Layer Interferometry Method for Quantific.

[12] Estep, P., Reid, F., Nauman, C., Liu, Y., Sun, T., Sun, J., & Xu, Y. (2013). High throughput solution-based measurement of antibody-antigen affinity and epitope binning. mAbs, 5(2), 270–278.

[13] Ciesielski, G. L., Hytönen, V. P., & Kaguni, L. S. (2016). Biolayer Interferometry: A Novel Method to Elucidate Protein-Protein and Protein-DNA Interactions in the Mitochondrial DNA Replisome. Methods in molecular biology (Clifton, N.J.), 1351, 223–231.

[14] Wallner J, Lhota G, Jeschek D, Mader A, Vorauer-Uhl K. Application of Bio-Layer Interferometry for the analysis of protein/liposome interactions. J Pharm Biomed Anal. 2013 Jan;72:150-4.

[15] Laigre, E., Goyard, D., Tiertant, C., Dejeu, J., & Renaudet, O. (2018). The study of multivalent carbohydrate-protein interactions by bio-layer interferometry. Organic & biomolecular chemistry, 16(46), 8899–8903.

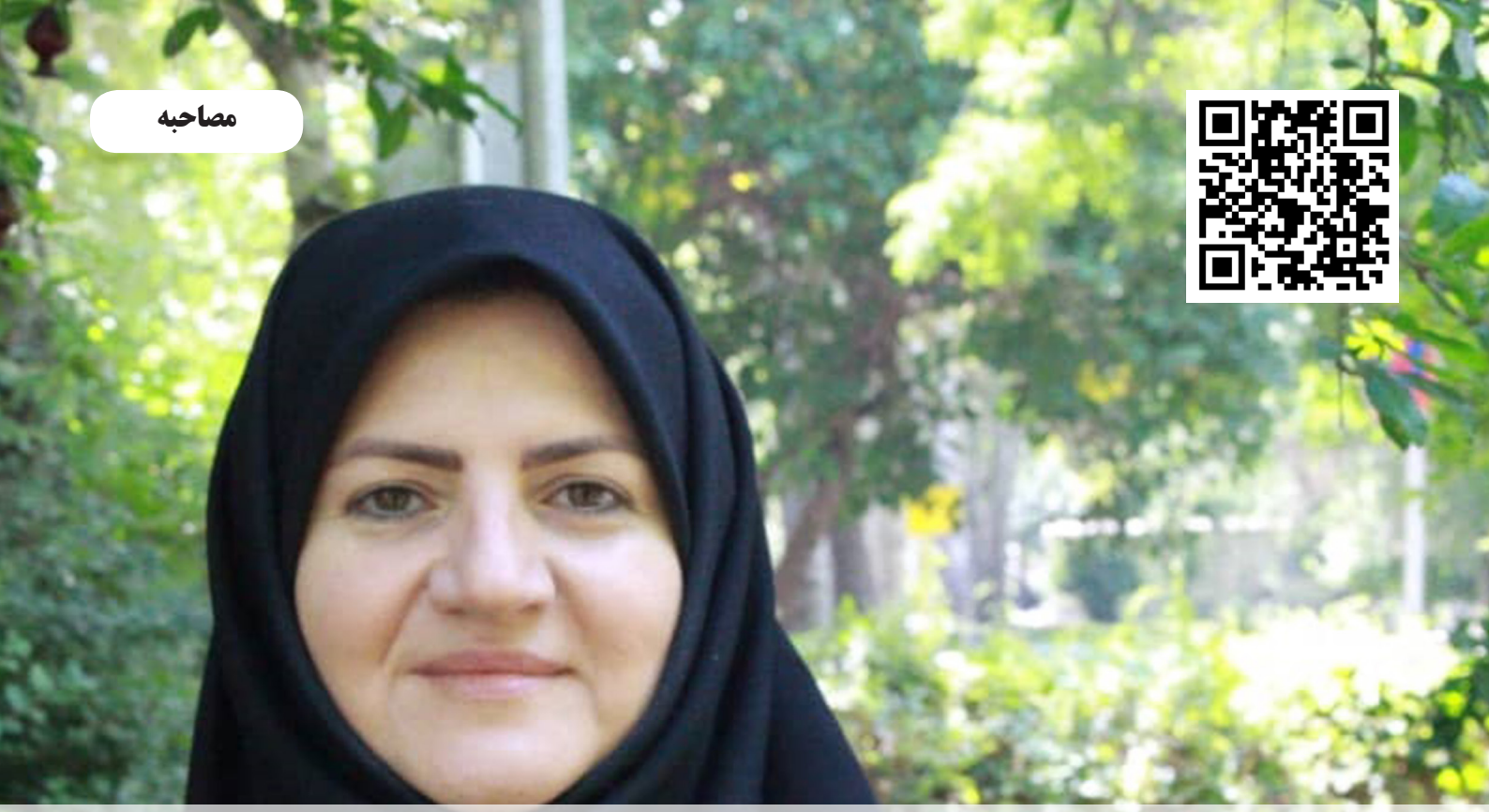
[16] Concepcion J (2009). "Label-free detection of biomolecular interactions using BioLayer interferometry for kinetic characterization". Combinatorial chemistry & high throughput screening 12(8), 791-800.

[17] Homola J., Piliarik M. (2006) Surface Plasmon Resonance (SPR) Sensors. In: Homola J. (eds) Surface Plasmon Resonance Based Sensors. Springer Series on Chemical Sensors and Biosensors, vol 4. Springer, Berlin, Heidelberg.

[18] Siebenmorgen, T, Zacharias, M. Computational prediction of protein–protein binding affinities. WIREs Comput Mol Sci. 2020; 10:e1448.

[19] Desai M, Di R, Fan H. Application of Biolayer Interferometry (BLI) for Studying Protein-Protein Interactions in Transcription. J Vis Exp. 2019 Jul 26;(149):10.3791/59687.

[20] Sultana A, Lee JE. Measuring protein-protein and protein-nucleic Acid interactions by biolayer interferometry. Curr Protoc Protein Sci. 2015 Feb 2;79:19.25.1-19.25.26.



گفت‌وگوی اختصاصی با

سرکار خانم دکتر رهبری‌زاده

ریاست مرکز تحقیقات و توسعه زیست‌فناوری دانشگاه تربیت مدرس

مصاحبه‌کننده

سحر خانجانی

کارشناسی‌ارشد زیست‌شناسی/سیستماتیک گیاهی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

خیلی خوشحالیم که در خدمت شما استاد بزرگوار هستیم، برای شروع مختصری از فعالیت‌های خودتان را بفرمایید:

من فاطمه رهبری زاده، هیئت‌علمی دانشگاه تربیت مدرس هستم. در سال ۱۳۷۱ از دانشگاه علوم پزشکی مشهد دانشکده پیراپزشکی مدرک کاردانی علوم آزمایشگاهی گرفتم. در سال ۱۳۷۵ از دانشگاه علوم پزشکی تهران به‌عنوان کارشناس علوم آزمایشگاهی فارغ‌التحصیل شدم. بین سال‌های ۱۳۷۱ تا ۱۳۷۳ یک‌بار امتحان دکترای حرفه‌ای علوم آزمایشگاهی دادم که با اختلاف یک نفر موفق به قبول شدن در آن رشته نشدم و به دلیل این‌که این رشته سال آخری بود که در مقطع دکتری دانشجو می‌پذیرفت، از ورود به آن رشته بازماندم. در سال ۱۳۷۵ کارشناسی ارشد بیوشیمی بالینی دانشگاه علوم پزشکی شیراز پذیرفته شدم و یک‌ترم رفتم، در اواسط همان ترم اول بود که نتایج دانشگاه تربیت مدرس آمد و آنجا بود که تصمیم به انصراف از دانشگاه شیراز گرفتم و رشته‌ی کارشناسی ارشد رشته بیوشیمی بالینی دانشگاه تربیت مدرس رو شروع کردم. در سال ۱۳۷۹ با پایان‌نامه تولید آنتی‌بادی مونوکلونال علیه مورفین در مقطع کارشناسی ارشد فارغ‌التحصیل شدم. در همان سال دکتری بیوشیمی بالینی دانشگاه تربیت مدرس قبول شدم. در سال ۱۳۸۴ مدرک دکتری خودم را با پایان‌نامه تولید آنتی‌بادی نوترکیب علیه تومور مارکر MUC1 دریافت کردم. از سال ۱۳۸۴ بعد از فارغ‌التحصیلی به‌عنوان عضو هیئت‌علمی گروه بیوتکنولوژی پزشکی در دانشگاه تربیت مدرس مشغول به کار شدم. به دلیل این‌که پایان‌نامه دکتری من گرایش ایمونوبیوتکنولوژی بود وقتی در گروه بیوتکنولوژی استخدام شدم در ادامه‌ی همان فعالیت‌ها، تحقیق روی CART cell رو شروع کردم و به اولین دانشجوی خودم پایان‌نامه‌ای برای تولید CART cellها را دادم. از آن زمان تا به امروز که سال ۱۴۰۰ است روی مبحث CART cell و مبحث نانومدیسین کار کردم. سال ۲۰۰۴ تا ۲۰۰۵

برای یک فرصت مطالعاتی به شورای تحقیقات ملی کانادا رفتم. از سال ۱۳۹۱ تا ۱۳۹۴ به مدت سه سال به‌صورت پاره‌وقت برای مقطع فرا دکتری رشته نانومدیسین در دانشگاه کپنهاک، دانشکده داروسازی مدرک فرا دکتری در حوزه نانومدیسین را دریافت کردم. اکثرفعالیت‌های من در همین دو حوزه CART cell تراپی و نانومدیسین بوده است که البته در قسمت نانومدیسین برای ساخت سازه‌های انتقال‌دهنده ژن به‌صورت هدفمند کارکردم که کاربرد آن برای درمان سرطان و یا در بعضی موارد برای اینکه سازه‌های ژنی را بتوانیم در پارتیکل‌ها به‌صورت بهتری به داخل سلول‌های تی سل ببریم، بوده است.

دوست داریم در مورد فعالیت‌های اجرایی که تابه‌حال انجام دادید بیشتر بدونیم اگر ممکن هست خلاصه‌ای بفرمایید:

در مورد فعالیت‌های اجرایی باید بگم که بنده در سال ۱۳۸۴ تا ۱۳۸۷ مسئول کمیته دانشجویی دانشکده پزشکی بودم و به‌عنوان سرپرست با دانشجویانی که در انجمن‌های علمیِ گوناگون در رشته‌های مختلف فعالیت می‌کردند کار می‌کردم که نهایتاً بتوانیم بین دانشجوها با وزارتخانه ارتباط و هماهنگی ایجاد کنیم. از سال ۱۳۹۶ به مدت شش ماه به‌عنوان معاون پژوهشی مرکز تحقیقات و توسعه زیست‌فناوری دانشگاه تربیت مدرس مشغول به کار بودم و تا الان ۳ سال ونیم به‌عنوان رئیس این مرکز فعالیت داشتم؛ و آخرین مورد این‌که در طول سال‌های خدمتم دو دوره مدیر گروه بیوتکنولوژی پزشکی بودم.

سؤال بعدی در ارتباط با حوزه مطالعاتی، تحقیقاتی و تألیفات شماست که لطفا به افتخارات کسب‌شده در این حوزه نیز اشاره‌ای فرمایید.

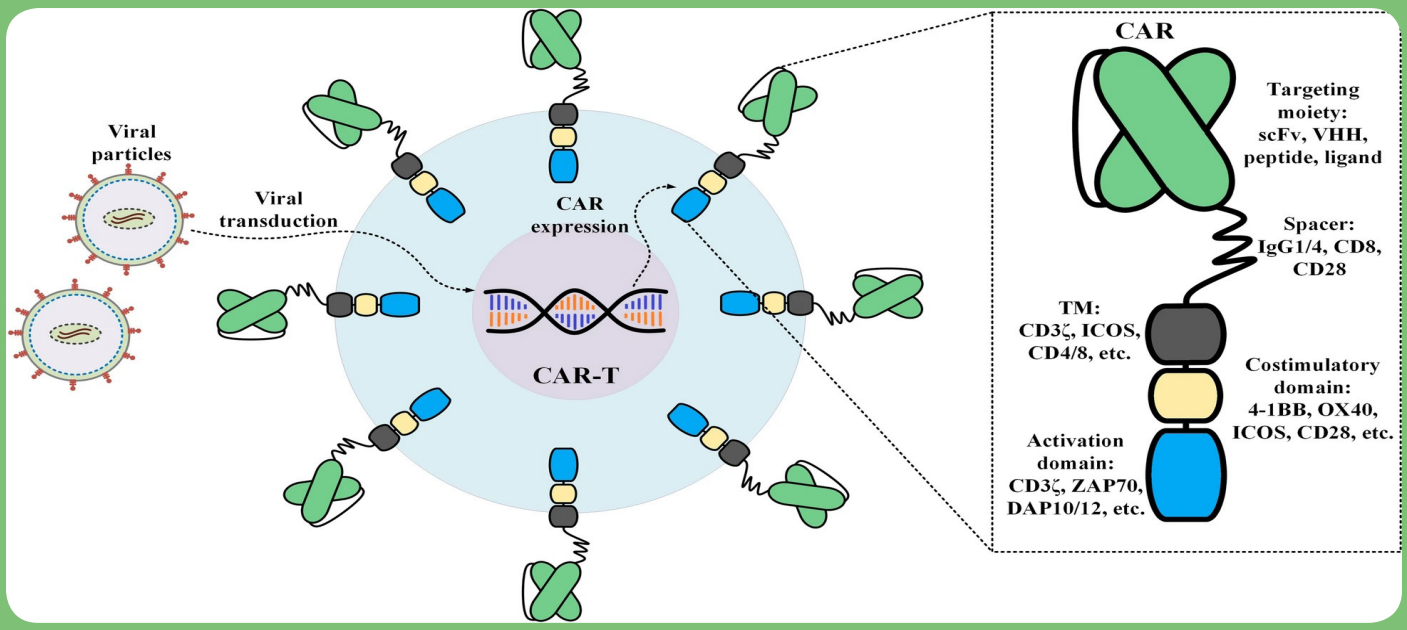
می‌توانم بگویم به‌صورت کلی حوزه‌ی مطالعاتی من حوزه CART cell هست، الان بیشتر از ۱۵ سال است که در حال فعالیت در این حوزه هستم و تألیفات بنده نیز بیشتر در حوزه آنتی‌بادی هست.

به‌عنوان رئیس مرکز تحقیقات و توسعه زیست‌فناوری دانشگاه تربیت مدرس وضعیت فعلی زیست‌فناوری کشور و پیشرفت‌های صورت گرفته در این رشته را چطور ارزیابی می‌کنید؟

وضعیت فعلی زیست‌فناوری در کشور ما خداروشکر وضعیت خیلی موفقی رو دارد، ما در صنعت بیوتکنولوژی جزو تولیدکنندگان داروهای بیولوژیک هستیم. داروهای بیولوژیکی که در ایران تولید می‌شوند خوشبختانه به چندین کشور همسایه و چند کشور اروپایی در حال صادر شدن هست، البته با اطلاعات فعلی که بنده دارم؛ و خداروشکر در حوزه بیوتکنولوژی تقریباً اغلب تحصیل‌کرده‌های ما مشغول به کار هستند و ما در این رشته تحصیل‌کرده بیکار نداریم و این هم به دلیل این هست که صنعت بیوتکنولوژی صنعت پویا و زنده‌ای است. در کل بیوتکنولوژی ازنظر اقتصادی درآمد خوبی رو برای کشور ایجاد می‌کند که امیدوارم با همین شرایط کشور بتواند موفقیت‌های بیشتری در حوزه بیوتکنولوژی داشته باشد و شرایط روزبه‌روز بهتر بشود.

به دلیل پیشرو بودن علوم زیستی در دانشگاه تربیت مدرس و تحقیقات بسیار در حوزه زیست‌فناوری، در مورد ساختار کریدور زیست کارآفرینی دانشگاه تربیت مدرس اطلاعاتی برای ما بفرمایید:

کریدور زیست کارآفرینی به همت جناب آقای دکتر البدوی و جناب آقای دکتر سمنانیان ۴ سال پیش در دانشگاه تربیت مدرس ایجاد شده است و امسال چهارمین دوره‌ای است که دانشجو می‌پذیرد. خداروشکر دانشجویانی که در این کریدور تربیت‌شده‌اند خیلی موفق بودند و همه آن‌ها در صنعت بیوتکنولوژی مشغول به کار شدند و تأثیر خیلی



خوبی را در صنعت بیوتکنولوژی کشور داشتند. در این کریدور بچه‌ها از گرایش‌های مختلف رشته بیوتکنولوژی می‌توانند وارد بشوند، یک‌ترم دوره می‌گذرانند که در این ترم حدوداً ۱۰ الی ۱۲ واحد آموزشی و یک پروژه دارند که سبب شده تا با صنعت بیوتکنولوژی به‌صورت تجاری آشنا بشوند. دانشجویان همچنین در این دوره‌ها یاد می‌گیرند چطور باید در بازار بیوتکنولوژی وارد بشوند و چگونه دانش خودشان را به‌کارگیرند. خداروشکر این دوره تا به امروز دوره بسیار موفقی بوده است.

در مورد برگزاری روز بیوتکنولوژی که هر ساله توسط شما انجام می‌شود و همچنین همکاری دانشجویان زیستی بخصوص انجمن بیوفیزیک چه نکاتی مدنظر تون هست:

بله هر ساله روز بیوتکنولوژی را در تاریخ ۲۷ آذرماه برگزار می‌کنیم و از تمام دانشجویان، دانش‌پژوهان و محققین در حوزه بیوتکنولوژی دعوت می‌کنیم که در روز ملی بیوتکنولوژی که دانشگاه تربیت مدرس متولی برگزاری آن است، با ما همکاری کنند. تمام تلاش ما این است که بتوانیم کمکی برای ارتقا صنعت بیوتکنولوژی باشیم و کمک کنیم بهتر به جامعه شناسانده شود و ارتباط بیشتری بین محققین و صنعت بیوتکنولوژی ایجاد شود.

فعالیت‌های تحقیقاتی شما هم‌اکنون در چه بخشی از گسترهٔ عظیم زیست‌فناوری تمرکز یافته و در این زمینه بهترین و شیرین‌ترین خاطره شما چه بوده است؟

فعالیت‌های تحقیقاتی من در حوزه نانومدیسین و پارتیکل تراپی است. واقعاً نمیدونم بهترین و شیرین‌ترین خاطره را کدام روز در نظر بگیرم چون من کلاً حوزه فعالیتم رو دوست دارم همه روزها برام شیرین و خاطره‌انگیز است. نمی‌توانم به شما بگم کدام‌یک از خاطراتم بهترین هست، اگر خیلی بخواهم فکر کنم شاید روزی که نتایج امتحان دکتری آمده بود و یا شاید زمانی که نتایج تست‌های CART cell که روی موش‌ها انجام داده بودیم به دست مون رسید متوجه شدیم خیلی نتایج خوبی خوشحال شدم.

و به‌عنوان آخرین سؤال توصیه شما برای افرادی که تمایل به ادامه تحصیل در این رشته دارند، چیست؟

توصیه من به افرادی که دوست دارند در این رشته ادامه تحصیل بدهند این است که با عشق و علاقه نسبت به میهن خودشان سعی کنند هر آنچه در توانشان هست انجام بدهند و خسته و دلسرد نشوند و به خدا توکل کنند ان‌شاءالله که با توان جوانانمان کشور روزهای بهتری رو می‌بینند. باهمت جوانانمان ان‌شاءالله ایران بهتری ساخته بشود و روزهای بد و این سختی‌ها و فشارهای اقتصادی که ملت در حال تحمل‌شان هستند با کوشش جوانان هرچه زودتر تمام شود و با تلاش هرچه بیشتر خودمان شاهد درخشش ایران عزیزمان باشیم. روزی برسد که کشورمان بتواند در بین کشورهای جهان سری بلند کند و جوانان ما آرزو نداشته باشند که از کشور فرار کنند و یا برای تحصیل یا زندگی به کشورهای دیگر مهاجرت کنند. این‌ها امکان ندارد مگر این‌که جوانان ما خودباوری داشته باشند و با توکل بر خدا هر آنچه دارند برای خدمت به کشورشان و ملتشان هزینه کنند و بتوانند بهترین خودشان باشند.

مقاله

کاربرد آنالیتیکال ماکرومولکول‌های زیستی با رویکرد طراحی و ساخت بیوسنسورهای الکتروشیمیایی

میلاد امیری

دانشجوی دکتری بیوشیمی، دانشگاه گیلان، رشت

چکیده

همواره در علوم پزشکی، صنایع شیمیائی، صنایع غذایی، مانیتورینگ محیط زیست و تولید محصولات دارویی و بهداشتی نیاز به روش‌هایی جهت حس کردن مولکول‌های زیستی کوچک وجود داشته است. در حال حاضر انواع بسیار زیادی از بیوسنسورها وجود دارند، که در اکثر آن‌ها یک جزء تشخیص و شناسایی بیولوژیک وجود دارد که عمل حس کردن را انجام می‌دهد و در واقع با آنالیت‌ها واکنش متقابل نشان داده و سیگنال شیمیایی تولید می‌کنند که پس از گذر از مبدل، به سیگنال الکتریکی تبدیل می‌شود. عملکرد بیوسنسورها کاملا انتخابی است، در واقع آن‌ها به یک مولکول یا آنالیت خاص پاسخ می‌دهند و از واکنش با سایر مواد پرهیز می‌شود. شناسائی مولکول‌های کوچک توسط بیومولکول‌ها شیوه جذابی برای ساخت سنسورهای خاص را پیش رو قرار می‌دهد. دو مولفه اساسی در این راستا وجود دارد. شناساگر و روش‌هایی برای فراخوانی زمانی که شناساگر هدف خودش را پیدا می‌کند. امروزه از آنزیم‌ها به صورت گسترده در ساخت بیوسنسورها استفاده می‌شود. اندازه‌گیری و تعیین غلظت بیومارکرها می‌توانند به عنوان معیاری برای تشخیص بیماری و در نتیجه درمان به موقع آن در نظر گرفته شود. در سال‌های اخیر، تحقیقات در زمینه ساخت بیوسنسورها به عنوان حسگرهای زیستی به سرعت رشد کرده است، این امر ناشی از تقاضای مشتری محور برای ساخت بیوسنسورهای کارآمدتر، به ویژه برای کاربردهای تشخیصی و بالینی است. از بین انواع بیوسنسورها، بیوسنسورهای الکتروشیمیایی بر پایه نانوذرات بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. ویژگی‌های عملکرد این بیوسنسورها انتخابی بودن و حساسیت بالا است.

کلمات کلیدی: بیوسنسور، بیومولکول، بیومارکر، آنزیم، بیوسنسورهای الکتروشیمیایی

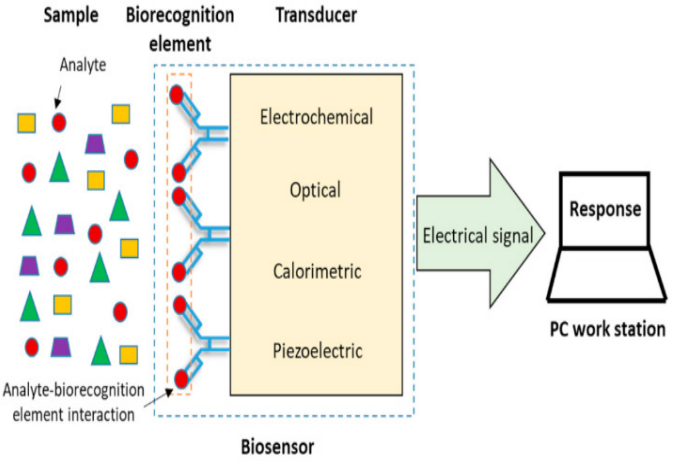
۱. مقدمه

طبق نام گذاری اتحادیه بین المللی شیمی محض و کاربردی، زیست حسگر (بیوسنسور) در دهه ۱۹۶۰ توسط پیشگامان کلارک و لیونز ابداع شد. بیوسنسور یک ابزار تجزیه‌ای کوچک است که قادر است علامت تولید شده توسط واکنش‌های بیوشیمیایی منحصر به فرد که توسط آنزیم‌ها، سیستم ایمنی بدن، بافت‌ها، اندامک‌ها یا سلول‌های کامل برای شناسایی آنالیت رخ می‌دهد را توسط مبدل به علامت قابل پردازش و اندازه گیری (علامت‌های الکتریکی، حرارتی و یا نوری) تبدیل کند [۱]. زیست حسگرها در زمینه‌های بسیاری از جمله صنایع غذایی، حوزه پزشکی، و غیره استفاده شده‌اند و نسبت به روش‌های سنتی ثبات و حساسیت بالاتری را ارائه کرده‌اند. انواع مختلف زیست حسگرهای مورد استفاده عبارتند از زیست حسگرهای مبتنی بر آنزیم، مبتنی بر بافت، ایمونوسنسورها، زیست حسگرهای دئوکسی ریبونوکلئیک اسید، بیوسنسورهای حرارتی و پیزوالکتریک. در صنایع مختلف دیگر نیز از جمله پزشکی، صنایع شیمیایی، صنایع غذایی، مانیتورینگ محیطزیست، تولید محصولات دارویی، بهداشتی و دریایی به منظور شناسایی و اندازه‌گیری انواع زیست مولکول‌ها، ویروس‌ها، ترکیبات شیمیایی مضر و باکتری‌ها از زیست حسگرها بهره می‌برند.

از آن‌جایی‌که، تکنیک‌های سنتی از جمله آزمایش‌های شیمیایی و طیف سنجی دارای مشکلاتی از قبیل زمان‌بر بودن فرآیند و پرهزینه است، بنابراین توسعه زیست حسگرها با هدف ابداع تکنیک‌های ساده و سریع، اختصاصیت بالا و ارزان، مطلوب ضروری به نظر می‌رسد[۲]. توسعه‌ی زیست حسگرها در سال‌های اخیر رشد بسیار چشمگیری را تجربه کرده است که ناشی از نیاز به دستگاه‌های با قابلیت انجام سریع آنالیز، حساسیت بالا، اختصاصیت قابل پذیرش، سیستم‌های قابل حمل و استفاده آسان برای تشخیص نشانگرهای زیستی برای تشخیص بالینی و یا نظارت بر آلاینده‌های آلی در محیط‌های طبیعی یا صنعتی می‌باشد. در سال‌های اخیر پیشرفت‌هایی در زمینه تقویت سیگنال نیز با استفاده از واکنش‌های آنزیمی، طیف گسترده‌ای از نانومواد مثل نانولوله‌های کربنی، مشتقات گرافن و نانوذرات فلزی (طلا، نقره، اکسیدهای مختلف یا مجتمع‌های فلزی) صورت گرفته است. به طور کلی هر زیست حسگر از سه بخش گیرنده زیستی، مبدل سیگنال و پردازشگر داده‌ها تشکیل شده است.

۲. طبقه‌بندی بیوسنسورها بر اساس مبدل

مبدل ابزاری تجزیه‌ای است که مقدار خروجی را طبق رابطه‌ی تعریف شده در تناسب با مقدار ورودی فراهم



شکل ۱. طرح کلی یک بیوسنسور.

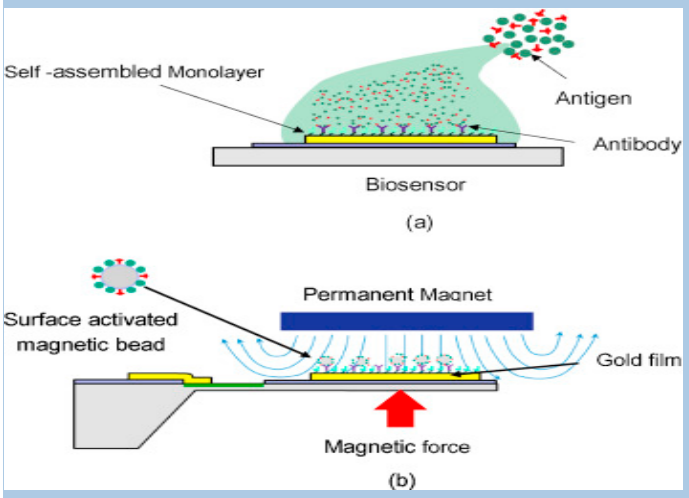
می‌کند. زیست حسگرها را می‌توان با توجه به انواع روش‌های انتقال علامت توسط آن‌ها در نظر گرفت اکثر راه‌های مختلف انتقال علامت را می‌توان در یکی از پنج گروه اصلی طبقه بندی کرد: الکتروشیمیایی، الکتریکی، نوری، پیزوالکتریک (روش‌های تشخیص جرم) و سنجش حرارتی [۳].

جدول ۱. انواع مبدل‌های مربوط به یک بیوسنسور

Optical	Electrochemical	Mass-based
SPR	Apterometric	Piezoelectric
Interferometers	Potentiometric	Acoustic wave
Resonators	Conductometric	
Gratings	Impedance	
Refractometers		

۳. طبقه بندی بیوسنسورها بر اساس مبدل

پیزوحسگرهای زیستی مبتنی بر اتصال عنصر زیستی با یک جزء دارای خاصیت پیزوالکتریک هستند، که معمولاً یک کریستال کوارتز که بر روی الکترود طلا پوشیده شده است. بسیاری از مواد (کوارتز، تورمالین، لیتیوم نیوبات یا تانتالات، روی اکسید روی یا نیترید آلومینیوم) اثر پیزوالکتریک را به نمایش می‌گذارند. با این حال، خواص ذاتی پیزوالکتریک کوارتز دلیل اصلی استفاده مشترک آن برای کاربردهای تجزیه‌ای است [۴]. مبدل‌های پیزوالکتریک امکان تشخیص مولکول های بدون نیاز به نشان را فراهم می‌کنند [۵]. این بلورها با استفاده از سیگنال الکتریکی با فرکانس خاص می‌توانند در فرکانس خاص ارتعاش داشته باشند. بر این اساس، فرکانس نوسانات بستگی به فرکانس الکتریکی اعمال شده بر بلور و همچنین جرم بلور دارد. با افزایش جرم به دلیل اتصال مولکول‌ها، فرکانس نوسان کریستال تغییر می‌یابد و می‌توان تغییرات حاصل از آن را به صورت الکتریکی اندازه گیری نمود [۶]. پیزوحسگرهای زیستی الکتریکی کاربردهای گسترده‌ای در



شکل۲. طرح شماتیک از ایمونوسنسورهای بر پایه مبدل پیزوالکتریک.

صنایع مواد غذایی، محیطی و آنالیز بالینی دارند [۷]. نوع دیگر زیست حسگر حساس به جرم، میکروکانتیلور است. این حسگر (فیزیکی، شیمیایی یا بیولوژیکی) تغییرات در خمش یا فرکانس ارتعاش را تشخیص می‌دهد. اصل این تشخیص بر مبنای انتقال جذب مولکولی و برهم کنش‌های مولکولی خاص بر روی یک سطح کنسول به تغییر پاسخ مکانیکی یک کانتیلور است. ویسکوزیته، چگالی و سرعت جریان را می‌توان با اندازه‌گیری تغییرات در فرکانس ارتعاش اندازه‌گیری کرد [۸].

۳. ۱. مبدل حرارتی

زیست حسگرهای گرمایی که به حسگرهای سنجش کالری مشهورند با تثبیت مولکول‌های زیستی بر روی حسگرهای دما ساخته می‌شوند. هنگامی که آنالیت با زیست توده در تماس باشد، گرمای واکنش متناسب با غلظت آنالیت اندازه گیری می‌شود. کل حرارت تولید شده یا جذب شده متناسب با آنتالپی مولی و تعداد کل مولکول‌های موجود در واکنش است. اندازه‌گیری دما از طریق ترمیستور انجام می‌شود و چنین دستگاه‌هایی به عنوان ترمیستور آنزیم خوانده می‌شوند. یکی از مزایای حسگرهای حرارتی این است که نیازی به اندازه‌گیری مجدد مکرر ندارند و نسبت به خصوصیات نوری و الکتروشیمیایی نمونه بی حساس هستند [۹]. حسگرهای سنجش کالری کاربردهای گسترده‌ای در صنایع مواد غذایی، آرایشی و بهداشتی، دارویی و تجزیه دارند [۱۱،۱۰].

۴. طبقه بندی بیوسنسور براساس گیرنده زیستی

در زیست حسگرها می توان از آنزیم، آنتی‌بادی، اسید نوکلئیک، لکتین، هورمون، ساختار سلولی و یا بافت به عنوان مؤلفه‌های زیستی استفاده کرد. نقش عناصر زیستی، تعامل ویژه با آنالیت هدف است و در نتیجه واکنش بیوشیمیایی از طریق مبدل به سیگنال الکتریکی قابل اندازه گیری تبدیل می‌شود. بخش بسیار مهمی از ساخت بیوسنسور تثبیت گیرنده زیستی است که به آن اشاره می‌شود. عملکرد حسگرهای زیستی با مولکول‌های تثبیت شده نیز به عواملی مانند شرایط شیمیایی و فیزیکی (pH، دما و آلاینده‌ها)، ضخامت و پایداری مواد بستگی دارد.

۴. ۱. آنزیم‌ها

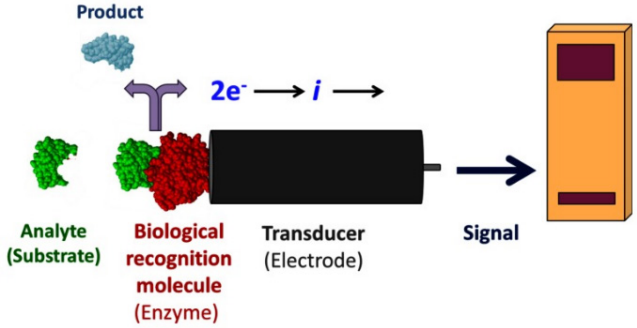
آنزیم‌ها یک نوع از کاتالیست زیستی معمولا با پایه‌ی پروتئینی هستند که سرعت واکنش شیمیایی را در موجود زنده تنظیم می‌کنند. اولین حسگر مبتنی بر آنزیم در سال ۱۹۶۷ توسط آپدیک و هیکس گزارش شد. زیست حسگرهای آنزیمی بر انواع روش‌های مختلف تثبیت، از جمله جذب آنزیم‌ها توسط نیروهای واندروالسی، پیوند یونی یا پیوند کووالانسی طراحی شده اند. آنزیم‌های متداول برای این منظور عبارتند از: اکسیدوروکتازها، پلی فنل اکسیدازها، پراکسیدازها و آمینوکسیداز[۱۲،۱۳].

۴. ۲. آنتی بادی

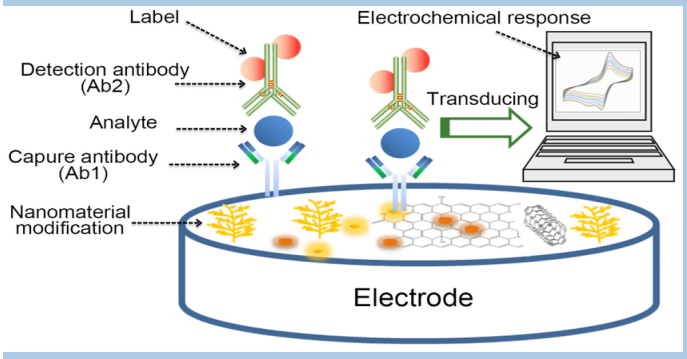
آنتی بادی، یک زیست مولکول پیچیده است که از صدها آمینواسید منفرد تشکیل شده است که به ترتیب بسیار مرتب ساخته شده‌اند. به گروهی از زیست‌حسگرها که لایه شناساگر زیستی آن‌ها آنتی بادی باشد، ایمونوسنسور گفته می‌شود. ایمونوسنسورها براساس برهمکنش‌های قوی و منحصر به فرد میان آنتی بادی و آنتی ژن شکل گرفته‌اند [۱۴].

۴. ۳. دئوکسی ریبونوکلئیک اسید (DNA)

زیست حسگرهای DNA بر اساس برهم‌کنش قوی بین دو رشته نوکلئیک اسید ساخته شده‌اند. برهمکنش دو رشته، به دلیل ایجاد پیوندهای هیدروژنی پایدار و قوی بین دو رشته اسید نوکلئیک است [۱۵].



شکل۳. طرح کلی از زیست حسگر آنزیمی که بر پایه واکنش‌های اکسیداسیون احیا بنا نهاده شده است.



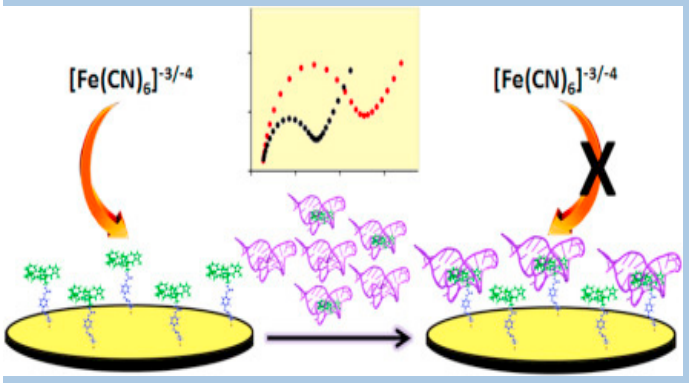
شکل ٤. انواع ایمونوسنسورهای نشان‌دار و بدون نشان.

۵. مبدل‌های الکتروشیمیایی

اصل اساسی برای این دسته از مبدل‌ها، این است که واکنش‌های شیمیایی که میان لایه شناساگر زیستی تثبیت شده و آنالیت مورد نظر، مصرف و یا تولید، یون‌ها و الکترون‌ها صورت می‌گیرد، بر خواص الکتریکی قابل اندازه گیری محلول، از جمله جریان الکتریکی و پتانسیل الکتریکی تأثیر می‌گذارد. زیست حسگرهای الکتروشیمیایی را می‌توان بر اساس تغییر جریان، پتانسیل و یا مقاومت در طی یک واکنش الکتروشیمیایی (اکسیداسیون یا کاهش) بین آنالیت مورد نظر و لایه شناساگر زیستی تثبیت شده بر روی سطح الکترود، به حسگرهای آمپرومتری و پتانسیومتری دسته بندی کرد [۱۶] که در ادامه به شرح مختصر هر یک می‌پردازیم.

۶. حسگر آمپرومتریک

گسترده‌ترین گروه از زیست حسگرها هستند. اکنون اکثر واکنش‌های بیوشیمیایی‌ها که توسط لایه شناساگر زیستی تثبیت شده بر روی سطح الکترود از جمله آنزیم‌ها و آنتی بادی‌ها صورت می‌گیرد، با تغییر جریان به صورت مستقیم و غیر مستقیم همراه هستند [۱۷]. حسگرهای آمپرومتری نسبت به پتانسیومتری بسیار حساس‌تر بوده و برای تولید انبوه گزینه‌ی مناسب‌تری به نظر می‌رسند [۱۸].



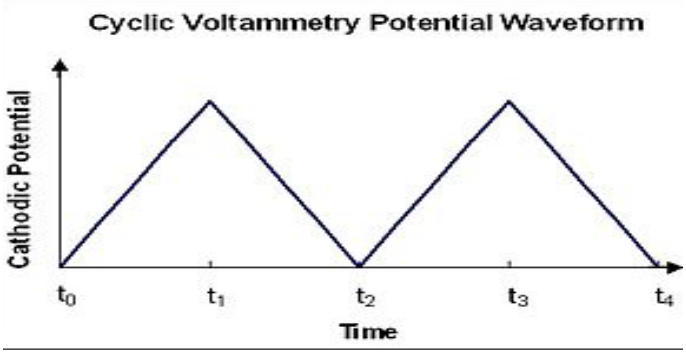
شکل ۵. طرح کلی از بیوسنسورهایی که بر پایه DNA و آپتامر بنا نهاده شده‌اند. رصد آنالیت به روش طیف سنجی امپدانس الکتروشیمیایی می‌باشد.

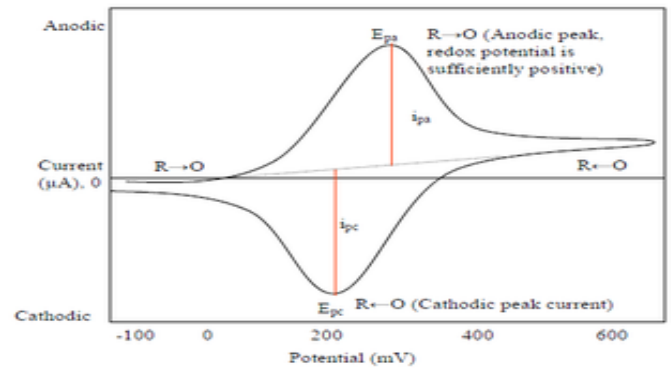
۷. حسگر پتانسیومتری

در این مبدل اختلاف پتانسیلی که در دو سوی یک غشای انتخاب‌پذیر یونی که دو محلول متفاوت را جدا می‌کند، ایجاد و در جریان صفر اندازه‌گیری می‌شود. تقریباً همه حسگرهای پتانسیومتری، از جمله الکترودهای شیشه‌ای، حسگرهای مبتنی بر اکسید فلزی و همچنین الکترودهای یون گزین، از نظر تجاری در دسترس هستند. علاوه بر این، می‌توان به راحتی آن‌ها را با استفاده از فناوری پیشرفته سیلیکون و یا فیلم‌های ضخیم، در قالب‌های مینیاتوری نیز تهیه کرد [۱۹].

۸. ولتامتری چرخه‌ای

در میان روش‌های موجود برای مطالعه‌ی فرآیندهای الکترودی، روش‌های روبش پتانسیل بیشترین و گسترده‌ترین کاربرد را دارند. ولتامتری چرخه‌ای یکی از روش‌های قدرتمند برای اندازه‌گیری کمی می‌باشد و اساس آن مبتنی بر اندازه‌گیری شدت جریان حاصل از یک واکنش الکتروشیمیایی در سطح الکترود به موازات تغییر تدریجی پتانسیل اعمال شده به الکترود کار می‌باشد. روبش پتانسیل در یک گستره مشخص به صورت رفت و برگشت انجام شده و جریان مربوط به هر پتانسیل ثبت می‌شود. این روش قادر است مقادیر خیلی کم در حد قسمت در میلیون (ppm) و حتی قسمت در بیلیون (ppb) را اندازه‌گیری کند. از این روش علاوه بر کار کمی در کارهای کیفی





شکل٦. الف) نمونه‌ای از ولتاموگرام چرخه‌ای برای یک فرآیند ردوکس برگشت‌پذیر. ب) علامت تحریک پتانسیل-زمان در آزمایش ولتامتری چرخه‌ای.

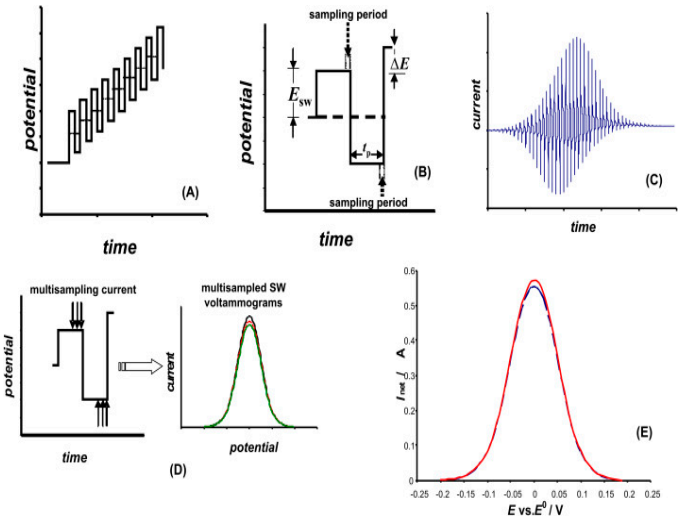
نیـز اسـتفاده می‌گـردد. ولتامتـری دامنـه کاربـرد وسـیعی دارد و بـا ایـن روش می‌تـوان برگشـت پذیـری و برگشـت ناپذیـری سیسـتم الکتروشـیمیایی، مکانیسـم واکنش‌هـا، تعـداد الکتـرون مبادلـه شـده را تعییـن کـرد [۲۰,۲۱].

۹. ولتامتری موج مربعی

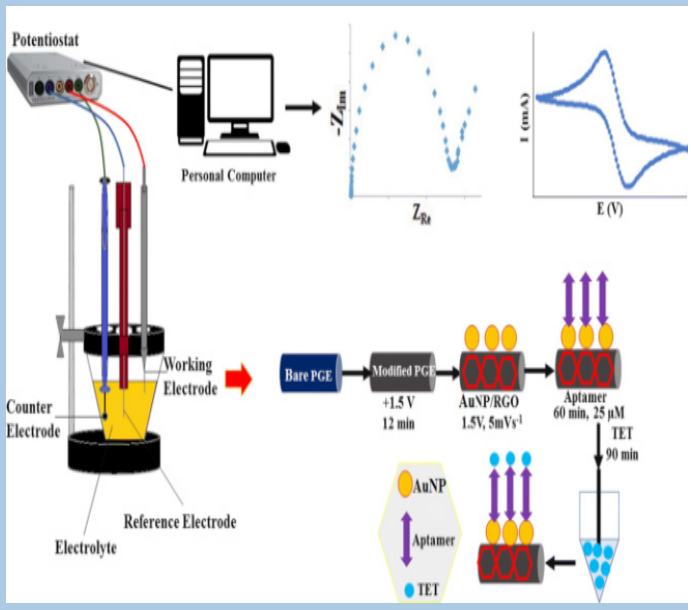
در ولتامتـری مـوج مربعـی، پالس‌هایـی بـا دامنـه بـزرگ و ثابت، سـوار شـده بـر روی یـک پتانسـیل روبشـی فزاینـده کـه فقـط در زمان‌هـای خاصـی پتانسـیل چنـد میلی‌ولـت مثبـت و چنـد میلی‌ولـت منفـی خواهـد شـد، بـه الکتـرود اعمـال می‌شـود. جریان‌هـا در انتهـای پالـس رفـت و انتهـای پالـس برگشـت اندازه‌گیـری شـده و اختـلاف جریان‌هـای حاصـل (جمـع جبـری جریـان رفـت و برگشـت) برحسـب پتانسـیل روبشـی فزاینـده رسـم می‌گـردد. در ایـن روش بـرای یـک چرخـه جریـان آنـدی و کاتـدی برابـر اسـت. ایـن تکنیـک حساسـیت و سـرعت بالایـی دارد و بـه علـت سـرعت زیـاد می‌تـوان در یـک آزمایـش آن را چنـد بـار تکـرار و در نهایـت از داده‌هـا میانگیـن بگیریـم تـا دقت تجزیـه‌ای را افزایـش دهیـم [۲۲].

۱۰. اسپکتروسکوپی ایمپدانس الکتروشیمیایی

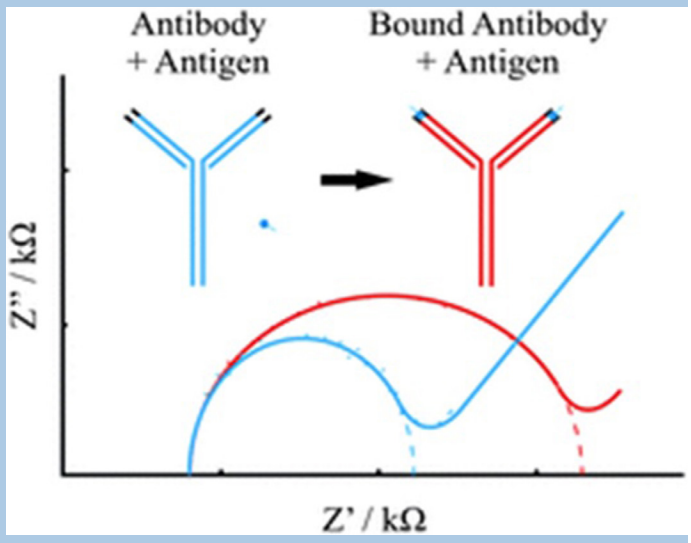
تئـوری ایمپدانـس الکتروشـیمیایی شـاخه‌ای توسـعه یافتـه از تئـوری جریـان متنـاوب اسـت کـه بـه تشـریح پاسـخگویی یـک مـدار بـه جریـان یـا ولتـاژ متنـاوب بـه صـورت تابعـی از فرکانس می‌پـردازد. ایـن روش تکنیکـی موثـر بـرای مطالعـه سـرعت انتقـال الکتـرون و انتشـار در واکنش‌هـای الکتروشـیمیایی اسـت. بـا اسـتفاده از قانـون اهـم می‌تـوان یـک پتانسـیل مسـتقیم (E) را بـه مـداری اعمـال نمـوده و جریـان حاصـل (I) را اندازه‌گیـری کـرد. مقاومـت تنهـا جزئـی اسـت کـه مانـع از عبـور الکتـرون در یـک مـدار جریـان مسـتقیم می‌شـود [۲۳].



شـکل ۷. (A),(B)روبـش پتانسـیل در ولتامتـری مـوج مربعـی (C),(D),(E)ولتاموگـرام ولتامتـری مـوج مربعـی.



شـکل۸. نمونـه‌ای از یـک سیسـتم و فرآینـد کلـی بیوسنسـور الکتروشـیمیایی.



شـکل۹. طیـف ایمپدانـس الکتروشـیمیایی کـه بـر پایـه هدایـت سـنجی و مقاومـت سـطح الکتـرود اتصـال و عـدم اتصـال آنتی‌بـادی و آنتـی‌ژن را بـه مـا نشـان می‌دهـد.

۱۱. بیوسنسورهای الکتروشیمیایی بدون نشان

در سـال‌های اخیـر بیوسنسـورهای بـدون نیـاز بـه نشـان، بـه دلیـل سـاده بـودن، عـدم نیـاز بـه آنتـی بادی‌هـای ثانویـه بـرای ایجـاد پاسـخ تجزیـه‌ای و کوتـاه بـودن فرآینـد نسـبت بـه اغلـب بیوسنسـورهای نشـاندار، بسـیار مـورد توجـه قـرار گرفتنـد. همانطـور کـه گفتـه شـد، تشـکیل آنزیـم سوبسـترا یـا آنتی‌بـادی آنتـی‌ژن بـه طـور مسـتقیم بـا اندازه‌گیـری تغییـرات فیزیکـی ناشـی از کمپلکـس ماننـد تغییـرات جـرم در سـطح الکتـرود، ارتبـاط دارد مثـل پیزوحسـگرهای زیسـتی و یـا رفتـار الکتروشـیمیایی یـک زوج ردوکـس الکتروفعـال بـه عنـوان معیـاری از غلظـت آنتـی‌ژن یـا آنالیـت و سوبسـترا در نظـر گرفتـه می‌شـود (بیوسنسـورهای الکتروشـیمیایی). در سـاخت بیوسنسـورهای الکتروشـیمیایی بـدون نیـاز بـه نشـان، رعایـت ۴

نکته الزامی است:

۱-انتخاب گونه الکتروفعال مناسب که تغییر سیگنال الکتروشیمیایی متناسب با غلظت آنتی ژن یا آنالیت یا سوبسترا باشد.

۲-انتخاب الکترود مناسب.

۳-انتخاب روش تثبیت جز زیستی بر روی سطح الکترود مناسب.

۴-انتخاب روش‌های الکتروشیمیایی مناسب برای اندازه گیری غلظت آنالیت مورد سنجش.

۱۲. انواع الکترودهای مورد استفاده در بیوسنسور بدون نشان

انتخاب الکترود کار یکی از مهم‌ترین مراحل ساخت بیوسنسورها می‌باشد. عواملی نظیر قیمت، امکان اجرا روش‌های مختلف برای تثبیت لایه شناساگر زیستی، پایداری و دوام طولانی تعیین کننده نوع الکترود در آزمایشات زیست حسگر می‌باشد.

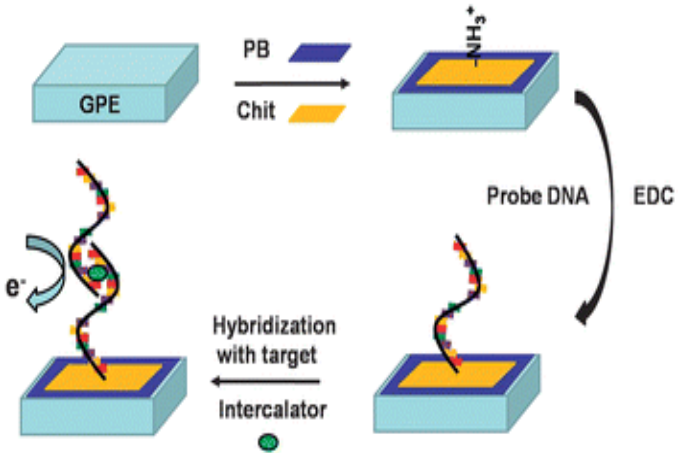
۱- تثبیت الکتروشیمیایی به صورت قطره‌گذاری مثل آبی پوروس

۲- روش‌های استفاده از ترکیبات الکتروفعال در بیوسنسورهای الکتروشیمیایی بدون نیاز به نشان

به طور کلی دو روش برای استفاده از ترکیبات الکتروفعال در بیوسنسورهای الکتروشیمیایی وجود دارد.

۱۳. تثبیت الکتروشیمیایی به صورت قطره گذاری یک ترکیب الکتروفعال مثل آبی پروس بر روی سطح الکترود

تشکیل کمپلکس جز زیستی و آنالیت مورد نظر بر روی سطح الکترود باعث ایجاد ممانعت فضایی و مقاومت در برابر انتقال جرم الکترولیت به سطح الکترود شده و در نتیجه منجر به ایجاد تغییر در پاسخ الکتروشیمیایی گونه‌ی الکتروفعال تثبیت شده در سطح الکترود می‌گردد. آبی پروس با داشتن خواص منحصر به فردی همچون عدم سمیت، فعالیت الکتروکاتالیستی بالا و اضافه ولتاژ کم کاربرد گسترده‌ای در طراحی این دسته از بیوسنسورهای بدون نشان دارد [۲۴]. به دلیل پایداری الکتروشیمیایی کم و نشتی از سطح الکترود، کاربرد آبی پروس را محدود کرده است.



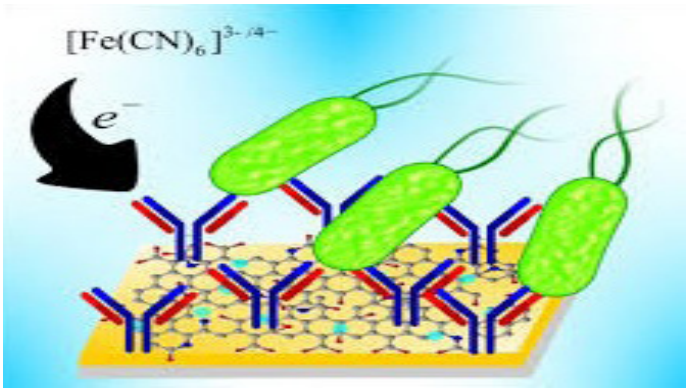
شکل ۱۰. تثبیت الکتروشیمیایی به صورت آبی پوروس برای شناسایی ترکیب اینترکالتور در نوکلئیک اسیدها

۱۴. استفاده از ترکیب الکتروفعال به صورت محلول مثل محلول فرو/فری سیانید در الکترولیت KCl

متداول‌ترین روش در طراحی بیوسنسور بدون نشان می‌باشد، گونه‌ی الکتروفعال به صورت محلول و موجود در الکترولیت می‌باشد. برهمکنش میان جز زیستی و آنالیت به صورت تثبیت شده در سطح الکترود، موجب ایجاد سدی در برابر انتقال جرم و در نتیجه انتقال الکترون پروب الکتروفعال موجود در محلول شده و منجر به ایجاد تغییر در پاسخ الکتروشیمیایی آن می‌گردد. در بیوسنسورهای الکتروشیمیایی متداول‌ترین ترکیب الکتروفعال، ترکیب فرو/فری سیانید می‌باشد که به دلیل سمی نبودن، ارزان بودن، پایداری، رفتار برگشت پذیر و استاندارد و در دسترس بودن به طور گسترده به عنوان زوج ردوکس الکتروفعال استفاده می‌شود.

۱۵. الکترود کار

الکترود کار مهم‌ترین بخش در یک سیستم الکتروشیمیایی است و در مرز میان الکترود کار و محلول الکترولیت بیشترین



شکل ۱۱. نمایی از ایمونوسنسور که آنتی بادی بر روی آن تثبیت شده برای ردیابی آنتی ژن باکتریایی با استفاده از ترکیبات الکتروفعال

واکنش‌های الکتروشیمیایی اتفاق می‌افتد. بنابراین انتخاب درست الکترود کار، برای موفق‌آمیز بودن آزمایشات الکتروشیمی بسیار ضروری است. به همین منظور چندین نکته مهم باید در نظر گرفته شوند [۲۵].

۱-جنس الکترود باید رفتار مطلوب متناسب با گونه الکتروفعال از خود نشان دهد (انتقالات الکترون سریع و برگشت پذیر و بدون رسوب در الکترود).

۲-پنجره پتانسیل در محلول الکترولیت مورد نظر باید تا حد ممکن گسترده باشد تا بیشترین توصیف برای رفتار رفتار آنالیت داشته باشد.

۳-توانایی الکترود برای اصلاح سطح و قابل تجدید شدن برای آزمایشات بعدی.

۴-قیمت و سمیت الکترود تعیین کننده نوع الکترودها می‌باشد.

شکل ۱۲. انواع الکترودهای لوله‌ای با سطوح مختلف

منابع

[1] Huang, Y., Xu, J., Liu, J., Wang, X., & Chen, B. (2017). Disease-related detection with electrochemical biosensors: a review. Sensors, 17(10), 2375.
[2] Mehrotra, P., Biosensors and their applications - A review. Journal of oral biology and craniofacial research, 2016. 6(2): p. 153-159.
[3] McNaught, A.D. and A.D. McNaught, Compendium of chemical terminology. Vol. 1669. 1997: Blackwell Science Oxford.
[4] Cooper, J.R., F.E. Bloom, and R.H. Roth, The biochemical basis of neuropharmacology. 2003: Oxford University Press, USA.
[5] Janshoff, A., H.J. Galla, and C.J.A.C.I.E. Steinem, Piezoelectric mass-sensing devices as biosensors—an alternative to optical biosensors? 2000. 39(22): p. 4004-4032.
[6] Vo-Dinh, T. and B.J.F.j.o.a.c. Cullum, Biosensors and biochips: advances in biological and medical diagnostics. 2000. 366(6-7): p. 540-551.
[7] Tombelli, S., M. Minunni, and M.J.M. Mascini, Piezoelectric biosensors: strategies for coupling nucleic acids to piezoelectric devices. 2005. 37(1): p. 48-56.
[8] Vashist, S.K.J.J.o.N., A review of microcantilevers for sensing applications. 2007. 3: p. 1-18.
[9] Mohanty, S.P. and E.J.I.P. Kougianos, Biosensors: a tutorial review. 2006. 25(2): p. 35-40.
[10] Mishra, G.K., et al., Flow injection analysis biosensor for urea analysis in adulterated milk using enzyme thermistor. 2010. 26(4): p. 1560-1564.
[11] Ramanathan, K., B.R. Jönsson, and B.J.A.c.a. Danielsson, Sol–gel based thermal biosensor for glucose. 2001. 427(1): p. 1-10.
[12] Wang, J.J.C.r., Electrochemical glucose biosensors. 2008. 108(2): p. 814-825.
[13] Venugopal, V.J.B. and bioelectronics, Biosensors in fish production and quality control. 2002. 17(3): p. 147-157.
[14] Reynoso, E. C., Torres, E., Bettazzi, F., & Palchetti, I. (2019). Trends and perspectives in immunosensors for determination of currently-used pesticides: the case of glyphosate, organophosphates, and neonicotinoids. Biosensors, 9(1), 20.
[15] Wang, J.J.B. and Bioelectronics, DNA biosensors based on peptide nucleic acid (PNA) recognition layers. A review. 1998. 13(7-8): p. 757-762.
[16] McCreery, R.L.J.C.r., Advanced carbon electrode materials for molecular electrochemistry. 2008. 108(7): p. 2646-2687.
[17] Kelly, R.S.J.A.S.D.L., Analytical electrochemistry: the basic concepts. 2009.
[18] Yi, Y., Weinberg, G., Prenzel, M., Greiner, M., Heumann, S., Becker, S., & Schlögl, R. (2017). Electrochemical corrosion of a glassy carbon electrode. Catalysis Today, 295, 32-40.
[19] Jung, Y., J.Y. Jeong, and B.H.J.A. Chung, Recent advances in immobilization methods of antibodies on solid supports. 2008. 133(6): p. 697-701.
[20] Gooding, J.J., et al., Self-assembled monolayers into the 21st century: recent advances and applications. 2003. 15(2): p. 81-96.
[21] Welch, N.G., et al., Orientation and characterization of immobilized antibodies for improved immunoassays. 2017. 12(2): p. 02D301.
[22] Bard, A.J., et al., Electrochemical methods: fundamentals and applications. Vol.2.1980: wiley.
[23] Macdonald, J.R. and E. Barsoukov, Impedance spectroscopy: theory, experiment, and applications. History, 2005. 1(8): p. 1-13.
[24] Feng, K., et al., Electrochemical immunosensor with aptamer-based enzymatic amplification. 2008. 378(1): p. 38-42.
[25] Nassef, H.M., et al., Amperometric immunosensor for detection of celiac disease toxic gliadin based on fab fragments. 2009. 81(13): p. 5299-5307.

مقاله

اثرات استنشاق بخار بنزین بر بافت بیضه موش صحرایی نر

سیده نسیم میربهاری

کارشناسی ارشد ژنتیک پزشکی، پژوهشگاه رویان، تهران

چکیده

مطالعات نشان می‌دهند که استنشاق بخارات بنزین می‌تواند سلامت انسان را به خطر اندازد. هدف از این مطالعه بررسی اثرات استنشاق بخار بنزین بر بافت بیضه در موش‌های صحرایی نر است. مواد و روش‌ها: دراین مطالعه، موش‌های صحرائی نر نژاد ویستار به صورت تصادفی به ٤ گروه ٥ سری، شاهد و گروه های در مواجهه روزانه با بخار بنزین به مدت یک ساعت، دو ساعت و سه ساعت تقسیم بندی شدند. پس از ۱۲ هفته، بافت بیضه نیز از طریق رنگ آمیزی ائوزین-هماتوکسیلین مورد بررسی بافت شناسی قرار گرفت. نتیجه گیری: استنشاق بخار بنزین دارای اثرات مخرب بر بافت بیضه بوده، سبب کاهش تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی می‌گردد.

کلمات کلیدی: بخار بنزین، بافت بیضه، موش صحرایی نر، اسپرماتوگونی

۱. مقدمه

بیضه‌ها، اندام اصلی تولید مثل در جنس نر می‌باشند که نقش تولید اسپرم و هورمون‌های جنسی را بر عهده دارند [۱]. بیضه‌ها چندین هورمون جنسی مردانه از جمله تستوسترون، دی هیدروتستوسترون و آندروستندیون ترشح می‌کنند که به مجموعه‌ی آن‌ها آندروژن می‌گویند. تستوسترون کمی بیشتر از هورمون‌های دیگر ترشح می‌شود، در نتیجه می‌توان آن را هورمون اصلی بیضه دانست [۲]. به طور متوسط بدن هر جنس نر ۲۰ برابر بیشتر از جنس ماده تستوسترون تولید می‌کند هرچند که به دلیل متابولیسم بیشتر، سطح پلاسمایی این هورمون در مردان فقط هفت برابر زنان است [۳]. تستوسترون مهم‌ترین هورمون مردانه می‌باشد و در رشد و تکامل اندام‌های جنسی و بروز صفات ثانویه جنسی مانند رویش موی صورت، بم شدن صدا، ریزش موی مردانه و خواص آنابولیک مانند رشد عضلات و توده استخوانی بسیار موثر می‌باشد. این هورمون باعث رشد در نوجوانان و همچنین توقف رشد قدی با بستن صفحات رشد در دو انتهای استخوان‌ها می‌شود. این هورمون باعث ساخته شدن بافت‌ها نیز می‌گردد [۵-۳]. در شروع بلوغ، ترشح تستوسترون تحت تاثیر هورمون‌های گنادوتروپیک در هیپوفیز قدامی به سرعت افزایش می‌یابد و این ترشح زیاد در طول عمر ادامه می‌یابد ولی پس از نیمه‌ی عمر به بعد کاهش می‌یابد به طوری که در اواخر عمر به ۲۰درصد ترشح اولیه‌ی خود می‌رسد [۶]. اخیرا مشخص شده است که بافت بیضه نسبت به سموم و مواد شیمیایی بسیار حساس می‌باشد و در مواجه با سموم تخریب می‌شود [۷]. سالیانه، ۲میلیون نفر کارگر در اثر صدمات ناشی از کار جان خود را از دست می‌دهند، و حدود ۱۶۰ میلیون نفر از بیماری‌های ناشی از کار رنج می‌برند. حدود ۱/۲۵ تریلون دلار در هر سال برای رفع مشکلات ناشی از محیط کار هزینه می‌شود. قرارگرفتن در معرض بخارات سمی بنزین یکی از همین مشکلات کاری محسوب می‌شود [۸]. داده‌های اپیدمیولوژیک نشان می‌دهد که صنایع پتروشیمی باعث افزایش روز افزون آسیب‌پذیری کارگران در محیط کار شده اند. بخارات شیمیایی سمی حاصل از این صنایع علاوه بر کارگران، سلامت سایر مردم در شهرهای بزرگ و پر ترافیک را نیز تهدید می‌کنند [۹]. علیرغم مطالعات بسیار در حوزه تاثیرات فیزیولوژیک مواد سوختی بر سیستم تولید مثلی، مطالعات انجام یافته در خصوص تاثیر مواد سوختی به ویژه بنزین بر سیستم تولید مثلی، بسیار محدود بوده و گاها نتایج حاصل ضد و نقیض می‌باشند [۱۰]. بر این مبنا، مطالعه حاضر در پی یافتن اثرات استنشاق بنزین در طی مواجه یک، دو و سه ساعت بر سطح سرمی هورمون تستوسترون و همچنین اثرات تخریبی آن بر بافت بیضه در موش‌های صحرایی نر می‌باشد.

۲. مواد و روش ها

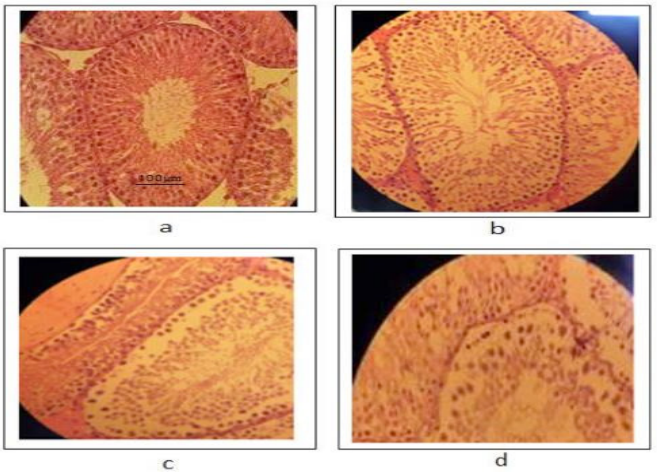
در این پژوهش موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار با میانگین وزنی ۱۹۰ گرم از مؤسسه‌ی انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. این موش‌ها در قفسه‌ای ویژه‌ای نگهداری شده و دمای محل اتاق حیوانات حدود ۲۲ °C بود. برنامه‌ی نوری مورد استفاده ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با شروع روشنایی صبحگاهی در ساعت ۸ بوده و آب و غذا به صورت نامحدود در اختیار حیوانات قرار می‌گرفت. آب به صورت روزانه عوض شد و آب تازه در اختیار حیوانات قرار گرفت. غذا (خوراک آماده‌ی موش تهیه‌ی کارخانه‌ی دام پارس) به صورت نامحدود در دسترس حیوانات قرار می‌گرفت. علاوه بر این، بررسی‌های بالینی نیز به منظور یافتن علایم عام آسیب‌شناسی، به طور متناوب انجام می‌گرفت. در تحقیق حاضر جهت نگهداری موش‌ها، قفس‌های مخصوصی از شیشه به شکل آکواریوم با ابعاد cm ۱۰۰×۷۵×۲۰۰ تعبیه گردید و روی قفس‌ها با توری فلزی و یک قاب مشبک پوشانده شد. ۲۰ سر موش صحرایی نر به ۴ گروه ۵ تایی تقسیم شده و نمونه‌ها در هرگروه شماره‌گذاری شدند [۱۱]. این ۴ گروه شامل؛ گروه شاهد (حیوانات نر سالم که طی دوره آزمایش هیچ گونه تیمار خاصی دریافت نکردند)، گروه مواجهه با بخار بنزین به مدت یک ساعت (طی دوره آزمایش به صورت روزانه یک ساعت بخار بنزین استنشاق کردند)، گروه مواجهه با بخار بنزین به مدت دو ساعت (طی دوره آزمایش به صورت روزانه دو ساعت بخار بنزین استنشاق کردند)، گروه مواجه با بخار بنزین به مدت سه ساعت (حیوانات نر که طی دوره آزمایش به صورت روزانه سه ساعت بخار بنزین استنشاق کردند) تقسیم شدند. بر اساس مطالعات پیشین از روش مواجه با استنشاق بخار بنزین مایع که روزانه از پمپ بنزین تهیه می‌شد، استفاده گردید. برای ایجاد بخار بنزین، شبکه‌های شیشه‌ای در داخل قفس ایجاد شد به طوری که لوله آزمایش در آن قرار می‌گرفت. برای اینکه هوای داخل قفس‌ها مبادله نشود برای پوشش روی قفس‌ها از پارچه‌ی کرباس استفاده گردید. بعد از گذشت ۱۲هفته استنشاق بنزین، به منظور انجام سنجش بافتی، نمونه‌ها توسط اتر بیهوش شدند و خون‌گیری از قلب انجام شد. سپس بیضه‌ها از داخل اسکروتوم[1] بیرون آورده شد و جهت آماده سازی بافتی برای رنگ‌آمیزی و مطالعه با میکروسکوپ نوری، در محلول بوئن تثبیت شد و بعد از انجام مراحل مختلف بافتی، برای تهیه مقاطع میکروسکوپی از میکروتوم دوار[2] با ضخامت ۵ میکرون استفاده گردید. جهت رنگ‌آمیزی نمونه‌ها از روش هماتوکسیلین-ائوزین[3] و

1. Scrotum
2. Rotating microtome
3. Hematoxylin-Eosin

برای مطالعه هیستومورفومتری[4] بافت بیضه نیز از عدسی ۴۰ و ۱۰۰ استفاده شد. پس از تهیه عکس‌های بافت شناسی، تصاویر به رایانه منتقل گردید و مورد مقایسه آماری قرار گرفت. در سرتاسر پژوهش، کلیه قوانین بین المللی حقوق نمونه‌ها بر اساس استانداردهای بین المللی رعایت شد.

۳. نتایج

با توجه به تصاویر شکل ۱ بررسی‌های مورفولوژیک نشان می‌دهد که استنشاق بخارات بنزین سبب دفرمه شدن و تغییر ساختار لوله‌های منی ساز شده است. همچنین نشان داده شده است که تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی در مواجه با بنزین کاهش می‌یابد (شکل۱).



شکل۱. میکروگراف لوله منی ساز، سلول های اسپرماتوگونی در a. گروه کنترل b. گروه مواجه یک ساعت بخار بنزین در روز c. گروه مواجه دو ساعت بخار بنزین در روز d. گروه مواجه سه ساعت بخار بنزین در روز (بزرگنمایی۴۰۰×)

۴. نتیجه‌گیری

در مطالعه‌ی انجام شده استنشاق بخار بنزین سبب تخریب و دفرمه شدن بافت بیضه موش صحرایی و همچنین کاهش سلول‌های اسپرماتوگونی در آن شد. یافته‌های ما با نتایج مطالعات قبلی همسو بود. در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۱ نشان داده شد که مواجه ۵ ساعت در روز با g/m^3 ۱۰ بخار بنزین طی ۴ هفته سبب تغییرات چشمگیر بافتی در بیضه و ایجاد تومورهای مزوتلیومای بدخیم در این بافت می‌شود [۱۲]. همچنین نتایج تحقیقات نشان می‌دهند که مواجهه با بخار بنزین می‌تواند اختلالاتی در بافت‌های مختلف دیگری ایجاد نماید که این امر نیز می‌تواند به طور غیر مستقیم بر عملکرد سیستم تولید مثلی اثر گذار باشد. در این راستا، پژوهش‌ها بیانگر آنند که استنشاق بخار بنزین می‌تواند بر کلیه [۱۳] و سیستم عصبی [۱۴] تاثیر گذار باشد. همچنین، تحقیقات نشان داده اند که ترکیبات موجود در بنزین مثل بنزن و سرب دارای دارای اثرات سیتوتوکسیک [۱۵، ۱۶] می‌باشند. از سویی، ترکیبات بنزنی که وارد خون می‌شوند، به راحتی از سدهای خونی- مغزی و خونی- بیضه‌ای عبور می‌کنند و سبب از بین رفتن و تخریب سلول‌های بافت بیضه می‌شوند [۱۷]. در مجموع نتایج این پژوهش نشان می‌دهند که استنشاق بخار بنزین از دیدگاه فیزیوپاتولوژی سیستم تولید مثلی مهم بوده و قادر است بر بافت بیضه اثرات مخرب داشته، و سبب کاهش تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی شود، که این امر خود می‌تواند منجر به اختلالات فیزیوپاتولوژیک قابل توجهی در سیستم تولید مثلی گردد.

منابع

[1] Hart B L. Reproductive system. Iowa State University Press Ames1970; pp 296–312.
[2] Michael S, Bahrke CE. Psychological and behavioural effects of end ogenous testosterone and anabolicandrogenic steroids. An update. Sports Med. 1996;22(6):367-90.
[3] Zitzmann M, Nieschlag E.Testosterone levels in healthy men and the relation to behavioural and physical characteristics: facts and constructs. European Journal of Endocrinology. 2001; 144: 183-197.
[4] Bassil N, Alkaade S, Morley JE. The benefits and risks of testosterone replacement therapy: a review. Ther Clin Risk Manag. 2009;5(3): 427–48.
[5] Reed WL, Clark ME, Parker PG, Raouf SA, Arguedas N, Monk DS, et al. Physiological effects on demography: a long-term experimental study of testosterone's effects on fitness. Am Nat. 2006;167(5): 667–83.
[6] Ashby J, Lefevre PA, Tinwell H, Odum J, Owens W. Testosterone-stimulated weanlings as an alternative to castrated male rats in the Hershberger anti-androgen assay. Regul Toxicol Pharmacol. 2004;39(2):229-38.
[7] Park JD, Habeebu SS, Klaassen CD. Testicular toxicity of di (2-ethylhexyl) phthalate in young Sprague-Dawley rats. Toxicology. 2002; 171:105-115.
[8] International Labor Organization. GB.300/LILS/10: Project on economic dynamics of international labour standards (1). Geneva: International Labour Office; 2007. A vailable f om: http://www.ilo.org/gb/WCMS_084831/langen/index.html.
[9] Cezar-Vaz MR RL, Bonow CA, Santos da Silva MR, Vaz JC, Cardoso LS. Risk perception and occupational accident: A study of gas station workers in Southern Brazil. Int J Environ Res Public Health. 2012 ;9:2362–77.
[10] Anderson D YT, Schmezer P (1995) An investigation of DNA damaging ability of benzene and its metabolites in human lymphocytes using the comet assay. Environ Mol Mutagen 26(4):305–314.
[11] Saadat M, Bahaoddini S, Saadat I. Alteration of serum sex hormonal profile in male gasoline filling station workers in respect to their polymorphism of glutathione S-transferase M1. Environ Toxicol Pharmacol. 2013 Mar;35(2):265-9.
[12] Benson JM, Gigliotti AP, March TH, Barr EB, Tibbetts BM, Skipper BJ, et al. Chronic carcinogenicity study of gasoline vapor condensate (GVC) and GVC containing methyl tertiary-butyl ether in F344 rats. Journal of toxicology and environmental health Part A. 2011;74(10):638-57.
[13] Kisin ER, Yanamala N, Farcas MT, Gutkin DW, Shurin MR, Kagan VE, et al. Abnormalities in the male reproductive system after exposure to diesel and biodiesel blend. Environ Mol Mutagen. 2015;56(2):265-76.
[14] Clark CR, Schreiner CA, Parker CM, Gray TM, Hoffman GM. Health assessment of gasoline and fuel oxygenate vapors: subchronic inhalation toxicity. Regul Toxicol Pharmacol. 2014;70(2 Suppl):S18-28.
[15] Kinawy AA, Ezzat AR, Al-Suwaigh BR. Inhalation of air polluted with gasoline vapours alters the levels of amino acid neurotransmitters in the cerebral cortex, hippocampus, and hypothalamus of the rat. Exp Toxicol Pathol. 2014;66(5-6):219-24.
[16] Mehlman M. Health effects of gasoline refueling vapors and measured exposures at service stations. Toxicol Ind . 1989 5: 869- 890.
[17] Spanò M, Pacchierotti F, Uccelli R, Amendola R, Bartoleschi C. Cytotoxic effects of benzene on mouse germ cells determined by flow cytometry. J Toxicol Environ Health 1989; 26(3):361-72.

4. Histo-morphometry

گزارش

کنفرانس مجازی بین‌المللی

بیوفیزیک حیات روی زمین و پاندمی کووید-۱۹

و سمپوزیوم بین‌المللی

اهمیت بیوفیزیک در حل مشکلات زیستی

در همراهی با

هفته جهانی بیوفیزیک ۲۰۲۱

سیمین سیدپور

مدیر اجرایی رویدادهای شبکه جهانی یوسرن ۲۰۲۱

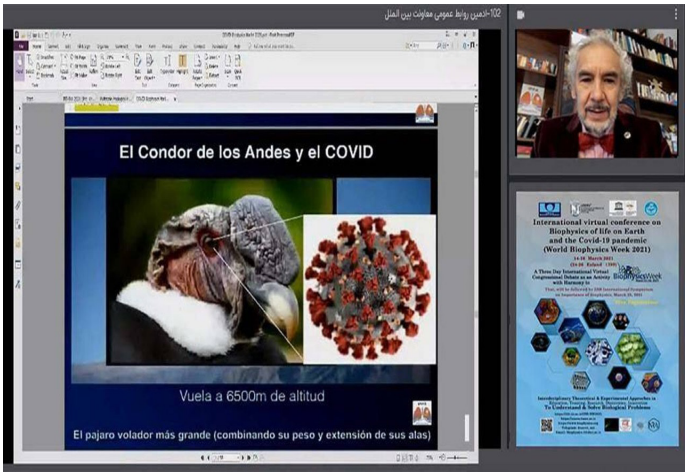
هفته جهانی بیوفیزیک که در سال ۲۰۱۶ توسط انجمن بیوفیزیک آمریکا (ABS) بنانهاده شده است، یک رویداد جهانی سالانه باهدف آشنایی هرچه بیشتر جامعه با علم بیوفیزیک، تجلیل از دستاوردهای علمی مرتبط و ایجاد ارتباط بین محققان و جوامع بیوفیزیکی است. بر این اساس در سال ۲۰۲۱، بازه زمانی ۲۲ تا ۲۶ مارس توسط ABSبه‌عنوان هفته بیوفیزیک اعلام شد و بیش از ۲۰ دانشگاه و مرکز تحقیقاتی پیشرو از ده‌ها کشور مختلف با برپایی و اجرای برنامه‌های متنوع در این رویداد شرکت داشتند.

همراه و منطبق بر این رویداد موسسه بیوشیمی و بیوفیزیک (IBB)دانشگاه تهران با همکاری شبکه جهانی آموزش و پژوهش‌های علمی (USERN) و نیز شبکه بین منطقه‌ای در بیوفیزیک، بیوتکنولوژی و بهداشت محیط (UNESCO/UNITWIN)، مانند سال‌های گذشته این رویداد را در ایران برگزار کرد. در این برنامه که دبیر علمی آن جناب آقای دکتر مباشری بودند کنفرانسی سه‌روزه در تاریخ ۱۴ تا ۱۶ مارس ۲۰۲۱ و پس‌ازآن یک سمپوزیوم بین‌المللی یک‌روزه در ۲۵ مارس منطبق بر تاریخ اصلی هفته جهانی بیوفیزیک باهدف پافشاری و تشریح بیشتر بر اهمیت آموزش و تحقیق بیوفیزیکی برای نجات زندگی در جهان برگزار شد.

در این رویداد که با سخنرانی جناب آقای **دکتر علی‌اکبر موسوی موحدی** ریاست موسسه تحقیقات بیوشیمی و بیوفیزیک، **پروفسور آیراپتیان** رئیس شبکه بین منطقه‌ای در بیوفیزیک، بیوتکنولوژی و بهداشت محیط و آقای **دکتر حمید مباشری** دبیر علمی و مجری رویداد آغاز شد، علاوه بر سخنرانی‌ها و بحث‌های علمی، آخرین دستاوردها، رویکردهای بیوفیزیکی در زمینه‌های مختلف ازجمله پزشکی، علوم پایه، مهندسی، علوم محیطی و کشاورزی توسط دانشمندان مختلف از کشورهای ارمنستان، استرالیا، ایتالیا، امریکا، فرانسه و از دانشگاه‌های مختلف ایران (دانشگاه تهران، تربیت مدرس، صنعتی شریف، شهید بهشتی) ارائه شد.

علاوه بر این، فرصت‌های بالقوه و همچنین نیازهای بومی برای تحقیق و اصلاح برنامه درسی احتمالی در حوزه مرتبط با بیوفیزیک موردبحث قرار گرفت. به‌منظور ایجاد بستری مناسب برای خلق ایده‌های نوین در دانشجویان و پژوهشگران جوان فعال در این حوزه و نیز تشریح و توجیه «ایده‌های بدیع بیوفیزیکی» نشست ارائه پوستر با حضور و ارائه دانشجویان و محققان جوان برگزیده در قالب ارائه‌های کوتاه ۶ دقیقه‌ای برگزار شد. در این رویداد تلاش شد از طریق رویکردهای بیوفیزیکی، مسیر همکاری بین‌المللی به‌منظور ارائه راهکار و مسیر رویارویی با چالش‌های جهانی، هموار شود و همچنین بستری منحصربه‌فرد برای شبکه‌های علمی ایجاد شود تا همکاری‌های ملی و بین‌المللی را با محققانی که سوابق درخشانی در این زمینه‌دارند، تسهیل شود. در این خصوص فراخوان همکاری علمی بین موسسه بیوشیمی فیزیک (IBB) و شبکه بین منطقه‌ای در بیوفیزیک، بیوتکنولوژی و بهداشت محیط (UNESCO/UNITWIN) رونمایی شد.

دانشجویان و فارغ‌التحصیلان با سوابق مختلف در رشته‌های بیولوژی، بالینی، مهندسی، دارویی، زیست‌محیطی و علوم پایه و رشته‌های مرتبط و همچنین سایر علاقه‌مندان به بیوفیزیک از مخاطبان و شرکت‌کنندگان کنگره بودند.



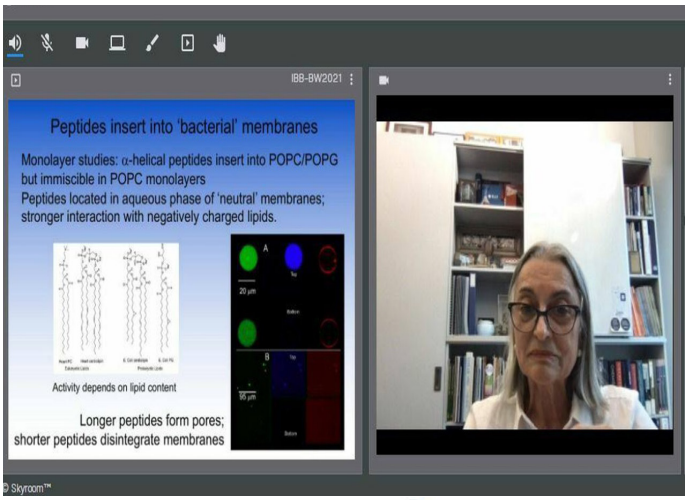
University of Tehran

USERN™ Universal Scientific Education & Research Network usern.org

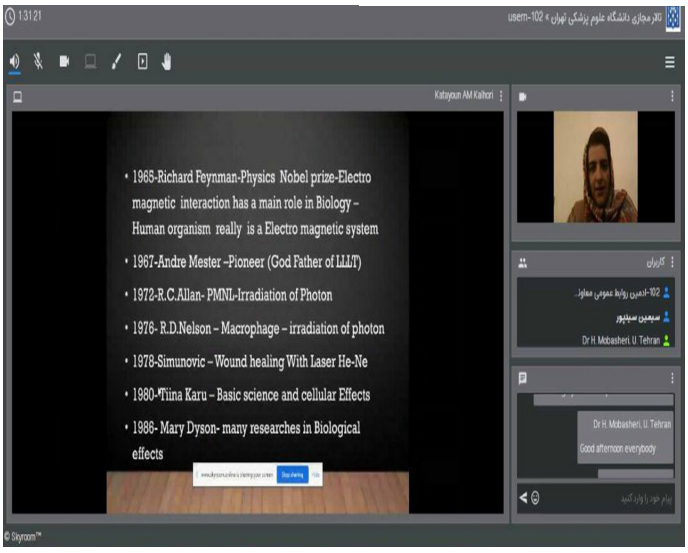
United Natiotns Educational, Scientific and Cultural Organization

UniTwin Network on Research and Postgraduate Education in Biophysics, Biotechnology and Environmental Health

Institute of Biochemistry and Biophysics



BiophysicsWeek
March 21–25, 2022



مقاله

مطالعه سلول‌های بنیادی از منظر بیوفیزیک

مریم رحیمی

دانشجوی کارشناسی ارشد بیوفیزیک، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

چکیده

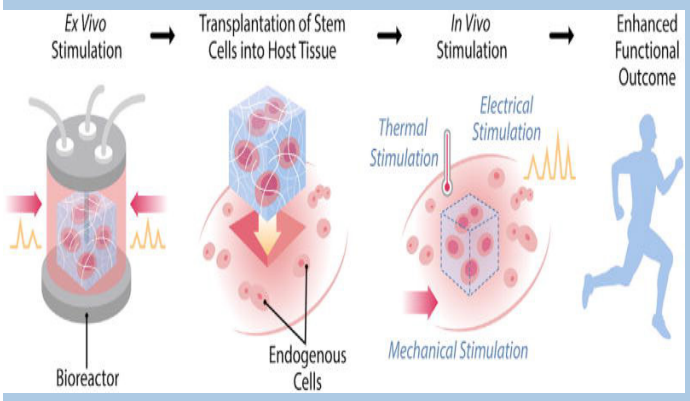
سلول‌های بنیادی از جمله زمینه‌های تحقیقاتی در زیست‌شناسی و پزشکی است که بویژه در سال‌های اخیر، بسیار مورد توجه محققان قرار گرفته است و به دلیل پتانسیل بالای این سلول‌ها در ترمیم و بازسازی بافت، کاربردهای بسیاری در مهندسی بافت و پزشکی بازساختی داشته‌اند. فراهم آوردن روش‌ها و شرایط مناسب برای بالابردن زنده‌مانی، تکثیر، حفظ قابلیت خودنوزایی و پرتوانی این سلول‌ها و همچنین، ساخت سامانه‌های انتقالی مناسب برای حمل این سلول‌ها به بافت‌های آسیب دیده بدن از اهمیت بالایی برخوردار است. همچنین، از آنجایی‌که مبنای علمی بسیاری از روش‌های مهندسی زیستی در حوزه سلول‌های بنیادی و پزشکی بازساختی، پاسخ سلول‌ها و بافت‌های بدن به محرک‌های بیوفیزیکی است، لازم است تا این محرک‌ها و فاکتورهای بیوفیزیکی مورد بحث و بررسی قرار گیرند. ما در این مقاله سعی داشته‌ایم تا جنبه‌های مختلفی از زیست‌شناسی سلول‌های بنیادی را از منظر بیوفیزیک مورد بحث و بررسی قرار دهیم.

کلمات کلیدی: زیست‌شناسی سلول‌های بنیادی، پزشکی بازساختی، ترمیم، بازسازی بافت، مهندسی بافت، محرک‌های بیوفیزیکی، فاکتورهای بیوفیزیکی

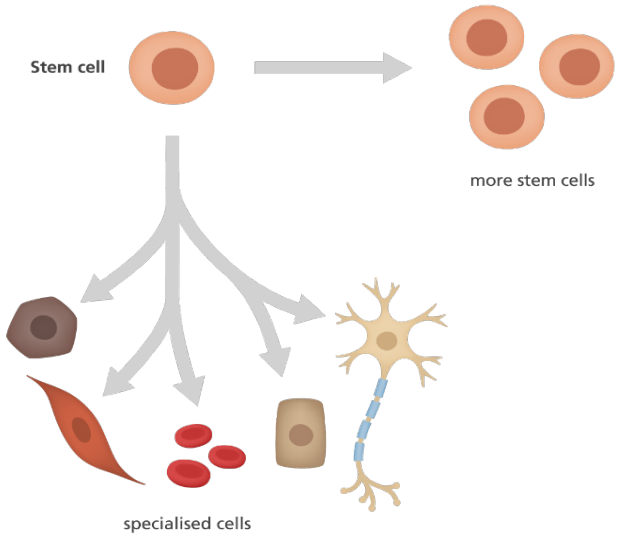
۱. مقدمه

پزشکی بازساختی و مهندسی بافت، یک رویکرد امیدوارکننده مبتنی بر سلول‌های بنیادی است که جهت درمان‌های بیولوژیکی پیچیده بکار برده می‌شود. عوامل بیوشیمیایی و بیوفیزیکی، تعیین‌کننده موفقیت در رویکردهای پزشکی بازساختی می‌باشند. بنابراین، توجه به این عوامل از مهم‌ترین بخش‌های این حوزه محسوب می‌شود. همچنین، مبنای علمی بسیاری از کاربردهای مهندسی زیستی در پزشکی بازساختی، پاسخ سلول‌ها و بافت‌های بدن به محرک‌های بیوفیزیکی است. خواص بیوفیزیکی ماتریکس خارج سلولی سلول‌های بنیادی نظیر سفتی و توپولوژی میتوانند تأثیر بسزایی بر سرنوشت سلول‌ها داشته باشند. همچنین، طی رشد و تکوین، سیگنال‌های مکانیکی پویا همچون: برش، کشش و فشار بشدت از نظر مکان و زمان تنظیم شده و نقش مهمی در تعیین اندازه و شکل سلول‌ها دارند. تحریک‌های مکانیکی خارجی پس از انتقال به اسکلت سلولی و ایجاد پیام‌های سیتوزولی و یا هسته‌ای می‌توانند بر تنظیم بیان ژن سلول‌ها اثر گذاشته و رفتار آن‌ها را تعیین کنند. گروهی از ویژگی‌های مکانیکی ریزمحیط مفصل نظیر: فشار هیدرواستاتیک، برش و نیروهای فشاری تمایز سلول‌های بنیادی را به سلول‌های غضروف ارتقا می‌بخشند. تحریک الکتریکی رشد آکسون و بازسازی عملکرد سلول‌های عصبی را تقویت کرده و جریان‌های الکتریکی درون‌زا مهاجرت سلولی را برای بهبود زخم (مثلاً در پوست) تحریک می‌کند. تعدیل تنش وارده به سلول‌ها می‌تواند سبب بهبود ناحیه آسیب‌دیده گردد. بنابراین، درک بهتر و بیشتر نحوه انتقال سیگنال‌های بیوفیزیکی و بیوالکتریکی توسط سلول‌ها برای ارتقاء و بهبود عملکرد سلول‌ها و بافت‌ها ضروری‌ست [۲].

فرآیندهای بازسازی بافت را می‌توان توسط محرک‌های بیوفیزیکی، الکتریکی و حرارتی افزایش داد. همچنین، پیوند سلولی را می‌توان توسط تحریکات *ex vivo* و *in vivo* مانند: محرک‌های کششی و فشردگی ارتقاء بخشید. این عوامل سبب افزایش پتانسیل ترمیم‌کنندگی بافت می‌شوند [۲] .



شکل ۱. عوامل بیوفیزیکی مؤثر بر سلول‌های بنیادی و ریزمحیط آن‌ها [۲].



شکل ۲. ویژگی‌های تمایز و خودنوزایی در سلول‌های بنیادی [۶].

۲. ویژگی‌های سلول‌های بنیادی

سلول‌های بنیادی، سلول‌هایی با پتانسیل بالا جهت استفاده در سلول درمانی جهت ترمیم و بازسازی بافت می‌باشند. این سلول‌ها بر حسب نوع و منشأ خود، توانایی تبدیل شدن به بافت‌های مختلف بدن را دارا می‌باشند. اما برای اینکه یک سلول را سلول بنیادی بنامیم، لازم است تا سلول مورد نظر دارای ۲ مشخصه اساسی باشد: ۱) توانایی خودنوزایی نامحدود و ۲) توانایی تبدیل شدن به یک سلول تخصصی (تمایز یافته). بنابراین، این دو ویژگی از مشخصه‌های اصلی یک سلول بنیادی است. سلول‌های بنیادی بر اساس منشأ استخراجی خود، به دو دسته سلول‌های بنیادی سوماتیک (بزرگسال) و سلول‌های بنیادی جنینی تقسیم می‌شوند [۴].

۳. مطالعات بیوفیزیکی سلول‌های بنیادی

یکی از زمینه‌های مطالعاتی و تحقیقاتی بیوفیزیک در حیطه پزشکی بازساختی، بررسی و درک برهمکنش‌های سلول-سلول و سلول-ماتریکس است که توسط محرک‌های فیزیکی در محیط داخلی بدن، قابل اصلاح‌اند. هدف از این مطالعات نیز رسیدن به نتایج بهتر در زمینه بازسازی بافت است. نمونه دیگر از این مطالعات، بررسی خواص بیوفیزیکی ریزمحیط‌هایی است که سلول‌های بنیادی در آن‌ها قرار می‌گیرند. این مطالعات به منظور درک هرچه بهتر سیگنال‌های مکانیکی انتقالی به سلول‌هاست. چراکه این سیگنال‌ها حاوی دستوراتی به سلول‌هاست. همچنین، مطالعات مربوط به برهمکنش سلول‌های بنیادی با ترکیبات موجود در ریزمحیط آن‌ها و نیز رفتار آن‌ها در این حوزه جای می‌گیرند [۴].

به طور کلی می‌توان گفت که بررسی عوامل مختلف

بیوفیزیکی نظیر: سفتی ماتریکس سلولی، توپوگرافی، شرایط سه بعدی بودن، تنش و کرنش خارجی، تحریک الکتریکی، فشار هیدرواستاتیک، میدان الکترومغناطیس، امواج فراصوت و تحریکات نوری بر روی رفتار سلول‌ها از جمله مواردی است که محققان آن‌ها را مورد مطالعه و بررسی قرار داده‌اند [۳].

۴. دسته‌بندی فاکتورهای بیوفیزیکی

عوامل بیوفیزیکی مؤثر در سرنوشت سلول‌های بنیادی را که قبل‌تر به آن‌ها اشاره شد را می‌توان در گروه‌هایی دسته‌بندی نمود. که در ادامه به چند مورد از آن‌ها خواهیم پرداخت [۱].

۴. ۱. عوامل مکانیکی

عوامل مکانیکی خود، به دو دسته ایستا و پویا تقسیم‌بندی می‌شوند. عوامل مکانیکی ایستا شامل سفتی بستر سلول‌ها می‌شود. نیروهای کششی و فشاری یا تنش‌های برشی را نیز می‌توان در دسته عوامل مکانیکی پویا قرار داد. همه این عوامل می‌توانند به گونه‌ای بر رفتار و سرنوشت سلول‌ها اثرگذار باشند. برای مثال سفتی بستر می‌تواند بر روی رفتارهای سلولی همچون چسبندگی، مهاجرت، تکثیر و تمایز مؤثر باشد. سلول‌ها می‌توانند میزان سفتی و نرمی بستر خود را احساس کنند و به آن‌ها پاسخ دهند. همچنین، عوامل مکانیکی پویا نیز نقش بسیار مهمی در تمایز سلول‌ها به رده‌های خاصی از سلول‌ها دارند و نیروهای کششی و تنش وارده بر سلول‌ها روی بیان ژن‌ها اثر گذاشته و در مورفولوژی و میزان سفتی سلول‌ها دخیل‌اند [۱].

۴. ۲. مورفولوژی سطح بیومتریال‌ها

سلول‌ها می‌توانند با بیومتریالی که در آن قرار می‌گیرند، برهمکنش دهند. سطحی که سلول‌ها جهت آزمایش در آن قرار می‌گیرند، می‌تواند دو بعدی و یا سه بعدی باشد و به‌گونه‌ای تداعی‌کننده ریزمحیط واقعی سلول‌ها باشند. طراحی و ساخت هر دو سطح با چالش‌هایی رو به روست و هر دوی آن‌ها به گونه‌ای در رفتار سلول‌ها مؤثرند. در بسترهای سه بعدی، عواملی چون اندازه منافذ، شکل آن‌ها و ارتباط میان آن‌ها از اهمیت بالایی برخوردار هستند. داربست‌ها در دسته سطوح سه بعدی قرار می‌گیرند. داربست‌ها، ساختارهایی مصنوعی هستند که تلاش می‌شود تا ریزمحیط واقعی و طبیعی سلول‌ها را تقلید کنند و به بستری مناسب جهت اتصال و توزیع یکنواخت سلول‌ها تبدیل شوند. همچنین اندازه منافذ بیومتریال به کارگرفته شده در آن‌ها باید به گونه‌ای باشد تا مواد مغذی و دفعی سلول‌ها به راحتی از خلال آن‌ها قابل انتقال باشند. به عنوان نمونه، کپسولاسیون سلولی در دسته محیط‌های سه بعدی جای می‌گیرد [۱].

۴. ۳. کپسولاسیون سلولی

کپسولاسیون سلولی یکی از روش‌هایی است که در سلول‌درمانی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این روش، سلول‌ها در داخل محفظه‌ای از جنس پلیمرهای نیمه‌تراوا قرار گرفته و محبوس می‌شوند. کپسولاسیون را می‌توان به طور کلی به دو دسته میکرو و ماکرو تقسیم‌بندی نمود (میکروکپسولاسیون و ماکروکپسولاسیون). جنس پلیمر به کار رفته (عدم سمیت برای بدن و نیز سلول‌های درون آن)، پایداری و زیست سازگار بودن پلیمر، پیاده کردن سیستمی مشابه با شرایط داخل بدن برای سلول‌های کپسوله شده، تحریک کمتر سیستم ایمنی بدن، توزیع مناسب سلول‌ها درون کپسول از جمله چالش‌هایی می‌باشند که سیستم‌های انتقال سلول با آن‌ها مواجه‌اند [۷].

۴. ۴. تحریکات الکتریکی

در سال ۱۹۹۷، McCaig و همکارانش گزارش دادند که هنگامی‌که سلول‌ها تقسیم می‌شوند و یا گسترش یافته و مهاجرت می‌کنند، میدان الکتریکی ایجاد می‌شود. پس از آن بود که این ایده شکل گرفت که شاید بتوان با استفاده از محرک‌های الکتریکی، فعالیت‌های مختلف سلولی را کنترل نمود. برخی از سلول‌ها در داخل بدن بیشتر از سایر سلول‌ها در معرض تحریکات الکتریکی قرار میگیرند. مانند سلولهای عصبی، عضلانی، فیبروبلاست و استئوبلاست‌ها. بنابراین، می‌توان با قرار دادن سلول‌های بنیادی در معرض تحریکات الکتریکی، آن‌ها را به سلول‌هایی مانند سلول‌های عصبی و قلبی تمایز داد [۱].

۴. ۵. تحریکات الکترومغناطیسی

تحریکات الکترومغناطیسی یکی یگر از عوامل مؤثر بر رفتار و سرنوشت سلول‌ها می‌باشد. این تحریکات علاوه بر خود سلول‌ها بر روی ماتریکس خارج سلولی آن‌ها نیز می‌تواند مؤثر باشد. یون‌ها و مولکول‌های زیستی باردار (پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و...) در داخل سلول با حرکات خود، ایجاد میدان مغناطیسی می‌کنند. تغییرات در میدان مغناطیسی نیز ایجاد میدان الکتریکی را به دنبال دارد. نقل و انتقالات یون‌های باردار از خلال غشای سلول، منجر به تولید میدان مغناطیسی می‌گردد. سلول‌های زنده می‌توانند سیگنال‌های الکترومغناطیسی را جذب

کرده و هم از خود عبور دهند. همچنین، رفتارهای سلولی نظیر تقسیم و تمایز، در اثر میدان الکترومغناطیسی تغییر می‌کنند [۱].

۴. ۶. چالش‌های موجود در پزشکی بازساختی از نگاه بیوفیزیک

پزشکی بازساختی نویدبخش درمان‌های موفق با استفاده از سلول‌های بنیادی با اثر بخشی طولانی‌ست. نظیر: بقاء و عملکرد سلول‌های بنیادی خونساز در پیوند مغز استخوان و بقاء و عملکرد سلول‌های اپیدرمی در پیوندهای پوستی. گاهی بهبودی یک بافت، توسط اثرات پاراکراینی سلول‌های پیوند زده شده اتفاق می‌افتد تا خود سلول‌ها و علت آن نیز اغلب به دلیل از بین رفتن و مردن سلول‌های بنیادی پیوند زده شده در محل بافت هدف و در نتیجه عدم توانایی آن‌ها در تمایز به سلول‌های جدید می‌باشد. به همین جهت، یکی از چالش‌های موجود در این حوزه، ارتقای شرایط بقاء و پیوند و در نتیجه بهبود عملکرد سلول‌ها در محیط میزبان است. اصلاح محیط سلول‌ها بمنظور ترمیم بافت، طراحی و ساخت داربست‌های مصنوعی از جمله مواردی است که می‌توان از نگاه بیوفیزیک به آن‌ها پرداخت. داربست‌های مصنوعی، سلول‌های بنیادی پیوند زده شده را در یک محیط بیومکانیکی حمایت و محافظت کرده و بقاء و تکثیر آن‌ها را ارتقاء می‌بخشند [۲].

توسعه بیومواد‌های مناسب با بکارگیری اصول و نشانه‌های بیوفیزیکی و بیوشیمیایی برای ایجاد بسترهای مناسب سلول‌های بنیادی نیز در این حوزه قرار می‌گیرد. شناسایی این نشانه‌ها در هدایت رفتار سلول‌ها، از جمله مهاجرت سلولی، تکثیر و تمایز، می‌تواند برای عملکرد بالینی بهتر، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار باشد [۵]. از دیگر چالش‌های موجود در این حوزه می‌توان به ساخت نانوحامل‌ها برای انتقال سلول‌ها با استفاده از اصول بیومکانیک اشاره کرد. همچنین، فناوری‌های ارگان روی تراشه بویژه ساختارهای ارگانوئیدی سه بعدی نیز از دیگر چالش‌های موجود در این حوزه است که مطالعه بر روی آن‌ها می‌تواند در درک برهمکنش‌های سلول-سلول، سلول-سیال و سلول-ماتریکس که در داخل بدن رخ می‌دهند، کمک کننده باشد. این فناوری همچین می‌تواند در استراتژی‌های بکارگرفته شده در حوزه پزشکی شخصی نیز به کار برده شود. در این استراتژی‌ها تلاش می‌شود تا با استفاده از سلول‌های خود فرد، ارگان روی تراشه ایجاد شود. یکی دیگر از زمینه‌هایی که همچنان برای محققان مجهول است، چگونگی تغییر مکانیسم‌های حسی و مکانیکی سلول در شرایط پاتولوژیک می‌باشد. چراکه چندان به این موضوع پرداخته نشده است [۲].

۵. نتیجه‌گیری

سلول‌های بنیادی به دلیل داشتن ویژگی‌های منحصر بفرد یعنی، خودنوزایی و تمایز از منابع سلولی بسیار ارزشمندی جهت استفاده در سلول درمانی می‌باشند. بمنظور استفاده مناسب از ظرفیت‌های موجود در این سلول‌ها درحوزه مهندسی بافت و پزشکی بازساختی، لازم است تا رفتارهای سلولی مانند: چسبندگی، تکثیر، بقاء و تمایز در پاسخ به شرایط بیوفیزیکی و بیوشیمیایی به طور دقیق تنظیم شوند و به همین جهت، تحریکات بیوفیزیکی و بیوشیمیایی نقش مهمی در رفتار و سرنوشت سلول‌ها ایفا می‌کنند [۳].

همچنین، طراحی داربست‌های مناسب که شرایطی مشابه با ریزمحیط سلول‌های بنیادی در داخل بدن دارند از اهمیت بالایی برخوردار است. چراکه رفتار و سرنوشت سلول‌ها به محیطی که در آن حضور دارد بستگی دارد. ریزمحیط‌های سلول‌ها بسته به اینکه سلول قرار است چه رفتاری از خود نشان دهد از شرایط متفاوتی می‌توانند برخوردار باشد. همچین، طراحی و ساخت نانوحامل‌ها جهت انتقال سلول‌ها به داخل بدن (بافت هدف) نیز از جمله مواردی است که بیوفیزیک‌دانان می‌توانند به آن بپردازند.

منابع

[۱] عیوضی زاده، ز.، و سلوک، ع.، و شکرگزار، م. (۱۳۹۷). مهندسی بیومتریال‌ها به عنوان کنام سلول‌های بنیادی. تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی مولکولی، ۸(۳۲)، ۲۹-۹.

[2] Rando, T. A., & Ambrosio, F. (2018). *Regenerative Rehabilitation: Applied Biophysics Meets Stem Cell Therapeutics*. Cell Stem Cell, 22(3), 306–309.

[3] Choi, B., Kim, D., Han, I., & Lee, S. H. (2018). *Microenvironmental regulation of stem cell behavior through biochemical and biophysical stimulation.* Advances in Experimental Medicine and Biology, 1064, 147–160.

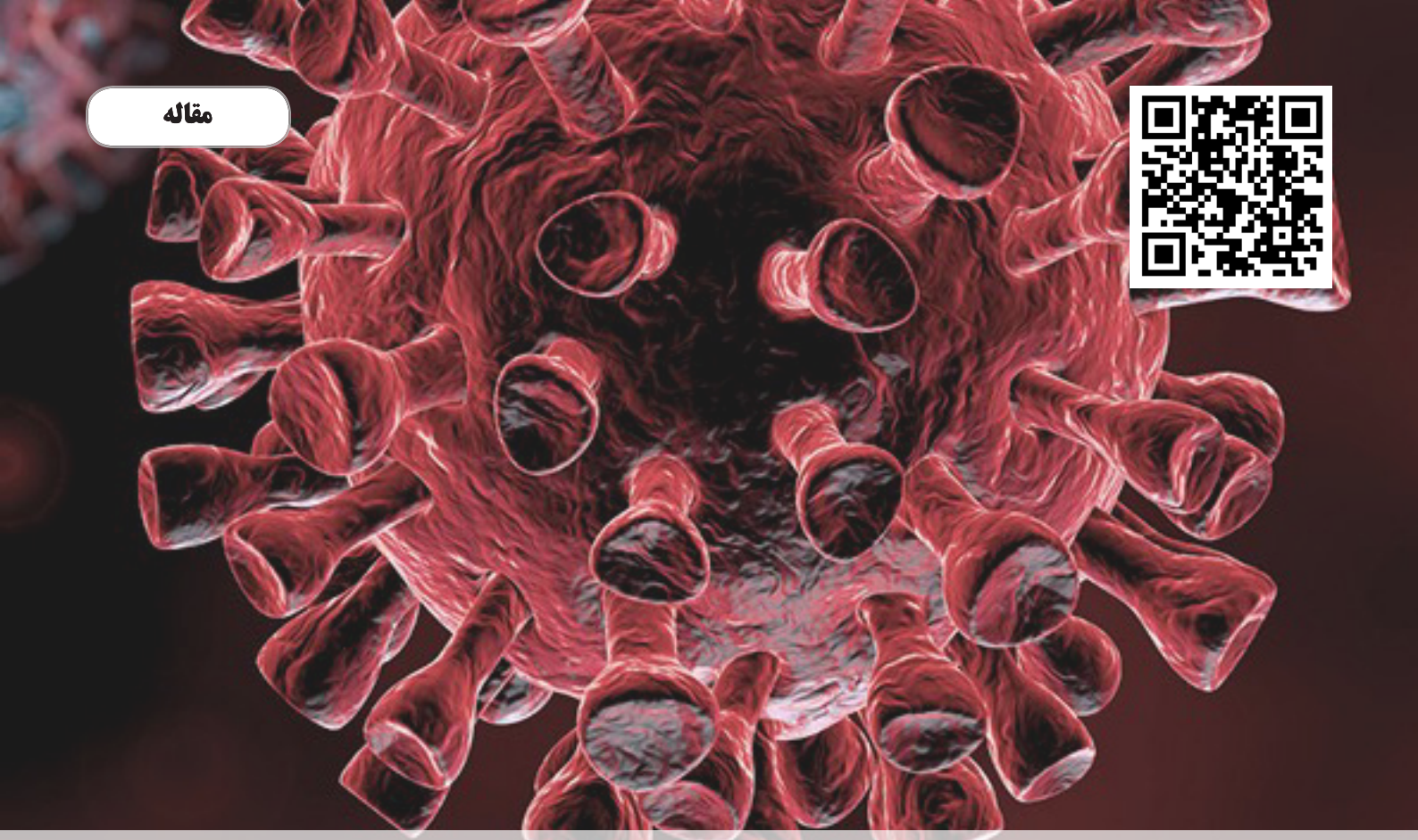
[4] Biehl, J. K., & Russell, B. (2009). *Introduction to stem cell therapy*. The Journal of Cardiovascular Nursing, 24(2), 98–105.

[5] Li, J., Liu, Y., Zhang, Y., Yao, B., Enhejirigala, Li, Z., Song, W., Wang, Y., Duan, X., Yuan, X., Fu, X., & Huang, S. (2021). *Biophysical and Biochemical Cues of Biomaterials Guide Mesenchymal Stem Cell Behaviors* . In Frontiers in Cell and Developmental Biology (Vol. 9, p. 397).

[6] Desai, T., & Shea, L. D. (2017). Advances in islet encapsulation technologies. *Nature Reviews Drug Discovery*, *16*(5), 338–350.

[7] https://www.yourgenome.org/facts/what-is-a-stem-cell

مقاله



آیا مهار آنزیم کربنیک انیدراز به عنوان درمان مکمل در برابر بیماری کووید- ۱۹ مفید است؟

نیما فتاحیان

دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی، دانشگاه رازی کرمانشاه، کرمانشاه

چکیده

کووید-۱۹ یک بیماری مسری است و با علائم متفاوتی مانند سرفه و تنگی نفس مشخص می‌شود. افزایش نگرانی‌ها در مورد کووید-۱۹ سیستم مراقبت‌های بهداشتی را در همه کشورها به شدت تحت تأثیر قرار داده است زیرا شیوع این بیماری با سرعت زیادی در سراسر جهان توسعه یافته است. داروی سولفونامیدی استازولامید که به صورت اختصاصی در مهار ایزوفرم های کربنیک انیدراز استفاده می‌شود، برای درمان ادم ریوی در ارتفاع بالا (HAPE) مفید است، که درجه بالایی از شباهت‌های بالینی را با بیماری ریوی ناشی از کووید-۱۹ نشان می‌دهد. اگرچه هیچ روش درمان قطعی اثبات شده‌ایی علیه کووید-۱۹ وجود ندارد اما نتایج اولیه نشان می‌دهد که استفاده از مهار کننده‌های آنزیم کربنیک انیدراز به عنوان یک درمان دارویی برای کووید-۱۹ ممکن است مفید باشد. در این مطالعه مروری به بررسی برخی عوامل موثر بر بیماران کووید-۱۹ مانند هیپوکسی و همچنین نقش آنزیم کربنیک انیدراز و تاثیر داروهای سولفونامیدی موثر در درمان کووید-۱۹ می‌پردازیم.

کلمات کلیدی: کووید-۱۹، سارس کووید-۲، داروهای سولفونامیدی، کربنیک انیدراز، مهار آنزیم

۱. مقدمه

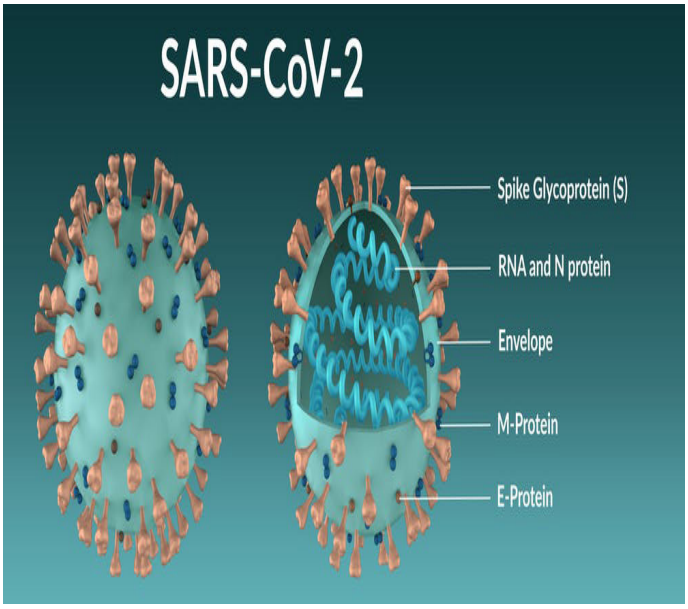
کروناویروس گروهی از ویروس‌های متعلق به خانواده ویروسی کروناویریده هستند که باعث سرماخوردگی معمولی یا بیماری‌های شدیدتر مانند سندرم تنفسی خاورمیانه (MERS) و سندرم تنفسی شدید (SARS) می‌شوند [۱]. کروناویروس‌ها کروی شکل، دارای پوشش و RNA تک رشته‌ای مثبت (sense) هستند (شکل۱) که به چهار جنس آلفا، بتا، گاما و دلتا تقسیم می‌شوند. خانواده‌های گاما و دلتا پرندگان را و خانواده‌های آلفا و بتا گونه‌های پستانداران از جمله انسان را آلوده می‌کنند [۲].

اصطلاح کروناویروس شاید برای بسیاری ناشناخته باشد، اما اکثر ما با اشکال ملایم‌تری از این ویروس‌ها روبرو شده‌ایم. پس از دهه ۲۰۰۰ میلادی دو کروناویروس، سندرم شدید تنفسی کروناویروس یا SARS-CoV در سال ۲۰۰۳ با میزان مرگ‌ومیر ۱۰ درصد در پنج قاره دنیا و سندرم تنفسی خاورمیانه در شبه‌جزیره عربستان در سال ۲۰۱۲ با نرخ مرگ‌ومیر ۳۵ درصد گزارش شدند.

در سال ۲۰۱۹، پس از اولین گزارش بیماری ذات‌الریه جدید (Covid-19) در ووهان چین بعنوان هفتمین کرونا ویروس انسانی شناخته شد. همانند SARS و MERS،کووید-۱۹یک بیماری مشترک بین انسان و حیوانات است که احتمالاً خفاش‌ها منبع ویروس هستند و سایر پستانداران میزبان واسطه‌ای بودند که متعاقباً می‌توانند انسان‌ها را آلوده کنند [۳].

SARS، MERS و Covid-19 دارای ویژگی مشترکی هستند و آن، میزبان‌های حدواسطی است که با تسهیل جهش‌های بیشتر یا متفاوت ، تنوع ژنتیکی ویروس‌ها را افزایش می‌دهند و در نتیجه سرعت سرایت در بین انسان‌ها را افزایش می‌دهد. علائم شایع تحریک شده توسط SARS-CoV-2 عبارتند از تب، درد عضلانی، سرفه خشک، سردرد، گلودرد و درد قفسه سینه که نشان دهنده یک بیماری تنفسی است [۴].

آنزیم تبدیل کننده آنژیوتانسین۲ (ACE2)، گیرنده عملکردی SARS-CoV-2، نقش مهمی در پاتوژنز دارد زیرا ورود ویروس به سلول‌های انسان را فراهم می‌کند. ACE2 یک پروتئین غشایی است که بر روی سلول‌های دستگاه تنفسی، ریه، قلب، عروق، وریدها، کلیه و روده قرار دارد. در اپیتلیوم ریوی، ACE2 به عنوان یک رگ فشار خون عمل می‌کند و آنزیم هملوگ ACE1 را که به عنوان یک تنگ کننده عروق عمل می‌کند، متعادل می‌سازد. میزان مرگ‌ومیر این ویروس در افراد مسن و مبتلایان به بیماری‌های زمینه‌ای در مقایسه با افراد سالم بصورت قابل چشمگیری بالاتر است. گروه‌های پرخطر برای این بیماری شامل مبتلایان به فشار خون بالا، دیابت،



شکل۱. ساختار سندرم شدید تنفسی کرونا ویروس ۲.

بیماری‌های قلبی، بیماری‌های تنفسی، بیماری‌های عروقی‌مغزی، اختلالات سیستم غدد درون‌ریز، اختلالات دستگاه گوارش و سرطان‌ها هستند [۵].

۲. کربنیک انیدراز (CA)

کربنیک انیدرازها (CAs) خانواده‌ای از متالوآنزیم‌ها هستندکه این آنزیم‌ها به طور فعال در کاتالیزاسیون تبدیل برگشت‌پذیر دی‌اکسیدکربن و آب به یون بی‌کربنات و پروتون نقش دارند ($CO_2+H_2O\leftrightarrow HCO_3^-+H^+$) و نقش مهمی در تنظیم بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی ایفا می‌کند.

این آنزیم‌ها همچنین واکنش‌های متعدد دیگری مانند تبدیل سیانات به کاربامیک اسید، سیانامید به اوره ، سولفونیل کلریدها به اسیدهای سولفونیک و آلدهیدها به الکل‌ها را کاتالیز می‌کنند [۶]. کربنیک انیدراز در اکثر موجودات زنده وجود دارد و توسط هفت خانواده ژنی غیر وابسته از لحاظ تکاملی شامل ($\alpha, \beta, \gamma, \zeta, \delta, \eta, \theta$) رمزگذاری می‌شوند. خانواده‌های α, β, δ دارای یک یون روی(Zn^{+2}) در جایگاه فعالشان می‌باشند که برای انجام عمل کاتالتیک آنزیم ضروری است [۷]. ژنوم پستانداران فقط دسته α-CA رمزگذاری می‌کند که ۱۵ ایزوفرم آن شناسایی شده است.

از جمله فرایندهای فیزیولوژیکی که آنزیم در آن‌ها دخیل است می‌توان به تنفس و انتقال CO_2 و بی‌کربنات بین بافت‌های متابولیزه و ریه‌ها، هموستاز pH و CO_2، ترشح الکترولیت در بافت‌ها و اندام‌های مختلف، واکنش‌های بیوسنتزی (مانند گلوکونئوژنز ، لیپوژنز و اندورآژنز)، رکلسیفیکاسیون و تومورزایی اشاره کرد [۸]. از ویژگی‌های ساختاری α-CA می‌توان به صفحات بتا نامتوازی با تعدادی از مارپیچ‌های آلفا اشاره نمود از جمله شباهت‌های ساختاری که در میان ایزوزیم‌های کربنیک انیدراز وجود

دارد، جایگاه فعال آن‌ها می‌باشد در مرکز مولکول به صورت یک حفره با عمقی حدود ۱۵ آنگستروم می‌باشد.

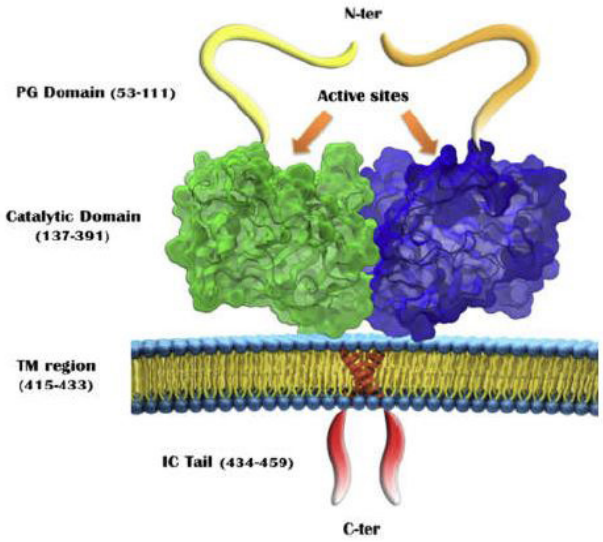
یک ویژگی متمایز جایگاه فعال در کربنیک انیدرازها وجود باقی مانده‌های آبگریز در یک سمت حفره باقی مانده‌های آب دوست در سمت دیگر حفره است که این ویژگی در حین انجام واکنش کاتالتیک توسط آنزیم، اهمیت بسیاری دارد با توجه به اینکه دی‌اکسیدکربن یک مولکول به شدت آب گریز می باشد، در حین فرآیند واکنش هیدراسیون سمت آب گریز حفره وارد و در جایگاه فعال آنزیم قرار می‌گیرد. با این وجود انتقال یون‌های H^+ و بی‌کربنات از سمت آب دوست حفره صورت می‌گیرد [۹]. همچنین، سه جایگاه کوئوردیناسیون یون روی در ساختار جایگاه فعال آنزیم کربنیک انیدراز با حلقه‌های ایمیدازول سه باقی مانده‌ی هیستیدین و یک جایگاه کوئوردیناسیون با یک مولکول آب اشغال شده است. جالب است که علیرغم اقدامات عظیمی که در دهه‌های گذشته برای درک مکانیسم‌های مولکولی مرتبط با آنزیم کربونیک انیدراز انجام شده است، مطالعه این خانواده بزرگ آنزیم‌ها هنوز ادامه دارد [۱۰].

۳. نقش احتمالی کربونیک انیدراز در کووید –۱۹

نقش احتمالی CA در کووید-۱۹ از مقایسه این بیماری و ادم ریوی در ارتفاع بالا (HAPE) ناشی شده است. کووید-۱۹ و HAPE دارای این عوارض مشترک مثل: کاهش نسبت اکسیژن شریانی، کاهش سطح دی‌اکسیدکربن، افزایش تاکی پنه (تند نفسی)، وجود هیپوکسی، سازش آلوئولار و سرانجام سندرم پریشانی حاد تنفسی (ARDS) که در بیماری‌های شدیدتر ایجاد می‌گردد، می‌باشد.

در بیماران مبتلا به کووید-۱۹، فشار نسبی دی اکسید کربن (PCO_2) در اکثر مراحل بحرانی به طور قابل توجهی افزایش نمی‌یابد. علاوه بر این، نسبت PO_2 شریانی و درصد اکسیژن الهام گرفته از بیمار، که معمولاً در ARDS زیاد است، اما در کووید -۱۹ تا زمانی که نارسایی حاد تنفسی رخ دهد کم است. همانطور که گفته شد، یک حالت هیپوکسیک سیستمیک در ۸۰ درصد بیماران بخش مراقبت‌های ویژه (ICU) با رعایت منظم بافت ریه مشاهده شده است.

هیپوکسی به معنای کاهش اکسیژن رسانی به بافت‌ها می‌باشد که منجر به تورم، آسیب بافتی و اختلال در تبادل اکسیژن و دی‌اکسیدکربن میان مویرگ‌ها و بافت‌ها می گردد [۱۱]. در شرایط هیپوکسی، بیان ایزوزیم‌های XII و CA IX افزایش می‌یابد. ایزوفرم IX یک پروتئین غشاء متعلق به خانواده CA است. دمین کاتالتیک ایزوزیم‌های CA IX که در سمت خارج سلولی قرار دارد، در فرآیند برداشت مولکول CO_2 و تبدیل آن به پروتون و بی‌کربنات نقش دارد [۱۲].



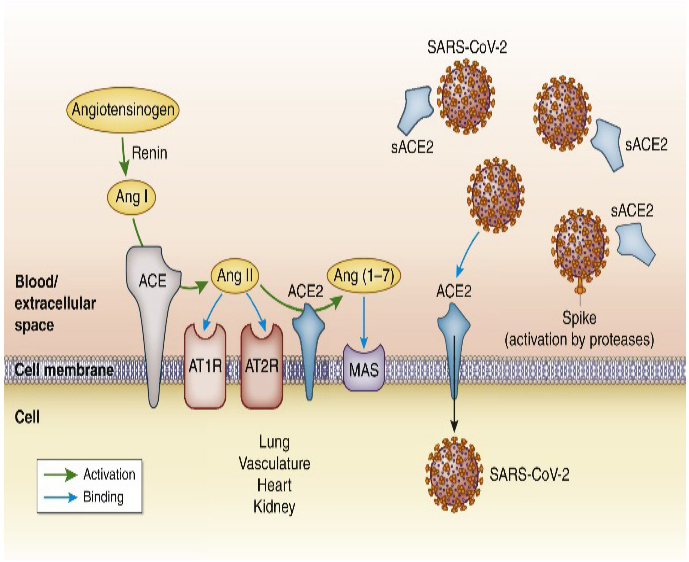
شکل۲. ساختار فضایی کربنیک انیدراز IX (CA IX)، این تصویر دمین‌های PG کاتالتیک (در سطح آنزیم)، ناحیه گذرنده از غشا(TM) و بخش درون سلولی (IC) نمایش داده شده است [۱۳].

شرایط هیپوکسی به عنوان عامل محرک در بیان برخی از ژن‌ها به واسطه فعال شدن کمپلکس HIF-1 می‌باشد. فاکتور۱-القا شونده هیپوکسی مولکول هترودیمری است که از دو زیر واحد HIF-1β و HIF-1α تشکیل شده است بیان آن به تدریج در شرایط هیپوکسی افزایش می‌یابد.

سرکوب رونویسی HIF-1 یا مهار فعالیت آن می‌تواند التهاب ناشی از کووید-۱۹را که در اندام‌های درگیر مانند ریه ایجاد می‌شود، کاهش دهد.

اتصال کمپلکس HIF-1α /HIF-1β به عناصر واکنش هیپوکسی (HREs) منجر به رونویسی ژن‌های ضروری مانند آنزیم‌های گلیکولیتیک، انتقال دهنده‌های گلوکز، اریتروپویتین و فاکتور رگ‌زایی فاکتور رشد اندوتلیال عروقی برای پاسخ سازگار در برابر هیپوکسی می‌شود. این مولکول‌ها با افزایش اکسیژن رسانی از طریق رگ‌زایی و القاء گلیکولیز بی‌هوازی، سلول را قادر می‌سازد تا از استرس هیپوکسیک جان سالم به در ببرد. علاوه بر این، HIF-1α بیان شده در شرایط هیپوکسیک، بیان CA IX را فعال می‌کند، که در تنظیم pH نقش دارد، همچنین بر ناقل گلوکز-۱، (GLUT-1) و VEGF که در رگ‌زایی نقش دارد، تأثیر می‌گذارد [۱۴]. آنزیم تبدیل کننده آنژیوتانسین (ACE) سیستم حساس به اکسیژن رنین-آنژیوتانسین (RAS) را تشکیل می‌دهد. در نورموکسی، RAS با تعادل پویا بین بیان ACE1 و ACE2 تنظیم می‌شود (شکل۳).

با این حال، تحت هیپوکسی مزمن، ACE1 توسط HIF-1در سلول‌های عضله صاف شریان ریوی انسان تنظیم می‌شود، در حالی که بیان ACE2 به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد [۱۵]. مطالعات زیست شناسی و رویکردهای بیوانفورماتیکی، نقش بیان همزمان ACE2، نپریلیسین یا متالواندوپپتیداز غشایی (MME) و کربنیک انیدرازها را در پاتوژنز SARS-CoV-2 نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که



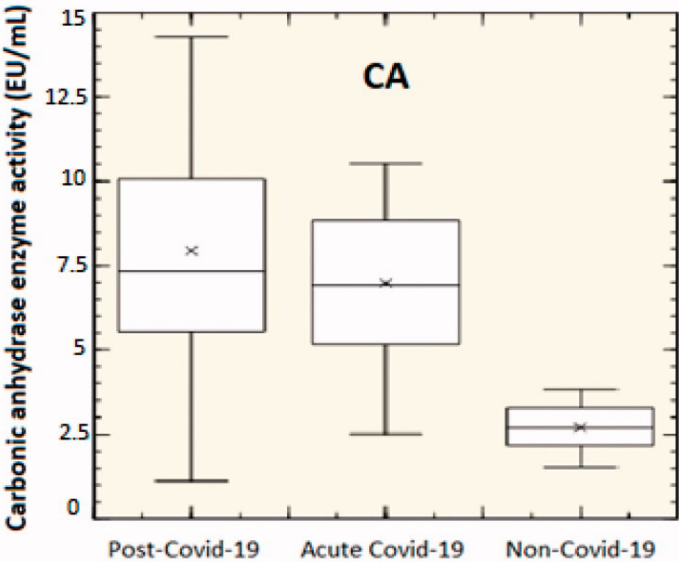
شکل۳. شماتیک سیستم رنین-آنژیوتانسین و نقش‌های احتمالی اتصال SARS-CoV-2 به ACE2 در کووید-۱۹.

ACE2، MME و CAs به طور قابل توجهی به RAS در پاتوژنز SARS-CoV-2 کمک می‌کنند.

بی نظمی در این مولکول‌های زیستی می‌تواند غلظت CO_2را در خون افزایش دهد و اسیدوز تنفسی، ادم ریوی و نارسایی قلبی و کلیوی را تحریک کند. بنابراین، سیستم (ACE2- کربنیک انیدراز-نپریلیسین) می‌تواند عامل مهمی در پاتوژنز SARS-CoV-2 باشد و ممکن است محققان را در یافتن استراتژی‌های درمانی بهتر برای مقابله با کووید-۱۹ تحریک کند [۱۶].

در یک مطالعه اولیه ۱۰۰ نفر از افرادی که در سه دسته بیماران حاد کووید -۱۹، پس از کووید-۱۹ و غیر کووید-۱۹ قرار داشتند جهت تعیین فعالیت آنزیم کربنیک انیدراز ، pH و بی‌کربنات مورد آزمایش‌های بالینی قرار گرفتند. سن همه این افراد ۱۸ سال به بالا بود. پس از بررسی، نتایج نشان داد که سطح فعالیت CA در خون بیماران کووید-۱۹ به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد. در اشخاص پس از کووید-۱۹ ، فعالیت CA بیشتر از بیماران حاد کووید-۱۹ بود (شکل۴).

فرض بر این شد که افزایش فعالیت CA اندازه گیری شده در بیماران کووید-۱۹می‌تواند پاسخ بدن به مازاد دی‌اکسیدکربن که باعث هایپرکاپنی یا هایپرکربیا می‌شود، بدهد. همچنین نشان داده شد که افزایش جزیی pH در بیماران حاد کووید-۱۹ ناشی از غلظت بیشتر بی‌کربنات نسبت به فشار پایین CO_2 باشد. CO_2 در بدن به سه شکل مختلف وجود دارد: محلول، متصل به بی‌کربنات یا کاربامات. سینتیک مبادله بین حالات بسیار مهم می‌شود و توسط عمل CA تنظیم می‌شود. هنگامی که غلظت گاز CO_2 از ۱۰ به ۵ درصد تغییر می‌یابد، CO_2 از کربوکسی هموگلوبین آزاد شده و به سرعت در خون حل می شود. به خوبی ثابت شده است که CA درون گلبول قرمز برای

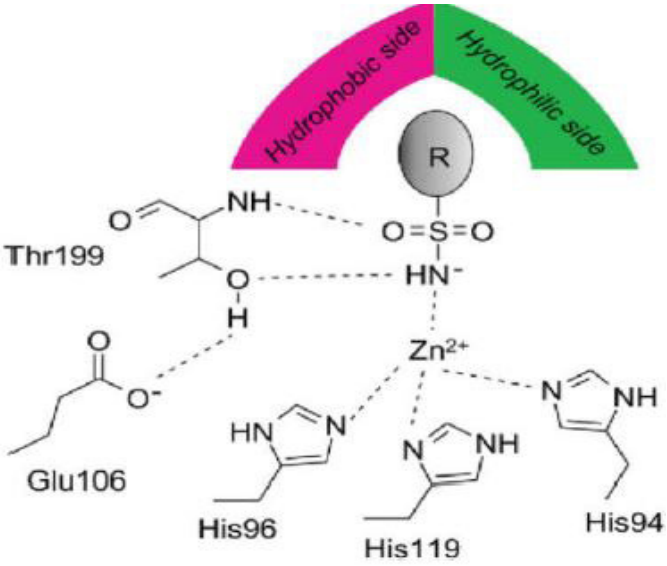


شکل٤. فعالیت آنزیم CA در خون ۴۷ بیمار پس از کووید-۱۹ (پس از عفونت علائم به مدت ۱۲ هفته ادامه می یابد). ۲۹ بیمار حاد کووید-۱۹(علائم بیماری تا ۴ هفته پس از شروع بیماری) و ۲۹ بیمار غیر کووید -۱۹ [۱۷].

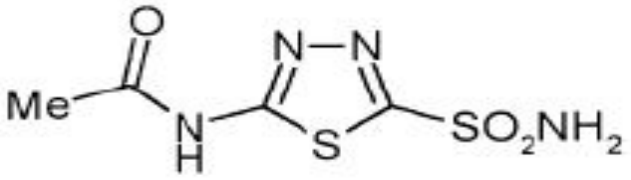
انتقال کارآمد CO_2 توسط خون ضروری است. بنابراین این امر ممکن است نشان دهد که استفاده از مهارکننده‌های کربنیک انیدراز می‌تواند در درمان بیماران مبتلا به کووید- ۱۹ با شرایط تنفسی جدی مهم و مفید باشد، زیرا باعث کاهش سطح فعالیت کربنیک انیدراز خون می‌شود. به آنزیم‌های سطح سلولی متفاوتی اتصال می‌یابد [۱۷].

۴. مهارکننده‌های آنزیم کربنیک انیدراز

مهارکنندگان کربنیک انیدراز شامل ترکیبات سولفونامیدی، آنیون‌ها و فنول‌هاست که در مطالعه ویژگی‌های مرکز فلزی و ارتباط بین ساختار و عملکرد این آنزیم بسیار مفید می‌باشند. سولفونامیدها و مشتقات آن‌ها مهارکننده‌های شناخته شده کربنیک انیدراز هستند. به طور کلی فرمول شیمیایی ترکیبات سولفونامیدی به صورت $R\text{-}SO_2NH_2$ می‌باشد و با ایجاد دو پیوند هیدروژنی با باقی مانده Thr-199 در آنزیم کربنیک انیدراز، از جمله قوی‌ترین ترکیبات مهار کننده این آنزیم به شمار می‌روند. ترکیبات سولفونامیدی از طریق میانکنش‌های آبگریز، هیدروژنی و واندروالسی بعنوان چهارمین جایگاه کئوردیناسیون به فلز روی آنزیم متصل می‌شوند و از طریق نیتروژن دپروتونه خود یک پیوند هیدروژنی با اکسیژن گامای زنجیر جانبی اسید آمینه Thr-199 تشکیل می‌دهند و جایگزین مولکول آب متصل به یون روی می‌شوند. یکی از اتم‌های اکسیژن بخش سولفونامیدی به عنوان پذیرنده عمل کرده و با گروه آمین (NH) اسید آمینه Thr-199 پیوند هیدروژنی تشکیل می‌دهد در حالی که اتم اکسیژن دیگر به سمت یون روی قرار می‌گیرد. نواحی هتروسیکلیک و آروماتیک مهارکننده با باقیمانده‌های آبدوست و آبگریز جایگاه فعال میانکنش می‌کنند (شکل۵) [۱۸].



شکل ۵. نمایش میانکنش‌های اصلی ترکیب سولفونامیدی در اتصال به جایگاه فعال آنزیم کربنیک انیدراز [۱۸].



شکل۶. ساختار مولکولی استازولامید.

از مهم‌ترین انواع این ترکیبات می‌توان به داروهایی نظیر سولفاتیازول (داروی ضد باکتری)، فوروزماید (داروی مدر)، ایندیزولام (داروی ضد سرطان) و ... اشاره نمود [۱۹]. از جمله مهارکننده‌های سولفونامیدی با اثرات دیورتیک استازولامید می‌باشد که با افزایش دفع بی‌کربنات و سدیم و جلوگیری از بازجذب بی‌کربنات، باعث دیورز می‌شود. استازولامید به طور قوی کربنیک انیدرازها را مهار می‌کند و نشان داده شده است که باعث افزایش pH سیتوزولی می‌شود.

علاوه بر این، در بیش از ۷۰ درصد از بیماران مبتلا به کووید-۱۹ سطح لاکتات دهیدروژناز افزایش یافته بود، که ممکن است با هیپوکسی نیز مرتبط باشد. استازولامید همچنین دارای اثرات دارویی در تأخیر در ظاهر شدن لاکتات پلاسما بدون تأثیر بر آستانه تنفس است. استازولامید جذب مجدد یون‌ها را مهار می‌کند و از این رو، با افزایش سطح بی‌کربنات خون، خون اسیدی می‌شود. این منجر به افزایش هوادهی جبرانی (تنفس کاسمال) با افزایش سطح اکسیژن خون و کاهش سطح دی اکسید کربن خون می‌شود. در نتیجه، درمان با استازولامید ممکن است شرایط مکانیسم تنفسی مربوط به کووید-۱۹ را با مکانیسم سازگار با درمان‌های مختلف قبلاً در نظر گرفته شده بهبود بخشد. این دارو به طور قوی انقباض عروقی ریوی هیپوکسیک را کاهش می‌دهد، تهویه مطلوب را بهبود می‌بخشد و ظرفیت حیاتی دیده شده در کوهنوردان مصرف‌کننده استازولامید را از بین می‌برد. استفاده از استازولامید که باعث افزایش هوادهی با افزایش سطح اکسیژن و کاهش سطح دی‌اکسیدکربن در خون می‌شود نیز پیشنهاد شد [۲۰].

۵. نتیجه‌گیری

کووید-۱۹ یک بیماری عفونی جدی و خطرناک است که علائم آن به صورت تب، سرفه و خستگی می‌باشد. این بیماری بیشتر از طریق قطرات تنفسی و تماس نزدیک منتقل می‌شود. این بیماری تهدید بزرگی برای بهداشت و ایمنی جهان محسوب می‌شود و باید به سرعت از شیوع و گسترش آن جلوگیری کرد. بیماران مبتلا به کووید-۱۹ممکن است وضعیت نامنظم اسید و باز را نشان دهند که احتمالاً تحت تأثیر فعالیت CA است، که در بیماران مبتلا به عفونت کووید-۱۹ بسیار افزایش می‌یابد. این حالت همچنین با افزایش خفیف pH خون، غلظت بیشتر HCO_3 و PCO_2 نسبتاً پایین پشتیبانی می‌شود. چندین درمان مانند توسیلیزوماب، یک آنتی‌بادی مونوکلونال گیرنده ضد IL-6 و دگزامتازون که یک داروی گلوکوکورتیکوئیدی برای مشکلات روماتیسمی، برای درمان بیماران کووید -۱۹ استفاده شده است. نکته جالب توجه این است که سیمکو و همکارانش نشان دادند که دگزامتازون بیان CA IX را از طریق مکانیسم وابسته به HIF-1α در مدل‌های سلولی دو بعدی و سه بعدی کاهش می‌دهد. پیشنهاد شد که اثر دگزامتازون بر بیان CA در شرایط کم هیپوکسی عمدتا با اختلال در رونویسی و کاهش سطح پروتئین عامل اصلی رونویسی هیپوکسیک HIF-1α انجام می‌شود. بنابراین، مهارکننده‌های کلاسیک (مانند استازولامید، متازولامید و غیره)، که فعالیت آنزیم را کاهش می‌دهند، می توانند یک درمان دارویی کمکی برای کووید-۱۹ محسوب شوند. مهارکننده‌های کربونیک انیدراز ها ممکن است یک رویکرد جایگزین منطقی برای تسکین بیماران مبتلا به کووید-۱۹ باشند، به ویژه برای شباهتی که این عفونت با HEPA نشان می‌دهد ، اما برای درک این افزایش فعالیت CA در بیماران مبتلا به کووید-۱۹ ، مطالعات بیشتری لازم است.

منابع

[1]. Kumar P, Supratik O, Jillella K, Krishna G, Roy K, Leszczynski J. Therapeutics for COVID - 19 : from computation to practices — where we are , where we are heading to [Internet]. Molecular Diversity. Springer International Publishing; 2020. Available from: https://doi.org/10.1007/s11030-020-10134-x

[2] Senger MR, Evangelista TCS, Dantas RF, Santana MV da S, Gonçalves LCS, Neto LR de S, et al. COVID-19: Molecular targets, drug repurposing and new avenues for drug discovery. Vol. 115, Memorias do Instituto Oswaldo Cruz. 2020. 1–32 p.

[3] Li Y, Bai W, Hashikawa T. The neuroinvasive potential of SARS - CoV2 may play a role in the respiratory failure of COVID - 19 patients. J Med Virol. 2020;(February):552–5.

[4] Bourgonje AR, Timens W, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), SARS-CoV-2 and the pathophysiology of coronavirus disease 2019 (COVID-19). J Pathol 2020;251:228- 48.

[5] Shahriarirad R, Khodamoradi Z, Erfani A, Hosseinpour H, Ranjbar K, Emami Y, et al. Epidemiological and clinical features of 2019 novel coronavirus diseases (COVID-19) in the South of Iran. BMC Infect Dis. 2020;https://do:1–12.

[6] Abdel Aziz, A., El Azaba, A., Ghiatyc, A., Gratterid, P., and Supuran, C. T. 4-Substituted benzenesulfonamides featuring cyclic imides moieties exhibit potent and isoform-selective carbonic anhydrase II/IX inhibition, Bioorg. Chem. 37 (2018) 433-438.

[7] Supuran, C.T. Carbonic anhydrases: from biomedical applications of the inhibitors and activators to biotechnologic use for CO2 capture, J. Enzyme Inhib. Med. Chem. 27 (2013) 229-230..

[8] Supuran, C. T. Carbonic anhydrases: novel therapeutic applications for inhibitors and activators, Nat. Rev. Drug Discov.7 (2008) 168-181.

[9] Kandeel M, Ibrahim A, Fayez M, Nazawi M Al. From SARS and MERS CoVs to SARS-CoV-2 : Moving toward more biased codon usage in viral structural and nonstructural genes. J Med Virol. 2020;(February).

[10] Singh, S., Lomelino, C.L., Mboge, M.Y., Frost, S.C. and McKenna, R. Cancer Drug Development of Carbonic Anhydrase Inhibitors beyond the Active Site, Molecules 23 (2018) 1-22.

[11] Cavezzi A, Troiani E, Corrao S. COVID-19: hemoglobin, iron,and hypoxia beyond inflammation. A narrative review. Clin Pract 2020;10:1271.

[12] Alterio,V., Di Fiore, A., D'Ambrosio, K. and Supuran, C. T. Multiple Binding Modes of Inhibitors to Carbonic Anhydrases: How to Design Specific Drugs Targeting 15 Different Isoform?, Chem. Rev.14 (2011) 1770-1777.

[13] Supuran, C.T. and Nocentini, A. Carbonic Anhydrases, 1st Ed, Elsevier, New York,2019.

[14] Ledaki, I., McIntyre, A., Wigfield, S., Buffa, F., McGowan, S., Baban, D., Li, J.L. and Harris, A.L. Carbonic anhydrase IX induction defines a heterogeneous cancer cell response to hypoxia and mediates stem cell-like properties and sensitivity to HDAC inhibition, Oncotarget 6 (2015) 19413-19427.

[15] Iwasaki K, Yabushita H, Ueno T, Wakatsuki A. Role of hypoxia-inducible factor-1a, carbonic anhydrase-IX, glucose transporter-1 and vascular endothelial growth factor associated with lymph node metastasis and recurrence in patients with locally advanced cervical cancer. Oncol Lett 2015;10:1970–8..

[16] Zolfaghari Emameh R, Falak R, Bahreini E. Application of system biology to explore the association of neprilysin, angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), and carbonic anhydrase(CA) in pathogenesis of SARS-CoV-2. Biol Proced Online9–22:1;2020 .

[17] Supuran, C. T. Is carbonic anhydrase inhibition useful as a complementary therapy of Covid-19 infection?, Nat. Rev. Drug Discov. 2021, VOL. 36, NO. 1, 1230–1235.

[18] Samaee H, Mohsenzadegan M, Ala S, Maroufi SS, Moradimajd P. Tocilizumab for treatment patients with COVID-19: Recommended medication for novel disease. Int Immunopharmacol. 2020;89(September).

[19] Mohammadzade , N. Handbook of drugs and medicine for families, 2nd Ed., Mazayer Publishing Co, Tehran, 2001.

[20] Solaimanzadeh I. Acetazolamide, nifedipine and phosphodiesterase inhibitors: rationale for their utilization as adjunctive countermeasures in the treatment of coronavirus disease2019 (COVID-19). Cureus 2020;12:e7343.

گزارش

درآمدی بر نانوکپسولاسیون ترکیبات زیست فعال

ریحانه حسینی

دانشجوی کارشناسی زیست‌فناوری، دانشگاه ملایر، همدان

چکیده

علوم و فناوری نانو در قرن اخیر مرزهای جدیدی را گشوده اند و به دلیل کاربرد وسیع آن‌ها در زمینه‌های مختلف بسیار اهمیت پیدا کرده‌اند. نانو فناوری دارویی و غذایی یکی از تکنولوژی‌های نوظهور است که قابلیت‌های بسیاری در نوآوری، تولید و فرآیند محصولات دارویی و غذایی دارد. تحقیق و پژوهش‌های بسیاری در زمینه کاربرد فناوری نانو در صنعت منتشر شده است که بخشی از آن‌ها به نانوکپسولاسیون ترکیبات دارویی و غذایی پرداخته‌اند. در اینجا به طور خلاصه فناوری نانو، نانوکپسولاسیون، مواد و روش‌های مختلف نانوکپسولاسیون ونانولیپوزوم‌ها را معرفی می‌کنیم.

کلمات کلیدی: ترکیبات زیست فعال، نانوکپسولاسیون، نانولیپوزوم

۱. مقدمه

واژه‌ی نانو به بزرگی 10^{-9} اطلاق می‌شود. نانوتکنولوژی در علوم مختلف به تولید، فرآوری و استفاده از موادی با اندازه کمتر از ۱۰۰۰ نانومتر می‌پردازد. کاهش اندازه ذره تا مقیاس نانو، نسبت سطح به حجم را افزایش می‌دهد که به دنبال آن همراه با تغییر ویژگی‌های مکانیکی، الکتریکی و بصری، واکنش‌پذیری را نیز چند برابر افزایش می‌دهد. این ویژگی‌ها به ما امکان می‌دهد در زمینه‌های مختلفی از نانو مواد استفاده کنیم. در دهه‌های گذشته، تحقیقات در زمینه فناوری نانو، به طور چشمگیری افزایش داشته و شرکت‌های بی‌شماری هستند که در ساخت شکل‌های جدید مواد نانو با کاربرد مورد نظر در زمینه‌های درمان پزشکی، تشخیص و تولید انرژی، محاسبات مولکولی و مواد ساختاری فعالیت می‌کنند. پژوهش‌های بسیاری بر روی کنترل ریخت‌شناسی، ترکیب و اندازه مواد نانو تمرکز کرده‌اند تا بتوانند ویژگی‌های فیزیکی خاص و مطلوب خود را از مواد تولید شده به دست آورند.

فناوری نانو را می‌توان برای تمام مراحل چرخه غذا از کشت مواد اولیه تا مصرف مشتری و همینطور صنایع دارویی از تولید تا مصرف به کار ببریم. فناوری نانو فرصت‌های جدیدی را برای نوآوری با سرعت بالا در اختیار صنایع دارویی و غذایی قرار داده است. از کاربردهای این تکنولوژی می‌توان به قرار دادن نانوذرات یا نانوساختارها در غذا و تولید غذاداروها اشاره کرد.

در حال حاضر، بازار محصولات فناوری نانو برای صنایع دارویی و غذایی، یک میلیارد دلار آمریکا برآورد شده است که بیشتر این بازار را محصولات کپسوله شده‌ی غذایی، بسته بندی‌ها، محصولات سلامتی محور و نوشیدنی‌های غذا دارویی تشکیل می‌دهند. پیش‌بینی می‌شود حجم مالی این بازار در دهه‌ی پیش رو تا ۲۰ میلیارد دلار آمریکا افزایش یابد. به طور خلاصه، از مهم‌ترین کاربردهای فناوری نانو در صنایع دارویی و غذایی می‌توان به موارد ذیل اشاره کرد:

۱. استفاده از نانوکامپوزیت‌ها در تولید بسته‌بندی‌های غذایی: به منظور جلوگیری از نفوذ عوامل خارجی و محافظت میکروبی

۲. تولید نانوحسگرهای زیستی: برای تشخیص آلودگی و تشخیص تغییر کیفیت دارو و غذاها در مدت تولید تا مصرف بیمار یا مشتری

۳. نانوکپسولاسیون یا حامل‌های نانو: برای ارسال کنترل شده‌ی غذا – داروها، با این روش می‌توان هزاران نانوکپسول حاوی ریز مغذی‌ها، طعم‌دهنده یا رنگ‌دهنده در محصول قرار داد که در زمان‌های خاصی آزاد شوند.

۲. سیستم‌های انتقال دهنده لیپیدی

سیستم انتقال لیپیدی می‌تواند مواد را با درجه‌های مختلف انحلال‌پذیری پوشش دهد و در مقیاس صنعتی نیز قابل تولید است.

این سیستم‌ها در مقابل تغییر شکل از ترکیبات زیست فعال محافظت می‌کنند و کارایی این ترکیبات را افزایش می‌دهند و علاوه بر آن باعث کاهش سمیت می‌شوند. این نانوحامل‌های لیپیدی همچنین توانایی انتقال هدفمند در بدن را دارند. سیستم‌های انتقال می‌توانند به مواد محلول در آب ثبات ببخشند.

۲. ۱. نانولیپوزوم‌ها

لیپوزوم‌ها وزیکول‌های میکروسکوپی هستند که متشکل از دو لایه فسفولیپیدی هستند که یک محیط آبی را در بر می‌گیرند. از لیپوزوم‌ها در کپسولاسیون ترکیبات زیادی استفاده می‌شود.

لیپوزوم‌ها دارای دو فاز آبی و لیپیدی هستند به همین دلیل می‌توانیم از آن‌ها برای کپسولاسیون مواد محلول در آب و مواد محلول در لیپید استفاده کنیم. لیپوزوم‌ها بر اساس تعداد لایه به دسته‌های تک لاملا و چند لاملا و چند وزیکولی دسته‌بندی می‌شوند.

که چند لاملا و چند وزیکولی برای به دام انداختن مواد محلول در لیپید مناسب‌تر هستند اما تک لاملا برای مواد محلول در آب مناسب‌تر است. نانولیپوزوم‌ها در واقع لیپوزوم‌هایی در ابعاد نانو هستند و بیشتر برای کپسولاسیون استفاده می‌شوند. نانولیپوزوم‌ها باید بتوانند ابعاد نانو و پایداری مواد را در مدت نگهداری و تا پایان دوره مصرف‌شان حفظ کنند.

۲. ۲. نانوحامل‌های لیپیدی

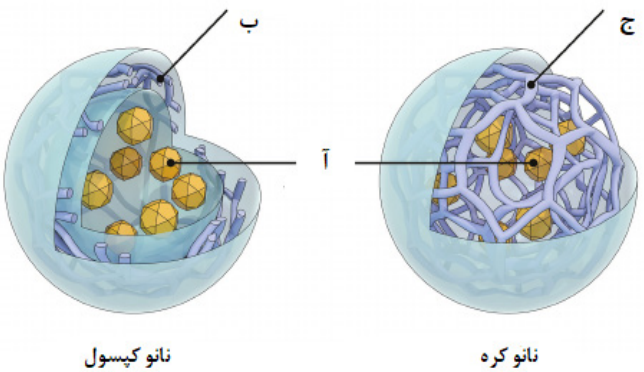
نانوحامل‌های لیپیدی، حامل‌های کلوییدی می‌باشند که متشکل از هسته لیپیدی هستند.

این هسته لیپیدی شامل مخلوطی از لیپیدهای جامد و مایع می‌باشند. این حامل‌ها ماتریس لیپیدی با ساختار خاصی دارند که با کنترل لیپید مایع افزوده شده به فرمولاسین آن باز هم به حالت جامد باقی می‌مانند.

این دسته از نانوحامل‌ها در صنایع دارویی استفاده زیادی دارند. از جمله مزیت‌های آن‌ها کاهش دفع دارو و افزایش پایداری شیمیایی نانوداروهاست. سورفاکتانت‌ها نقش مهمی در تشکیل حامل‌های لیپید نانوساختار دارند. این حامل‌ها همچنین به روش‌هایی مانند میکروامولاسیون و رسوب دهی و... نیز تولید می‌شوند.

۳. نانوکپسولاسیون

نانوکپسولاسیون برای محافظت از ترکیبات زیست فعال (پلی فنول‌ها، ریزمغذی‌ها، آنزیم‌ها، آنتی‌اکسیدان‌ها و غذا داروها) در برابر عوامل مختلف محیطی و همچنین برای آزادسازی کنترل شده در محل هدف انجام می‌شود. آزادسازی کنترل شده و هدفمند، اثربخشی ماده‌ی دارویی یا مغذی را ارتقا می‌دهد به این معنا که ماده‌ی دارویی در وقت مناسب با اندازه‌ی مناسب در بدن فرد آزاد می‌شود. پس از بیان ساده اکنون به بیانی علمی از نانوکپسول‌ها می‌پردازیم. نانوکپسول‌ها سیستم‌های وزیکولی هستند که در آن‌ها ترکیبات زیست فعال در حفره‌ای که با غشای پلیمری مخصوص احاطه شده، قرار گرفته‌اند. نانوکره‌ها نیز سیستم‌های ماتریسی هستند که ترکیبات زیست فعال در آن‌ها به طور یکسان پراکنده شده‌اند. برای درک بهتر این دو مفهوم می‌توان به شکل ۱ توجه کرد.



شکل ۱. شماتیک نانوکپسول و نانوکره (آ-ریز مغذی، ب-دیواره، ج-ماتریس)

انتقال هر ترکیب زیست فعال به قسمت‌های مختلف بدن مستقیماً تحت تاثیر اندازه ذرات قرار دارد. کاهش اندازه کپسول‌ها به مقیاس نانو این فرصت را ایجاد می‌کند که زمان جذب ماده در دستگاه گوارشی به دلیل چسبندگی زیستی مخاط پوشاننده بافت پوششی روده، افزایش یابد. علاوه بر این، تنظیم ویژگی‌های سطح کپسول‌ها می‌تواند انتقال ترکیبات به بافت هدف را بهبود دهد. نانوکپسولاسیون هدفگیری دقیق‌تری نسبت به میکروکپسولاسیون دارد.

سیستم‌های نانوکپسولاسیون علاوه بر بهبود دادن زیست دسترسی، فواید زیادی از جمله کنترل آسان، مقاومت بیشتر، محافظت در مقابل اکسیداسیون، نگهداری مواد ترکیبی ناپایدار، پوشاندن مزه، آزادسازی کنترل شده ی فعال با رطوبت، آزادسازی کنترل شده‌ی فعال با pH، انتقال مداوم ترکیبات فعال چندگانه، تغییر ویژگی طعم و بو، و ادراک حسی طولانی مدت دارند.

۴. مواد مورد استفاده در نانوکپسولاسیون

به غذا داروهای مقیاس نانو به دلیل اندازه‌ای که دارند نانوسوتیکال گفته می‌شود و به حامل‌ها، ریز حامل گفته می‌گویند. غذا داروها را می‌توان بر اساس محلول بودن آن‌ها در آب به صورت چربی دوست و آب دوست طبقه‌بندی کرد. ترکیبات آب دوست در آب حل می‌شوند اما در چربی و حلال‌های آلی نامحلول باقی می‌مانند. از غذا داروهای آبدوست قرار گرفته در پوشش نانو می‌توان به اسید اسکوربیک، و پلی‌فنول اشاره کرد. ترکیبات چربی دوست در آب نامحلول‌ند اما در چربی و حلال‌های آلی حل می‌شوند. از غذا داروهای چربی‌دوست در پوشش نانو می‌توان به لیکوپن، بتاکاروتن، لوتئین، فیتوسترول‌ها و دوکوزاهگزانوئیک اسید (DHA) اشاره کرد.

برای تولید نانوکپسول اغلب از کپسول‌های پایه لیپیدی یا پایه پلیمری تجزیه‌پذیر استفاده می‌شود. در این سیستم‌ها به طور گسترده از نانو امولسیون‌ها (امولسیون با ذرات نانو)، لیپوزوم‌های نانو (نانولیپوزوم‌ها)، نانوذرات چربی جامد و حامل‌های لیپیدی نانو ساختار استفاده می‌شود که در صنایع دارویی، بهداشتی و غذایی کاربرد دارند. پلیمرهای طبیعی چون آلبومین، ژلاتین، آلژینات، کلاژن، کیتوزان و آلفا-لاکتالبومین نیز در فرمول سیستم‌های انتقال‌دهنده نانو استفاده می‌شوند. از دهه‌ی گذشته همواره شاهد رشد روز افزون تولید سیستم‌های نانوحامل‌ها هستیم، به عنوان مثال از پروتئین آب پنیر به عنوان نانوحامل در سیستم‌های انتقال مواد معدنی و ویتامین‌ها استفاده‌های فراوانی شده است.

۵. روش‌های نانوکپسولاسیون

روش‌های مورد استفاده در نانوکپسولاسیون پیچیده‌تر از روش‌های مورد استفاده در میکروکپسولاسیون هستند. این پیچیدگی بیشتر به خاطر مشکلاتی است که در تعیین ویژگی‌های ریخت‌شناسی کپسول، مواد هسته و کنترل سرعت آزادسازی مواد از نانوکپسول‌ها وجود دارد.

در روش‌های نانوکپسولاسیون از دو رویکرد بالا به پایین یا پایین به بالا برای ایجاد نانوماده استفاده می‌شود. رویکرد بالا به پایین شامل استفاده از ابزارهای دقیق می‌شود که با کاهش اندازه و شکل‌پذیری، ساختار را برای کاربرد مطلوب نانومواد فراهم می‌کنند. در رویکرد پایین به بالا، مواد از طریق خود گرد همآیی و خود سازماندهی مولکول‌ها ساخته می‌شوند که این رویکرد تحت تاثیر عوامل زیادی از جمله pH، دما، غلظت و قدرت یونی قرار دارد. از روش‌هایی چون امولسیون‌سازی و تبخیر امولسیون-حلال در رویکرد بالا به پایین استفاده می‌شود. روش‌های سیال فوق بحرانی، وارد کردن کمپلکس، کوآسرواسیون و

رسوب‌دهی نانوذرات نیز در رویکرد پایین به بالا استفاده می‌شوند.

روش‌های نانوکپسولاسیون را می‌توان برای کپسولاسیون ترکیبات زیست فعال آب دوست و چربی دوست مختلف استفاده کرد. امولسیون‌سازی، کوآسرواسیون، و روش سیال فوق بحرانی برای کپسولاسیون ترکیبات آبدوست و چربی‌دوست استفاده می‌شود. روش‌های وارد کردن کمپلکس، تبخیر امولسیون-حلال و رسوبدهی نانوذرات بیشتر برای ترکیبات چربی دوست استفاده می‌شوند.

۶. بررسی نانوکپسول‌ها

لازم است برای درک بهتر فواید و مضرات بالقوه نانوذرات در سیستم‌های بیولوژیکی، مشخصات کامل و دقیق نانوذرات مشخص شود. تعیین ویژگی‌های نانوذرات شامل وضعیت تهاجمی، پراکندگی، قدرت جذب، ساختار و شکل می‌باشد. به منظور مطالعه‌ی این ویژگی‌ها می‌توان از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)، میکروسکوپ روبشی الکترونی (SEM)، میکروسکوپ الکترونی عبوری با وضوح بالا (HR-TEM) و میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) بهره گرفت. برخی از محققان معیارهای سنجش ویژگی‌های نانوذرات را با استفاده از روش‌های تحلیلی مختلفی چون میکروسکوپ، کروماتوگرافی، طیف سنجی، سانتریفیوژ و فیلتراسیون مورد بررسی قرار داده‌اند.

۷. نتیجه‌گیری

سیستم‌های رهایش نانو ذرات لیپیدی و نانوکپسولاسیون یکی از بهترین روش‌ها برای افزایش پایداری محسوب می‌شوند. این سیستم‌ها بطور خاصی برای صنایع غذایی مناسب هستند، زیرا لیپیدهای خوراکی بطور فراوان در این صنعت استفاده می‌شوند. در طول دهه گذشته تلاش‌های زیادی برای طراحی و تولید سیستم‌های رهایش لیپیدی انجام گرفته و پیشرفت زیادی نیز داشته است. اکنون اصول طراحی کاملاً روشن است اما لازم است تا مطالعات بیشتری انجام شود تا تاثیرات بیولوژیکی و زیست دسترسی ترکیبات زیست فعال انکپسوله شده در بدن مشخص شود. استفاده از سیستم‌های لیپیدی در محصولات غذایی و نانوکپسولاسیون و تاثیر آن‌ها بر روی سلامت انسان هنوز نیاز به تحقیقات بیشتری دارد.

منابع

[1] Fellows PJ (1998) Food processing technology-Principles and practice. Woodhead Publishing Limited, Cambridge.

[2] Mozafari MR, Fathi M, Mohebbi M (2012) Nanoencapsulation of food ingredients using lipid based delivery system. Trends Food Sci Tech 23(1):13–27.

[3] New RRC (1990) Introduction. In Liposomes: A Practical Approach, Oxford University Press, New York, USA.

[4] Aditya NP, Shim M, Inae L, Lee YJ, Im M-H, Ko S (2013) Curcumin and genistein co-loaded nanostructured lipid carriers: in vitro digestion and anti-prostate cancer activity J Agric Food Chem 61(8): 1878–1883.

[5] Alexander M, Lopez AA, Fang Y, Corredig M (2012) Incorporation of phytosterols in soy phospholipids nanoliposomes: Encapsulation efficiency and stability. LWT – Food Sci Technol436–427:(2)47 .

[6] Bangham AD, Standish MM, Watkins JC (1965) Diffusion of Univalent Ions across the Lamellae of Swollen Phospholipids. J Mol Biol 13(1):238–252.

[7] Berger N, Sachse A, Bender J, Schubert R, Brandl M (2001) Filter extrusion of liposomes using different devices: comparison of liposome size, encapsulation efficiency, and process characteristics. Int J Pharmaceut 223(1):55–68.

مقاله

مروری بر کاربرد نانومواد در مهندسی بافت و پزشکی بازساختی

مرضیه دهقانی

دانشجوی دکتری بیوفیزیک، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

چکیده

با توجه به مشکلات بسیار زیادی که در پیوند بافت و اندام وجود دارد؛ مهندسی بافت و پزشکی بازساختی به‌عنوان یک زمینه علمی چند رشته‌ای به‌سرعت در حال رشد و توسعه است. این علم، از ادغام زیست‌شناسی و مهندسی مواد برای ساخت و توسعه ساختارهای مصنوعی که بسیار شبیه بافت و ارگان موردنظر است؛ استفاده می‌کند. در سال‌های اخیر، پیشرفت در سنتز نانو مواد مختلف، تأثیر بسزایی در مهندسی بافت و پزشکی بازساختی داشته است. درواقع، انتخاب نانو مواد مناسب برای کاربردهای مختلف مهندسی بافت به دلیل ناهمگن بودن بافت‌های بدن انسان بسیار ضروری است. در این مقاله مروری به بررسی انواع، ویژگی‌ها، سمیت و کاربرد نانو مواد در مهندسی بافت عصبی، دندان، استخوان و پوست پرداخته‌شده است.

کلمات کلیدی: نانو مواد، مهندسی بافت، پزشکی بازساختی

۱. مقدمه

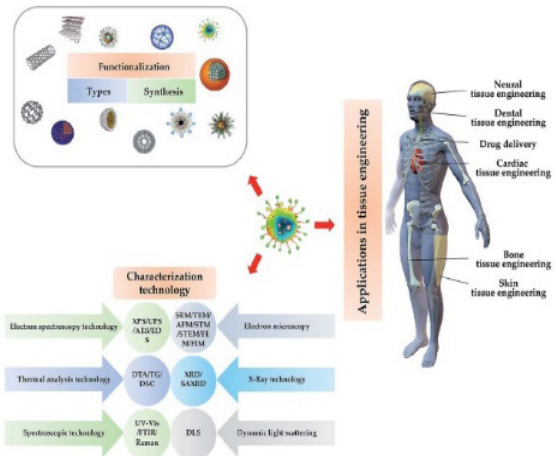
مهندسی بافت، یکی از زمینه‌های مهم پزشکی بازساختی است که هدف آن ساخت و توسعه ساختارهایی است که به کمک این ساختارها می‌توان بافت و اندام‌ها را ترمیم، تقویت و نگهداری کرد [۱] . مهندسی بافت با چالش‌های بسیار زیادی روبه‌رو است. یک چالش بسیار مهم این است که مواد مهندسی‌شده باید ویژگی‌های طبیعی بافت موردنظر را داشته باشند. فناوری نانو از طریق نانو ذرات مهندسی‌شده امکان حل این چالش را دارد [۲]. نانو مواد به علت ابعاد نانومتری خود، خصوصیات شیمیایی و فیزیکی منحصربه‌فردی را ایجاد می‌کنند که عملکرد آن‌ها را افزایش می‌دهد و بنابراین آن‌ها را برای طیف گسترده‌ای از کاربردها مناسب می‌سازد [۳]. نانو ذرات گروه بزرگی از نانو مواد می‌باشند. از نانوذرات در زیست-پزشکی به‌منظور تحویل هدفمند دارو [۴]، تصویربرداری پزشکی [۵]، تحویل ژن [۶]، مهندسی بافت [۷] و غیره استفاده می‌شود. علاوه بر این، در بسیاری از روش‌های درمانی از نانو ذرات برای درمان سرطان، دیابت، آلرژی، عفونت و التهاب استفاده می‌شود [۸-۱۲].

به‌منظور بهبود عملکرد مکانیکی و بیولوژیکی در مهندسی بافت، اخیراً از نانو مواد استفاده شده است. به‌عنوان‌مثال، ویژگی‌های سطح و رسانایی نانو ذرات طلا، خواص ضد میکروبی نانو ذرات نقره و سایر نانو ذرات فلزی و اکسیدهای فلزی، ویژگی‌های فلورسانس نقاط کوانتومی، ویژگی‌های الکترومکانیکی نانولوله‌های کربنی، موجب شده است که از این نانو مواد در مهندسی بافت بسیار استفاده شود.

علاوه بر این، از نانو ذرات مغناطیسی در تحویل ژن و ساخت بافت‌های سه‌بعدی پیچیده استفاده‌شده است. مزیت استفاده از نانو ذرات در مهندسی بافت مربوط به‌اندازه کوچک و نسبت سطح به حجم بالا آن‌ها می‌باشد. همچنین، نانو ذرات به‌راحتی در غشاءها پخش‌شده و توسط سلول‌ها جذب می‌شوند. نانو ذرات را می‌توان در شکل‌ها و اندازه‌های مختلف سنتز کرد و آن‌ها را در زمینه‌های مختلف مهندسی بافت به کار گرفت. همچنین نانو ذرات به دلیل ابعاد نانومتری خود می‌توانند؛ نقش و عملکرد اجزای نانومتری موجود در ماتریکس خارج سلولی را تقلید کنند [۱۳].

به‌طورکلی، با در نظر گرفتن کاربردهای گسترده نانو مواد در مهندسی بافت، الزامات اساسی برای استفاده از نانو مواد شامل زیست تجزیه‌پذیری، زیست سازگاری، اتصال زیستی، ساخت آسان و هزینه تولید پایین می‌باشد.

در این مقاله مروری به بررسی انواع، ویژگی‌ها و سمیت نانو مواد مورداستفاده در مهندسی بافت پرداخته‌شده است. همچنین کاربرد نانو مواد در مهندسی بافت استخوان،



شکل ۱. انواع، خصوصیات سنتز و کاربرد نانو مواد در مهندسی بافت [۱۴].

پوست، عصب و دندان به‌طور خلاصه بیان‌شده است. شکل ۱، تصویری شماتیک از انواع، خصوصیات سنتز و کاربرد نانو مواد در مهندسی بافت را نشان می‌دهد [۱۴].

۲. انواع، ویژگی‌ها و سمیت نانومواد

نانو مواد عموماً با استفاده از عوامل مختلف مانند فلزات، پلیمرها، سرامیک‌ها و غیره سنتز می‌شوند. به‌طورکلی، روش‌های سنتز نانو مواد شامل سه روش شیمیایی، فیزیکی و زیستی می‌باشد.

درواقع، با پیشرفت علم و فناوری، این روش‌ها به‌طور مداوم به‌روز خواهند شد. علاوه بر این، بسیاری از عوامل مانند زیست سازگاری، زیست تجزیه‌پذیری، خواص فیزیکی و شیمیایی، سمیت، اندازه و توزیع بار سطحی نانو ذرات باید موردتوجه قرار بگیرد [۱۴].

۲. ۱. انواع نانوذرات

۲. ۱. ۱. نانوذرات پلیمری

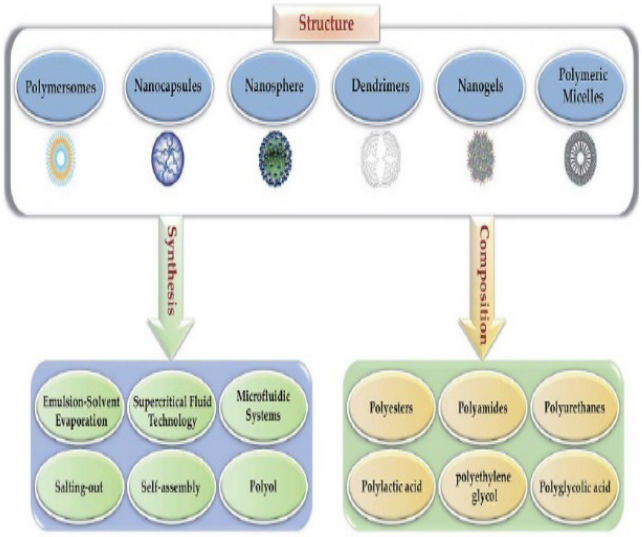
در سال‌های اخیر، نانو ذرات پلیمری به دلیل ویژگی‌هایی مثل سمیت پایین، زیست‌سازگاری خوب، رهایش کنترل‌شده دارو، حفظ فعالیت و جلوگیری از تخریب آنزیم‌ها، توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند. به‌طورکلی، ترکیبات و روش‌های سنتزی خاص، نانو ساختارهای پلیمری منحصربه‌فردی را ایجاد می‌کنند. این ترکیبات، روش‌ها و نانوساختارها در شکل ۲ به نمایش درآمده است.

به‌طورمعمول، پلی‌اتیلن گلیکول، با یک زنجیره پلیمری انعطاف‌پذیر بسیار هیدراته، زیست سازگار، غیر ایمونوژنیک و غیر سمی است. پلی‌اتیلن گلیکول، نیمه‌عمر گردش دارو در بدن را افزایش می‌دهد. علاوه بر این، از استرهای پلی‌اتیلن گلیکول، برای بهبود فارماکوکینتیک نانو ساختارها

استفاده می‌شود [۱۵]. همچنین، از نانو ذرات پلیمری طبیعی، ازجمله آلبومین، پلی‌ساکاریدها، کیتوزان و هپارین، به‌منظور تحویل الیگونوکلئوتیدها، پروتئین‌ها، داروها و DNA استفاده می‌شود [۱۶]. انواع متداول نانو ذرات پلیمری شامل نانو سفرها، نانو ژل‌ها، پلیمرزوم‌ها، میسل‌های پلیمری، دندریمرها، نانوکپسول‌ها و غیره می‌باشد. انتخاب انواع مختلف نانو ذرات پلیمری، بستگی به ترکیب، اندازه، شکل، عملکرد، خواص فیزیکی و شیمیایی و هدف کاربرد آن‌ها دارد. به‌منظور دستیابی به عملکرد مناسب نانو ذرات پلیمری، محققان مواد پلیمری متنوعی را کشف و یا سنتز کردند. ازجمله این مواد پلیمری سنتزی می‌توان به پلیمرهایی همچون پلی لاکتیک اسید، پلی آمید، پلی کپرولاکتون پلی استر، پلی انیدرید، پلی گلیکولید اسید، پلی اورتان، پلی لاکتیک کو گلیکولیک اسید و غیره اشاره کرد که همه این پلیمرها از زیست سازگاری بالایی برخوردار می‌باشند [۱۷].

کلاژن یک پلیمر طبیعی است. در سال‌های اخیر، محققان دریافتند که کلاژن نقش بسیار مهمی در انتقال مولکول‌های فعال زیستی و اجزای سلولی برای ترمیم و بازسازی میوکارد دارد؛ بنابراین، کلاژن می‌تواند به‌عنوان یک حامل دارویی عالی به‌منظور بازسازی میوکارد عمل کند. همچنین می‌توان از کلاژن در ترمیم پوست آسیب‌دیده ناشی از زخم یا سوختگی استفاده کرد [۱۸].

پلی لاکتیک کو گلیکولیک اسید یا PLGA نیز یک پلیمر مصنوعی باقابلیت زیست‌سازگاری و زیست تجزیه‌پذیری خوب است. می‌توان از این پلیمر مصنوعی برای بارگیری انواع مختلف داروها مانند داروهای آب‌دوست یا آب‌گریز، داروهای کوچک یا بزرگ استفاده کرد. از PLGA به‌عنوان داربست در مهندسی بافت و پزشکی بازساختی نیز استفاده می‌شود. در سال‌های اخیر، از داربست PLGA به‌منظور



شکل ۲. نانو ذرات پلیمری مختلف بر اساس ترکیب، روش سنتز و ساختار [۱۴].

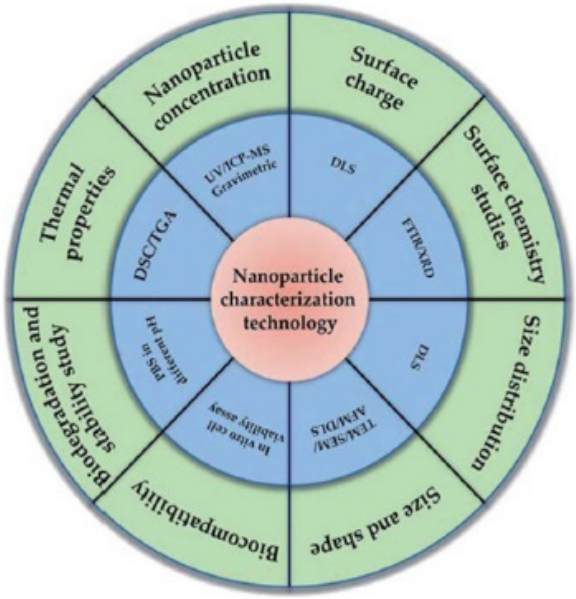
ترمیم بافت‌های استخوان، کبد، عصب، پوست و عروق خونی استفاده‌شده است [۱۹].

۲. ۱. ۲. نانوذرات فلزی

نانو ذرات مبتنی بر فلز شامل نانو ذرات فلزی، نانو ذرات اکسید فلزی و نانو ذرات مغناطیسی می‌باشد. نانو ذرات فلزی دارای خواص ضد میکروبی منحصربه‌فرد، فعالیت کاتالیزوری، خواص مکانیکی و رسانایی الکتریکی هستند. همه این ویژگی‌ها، آن‌ها را برای کاربردهای مهندسی بافت بسیار مناسب می‌سازد [۲۰]. به‌عنوان‌مثال، نانو ذرات طلا به دلایل بهره‌مندی از زیست‌سازگاری خوب و سنتز آسان به‌طور گسترده در تشخیص و درمان سرطان‌ها و تحویل هدفمند دارو استفاده می‌شوند. به‌طور مثال پژوهش Zhang و همکاران نشان داد که نانو ذرات طلا سنتز شده با قطر حدود ۲۰ نانومتر، خاصیت بازدارنده رگ‌زایی دارند و رشد تومورهای تخمدان و پانکراس را سرکوب می‌کنند [۲۱]. به‌طور مشابه، نانو ذرات نقره اغلب در حسگرهای زیستی، صنایع غذایی، مهندسی بافت دندان استفاده می‌شوند [۲۲]. نانو ذرات مغناطیسی مغناطش برجسته‌ای را نشان می‌دهند که کاملاً با میدان مغناطیسی کاربردی مرتبط است. نانو ذرات مغناطیسی در بسیاری از زمینه‌های کاربردی مثل دارورسانی هدفمند و کنترل انتشار دارو، افزایش رشد بافت‌ها و کاهش عفونت ایمپلنت‌ها کاربرد دارند [۲۳].

۲. ۱. ۳. نانوکامپوزیت

نانوکامپوزیت از حداقل دو یا چند ماده تشکیل‌شده است که معمولاً حاوی پلیمر، پرکننده یا یک ماده معدنی می‌باشد و باید حداقل یک جزء آن در مقیاس نانو (در محدوده ۱۰۰ نانومتر) باشد. نانوکامپوزیت به دلیل داشتن ترکیبی از مواد آلی و معدنی، در مقایسه با مواد اولیه دارای مقاومت مکانیکی بالاتر و زیست تجزیه‌پذیری بهتری می‌باشد. علاوه بر این، نانو کامپوزیت می‌تواند چندین ویژگی از ترکیبات خود را هم‌زمان داشته باشد [۲۴]. به‌عنوان‌مثال، اکسید گرافن دارای ویژگی‌های منحصربه‌فردی است. این ویژگی‌ها شامل انعطاف‌پذیری، سازگاری زیستی، فعالیت ضد میکروبی و سطح زیاد می‌باشد. این ویژگی‌ها موجب شده است که اکسید گرافن به یک ماده بسیار مناسب در مهندسی بافت تبدیل شود. هیدروکسی آپاتیت برای مهندسی بافت استخوان مناسب است و طلا می‌تواند تشکیل آپاتیت را القا کند. به‌عنوان‌مثال Prakash و همکاران نانو کامپوزیت GO/HPA/Au را از طریق روش هیدروترمال سنتز کردند. نتایج آزمایشگاهی نشان داد که این نانوکامپوزیت از پایداری شیمیایی و مکانیکی خوبی برخوردار است. بعلاوه این نانوکامپوزیت خاصیت ضد میکروبی قوی



شکل۳. انواع روش‌های شناسایی ویژگی‌های نانو مواد [۱۴].

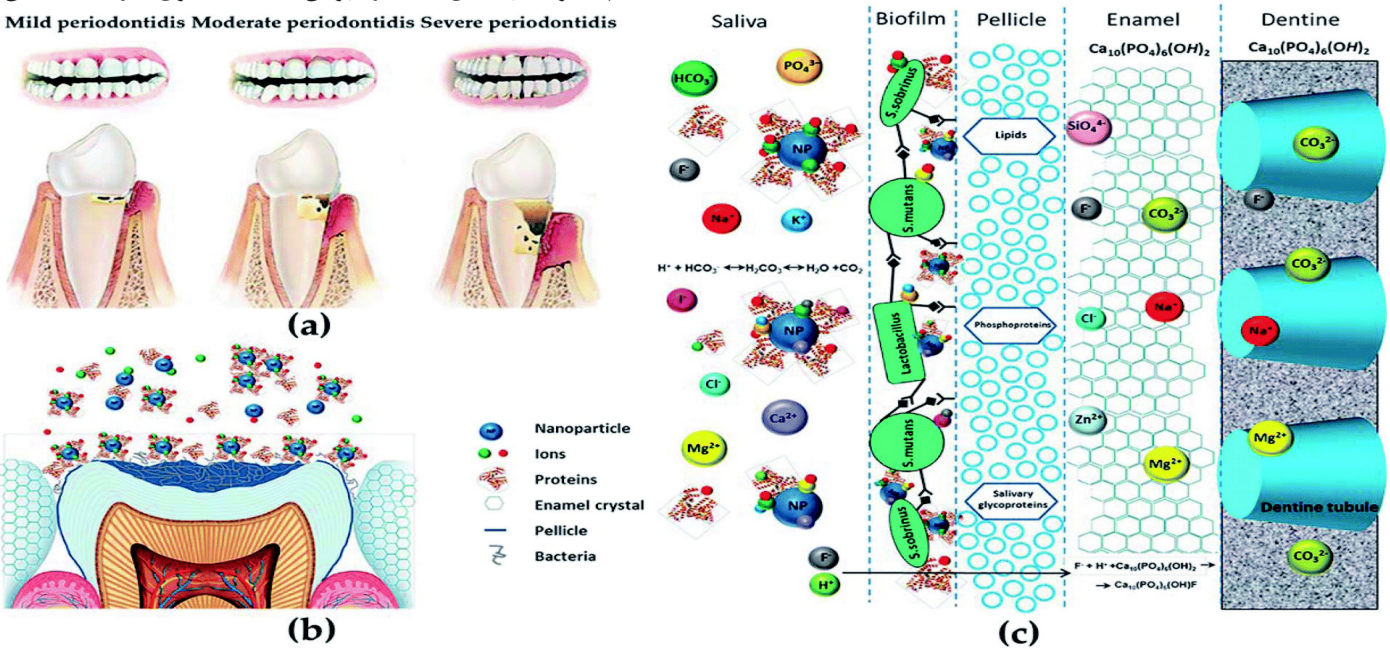
دارد. همچنین می‌تواند زنده ماندن سلول‌های استئوبلاست را افزایش دهد که به معنی کاربرد بالقوه این نانوکامپوزیت در بازسازی بافت استخوانی است [۲۵].

۲. ۲. ویژگی‌های نانو مواد

با توجه به اینکه عملکردهای نانو مواد با خواص آن‌ها ارتباط تنگاتنگی دارد؛ بنابراین ویژگی‌های نانو مواد و ارزیابی خواص مربوط به آن‌ها بسیار حیاتی است و باید قبل از استفاده، ابتدا کنترل شوند. به‌منظور درک بهتر خواص و عملکردهای مرتبط با نانو مواد، باید فن‌آوری‌های چندگانه را برای ارزیابی جامع خواص نانو مواد، شامل بار، ترکیب، حالت تجمع، توزیع اندازه، اندازه، شکل، شیمی سطح و سطح نانو ذرات معرفی کرد. این فن‌آوری‌ها شامل میکروسکوپ الکترونی روبشی با وضوح‌بالا، طیف‌سنجی جرمی توسط پلاسما جفت شده القایی، میکروسکوپ نیروی اتمی، روش پراکندگی نور دینامیکی، طیف‌سنجی فرابنفش-مرئی و غیره می‌باشد. این روش‌ها به‌طور خلاصه در شکل ۳ به نمایش درآمده است [۱۴].

۲. ۳. سمیت نانو مواد

سمیت نانو مواد با کاربرد آن‌ها در مهندسی بافت ارتباط تنگاتنگی دارد. سؤال بسیار مهم این است که آیا نانو مواد واکنش‌های بیوشیمیایی طبیعی موجودات را مختل می‌کند یا خیر؟ در صورت تغییرات، آیا این تغییرات برای اندام‌ها مفید است یا مضر؟ چگونه می‌توان از این اثرات سوء جلوگیری کرد؟ به‌طورکلی، نحوه ورود و واکنش نانو مواد در بدن انسان از طریق مراحل زیر توضیح داده‌شده است: آن‌ها از طریق زیر جلدی، ورید، استنشاق، پوست و تجویز دهانی وارد بدن انسان می‌شوند. نانو مواد می‌توانند پس از تعامل با اجزای بیولوژیکی (مانند سلول‌ها و پروتئین‌ها) جذب شوند. سپس به اندام‌های مختلف گسترش می‌یابند و در این صورت یا ساختار خود را حفظ کرده و یا به‌سادگی تغییر کرده و متابولیزه می‌شوند. با توجه به مراحل مختلف واکنش، نه‌تنها کارایی، بلکه ایمنی باید قبل از طراحی نانو مواد در نظر گرفته شود. علاوه بر این، ازنظر سم‌شناسی، اثرات سمی نانو مواد تحت تأثیر ویژگی‌های زیر قرار می‌گیرد: اندازه، تجمع، ساختار شیمیایی، خواص بلوری، شیمی سطح و غیره؛ بنابراین لازم است تجزیه‌وتحلیل سمیت نانو موادی که در مهندسی بافت مورداستفاده قرار می‌گیرند و آزمایش‌ها مربوط به سمیت در شرایط آزمایشگاهی و شرایط بدن موجود زنده، انجام شود. در حال حاضر، روش‌های متداول برای کاهش



شکل٤. a. درجات مختلف پریودنتیت. **b** و **c** ویژگی‌های آناتومیکی و شیمیایی فعل‌وانفعالات احتمالی با نانوذرات [۱۴].

یا جلوگیری از سمیت نانو مواد به شرح زیر است: انتخاب نانو مواد با سازگاری زیستی خوب، کنترل نانو مواد در اندازه مناسب، اصلاح شیمیایی در سطح نانو مواد (مثلاً پوشاندن سطح نانو مواد با پلی‌اتیلن گلیکول)، بهبود ساختار، حلالیت مواد و غیره؛ بنابراین، کاهش سمیت و افزایش اثر درمانی را می‌توان از طریق روش‌های ذکرشده به دست آورد؛ به‌طوری‌که از نانو مواد در مهندسی بافت بهتر و بیشتر استفاده شود [۲۶].

۳. کاربرد نانومواد در مهندسی بافت

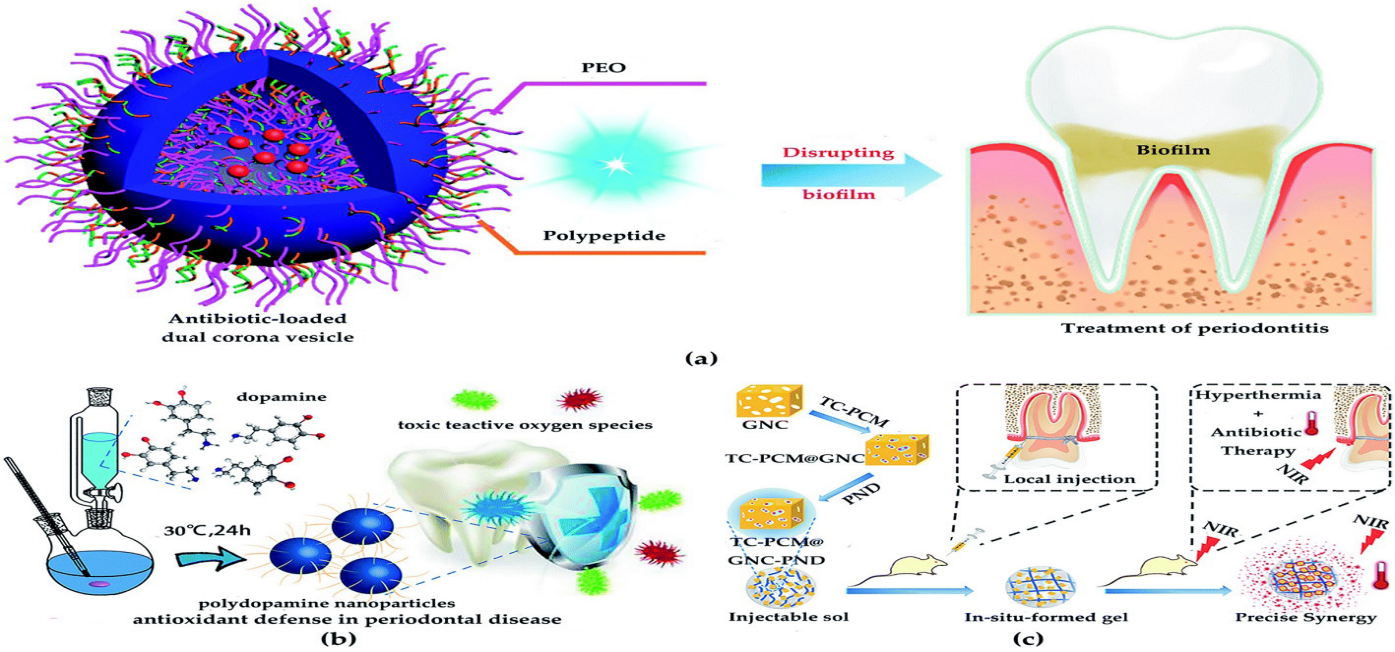
۳. ۱. کاربردهای نانومواد در مهندسی بافت دندان

در قرن بیست و یکم، کاربرد نانو مواد در مهندسی بافت‌های دندان بیشتر موردتوجه قرارگرفته است. خطر پریودنتال یا بیماری‌های مرتبط با آن (مانند بیماری‌های قلبی عروقی، دیابت و آرتریت روماتوئید) با افزایش سن به‌تدریج افزایش می‌یابد. درواقع، بیماری پریودنتال، که به بیماری لثه نیز معروف است؛ مجموعه‌ای از شرایط التهابی است که بر بافت‌های اطراف دندان‌ها تأثیر می‌گذارد. ازآنجاکه در این بیماری، بافت پریودنتال از بین می‌رود و توانایی خود ترمیمی ندارد (شکل۴)؛ درمان‌های مؤثر برای ترمیم بافت‌های آسیب‌دیده و بازگرداندن ساختار و عملکرد اولیه در بیماران مبتلا به بیماری‌های پریودنتال موردنیاز است. خوشبختانه توسعه انواع نانو مواد فلزی و پلیمری پشتیبانی قوی برای درمان بیماری‌های مربوط به پریودنتال را فراهم کرده است.

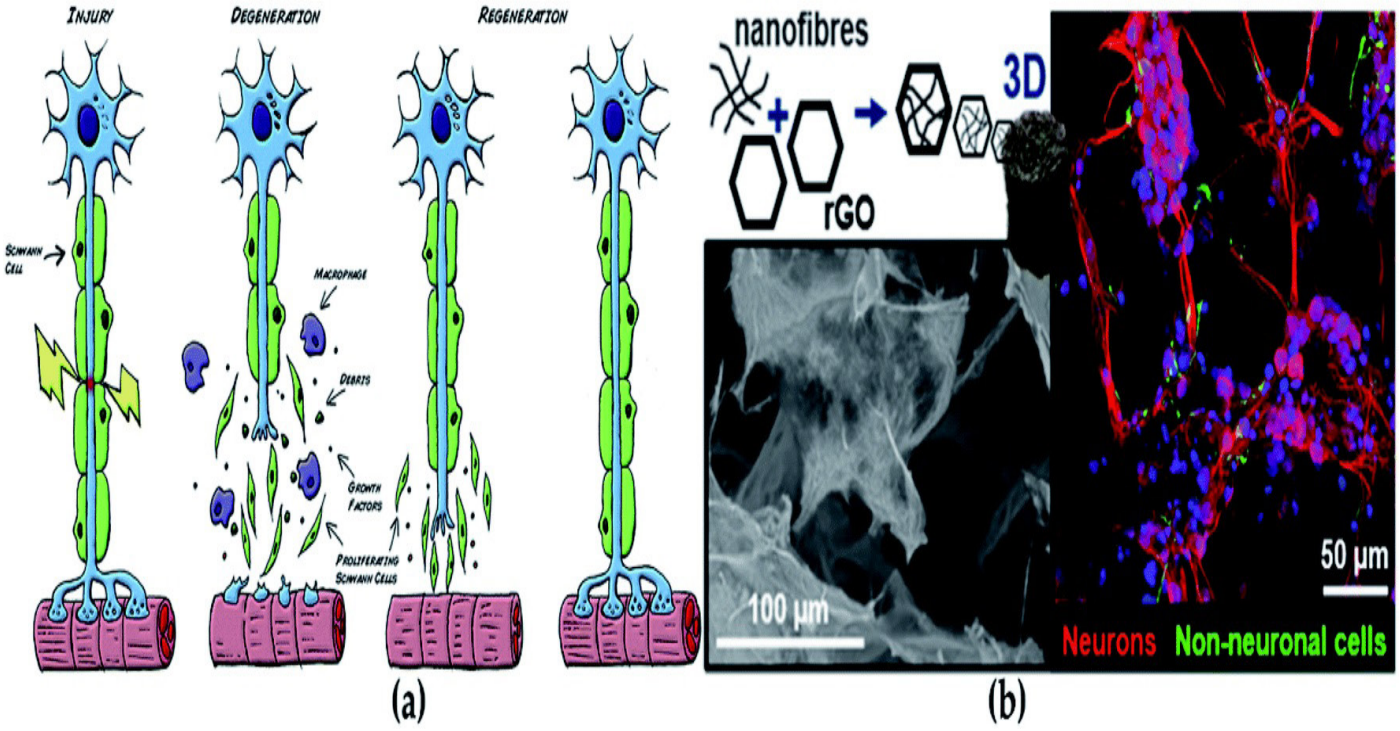
کاربردهای نانو مواد درزمینه دندانپزشکی عمدتاً شامل موارد زیر است: ۱-کاربرد ضد میکروبی برای کنترل عفونت‌های دهان، ۲- نانو پرکننده‌ها برای بهبود خواص مکانیکی و فعالیت‌های زیستی مواد مورداستفاده در پریودنتال، ۳-پوشش‌های جدید برای ایمپلنت، ۴- خمیردندان و محصولات مراقبت شخصی [۲۷].

پلی لاکتیک کو گلیکولیک اسید یا PLGA از PLA و PGA سنتز شده است که خواص مکانیکی خوب، سرعت تخریب قابل تنظیم و سازگاری زیستی عالی دارد؛ بنابراین، به دلیل سازگاری زیستی PLGA، در تحقیقات مربوط به درمان بیماری‌های پریودنتال بسیار مورداستفاده قرار می‌گیرد. در حال حاضر، کاربردهای کامپوزیت‌های مبتنی بر PLGA درزمینه مهندسی بافت دندان با تمرکز بر بازسازی بافت، مهار عفونت میکروبی، تحویل داروهای پریودنتال و محافظت از استخوان آلوئولار متمرکز است [۲۸].

به‌عنوان‌مثال، Reis و همکاران یک ماده زیستی دولایه بر اساس PLGA را برای بازسازی پریودنتال سنتز کردند. در مقایسه با گروه کنترل، مقادیر حجم استخوان، ضخامت ترابکولار و نمره ترابکولار استخوان (معیاری برای سنجش بافت استخوان و مرتبط با ریزمعماری بافتی آن است و به‌عنوان یک نشانگر خطر ابتلا به پوکی استخوان استفاده می‌شود.) به‌طور قابل‌توجهی توسط مواد زیستی مبتنی بر PLGA افزایش یافت. علاوه بر این، استخوان جدید فقط در گروه دریافت‌کننده PLGA مشاهده شد. به‌طورکلی، نتایج این پژوهش نشان داد که مواد زیستی دولایه مبتنی بر PLGA، قدرت بازسازی پریودنتال را به‌مراتب افزایش می‌دهند [۲۹]. همچنین، در سال‌های اخیر، از نانو ذرات کیتوزان، سیلیس و پلی ۳-کاپرولاکتون و غیره در مهندسی بافت دندان استفاده‌شده است [۳۰]. به‌عنوان‌مثال، Boguslavsky و همکاران، در یک روش غیر



شکل۵. سنتز نانو ذرات پلی دوپامین و کاربردهای آن‌ها به‌عنوان عوامل مؤثر در حذف گونه‌های اکسیژن فعال در بیماری‌های پریودنتال [۱۴].



شکل٦.a. فرآیند بازسازی عصب. **b.** داربست‌های مبتنی بر اکسید گرافن برای ترمیم بافت عصبی [۱۴].

مخرب، نانو ذرات سیلیس با قطر بین ۱۰ تا ۳۰ نانومتر را سنتز کردند و بر روی سطح پلی استایرن، پلی اتیلن و پلی ونیل کلراید قراردادند. به دلیل وجود نانو ذرات سیلیس، زبری این سطوح، نسبت به سطوح فاقد این نانو ذرات۱/۶ تا ۲/۷ برابر است.

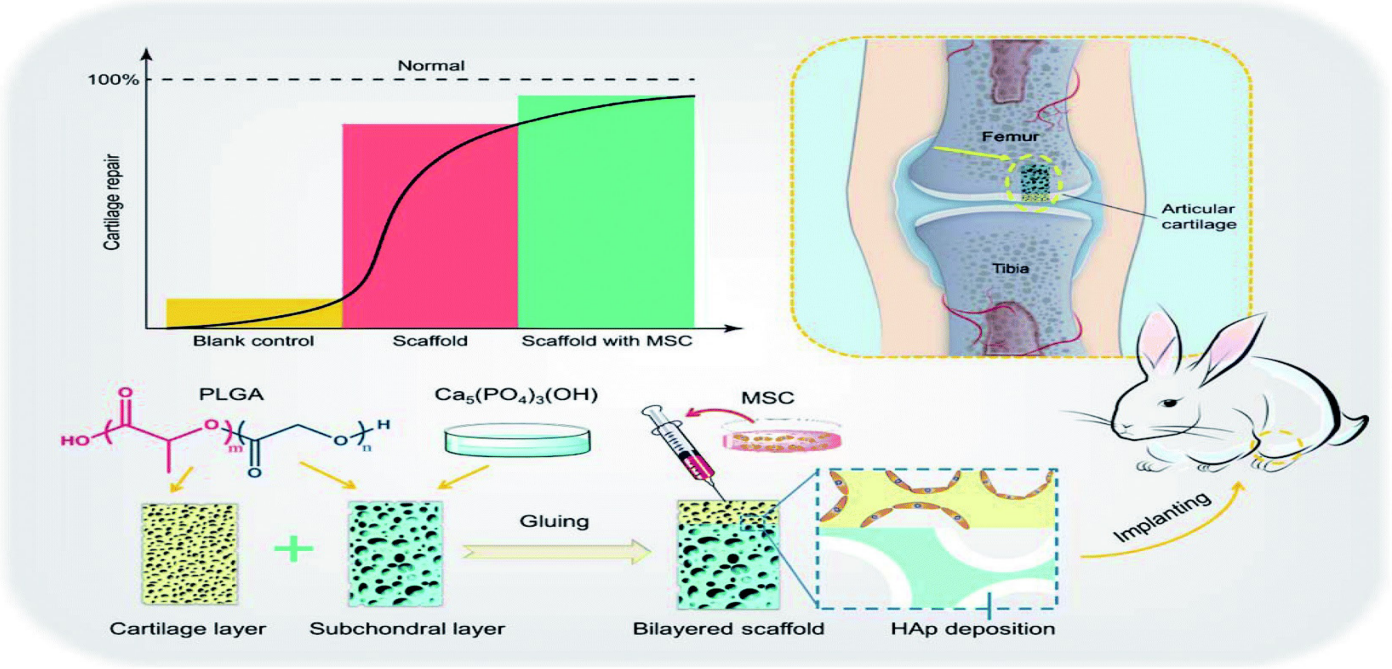
نتایج تجربی نشان داد که باوجود نانو ذرات سیلیس، اتصال باکتریایی و تشکیل بیوفیلم باکتریایی بر روی دندان به‌شدت کاهش می‌یابد. درواقع با صرف‌نظر از نوع پلیمر، باکتری‌ها نمی‌توانند با موفقیت به فیلم پلیمری واجد نانوذرات سیلیس متصل شوند. پس می‌توان نتیجه گرفت که نانوذرات سیلیس اجازه اتصال باکتری‌ها را نمی‌دهند؛ بنابراین از رشد و تکثیر باکتری‌ها جلوگیری می‌کنند. علاوه بر این، کیتوزان نیز دارای خاصیت تجزیه‌پذیری و سازگاری زیستی است که آن را در ترمیم بافت پریودنتال بسیار محبوب کرده است [۳۱].

به‌عنوان‌مثال Zang و همکاران، سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان فک پایین انسان را بر روی داربست‌های مبتنی بر کیتوزان، برای مطالعه اثر درمانی نقایص پریودنتال تلقیح کردند. نتایج نشان داد که داربست مبتنی بر کیتوزان دارای زیست سازگاری بالایی بوده و عملکرد فشاری مواد را بهبود بخشیده است [۳۲].

همچنین پلی ۳-کاپرولاکتون یا PCL، نیز به دلایل خواص ضد باکتریایی، زیست سازگاری و زیست‌تخریب‌پذیری توسط FDA برای مهندسی بافت دندان تأییدشده است. علاوه بر این، از تجزیه‌پذیری زیستی و زیست سازگاری پلی دوپامین برای درمان بیماری‌های پریودنتال استفاده می‌شود. به‌عنوان‌مثال Bao و همکاران یک روش با عملکرد بالابر اساس پلی دوپامین، به‌عنوان از بین برنده گونه‌های اکسیژن فعال ناشی از استرس اکسیداتیو ایجاد کردند. نتایج نشان داد که نانوذرات مبتنی بر پلی دوپامین می‌توانند چندین گونه اکسیژن فعال را از بین ببرند و واکنش‌های التهابی ناشی از آن‌ها را مهار کنند. علاوه بر این، نتایج آزمایشگاهی کارایی بالای نانو ذرات مبتنی بر پلی دوپامین در حذف گونه‌های اکسیژن فعال و کاهش التهاب پریودنتال بدون عوارض جانبی را نشان داد(شکل ۵) [۳۳].

از نانو ذرات فلزی نیز می‌توان به‌منظور مهندسی بافت دندان استفاده کرد. از نانو ذرات نقره، طلا، دی اکسید تیتانیوم و اکسید روی به دلیل خاصیت ضد میکروبی در مهندسی بافت دندان استفاده می‌شود. درواقع می‌توان با تغییر در اندازه و شکل نانو ذرات فلزی، خواص ضد میکروبی آن‌ها را بهبود بخشید. مطالعات نشان داده است که نانو ذرات با اندازه ذرات کمتر از ۱۰ نانومتر اثر ضد باکتریایی بهتری دارند و اشکال نانو ذرات مثلثی در مقایسه با نانو ذرات کروی یا سوزنی دارای اثرات ضد باکتریایی بهتری هستند [۳۴].

به‌عنوان‌مثال Zhang و همکاران نوعی داربست نانو آنتی باکتریال باقابلیت فعال کردن نور بر اساس نانو قفس‌های طلا را برای کنترل ترشح آنتی‌بیوتیک‌ها و داروهای شیمی‌درمانی سنتز کردند. این پژوهش نشان داد که نانو قفس‌های طلا در محیط آزمایشگاهی و همچنین در داخل بدن موجود زنده از خاصیت ضد باکتریایی زیادی برخوردار می‌باشند [۳۵].



شکل۷. بازسازی استخوان با استفاده از داربست بر پایه هیدرو کسی آپاتیت [۱۴].

۳. ۲. کاربرد نانو مواد در مهندسی بافت عصبی

سیستم عصبی مرکزی و سیستم عصبی محیطی اعضای اصلی سیستم عصبی هستند. سیستم عصبی مرکزی از مغز و نخاع تشکیل‌شده است این در حالی است که سیستم عصبی محیطی از نورون‌های حسی و نورون‌های حرکتی تشکیل‌شده است. به این دلیل که سیستم عصبی مرکزی و محیطی فاقد ظرفیت بازسازی هستند؛ اغلب نقایص عملکردی خود را تحت بیماری یا آسیب نشان می‌دهند. با افزایش سن جمعیت، بروز بیماری‌های تخریب‌کننده عصبی نیز افزایش می‌یابدکه سلامت انسان‌ها را به‌طورجدی تهدید می‌کند [۳۶]. در حال حاضر، درمان‌های بالینی موجود علیه بیماری‌های عصبی شامل جراحی و پیوند آلوگرافت است که همه آن‌ها برای بهبود بازیابی عصب آسیب‌دیده استفاده می‌شود. درواقع، پیوند یک اندام یا بافت از فردی به فرد دیگر از همان‌گونه با ژنوتیپ متفاوت را پیوند آلوگرافت می‌گویند. به‌عنوان‌مثال پیوند از فردی به فرد دیگر، اما نه یک دوقلو یکسان، یک آلوگرافت می‌باشد (شکل۶a).

اگرچه این بیماری تا حدودی قابل‌درمان است اما هنوز معایب زیادی مانند رد پیوند، جراحی‌های متعدد و اثرات ضعیف درمان وجود دارد. توسعه مهندسی بافت عصبی، امید را برای درمان بیماری‌های عصبی به ارمغان خواهد آورد. یکی از روش‌های جایگزین معمولی برای ترمیم نقایص عصبی، طراحی نانو مواد معقول برای تنظیم ریز محیط ماتریس خارج سلولی و رفتارهای سلولی است؛ بنابراین بازسازی عصب را تسریع می‌کند. در حال حاضر، عوامل معمول برای مهندسی بافت عصبی شامل داربست‌های پلیمری، هیدروژل‌ها، نانوذرات و غیره است. مهم نیست که از چه ماده‌ای استفاده می‌شود. این ماده باید ویژگی‌های زیر را داشته باشد. این ویژگی‌ها شامل زیست‌سازگاری، زیست‌تخریب‌پذیری، نفوذپذیری یا تخلخل، مقاومت در برابر عفونت، خواص مکانیکی و هدایت الکتریکی خوب است [۳۷]. کلاژن در حال حاضر تنها بیوپلیمر طبیعی است که برای تحقیقات پزشکی درزمینه بازسازی عصب محیطی تأییدشده است. کلاژن به‌عنوان جزء اصلی بافت پیوندی در بافت‌های مختلف بدن انسان توزیع‌شده است. آزمایش‌های اولیه نشان داده است که مجاری عصبی مبتنی بر کلاژن می‌توانند شکاف‌های عصبی کوچک در نخستی‌ها (پریمات‌ها) را ترمیم کنند [۳۹]. ژلاتین را می‌توان با هیدرولیز اسیدی یا قلیایی کلاژن به دست آورد. ژلاتین در مقایسه با کلاژن دارای برخی از ویژگی‌های منحصربه‌فرد است. ازجمله ویژگی‌های ژلاتین می‌توان به مقرون‌به‌صرفه بودن، در دسترس بودن، سمیت بسیار پایین و تجزیه‌پذیری زیستی اشاره کرد؛ بنابراین از آن می‌توان در بسیاری از زمینه‌ها مانند مهندسی بافت و ساخت داربست بافتی و تحویل دارو استفاده کرد.

اخیراً از نانو ذرات ژلاتین به‌منظور مهندسی بافت عصبی استفاده‌شده است. به‌عنوان‌مثال Naseri-Nosar و همکاران دریافتند که داربست‌های سلولز استات/پلی لاکتیک اسید که با نانو ذرات ژلاتینی پوشیده شده‌اند دارای سلول‌های زنده‌تری نسبت به داربست‌های بدون روکش هستند و همچنین از آن‌ها به‌عنوان مجرای هدایت‌کننده عصب برای آسیب عصب سیاتیک در شرایط *in vivo* و *in vitro* استفاده می‌شود [۴۰].

همچنین نانو مواد مبتنی بر کربن نیز نقش مهمی درزمینه مهندسی بافت عصبی ایفا می‌کنند. مطالعات نشان داده است که نانو مواد مبتنی بر کربن هنگام تعامل با نورون‌ها و بافت عصبی پتانسیل بالایی از خود نشان می‌دهند. فولرن‌ها، نانولوله‌های کربنی و گرافن(G) نماینده‌های عالی نانو مواد مبتنی بر کربن هستند. تحریک الکتریکی برای بازسازی سلول‌های عصبی مفید است. پژوهش‌ها نشان می‌دهند که گرافن هدایت الکتریکی، انعطاف‌پذیری و استحکام مکانیکی بسیار خوبی دارد. این ویژگی‌های گرافن موجب شده است که از آن در مهندسی بافت و تکثیر و تمایز سلول‌های عصبی استفاده شود. پس نانو مواد مبتنی بر گرافن می‌توانند در مهندسی بافت عصبی، تکثیر و تمایز بافت عصبی نقش بارزی را ایفا کنند. به‌عنوان‌مثال، ترکیب نانو صفحه‌های اکسید گرافن و نانوالیاف، ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی داربست مورداستفاده در ترمیم بافت عصبی را تعدیل کرده و به‌طور قابل‌توجهی قابلیت زنده ماندن سلول‌های پیش ساز عصبی را بهبود بخشیده است (شکل۶) [۴۴].

۳. ۳. کاربردهای نانو مواد در مهندسی بافت استخوان

مهندسی بافت استخوان عمدتاً برای آسیب‌های برگشت‌ناپذیری است که نیاز به درمان کمکی با ایمپلنت‌های مبتنی بر نانو مواد دارد. اخیراً، مطالعه مهندسی بافت استخوان بر اکتشاف داربست‌های سه‌بعدی متمرکزشده است که بافت طبیعی استخوان را حمایت، تقویت یا سازمان‌دهی می‌کند؛ بنابراین، با بهره‌گیری از سازگاری زیستی و ایمنی زیستی، نانو مواد تجزیه‌پذیر طبیعی اغلب برای مهندسی بافت استخوان استفاده می‌شوند. در مهندسی بافت استخوان، معمولاً از مواد داربست برای حمایت مکانیکی از قسمت‌های آسیب‌دیده و فراهم آوردن شرایط مناسب برای بازسازی استخوان استفاده می‌شود. در حالت ایده‌آل داربستی که برای مهندسی بافت استخوان از آن استفاده می‌شود باید دارای خواص مکانیکی مناسب و همچنین ویژگی‌های سطحی مناسب برای چسبندگی، تکثیر و تمایز سلولی باشد. علاوه بر این، تخلخل، سازگاری زیستی و ویژگی‌های جذب زیستی داربست باید به‌طور همزمان در نظر گرفته شود [۴۲].

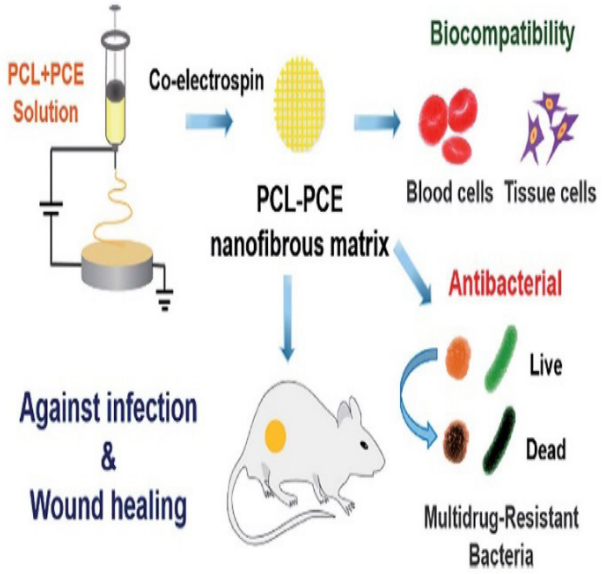
در حال حاضر، داربست‌های بر پایه پلیمر به‌عنوان یک نوعی از داربست‌های بافت استخوانی با خواص مکانیکی ضعیف شناخته می‌شوند. خواص مکانیکی را می‌توان با افزودن نانو مواد (نانو مواد سرامیکی، مواد مبتنی بر کربن، نانو مواد مبتنی بر کیتوزان، نانو ذرات فلزی و غیره) به‌عنوان پرکننده به‌خوبی افزایش داد [۴۳].

به‌عنوان‌مثال کیتوزان به‌عنوان یک پلیمر زیست تجزیه پذیر و زیست سازگار، توسط FDA برای کاربرد در انواع فرمولاسیون دارویی تأییدشده است. در چند دهه گذشته، کیتوزان نقش مهمی در مهندسی بافت استخوان ایفا کرده است. به‌عنوان‌مثال Chesnutt و همکاران داربست کیتوزان/نانو کریستال کلسیم فسفات را برای بازسازی استخوان ازدست‌رفته در اثر بیماری یا ضربه ایجاد کردند. این داربست‌های کامپوزیتی دارای ویژگی‌های مکانیکی و تخلخل خوب به‌منظور رشد بافت استخوانی جدید می‌باشند [۴۴]. همچنین، نانو ذرات هیدروکسی آپاتیت به‌عنوان اصلی‌ترین جزء معدنی بافت استخوانی در مهندسی بافت استخوان بیشتر موردتوجه قرارگرفته‌اند. Liu و همکاران یک داربست نانوکامپوزیتی متشکل از کیتوزان/هیدروکسی آپاتیت را به‌منظور ارزیابی رشد سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان سنتز کردند. آن‌ها دریافتند که این داربست موجب تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان خواهد شد [۴۵].

پژوهش‌ها نشان داده‌اند؛ هنگامی‌که هیدروکسی آپاتیت همراه با نانو ذرات PCL ، PLGA، PEG و سایر مواد پلیمری باشد؛ تأثیرات بهتری در بازسازی و ترمیم بافت استخوانی را از خود نشان می‌دهد (شکل۷). اخیراً از نانو ذرات نقره، طلا و دی‌اکسید تیتانیوم به‌منظور بازسازی بافت استخوانی استفاده‌شده است. به دلیل ویژگی‌های مکانیکی بسیار خوب نانوذرات فلزی، در بسیاری از مطالعات از نانوذرات نقره به‌عنوان ایمپلنت برای مهندسی بافت استخوان استفاده‌شده است. نانو ذرات طلا با قطر ۲۰ نانومتر تأثیر استئوژنیک (استخوان‌سازی) خوبی بر روی استئوبلاست‌های اولیه دارند؛ درحالی‌که نانو ذرات طلا با قطر ۳۰-۵۰ نانومتر تأثیر قابل‌توجهی بر سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی انسان خواهند داشت [۴۶]. علاوه بر این، نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم همراه با انواع پلیمرها نیز می‌توانند در ساخت داربست‌های تقویت‌شده برای مطالعه عملکرد تشکیل استخوان استفاده شوند [۴۷].

۳. ۴. کاربردهای نانومواد در مهندسی بافت پوست

ترمیم زخم یک فرایند فیزیولوژیکی است که شامل هموستاز، التهاب، تکثیر و بلوغ سلول‌ها است [۴۸]. به‌طورکلی زخم‌های پوستی، با توجه به زمان بهبودی، شامل دودسته زخم‌های حاد و مزمن می‌باشند [۴۹]. زخم‌های حاد با پارگی یا سوراخ شدن لایه پوست مشخص می‌شوند و در مدت کوتاهی بهبود می‌یابند. زخم‌های مزمن معمولاً در کوتاه‌مدت به‌سختی درمان می‌شوند؛ زیرا اغلب با بیماری‌هایی مانند چاقی و دیابت همراه هستند. رگ‌زایی بخش مهمی از روند بهبود زخم



شکل۸. سیستم نانو فیبری PCL-PCE در از بین بردن باکتری‌های مقاوم به چند دارو و بازسازی پوست در مدل موشی [۱۴].

است. تشکیل عروق نه‌تنها می‌تواند جریان خون کافی، تغذیه، اکسیژن و غیره را تأمین کند؛ بلکه بهبود زخم‌ها را نیز تسریع می‌کند. این در حالی است که تشکیل غیرطبیعی عروق خونی باعث ایجاد زخم مزمن خواهد شد؛ بنابراین، هنگام درمان زخم‌های پوستی، هم‌بافت پوست و هم بازسازی عروق باید موردتوجه قرار گیرد [۵۰].

در سال‌های اخیر از نانومواد در مهندسی بافت پوست استفاده‌شده است. به‌عنوان نوع جدیدی از نانومواد، نانوسلولز متشکل از ساختارهای نانومقیاس بر پایه سلولز است که در سال‌های اخیر توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند. نانوسلولز دارای مزایای ویژه‌ای است که شامل قابلیت جذب ترشحات زخم و برداشتن راحت‌تر پانسمان است. Fu و همکاران در پژوهش خود عنوان کردند که نانوسلولز تولیدشده با باکتری‌ها مزایای بیشتری برای مراقبت از زخم دارد. این مزایا شامل بهبود سریع‌تر زخم و التهاب کمتر می‌باشد و در مقایسه با پانسمان‌های سنتی، به بازسازی سریع‌تر بافت کمک می‌کند. همچنین این فیلم مبتنی بر نانو سلولز برای درمان سوختگی‌های شدید با ایجاد یک محیط تمیز مناسب و حفظ تعادل آب، به بهبود زودتر زخم کمک می‌کند [۵۱].

علاوه بر این، یک مطالعه دیگر نیز نشان داد که نانوسلولز می‌تواند واکنش‌های التهابی در ترمیم پوست را کاهش دهد. Xi و همکاران یک ماتریس نانوفیبری متشکل از پلی‌سیترات-پلی لایزین و پلی کاپرولاکتون را سنتز کردند (شکل۸). این ماتریس نانوفیبری از زیست سازگاری خوبی برخوردار است و همچنین بر روی باکتری‌های مقاوم به چند دارو اثر می‌گذارد و آن‌ها را از بین می‌برد. به‌طورکلی، سیستم نانوفیبری PCL-PCE مانع از عفونت زخم با باکتری‌های مقاوم به چند دارو می‌شود. همچنین این سیستم موجب بهبود زخم و بازسازی کامل پوست در مدل موشی خواهد شد؛ بنابراین ممکن است در آینده ماتریس نانوفیبری PCL-PCE به یک پانسمان چندمنظوره برای ترمیم زخم آلوده به باکتری و بازسازی پوست تبدیل شود [۵۲].

۴. نتیجه‌گیری

در این مقاله مروری به بررسی انواع، ویژگی‌ها، سمیت و کاربرد نانومواد در مهندسی بافت پرداخته شد. توسعه نانومواد و کاربردهای آنها در مهندسی بافت برای ترمیم یا بازسازی بافت تخریب‌شده بسیار مهم است. در سال‌های اخیر، با توسعه روزافزون فناوری نانو، محققان بیشتری در تلاش برای سنتز نانومواد جدید با سازگاری زیستی بالا به‌منظور استفاده از آن‌ها در مهندسی بافت هستند. درواقع، وقتی از این نانو مواد در مهندسی بافت برای جایگزینی یا ترمیم بافت آسیب‌دیده استفاده می‌شود؛ مسائل مربوط به حساسیت نانومواد، واکنش ایمنی بدن، سمیت احتمالی، تأثیر بر تولیدمثل و حتی تأثیر بر رشد جنین باید به‌دقت بررسی شود. به‌طورکلی، توسعه نانومواد زیست سازگار و جدید فرصتی عالی برای مهندسی بافت ایجاد می‌کند که انتظارات بیماران و نیازهای پزشکان را برآورده خواهد کرد. اگرچه نانو مواد ممکن است مزایای بسیار زیاد به همراه داشته باشند اما استفاده از این نانومواد مصنوعی خطرات غیرقابل‌چشم‌پوشی برای سلامتی نیز دارد. نکته حائز اهمیت این است که بنا بر اصل احتیاط، این خطرات باید به حداقل برسد. در پایان، امیدواریم نانومواد که در آینده به‌طور منطقی طراحی می‌شوند؛ بسیاری از مشکلات موجود در مهندسی بافت را حل نمایند [۱۴].

منابع

[1] Hasan, A.; Memic ,A.; Annabi, N. Electrospun scaffolds for tissue engineering of vascular grafts. Acta Biomater, 2014,10(1): 11–25.
[2] Hasan, A.; Paul, A.; Vrana, NE. Microfluidic techniques for development of 3D vascularized tissue. Biomaterials, 2014,35(26): 7308–7325.
[3] Kestell, AE.; DeLorey, GT. Nanoparticles: Properties, Classification, Characterization, and Fabrication. Hauppauge, NY: Nova Science Publishers, Inc, 2009.
[4] Sahoo, S.K.; Misra, R.; Parveen, S. Nanoparticles: a boon to drug delivery, therapeutics, diagnostics and imaging. Nanomed. Cancer,2017,73_124.
[5] Stephen, Z.R.; Kievit, F.M.; Zhang, M. Magnetite Nanoparticles for Medical MR Imaging. Mater Today (Kidlington),2011, 14(7-8): 330–338.
[6] Huschka, R.; Barhoumi,A..; Liu, Q.; Roth, J.A.; Ji ,L.; Halas, N.J. Gene Silencing by Gold Nanoshell-Mediated Delivery and Laser-Triggered Release of Antisense Oligonucleotide and siRNA. ACS nano,2012, 6: 7681-7691.
[7] Hasan,A.; Morshed,M.; Memic,A.; Hassan,SH.;Webster,T.; Marei,H. Nanoparticles in tissue engineering: applications, challenges and prospects. International Journal of Nanomedicine, 2018,13: 5637–5655
[8] Jin,C.; Wang,K.; Oppong-Gyebi, A.; J, Hu. Application of Nanotechnology in Cancer Diagnosis and Therapy - A Mini-Review. Int J Med Sci, 2020, 17(18): 2964–2973.
[9] Kumar,A.; Pokharia, A,D.; Tripathi, k. Application of nanotechnology in diabtes, Digest. Journal of Nanomaterials and Biostructures ,2008, 3: 221 – 225.
[10] H, Pohlit .; Bellinghausen , H.; Saloga, J. Recent advances in the use of nanoparticles for allergen-specific immunotherapy, Allergy, 2017,72: 1461–1474.
[11] Zazo, H.; Colino, C.I.; Lana, J.M. Current Applications of Nanoparticles

P.; Sun, Z.C.; Yang, Y.M.; Gu, J.H.; Gu, Y.; Gu, X.S. Electrospun silk fibroin-based neural scaffold for bridging a long sciatic nerve gap in dogs. J. Tissue Eng. Regen. Med., 2017, 12:1143–1153.
[38] Sherman,V.R.; Yang,W.; Meyers, M.A. The materials science of collagenJ. Mech. Behav. Biomed. Mater, 2015, 52: 22–50.
[39] Archibald, S.J.; Shefner, J.; Krarup,C.; Madison, R.D. Monkey median nerve repaired by nerve graft or collagen nerve guide tube J. Neurosci. 1995, 15: 4109–4123.
[40] Naseri-Nosar,M.; Salehi,M.; Hojjati-Emami, S. Cellulose acetate/poly lactic acid coaxial wet-electrospun scaffold containing citalopram-loaded gelatin nanocarriers for neural tissue engineering applications. Int. J. Biol. Macromol, 2017, 103:701–708.
[41] Gir˜ao, A.F.; Sousa, J.; Dom´ınguez-Bajo, A.; Gonz´alez-Mayorga,A.; Bdikin, I.; Pujades-Otero, E.; Casa˜n-Pastor, N.; Hortig¨uela, M.J.; Otero-Irurueta, G.; Completo, A.; Serrano,M.C.; Marques, P.A.A.P. 3D Reduced Graphene Oxide Scaffolds with a Combinatorial Fibrous-Porous Architecture for Neural Tissue Engineering ACS Appl. Mater. Interfaces, 2020, 12:38962–38975.
[42] Jhill, M.; Qi, B.; Bayaniahangar, R.; Araban,V.; Mahmoudi, M. Nanomaterials for bone tissue regeneration: updates and future perspectives. Nanomedicine, 2019, 14:2987–3006.
[43] Zhu, Y.; Yang, Q.; Yang, M.G.; Zhan, X.H.; Lan, F.; He, J.; Gu, Z.W.; Wu, Y. Protein Corona of Magnetic Hydroxyapatite Scaffold Improves Cell Proliferation via Activation of Mitogen-Activated Protein Kinase Signaling Pathway. ACS Nano, 2017, 11: 3690–3704.
[44] Chesnutt, B.M.; Viano, A.M.; Yuan, Y.; Yang, Y.; Guda, T.; Appleford, M.R.; Ong, J.L.; Haggard, W.O.; Bumgardner, G.D. Design and characterization of a novel chitosan/nanocrystalline calcium phosphate composite scaffold for bone regeneration. J.Biomed.Mater. Res. Part A, 2009, 88: 491–502.
[45] Liu, H.H.; Peng, H.J.; Wu, Y.; Zhang, C.; Cai,Y.Z.; Xu,G.W.; Li, Q.; Chen, X.; Ji, J.F.; Zhang,Y.Z.; Ouyang, H.W. The promotion of bone regeneration by nanofibrous hydroxyapatite/chitosan scaffolds by effects on integrin-BMP/Smad signaling pathway in BMSCs. Biomaterials, 2013, 34:4404–4417.
[46] Ko, W.K.; Heo, D.N.; Moon, H.J.; Lee, S.J.; Bae, M.S.; Lee,J.B.; Sun, I.C.; Jeon, H.B.; Park,H.K.; Kwon, I.K. The effect of gold nanoparticle size on osteogenic differentiation of adipose-derived stem cells J. Colloid Interface Sci, 2015, 438:68–76.
[47] Johari, N.; Hosseini, H.R.M.; Samadikuchaksaraei,A. Optimized composition of nanocomposite scaffolds formed from silk fibroin and nano-TiO 2 for bone tissue engineering. Mater. Sci. Eng, C, 2018, 82: 265–276.
[48]. Land´en,N.X.; Li,D.; Stahle, M. Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing Cell. Mol. Life Sci, 2016,73: 3861–3885.
[49] Dreifke, M.B.; Jayasuriya,A.A.; Jayasuriya,A.C. Current wound healing procedures and potential care. Mater. Sci. Eng., C, 2015, 48: 651–662.
[50] Pober,J.S.; Sessa, W.C. Inflammation and the blood microvascular system. Cold Spring Harbor Perspect. Biol, 2014, 7, a016345.
[51] Fu,L.N.; Zhang,J.;Yang,G. Present status and applications of bacterial cellulose-based materials for skin tissue repair. Carbohydr. Polym, 2013, 92:1432–1442.
[52] Xi, Y.W.; Ge, J.; Guo,Y.; Lei, B.;. Ma, P.X. Biomimetic Elastomeric Polypeptide-Based Nanofibrous Matrix for Overcoming Multidrug-Resistant Bacteria and Enhancing Full-Thickness Wound Healing/Skin Regeneration. ACS Nano, 2018,12: 10772–10784.
in Infectious Disease. Journal of Controlled Release,2016, 224: 86-102.
[12] Gorabi, A.M.; Kiaie,N.; Reiner, Z.; Carbone, F.; Montecucco, F.; Sahebkar, A. The Therapeutic Potential of Nanoparticles to Reduce Inflammation in Atherosclerosis. Biomolecules, 2019, 9(9):416.
[13] Sensenig, R.; Sapir, Y., MacDonald, C.; Cohen, S.; Polyak, B. Magnetic nanoparticle-based approaches to locally target therapy and enhance tissue regeneration in vivo. Nanomedicine (Lond), 2012,7(9): 1425–1442.
[14] Zheng, X.; Zhang, P.; Fu, Z.; Meng, S.; Dai, L.; Yang, B.H. Applications of nanomaterials in tissue engineering. RSC Adv, 2021, 11: 19041–19058.
[15] Davis,F.F. The origin of pegnology. Adv. Drug Deliv. Rev, 2002, 54(4): 457–458.
[16] Wosikowski, K.; Biedermann, E.;Rattel, B.; Breiter, N.; Peters, G.J. In Vitro and in Vivo Antitumor Activity of Methotrexate Conjugated to Human Serum Albumin in Human Cancer Cells. Clin. Cancer Res, 2003, 9:1917–1926.
[17] Elsabahy, M.; Heo, G.S.; Lim, S.M.; Sun ,G.; Wooley, K.L. Polymeric Nanostructures for Imaging and Therapy. Chem. Rev, 2015, 115: 10967–11011.
[18] Yoon, D.; Joo, S.Y.; Cho, Y.S.; Seo, C. A clinical trial with a novel collagen dermal substitute for wound healing in burn patients Biomater. Sci, 2020, 8: 823–829.
[19] Gentile, P.; Chiono, V.; Carmagnola,I.; Hatton, P. An overview of poly(-lactic-co-glycolic) acid (PLGA)-based biomaterials for bone tissue engineering. Int. J. Mol. Sci, 2014, 15: 3640–3659.
[20] Bankier, C.; Matharu, R.K.; Cheong, Y.K.; Ren, G.G.; Ciric, L. Synergistic Antibacterial Effects of Metallic Nanoparticle Combinations. Sci. Rep, 2019, 9(1): 3–10.
[21] Zhang,Y.; Elechalawar, C.K.; Hossen, N.; Francek,E.R.; Mukherjee, P. Gold nanoparticles inhibit activation of cancer-associated fibroblasts by disrupting communication from tumor and microenvironmental cells. Bioact. Mater, 2021,6: 326–332.
[22] Xie, X.Z.; Mao, C.Y.; Liu, X.M.; Zhang, Y.X.; Cui, Z.D.; Yang, X.JYeung, K.W.K.; Pan, H.P.; Chu, P.K.; and.; Wu, S.L. Synergistic Bacteria Killing through Photodynamic and Physical Actions of Graphene Oxide/Ag/Collagen Coating. ACS Appl. Mater. Interfaces, 2017, 9: 26417–26428.
[23] Sanson, C.; Diou, O.; Thevenot, J.; Ibarboure,E.; Lecommandoux, S. Doxorubicin loaded magnetic polymersomes: theranostic nanocarriers for MR imaging and magneto-chemotherapy. ACS Nano, 2011, 5(2): 1122–1140.
[24] Kumar,S.K.; Krishnamoorti, R. Nanocomposites: Structure, Phase Behavior, and Properties. Annu. Rev. Chem. Biomol. Eng, 2010, 1: 37–58.
[25] Prakash, J.; Prema, D.; Venkataprasanna, K.S.; Balagangadharan , K.; Venkatasubbu, G.D. Nanocomposite chitosan film containing graphene oxide/hydroxyapatite/gold for bone tissue engineering. Int. J. Biol. Macromol, 2020, 154: 62–71.
[26] Gautam,A.; Veggel, F. Synthesis of nanoparticles, their biocompatibility, and toxicity behavior for biomedical applications. J. Mater. Chem. B, 2013, 1:5186–5200.
[27] Besinis, A.; Peralta, T.D.; Tredwin ,C.J.; Handy, R.D. Review of Nanomaterials in Dentistry: Interactions with the Oral Microenvironment, Clinical Applications, Hazards, and Benefits. ACS Nano, 2015, 9: 2255–2289.
[28] Elangovan,S.; and Karimbux,,N. Review paper: DNA delivery strategies to promote periodontal regeneration J. Biomater. Appl, 2010, 25:3–18.
[29] Reis, E.C.C.; Borges, A.P.B.; Ara´ujo, M.V.F.; Mendes, V.C.; Guan,L.; Davies, J.E. Periodontal regeneration using a bilayered PLGA/calcium phosphate construct. Biomaterials, 2011, 32: 9244–9253.
[30] Mortazavi, V.; Nahrkhalaji, M.M.; Fathi, M.H.; Mousavi ,S.B.; Esfahani, B.N. Antibacterial effects of sol-gel-derived bioactive glass nanoparticle on aerobic bacteriaJ. Biomed. Mater. Res. Part A, 2010, 94: 160–168.
[31] Boguslavsky, Y.; Shemesh, M.; Friedlander, A.; Rutenberg, R.; Filossof, A.; Buslovich,A.; Poverenov, E. Eliminating the Need for Biocidal Agents in Anti-Biofouling Polymers by Applying Grafted Nanosilica InsteadACS Omega, 2018, 3:12437–12445.
[32] Zang, S.Q.; Jin, L.; Kang, S.; Hu, X.; Wang, M.; Wang, J.J.; Chen, B.; Peng, B.; Wang, Q.T. Periodontal Wound Healing by Transplantation of Jaw Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells in Chitosan/Anorganic Bovine Bone Carrier Into One-Wall Infrabony Defects in Beagles. J. Periodont., 2016, 87:
971–981.
[33] Bao, X.F.; Zhao, J.H.; Sun, J.; Hu,M.; Yang,X.R. Polydopamine Nanoparticles as Efficient Scavengers for Reactive Oxygen Species in Periodontal DiseaseACS Nano, 2018, 25: 8882–8892.
[34] Pal, S.; Tak,Y.K.; Song, J.M. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the Gram-negative bacterium Escherichia coliAppl. Environ. Microbiol. 2007, 73: 1712–1720.
[35] Zhang, L.L; Wang, Y.L.; Wang, C.; He, M.; Wan, J.S.; Wei, Y.; Zhang, J.L.;Yang, X.L.; Zhao,Y.B.; Zhang, Y.F. Light-Activable On-Demand Release of Nano-Antibiotic Platforms for Precise Synergy of Thermochemotherapy on PeriodontitisACS Appl. Mater. Interfaces, 2020, 12: 3354–3362.
[36] Bertram,L.; Tanzi, R.E. The genetic epidemiology of neurodegenerative disease J. Clin. Invest, 2005, 115: 1449–1457 .
[37] Xue, C.B.; Zhu, H.; Tan, D.H.; Ren, H.C.; Gu, X.K.; Zhao, Y.H.; Zhang,

مقاله

مطالعه تاثیر بیش بیان ژن OCT4 و مهار همزمان ژن P53 بر بیان ژن‌های پرتوانی در سلول‌های بنیادی بافت چربی انسان

نیلوفر ترکزاده

دانشجوی کارشناسی‌ارشد بیوشیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان، اصفهان

چکیده

OCT4 مهمترین فاکتورهای رونویسی درگیر در حفظ پرتوانی و بازبرنامه ریزی سلول‌های سوماتیک است. از طرفی مطالعات اخیر نشان داده است که فقدان یا جهش در ژن P53 بازبرنامه ریزی هسته را تسهیل می‌کند. در این مقاله با هدف بازبرنامه ریزی سلول‌های بنیادی بافت چربی انسانی با استفاده از بیش بیان OCT4 و کاهش بیان P53 طراحی شد. سلول‌های بنیادی بافت چربی با استفاده از آنزیم کلاژناز از نمونه‌های چربی استخراج شد و در مرحله پاساژ سوم مورفولوژی فیبروبلاست مانند نشان داد. بیش بیان ژن OCT4 و مهار بیان P53 به بازبرنامه ریزی سلول‌های بنیادی بافت چربی به سمت حالت پرتوانی کمک می‌کند. این روش ممکن است توان تمایزی سلول‌های بنیادی بافت چربی را برای کاربردهای درمانی افزایش دهد.

کلمات کلیدی: ژن OCT4، ژن P53، سلول بنیادی بافت چربی

۱. مقدمه

بافت چربی یکی از منابع مهم و غنی سلول‌های بنیادی مزانشیمی است که در زمینه پزشکی ترمیمی مورد توجه فراوان قرار گرفته است. سلول‌های بنیادی بافت چربی به راحتی جداسازی می‌شوند و بدون سطوح قابل توجهی از پیر شدن در محیط کشت تکثیر می‌یابند. چند توان بودن این سلول‌ها از نظر تمایزی پیش تر توسط محققین مختلف اثبات شده است. همچنین چندین مطالعه نشان داده است که سلول‌های بنیادی بافت چربی ژن‌های پرتوانی متعدد مانند OCT4، SOX2، NANOG، UTF1 و NODAL را بیان می‌کنند که مبین یک ارتباط نزدیک بین سلول‌های بنیادی مزانشیمی و سلول‌های بنیادی جنینی است. در هر حال، بیان ژن‌های پرتوان با کشت و پاساژ این سلول‌ها به سرعت کاهش می‌یابد که انحراف فنوتیپ سلول‌ها را به سمت حالت تمایز یافته در محیط کشت نشان می‌دهد [۱]. محققین روش‌های مختلفی را برای بازبرنامه ریزی سلول‌های سوماتیک و افزایش پرتوانی آنها مطرح کرده‌اند. انتقال هسته سلول سوماتیک، همجوشی سلولی، بازبرنامه ریزی به وسیله عصاره سلول‌های پرتوانی و انتقال فاکتورهای رونویسی نمونه‌هایی از این روش‌هاست. در سال ۲۰۰۶ تاکاهاشی و یاماناکا نشان دادند که می‌توان با استفاده از بیش بیان فاکتورهای رونویسیOCT4، KLF4، c-MYC که فاکتورهای یاماناکا معروف‌اند، سلول‌های بالغ را به سلول‌های بنیادی پرتوان بازبرنامه ریزی کرد و سپس سلول‌های پرتوان ایجاد شده را به انواع سلول‌های بدن تمایز داد. از آنجایی که در بین فاکتورهای یاماناکا دو ژن KLF4 و c-MYC نقش سرطان‌زایی و ایجاد تومور داشتند، در مطالعات بعدی تلاش شد تا این ژن‌ها حذف و با ژن‌های دیگر یا مولکول‌های شیمیایی جایگزین شوند [۱، ۲]. OCT4 یکی از فاکتورهای رونویسی است که در طی تحقیقات گذشته به عنوان مهم ترین ژن در مسیرهای ملکولی درگیر در پرتوانی شناخته شده است. این ژن تنها فاکتور اجباری برای بازبرنامه ریزی است و سایر فاکتورها نقش افزایش دهنده بازده برنامه ریزی را برعهده دارند. در سال ۲۰۱۱، Li و همکارانش نشان دادند که ترکیبی از چهار مولکول کوچک والپروئیک اسید، ترانیل سیپرومین، CHIR99021 و 616452(VC6T) را می‌توان جایگزین SOX2، KLF4 وc-MYC کرد و سلول‌های بنیادی پرتوان القا را فقط با وارد کردن یک فاکتور رونویسی OCT4 به فیبروبلاست‌های موش تولید نمود [۲].

ژن P53 از ژن‌های دیگری است که در بازبرنامه ریزی مورد توجه قرار گرفته است. P53 یک ژن سرکوبگر تومور است که با القای توقف چرخه سلولی، پیری، ترمیم DNA و آپوپتوز مانع از شروع تشکیل تومور می‌شود. به تازگی نشان داده شده است که فقدان یا جهش در ژن P53 بازبرنامه ریزی هسته‌ای را تسهیل می‌کند، در حالی که بیان P53 بازده بازبرنامه ریزی را کاهش می‌دهد. در سال ۲۰۰۸، ژائو و همکارانش نشان دادند که خاموش کردن ژن P53 همراه با بیش بیان UTF1 تولید سلول‌های بنیادی پرتوان القا شده را از فیبروبلاست های بالغ انسانی، به وسیله فاکتورهای یاماناکا و حتی در غیاب c-MYC، ۱۰۰ برابر افزایش می‌دهد. در واقع مسیر P53-P21 به عنوان سدی در برابر تولید سلول‌های بنیادی پرتوان القا شده عمل می‌کند [۳].

به طور کلی، براساس مطالعات پیشین بیش بیان فاکتور پرتوانی OCT4 و مهار بیان ژن P53 نقش مهمی را در بازبرنامه ریزی و پرتوان سازی سلول‌های سوماتیک برعهده دارند. از طرفی سلول‌های بنیادی مزانشیمی سلول‌هایی تمایز نیافته‌ای هستند که از نظر مرحله تمایزی در حد واسط سلول‌های بنیادی جنینی قرار دارند و حتی در پاساژهای پایین ژن‌های پرتوانی، از جمله OCT4 و SOX2 را بیان می‌کنند. بنابراین ممکن است نسبت به سلول‌های سوماتیک بالغ کاندید مناسب تری برای بازبرنامه ریزی توسط بیش بیان فاکتورهای رونویسی پرتوانی باشند. تا به حال چند مطالعه در زمینه بیش بیان OCT4 و SOX2 در سلول‌های بنیادی مزانشیمی انجام شده که افزایش تکثیر و توانایی تمایزی سلول‌های ترنسفکت شده را نشان می‌دهد. در مقاله‌ی حاضر نیز با هدف بازبرنامه ریزی سلول‌های بنیادی بافت چربی انسانی با استفاده از بیش بیان فاکتور رونویسی OCT4 و کاهش بیان P53 طراحی شد. این روش ممکن است توانایی تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی را برای کاربردهای درمانی بهبود بخشد [۳].

۲. جداسازی سلول‌های بنیادی بافت چربی

نمونه‌های چربی چندین بار با بافر فسفات سالین (PBS) حاوی آنتی بیوتیک شسته و با استفاده از تیغ جراحی سترون تا حد امکان ریز شد. بافت خرد شده به درون یک بطری کوچک شیشه‌ای سترون حاوی مگنت و آنزیم کلاژناز I با غلظت ۰/۲ درصد منتقل شد و در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد روی استیرر قرار گرفت. به این ترتیب، سلول‌ها در طی ۱۵-۲۰ دقیقه جداسازی شدند. سوسپانسیون سلولی با دور۱۲۰۰rpm به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ شد تا کسر استرومایی عروقی (SVF) به دست آید. رسوب سلولی در محیط DMEM حاوی ۲۰ درصد سرم جنینی گاوی (FBS) و ۱ درصد آنتی‌بیوتیک پنی سیلین و استرپتومایسین معلق شد. سلول‌ها شمارش و با تراکم $۵*۱۰^{۴}$ سلول بر میلی لیتر به فلاسک‌های کشت سلول منتقل شدند. محیط سلول‌ها هر دو روز یک بار عوض شد سلول‌ها پس از رسیدن به تراکم ۸۰ تا ۹۰ درصد پاساژ داده شدند.

۳. تمایز سلول‌های بنیادی بافت چربی به سلول‌های چربی و استخوانی

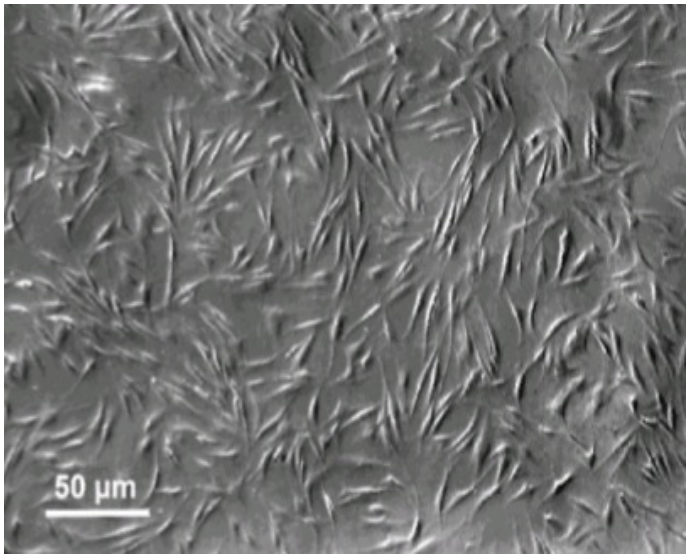
سلول‌های بنیادی بافت چربی در مرحله پاساژ سوم به مدت سه هفته در محیط‌های تمایز چربی (حاوی ۱۰ درصد FBS، ۱ میکرومولار دگزامتازون، ۵ میکروگرم بر میلی لیتر انسولین، ۱۰۰ میکرومولار ایندومتاسین و ۵۰۰ میکرومولار IBMX) و استخوانی (حاوی ۱۰ درصد FBS، ۰/۰۵ گرم بر لیتر آسکوربیک اسید، ۳/۷ گرم بر لیتر بیکربنات سدیم و ۱۰ به توان منفی ۳ مولار بتا گلیسرول فسفات) کشت داده شدند. سپس تمایز چربی با رنگ آمیزی Oil Redo و تمایز استخوانی با رنگ آمیزی Alizarian Red بررسی شد.

۴. نتایج

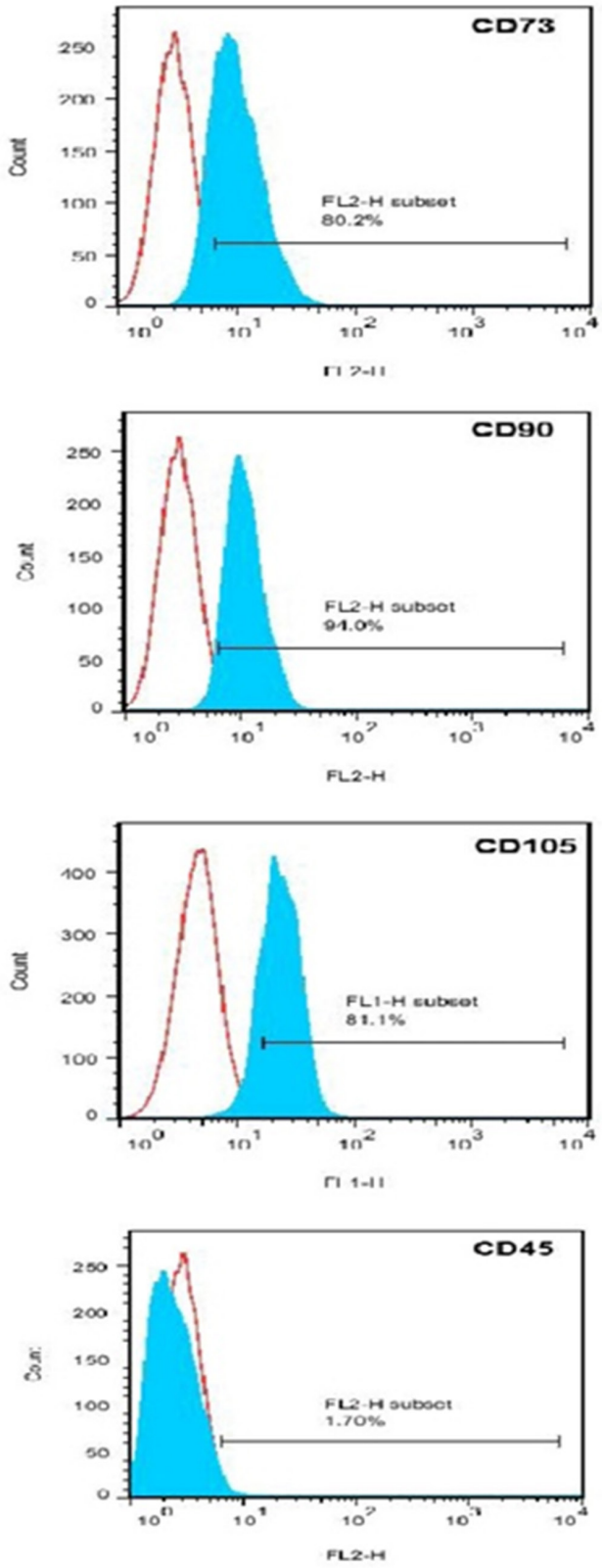
۴. ۱. جداسازی و شناسایی سلول‌های بنیادی بافت چربی

سلول‌های بنیادی بافت چربی در طی چند ساعت پس از جداسازی به کف فلاسک‌های کشت سلول چسبیدند. این سلول‌ها در مرحله پاساژ سوم ظاهر فیبروبلاست مانند نشان دادند (شکل۱). طبق نتایج فلوسیتومتری، ۹۴ درصد از سلول‌ها برای نشانگر CD90 مثبت بودند و نشانگرهای CD73 و CD105 به ترتیب در ۸۰/۲ و ۸۱/۱ درصد از سلول‌ها بیان شد. نشانگر CD45 فقط در ۱/۷درصد از سلول‌ها بیان شد (شکل۲).

قابل ذکر است که پروتئین‌های CD90، CD73 و CD105 نشانگرهای سلول‌های بنیادی مزانشیمی و CD45 نشانگرهای سلول‌های بنیادی خونساز هستند. برای بررسی توان تمایزی سلول‌های بنیادی بافت چربی، این سلول‌ها در مرحله پاساژ ۳ به مدت ۳ هفته در محیط تمایز سلول‌های استخوانی (استئوسیت) و سلول‌های چربی



شکل۱. تصویر میکروسکوپ نوری فاز کنترل است. سلول‌های بنیادی بافت چربی در مرحله پاساژ سوم.



شکل۲. بررسی بیان نشانگرهای سلول‌های بنیادی مزانشیمی و خونساز در سلول‌های بنیادی بافت چربی در مرحله‌ی پاساژ سوم با روش فلوسیتومتری.

(آدیپتوسیت) کشت داده شدند. در محیط تمایز استخوانی‌رنگ آمیزی سلول‌های تمایز یافته با Alizarian red تمایز این سلول‌ها را به سلول‌های استخوانی (استئوسیست) تایید کرد. با این رنگ آمیزی رسوب‌های کلسیم به رنگ قرمز درآمد. در محیط تمایز چربی، قطره‌های چربی از حدود روز ۵ تمایز ظاهر شدند. رنگ آمیزی سلول‌های

تمایز یافته با Oil red تمایز این سلول‌ها را به سلول‌های چربی تایید کرد. با این رنگ آمیزی قطره‌های چربی به رنگ قرمز درآمد (شکل۳).

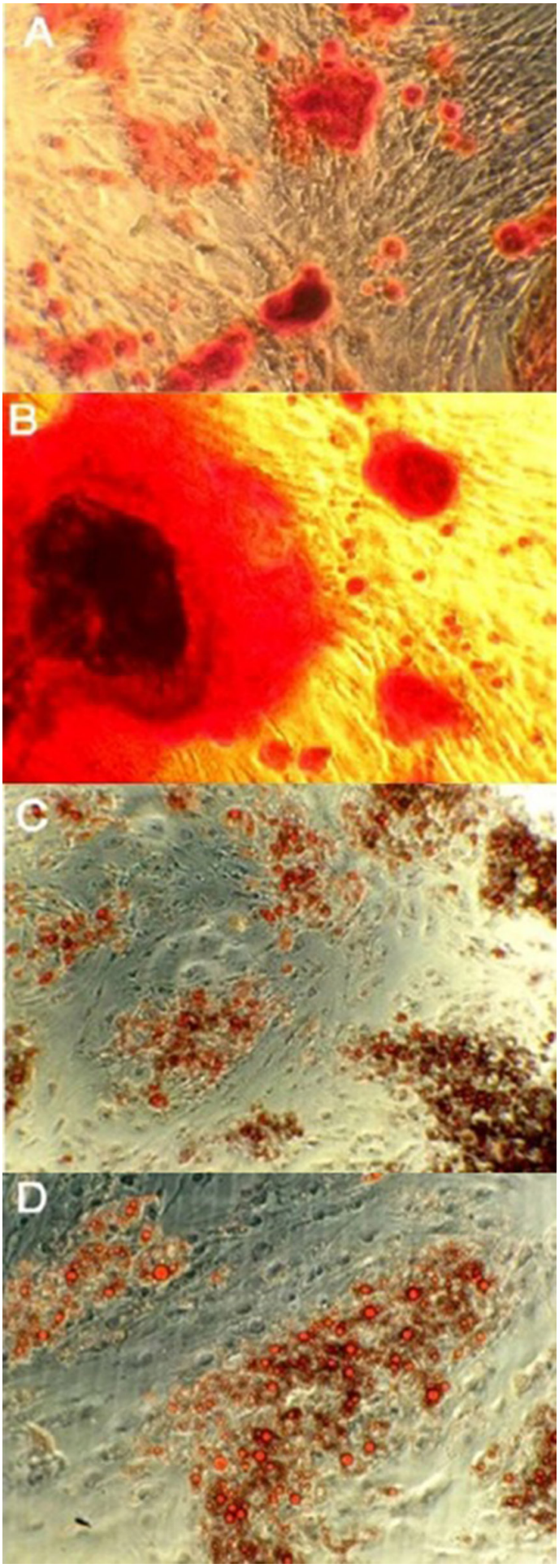
۴. ۲. ترنسفکشن سلول‌های بنیادی بافت چربی با وکتور حامل ژن OCT۴ و shRNA مهارکننده‌ی P۵۳

سلول‌های بنیادی بافت چربی در مرحله پاساژ ۳ با وکتور بیانی حامل ژن OCT4 و shRNA مهارکننده P53 ترنسفکت شدند. همچنین از وکتور بیان حامل ژنGFP به عنوان وکتور MOCK گروه کنترل استفاده شد. ۴۸ ساعت پس از ترنسفکشن، بیان پروتئین GFP با میکروسکوپ فلورسنت در ۲۵-۲۰ درصد سلول‌ها مشاهده شد [۳، ۴].

۵. بحث

سلول‌های بنیادی بافت چربی جز سلول‌های بنیادی مزانشیمی هستند که به آسانی و با تعداد زیاد جداسازی و در محیط کشت به راحتی تکثیر می‌شوند. استفاده از این سلول‌ها در درمان با مشکلات اخلاقی و رد پیوند مواجه نیست. تا به حال چندین مطالعه نشان داده است. که سلول‌ها بنیادی بافت چربی ژن‌های پرتوانی متعدد، مانند: OCT4، SOX2، NANOG، UTF1 و NODA را بیان می‌کنند. که باعث می‌شود کاندید مناسبی برای بازبرنامه ریزی و تولید سلول‌های بنیادی پرتوان باشند. در این مقاله، سلول‌های بنیادی بافت چربی با بیش بیان فاکتور رونویسی OCT4 و کاهش بیان ژن P53 توسط shRNA مهارکننده‌ی آن بازبرنامه ریزی شدند. به این منظور از وکتور PCXLE-Hoct4/shP53 استفاده شد، که در سال ۲۰۱۱ توسط تیم یاماناکا برای بازبرنامه ریزی سلول‌های فیبروبلاست و سلول‌های بنیادی مزانشیمی پالپ دندان انسانی به کار رفته بود. در واقع این محققین سلول‌ها را با سه وکتور محافظت ترنسفکت کردند. وکتور اول که ما نیز در این مقاله از آن استفاده کردیم، ژن OCT4 و یک shRNA مهارکننده ژن P53، وکتور دوم SOX2 و KLF4 و وکتور سومc-MYC وLIN28 را بیان می‌کرد [۴].

در این مقاله برای ترنسفکشن سلول‌ها از روش الکتروپوزیشن با دستگاه نئون ترسفکشن استفاده شد که بازده ترنسفکشن DNA خارجی در آن بالاتر و احتمال ادغام ژنومی ژن خارجی بیشتر از روش لیپوفکشن است. همچنین در این روش درصد بالایی از سلول‌ها زنده می‌مانند و تعداد سلول کمتری مورد نیاز است. این ویژگی‌ها بزرگترین مزیت این سیستم به شمار می‌رود. OCT4 یکی از فاکتورهای رونویسی است که طی تحقیقات گذشته به عنوان مهم ترین ژن در مسیرهای مولکولی درگیر در پرتوانی شناخته شده است. در سال ۲۰۱۶، zhou و همکارانش نشان دادند که OCT4 به تنهایی می‌تواند سلول‌های بنیادی



شکل۳. تمایز سلول‌های بنیادی بافت چربی به سلول‌های استخوانی (AوB) سلول‌های چربی (CوD) که به ترتیب با oil red و alizarian red رنگ‌آمیزی شده‌اند.

عصبی را به سلول‌های بنیادی پرتوان القا شده بازبرنامه ریزی نماید. درواقع OCT4 تنها فاکتور اجباری برای بازبرنامه ریزی است و سایر فاکتورها نقش افزایش دهنده بازده بازبرنامه ریزی را برعهده دارند. استفاده از عوامل کاهش دهنده‌ی بیان ژن P53 باعث افزایش بازده بازبرنامه ریزی سلول‌های سوماتیک می‌شود. به عنوان مثال، بیان shRNA مهارکننده‌ی ژن P21 که تنظیم کننده‌ی ژن P53 است، کارایی بازبرنامه ریزی را حدود سه برابر افزایش می‌دهد. در این مقاله نیز وکتور مورد استفاده برای بازبرنامه ریزی سلول‌های بنیادی بافت چربی حامل OCT4 و یک shRNA مهارکننده بیان P53 بود. فرض می‌کنیم که بیش بیان ژن OCT4 از طریق شبکخ ارتباطی پیچیده ای که با سایر ژن‌های پرتوانی تشکیل می‌دهد، بیان آنها را افزایش می‌دهد و shRNA مهارکننده و بیان P53 نیز با برنامه ریزی سلول‌ها را تسهیل می‌کند. بنابراین، یک هفته پس از ترنسفکشن بیان ژن OCT4 و سایر ژن‌های پرتوانی را در سلول‌های ترنسفکت شده با روش qPCR بررسی و نتایج آن نشان می‌دهد سطح بیان ژن OCT4A در روز هفتم پس از انجام ترنسفکشن به طور معنی داری افزایش یافت. همچنین بیان ژن‌های SOX2، LIN28 وc-MYC در سلول‌های ترنسفکت شده با وکتور حامل ژن OCT4 و shRNA مهارکننده‌ی P53 نسبت به گروه کنترل افزایش معنی دار نشان داد. یکی از ژن‌های هدف OCT4 ژن REX1 است که طبق نتایج qPCR در سلول‌های ترنسفکت شده با وکتور حامل ژن OCT4 و shRNA مهارکننده‌یP53 نسبت به گروه کنترل افزایش معنی دار نشان داد. بیان دو ژن KLF4 و NODAL تغییر معنی داری در سلول‌های بنیادی بافت چربی ترنسفکت شده با وکتور حامل ژن OCT4 و shRNA مهارکننده‌ی P53 نسبت به گروه کنترل نشان نداد. قابل ذکر است که فاکتور رونویسی KLF4 در بازبرنامه ریزی سلول‌های سوماتیک و حفظ ویژگی‌های خودنوزایی و پرتوانی نقش دارد و از تمایز سلول‌های بنیادی جلوگیری می‌کند. افزایش بیان برخی از ژن‌های پرتوانی، نه تمام آنها در سلول‌های بنیادی بافت چربی بازبرنامه ریزی شده، نشان دهنده تمایز زدایی نسبی این سلول‌ها به وسیله وکتور حامل ژن OCT4 و shRNA مهارکننده P53 است [۵، ۶].

۶. نتیجه‌گیری

به طور خلاصه، در این مقاله نشان دادیم که ترنسفکشن سلول‌های بنیادی بافت چربی با وکتور اپی زومال بیان کننده ژن OCT4 و shRNA مهارکننده ژن P53 باعث افزایش بیان ژن‌های پرتوانی OCT4، SOX2، REX1 و CCND1 می‌شود که نقش مثبت این وکتور را در برنامه ریزی سلول‌های بنیادی بافت چربی به سمت حالت پرتوانی نشان می‌دهد.

منابع

[1] Zhang, Z. N., Chung, S. K., Xu, Z., & Xu, Y. (2014). - *Stem Cells*, *32*(1), 157-165.

[2] Ng, W. L., Chen, G., Wang, M., Wang, H., Story, M., Shay, J. W., ... & Wang, Y. (2014). OCT4 as a target of miR-34a stimulates p63 but inhibits p53 to promote human cell transformation. *Cell death & disease*, *5*(1), e1024-e1024.

[3] Mohiuddin, I. S., Wei, S. J., Yang, I. H., Martinez, G. M., Yang, S., Cho, E. J., & Kang, M. H. (2021). Development of Cell-based High Throughput Luminescence Assay for Drug Discovery in Inhibiting OCT4-DNA-PKcs and OCT4-MK2 Interactions. *Biotechnology and Bioengineering*.

[4] Inzunza, J., Arias-Fuenzalida, J., Segura-Aguilar, J., Nalvarte, I., & Varshney, M. (2021). Generation of nonviral integration-free human iPS cell line KISCOi001-A from normal human fibroblasts, under defined xeno-free and feeder-free conditions. *Stem Cell Research*, *51*, 102193.

[5] Fu, X., Wu, S., Li, B., Xu, Y., & Liu, J. (2020). Functions of p53 in pluripotent stem cells. *Protein & cell*, *11*(1), 71-78.

[6] Harikumar, A., Lim, P. S., Nissim-Rafinia, M., Park, J. E., Sze, S. K., & Meshorer, E. (2020). Embryonic stem cell differentiation is regulated by SET through interactions with p53 and β-catenin. *Stem cell reports*, *15*(6), 1260-1274.

مقاله

اثرات نوروآندوکراین و اپی‌ژنتیکی گازهای بیهوشی

محدثه ترابیان[1]، هومن محمودی ازناوه[2]

[1]دانشجوی کارشناسی هوشبری، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران

[2]دانشجوی دکتری نانوبیوتکنولوژی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

چکیده

امروزه تصور پزشکی مدرن بدون استفاده از بیهوشی عمومی غیرممکن به نظر می‌رسد. علی‌رغم پیشرفت‌هایی که در زمینه‌ی اصلاح روش‌های بیهوشی به وجود آمده است، اثرات گازهای بیهوشی پس از خروج از بدن نیز به‌طور کامل برطرف نمی‌گردد. نقص‌های شناختی - عصبی ناشی از قرار گرفتن در معرض گازهای بیهوشی ممکن است در نوزادان و حتی افراد مسن تا سال‌های سال باقی بماند؛ ازاین‌رو مطالعات انسانی در مورد مکانیسم اثرات نامطلوب بلندمدت گازهای بیهوشی به‌منظور افزایش ایمنی بیهوشی عمومی کاملاً ضروری به نظر می‌رسد، اما این‌گونه پژوهش‌ها نه‌تنها با محدودیت‌های اخلاقی تحقیقات انسانی، بلکه با عدم وجود نشانگرهای زیستی اختصاصی مواجه هستند. در این مطالعه نشان داده شده است که بیهوشی عمومی با استفاده از سووفلوران که یکی از پرکاربردترین گازهای بیهوشی است، در حیوانات سبب بروز اختلالاتی در سیستم عصبی، غدد درون‌ریز و هم‌چنین در برنامه‌ریزی اپی‌ژنتیکی سلول‌های زایا شده و از طرف دیگر ممکن است این اثرات تحت توارث قرار گیرند.

کلمات کلیدی: بیهوشی عمومی، سووفلوران، تأثیرات اپی‌ژنتیکی

۱. مقدمه

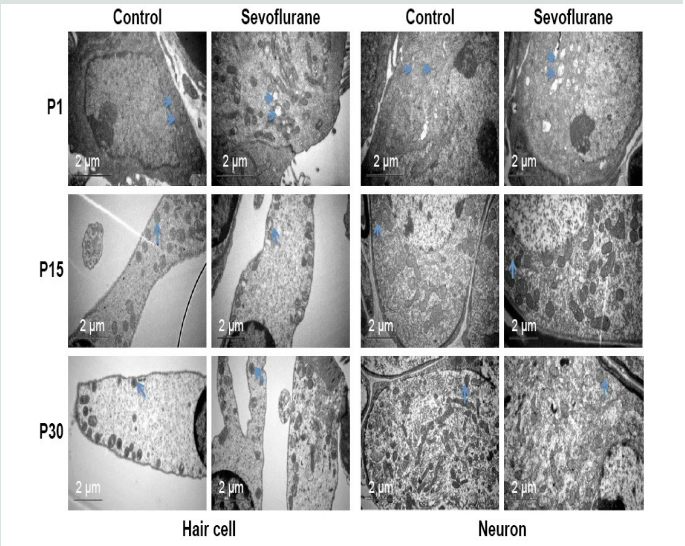
بر اساس برآورد سازمان جهانی بهداشت، تعداد عمل‌های جراحی انجام‌شده در سراسر جهان از ۲۲۶ میلیون در سال ۲۰۰۴ به ۳۱۲ میلیون در سال ۲۰۱۲ افزایش یافته است [۱]. اغلب این جراحی‌ها نیاز به بیهوشی عمومی دارند که می‌توان آن را به‌عنوان «کمای برگشت‌پذیر مغزی» در نظر گرفت [۲]. علی‌رغم برگشت‌پذیری کامل اثر اولیه گازهای بیهوشی، بسیاری از مطالعات بر روی انسان و حیوانات آزمایشگاهی شواهدی را نشان می‌دهند که قرار گرفتن در معرض گازهای بیهوشی ممکن است منجر به اختلالات عملکردی طولانی‌مدت منجر شود [۳-۶]. تحقیقات در خصوص ناهنجاری‌های ناشی از بیهوشی عمدتاً به ارزیابی عملکرد عصبی – شناختی محدود شده است [۷-۹]؛ درحالی‌که ازنظر بیولوژیکی این احتمال وجود دارد که گازهای بیهوشی بتوانند بر عملکرد سایر سیستم‌های بدنی نیز تأثیرگذار باشند. درنتیجه‌ی این مطالعات مشخص شده است که عوارض جانبی طولانی‌مدت این مواد در افراد جوان، مسن [۵, ۶] و بانوان باردار نیز نگران‌کننده است [۱۰-۱۲]. این تأثیرات می‌تواند برای مادر و جنین خطرآفرین باشد چراکه شواهد نشان می‌دهند در این مرحله از زندگی سیستم عصبی مرکزی و سایر دستگاه‌های بدن مستعد برنامه‌ریزی مجدد اپی‌ژنتیکی توسط عوامل محیطی و استرس‌زا هستند [۱۳-۱۵]. در این گزارش، به مطالعاتی از اختلالات یادگیری، حافظه طولانی‌مدت و نیز تأثیرات بیش‌فعالی در بیمارانی که در اوایل زندگی بیهوشی داشته‌اند، پرداخته شده است.

اگرچه طی چندین مطالعه‌ی اخیر پیامدهای منفی عصبی ناشی از قرارگیری کوتاه‌مدت (≥ ۱ ساعت) در معرض گازهای بیهوشی در کودکان یافت نشده است [۶, ۱۶] اما مطالعات بالینی و آزمایشگاهی، ازجمله جدیدترین ارزیابی‌های بالینی [۱۷]، این نظریه را تائید می‌نمایند که استفاده طولانی‌مدت از گازهای بیهوشی که اغلب برای این گروه سنی استفاده می‌شوند ممکن است منجر به ایجاد ناهنجاری‌های عصبی قابل‌توجهی در بزرگسالی شوند [۱۸، ۱۹]. چندین مطالعه اثر گازهای بیهوشی ازجمله ایزوفلوران را در موش‌های صحرایی جوان در مقایسه با سایر گروه‌های سنی ارزیابی کرده‌اند. غلظت‌های مختلف گاز ایزوفلوران و رژیم‌های غذایی‌های متفاوت، مقایسه اثرات این مطالعات را دشوار کرده و بدیهی است تحقیقات بیشتری به‌منظور تبیین دقیق‌تر اثرات طولانی‌مدت گازهای بیهوشی در بزرگسالان موردنیاز است [۲۰-۲۲]. نکته مهم این است که سلول‌های زایا که اطلاعات ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی را از والدین به فرزندان منتقل می‌نمایند، قادرند در طول عمر با عوامل محیطی متفاوت، برنامه‌ریزی مجدد اپی‌ژنتیکی شوند [۲۳، ۲۴]. مطالعات آزمایشگاهی و بالینی، شواهدی را نشان می‌دهند که الکل، استرس، اختلالات غدد درون‌ریز، چاقی و حتی تمرینات بدنی ممکن است بر رشد جنین و فنوتیپ فرزندان اثرگذار باشند [۲۵، ۲۶]. مکانیسم‌های مولکولی زیادی در تداخل با عملکرد الکل و گازهای بیهوشی وجود دارند [۲۷، ۲۸] که ممکن است به‌عنوان اختلالات غدد درون‌ریز و عوامل استرس‌زای محیطی در مدل‌های حیوانی و انسانی عمل نمایند.

۲. بیهوشی عمومی، عوارض عصبی و اپی‌ژنتیکی

عوامل محیطی ممکن است اثرهای گازهای بیهوشی نوزادان را کاهش یا افزایش دهند. به‌عبارت‌دیگر، دو فرد در معرض بیهوشی یکسان، ممکن است بر اساس تجربیات متفاوت زندگی پس از بیهوشی، نتایج طولانی‌مدت متفاوتی را بروز دهند. ژانگ و همکاران، گزارش کرده‌اند که موش‌های صحرایی که در نوزادی در معرض سووفلوران قرارگرفته‌اند، از زمانی که فرآیند تغذیه‌ای آن‌ها از شیر مادر فاصله گرفته است و با محیط پیرامونی خویش بیشتر در ارتباط‌اند، سطوح کاهش‌یافته‌ای از فاکتور نورون‌زایی مشتق شده از مغز را نشان می‌دهند [۲۹، ۳۰].

یافته‌های دیگر نشان می‌دهند که در موش‌هایی که تحت بیهوشی یکسان با گاز سووفلوران قرارگرفته‌اند در مقایسه با گروه کنترل، ناهنجاری‌های رفتاری شدیدی را در طی زمان طولانی بروز می‌دهند. این‌گونه یافته‌ها این احتمال را تائید می‌نمایند که داروهای بیهوشی که در سنین پایین تجویز می‌شوند می‌توانند با زمینه‌سازی و ایجاد اثرات هم‌افزایی با عوامل استرس‌زای محیطی ریسک آسیب‌پذیر افراد را افزایش دهند (شکل۱) [۳۱].

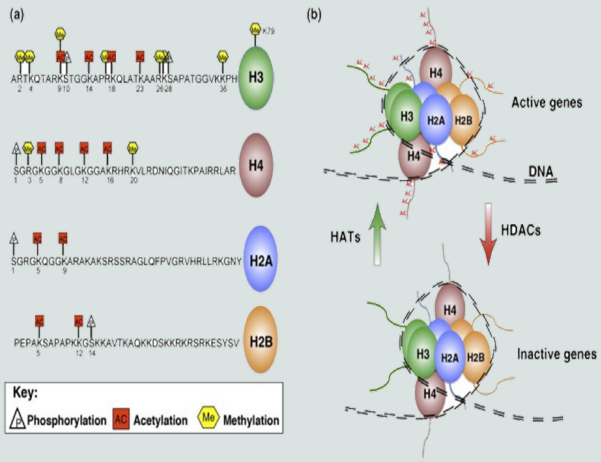


شکل ۱. بی‌حسی سووفلوران در دوران بارداری در موش‌ها باعث ایجاد اختلال شنوایی در فرزندان می‌شود. فراساختار میتوکندری سلول‌های مو و نورون‌های حلزون با میکروسکوپ الکترونی عبوری در (۵، ۱۵ و ۳۰ روز) پس از تولد [۳۱].

۳. اثرات نامطلوب قرارگیری در معرض گازهای بیهوشی و عوامل استرس‌زای محیطی

بررسی‌های بیشتری که درزمینه‌ی اثرات متقابل قرارگیری در معرض گازهای بیهوشی و عوامل استرس‌زای محیطی پس از بیهوشی در اوایل زندگی انجام شده است، نشان داده‌اند که نه‌تنها آسیب‌پذیرترین بیماران، بلکه افرادی که در معرض خطر کمتری قرار داشته‌اند و فاقد بیماری زمینه‌ای نیز هستند، می‌توانند تحت تأثیر عوارض مخرب این مواد قرار گیرند. استیله‌شدن هیستون‌ها و متیلاسیون DNA از مکانیسم‌های مهم اپی‌ژنتیکی هستند که به همراه عوامل محیطی، به‌ویژه استرس، بر رشد و عملکرد مغز تأثیرگذارند. برای مثال استیلاسیون هیستون‌ها با فعال‌سازی و تشکیل نواحی یوکروماتین، رونویسی ژن‌ها را تسهیل می‌نمایند (شکل۲) [۳۲]. استیلاسیون هیستون با افزودن و حذف گروه‌های استیل به پایانه‌ی آمین هیستون‌ها به ترتیب توسط آنزیم‌های استیل ترانسفراز و هیستون داستیلاز تنظیم می‌شود [۳۳].

جیا و همکاران دریافتند که قرارگیری مکرر نوزادان موش‌های صحرایی در معرض گاز سووفلوران منجر به افزایش سطح بیان هیستون داستیلازهای ۳ و ۸ و درنتیجه کاهش سطح هیستون‌های استیله‌شده‌ی H3 وH4 در هیپوکامپ می‌شود. در نتیجه‌ی تغییرات بیوشیمیایی به وجود آمده در سطح اسیدهای نوکلئیک، موش‌های صحرایی مورد آزمایش رفتارهای مبتنی بر عملکرد کم هیپوکامپ را نشان دادند. استفاده از سدیم بوتیرات به‌عنوان مهارکننده‌ی آنزیم هیستون داستیلاز، توانسته است اثرات مخرب ناشی از سووفلوران را کاهش دهد که این خود



شکل ۲. تنظیم بیان ژن و اصلاحات هیستون (الف) دم های هیستونی در معرض تغییرات پس از ترجمه، از جمله فسفوریلاسیون، استیلاسیون و متیلاسیون قرار می گیرند. (ب) استیلاسیون بقایای لیزین در دم هیستون با ژن‌های فعال همراه است، استیلاسیون کاهش یافته یا بدون استیل در ژن‌های غیرفعال یافت می‌شود [۳۵].

نشان‌دهنده‌ی نقش این آنزیم و نیز تغییرات بیوشیمیایی اسیدهای نوکلئیک در اختلالات ناشی از گازهای بیهوشی است [۳۴]. علاوه بر این، استیلاسیون هیستون‌ها ممکن است در اختلال یادگیری و حافظه فرزندان حاصل از موش‌های باردار که در معرض سووفلوران، ایزوفلوران یا پروپوفول بوده‌اند نیز نقش ایفا نمایند [۳۵].

آزمایش‌ها نشان می‌دهند در انسان و بسیاری از حیوانات، عوامل محیطی به‌ویژه استرس که از طریق مکانیسم‌های اپی‌ژنتیکی عمل می‌نمایند، نه‌تنها بر افراد در معرض بلکه بر نسل‌های آینده نیز تأثیرگذارند [۳۵]. داده‌های آزمایشگاهی و بالینی گواه این موضوع هستند که عوارض جانبی گازهای بیهوشی ممکن است شامل تغییرات اپی‌ژنتیکی در سلول‌های سوماتیک و زایا باشند [۳۶]. دونکین و همکاران دریافتند که وضعیت متیلاسیون ۱۵۰۹ ژن در اسپرم بیماران، یک هفته پس از جراحی تغییر کرده است. این یافته نشان داد که بیهوشی ممکن است عامل بسیار مهمی جهت ایجاد تغییرات بیوشیمیایی دئوکسی‌ریبونوکلئیک اسیدها باشد که حتی می‌توانند در برنامه‌ریزی مجدد اپی‌ژنتیکی اسپرم‌های بالغ نیز دخیل باشند [۳۷]. نکته مهم این جاست که از ۱۵۰۹ ژنی که در یک هفته بعد از بیهوشی تغییرات اپی‌ژنتیکی آن‌ها تشخیص داده شد، پس از گذشت یک سال همچنان ۱۰۰۴ ژن این تأثیرات را در خود حفظ کرده بودند [۳۸]. چندین ارزیابی بالینی در خلبان‌هایی که تحت بیهوشی قرارگرفته‌اند، نشان داده است که تأثیرات این عمل می‌تواند در باروری و فرزندآوری نیز مؤثر باشد و همچنین قرارگیری طولانی‌مدت در معرض این گازها در اتاق‌های عمل، می‌تواند اثرات غیرقابل بازگشتی بر سلول‌های جنسی برجای گذارد [۳۶، ۳۷]. جهت حصول شواهد بیشتر برای بررسی‌های بیشتر موش‌های نر و ماده به مدت ۶ ساعت در معرض گاز بی‌هوشی سووفلوران قرار داده شدند و نتیجه نشان داد که نوزادان حاصل از آن‌ها ناهنجاری‌های عصبی – رفتاری مشخصی را نشان می‌دهند [۳۹].

یافته‌های مبنی بر تأثیر ژن Kcc2 در سلول‌های سوماتیک (مغز) والدین و سلول‌های زایا، نشان می‌دهد که این ژن می‌تواند یکی از عوامل مهم در انتقال اثرات بین نسلی بیهوشی باشد. موش‌های نر و ماده که در معرض سووفلوران قرار گرفتند، ژن Kcc2 هایپرمتیله شده در اسپرم و تخمک آن‌ها شناسایی شد. نکته جالب اینجاست که در بررسی‌های ژنتیکی، ناحیه پروموتر Kcc2 در سلول‌های زایای موش‌هایی که در نوزادی یا در بزرگسالی در معرض سووفلوران قرارگرفته بودند، تغییرات بیوشیمیایی از نوع متیلاسیون را نشان داده‌اند [۴۰، ۴۱]. این یافته‌ها تبیین می‌نماید که این ماده می‌تواند اثرات گوناگونی را از طریق مکانیسم‌های اپی‌ژنتیکی در موش‌های صحرایی در

طیف وسیعی از سنین، از نوزادی تا بزرگ‌سالی ایجاد نماید که این پیامدها می‌توانند تغییرات پایدار و مشابهی را در بین فرزندان والدینی که در معرض این ماده قرارگرفته‌اند نشان دهند. در مقایسه با سلول‌های سوماتیک، سلول‌های زایا حساسیت بالاتری را نسبت به عوارض ناشی از این مواد نشان می‌دهند [۴۲، ۴۳]؛ بنابراین این‌گونه مواد می‌توانند بر گامت‌ها تأثیرگذار باشند و هم‌چنین این پیامدها در پس از تولد نوزاد و در اثر هم‌افزایی با استرس‌های محیطی فرزندان در بدن آن‌ها بروز پیداکرده و تشدید شود. واکنش شدید آدرنال هیپوتالاموس به استرس، افزایش سطح هورمون‌های لوتئینیزه کننده، افزایش هورمون تستوسترون و بیش بیان ژن هورمون آزادکننده گنادوتروپین هیپوتالاموس، ازجمله ناهنجاری‌هایی هستند که قرارگیری طولانی‌مدت (سه ماه) در معرض سووفلوران می‌تواند در بدن ایجاد نماید. همچنین دیده شده است که در موش‌ها نیز این نوع از قرارگیری طولانی‌مدت سبب تغییر پروفایل بیانی ژن‌های آروماتاز هیپوتالاموس و گیرنده‌های استروژن α و β می‌شود [۴۴]. بررسی‌های دقیق در آینده می‌تواند به شناسایی طیف کاملی از اثرات زیستی بین نسلی گازهای بیهوشی بیانجامد و منجر به کشف فنوتیپ‌های جدید شود. به نظر می‌رسد اثرات بین نسلی قرار گرفتن در معرض گازهای بیهوشی محدود به سووفلوران نیست و سایر گازهای بیهوشی نیز اثرات مشابهی دارند، زیرا تانگ و همکاران ناهنجاری‌های رفتاری را در فرزندان موش‌هایی که در سن ۱۱ هفتگی در معرض انفلوران قرارگرفته‌اند را نیز نشان داده‌اند [۴۵].

۴. نتیجه‌گیری

مطالعات اخیر پرسش‌های متعددی را در خصوص انواع عوارض جانبی گازهای بیهوشی و مکانیسم‌های زمینه‌ای آن‌ها مطرح می‌نمایند که پاسخ‌های آن‌ها می‌تواند موجب بازنگری در قوانین ایمنی زیستی کاربرد این‌گونه مواد باشد. سووفلوران به‌عنوان یکی از گازهای بیهوشی پرکاربرد، می‌تواند به‌عنوان عامل مختل‌کننده غدد درون‌ریز در نوزادان و افراد بالغ عمل نماید. اثرات ناشی از عوامل استرس‌زای خارجی و محیطی نیز می‌تواند در هم‌افزایی با این‌گونه مواد نقش داشته و سبب تشدید عوارض جانبی طولانی‌مدت گازهای بیهوشی شود که ازجمله‌ی شناخته‌شده‌ترین این پیامدها می‌توان به اثرات نوروآندوکراین (اثرات جسمانی) و برنامه‌ریزی مجدد اپی‌ژنتیکی سلول‌های زایا (اثرات سلول زایا) اشاره نمود. از طرف دیگر، در مقایسه با سلول‌های سوماتیک، سلول‌های زایا نسبت به اثرات مضر سووفلوران حساس‌ترند و این احتمال را ایجاد می‌نمایند که والدینی که در معرض گازهای بیهوشی قرار داشته‌اند بتوانند فرزندان خود را تحت تأثیر قرار دهند. عوارض جانبی طولانی‌مدت گازهای بیهوشی در موش‌های صحرایی جوان بالغ تائید کننده‌ی این مطلب است و ازاین‌رو، توصیه‌های سازمان غذا و داروی ایالات‌متحده جهت اجتناب از گازهای بیهوشی در کودکان زیر ۳ سال، ممکن است نیاز به تجدیدنظر داشته باشد تا سن‌های بالاتر از ۳ سال را نیز شامل شود.

منابع

[1]T. G. Weiser *et al*., "Size and distribution of the global volume of surgery in 2012," (in eng), *Bull World Health Organ*, vol. 94, no. 3, pp. 201-209F, 2016.
[2]E. N. Brown, N. D. Lydic R Fau - Schiff, and N. D. Schiff, "General anesthesia, sleep, and coma," (in eng), no. 1533-4406.
[3]L. Vutskits and Z. Xie, "Lasting impact of general anaesthesia on the brain: mechanisms and relevance," (in eng), no. 1471-0048.
[4]C. Crosby, M. G. Culley Dj Fau - Baxter, R. Baxter Mg Fau - Yukhananov, G. Yukhananov R Fau - Crosby, and G. Crosby, "Spatial memory performance 2 weeks after general anesthesia in adult rats,", no. 0003-2999.
[5]D. Hu *et al*., "Association between Exposure of Young Children to Procedures Requiring General Anesthesia and Learning and Behavioral Outcomes in a Population-based Birth Cohort," (in eng), no. 1528-1175.
[6]L. S. Sun *et al*., "Association Between a Single General Anesthesia Exposure Before Age 36 Months and Neurocognitive Outcomes in Later Childhood," (in eng), no. 1538-3598.
[7]M. R. Graham, D. G. Brownell M Fau - Chateau, R. D. Chateau Dg Fau - Dragan, C. Dragan Rd Fau - Burchill, R. R. Burchill C Fau - Fransoo, and R. R. Fransoo» ,Neurodevelopmental Assessment in Kindergarten in Children Exposed to General Anesthesia before the Age of 4 Years: A Retrospective Matched Cohort Study," (in eng), no. 1528-1175.
[8]C. H. Ing *et al*., "Comparative analysis of outcome measures used in examining neurodevelopmental effects of early childhood anesthesia exposure," (in eng), no. 1528-1175.
[9]P. M. Filan, P. J. Hunt Rw Fau - Anderson, L. W. Anderson Pj Fau - Doyle, T. E. Doyle Lw Fau - Inder, and T. E. Inder, "Neurologic outcomes in very preterm infants undergoing surgery," (in eng), no. 1097-6833.
[10]L. Sun, "Early childhood general anaesthesia exposure and neurocognitive development," (in eng), no. 1471-6771.
[11]C. Ing *et al*., "Age at Exposure to Surgery and Anesthesia in Children and Association With Mental Disorder Diagnosis," (in eng), *Anesth Analg*, vol. 125, no. 6, pp. 1988-1998, 2017.
[12]R. I. Block, E. O. Thomas Jj Fau - Bayman, J. Y. Bayman Eo Fau - Choi, K. K. Choi Jy Fau - Kimble, M. M. Kimble Kk Fau - Todd, and M. M. Todd, "Are anesthesia and surgery during infancy associated with altered academic performance during childhood?," (in eng), no. 1528-1175 (Electronic).
[13]J. J. Heindel *et al*., "Developmental Origins of Health and Disease: Integrating Environmental Influences," (in eng), no. 1945-7170 (Electronic).
[14]D. J. Barker, "The origins of the developmental origins theory," (in eng), no. 0954-6820 (Print).
[15]P. D. Gluckman, M .D. Hanson Ma Fau - Mitchell, and M. D. Mitchell, "Developmental origins of health and disease: reducing the burden of chronic disease in the next generation," (in eng), no. 1756-994X (Electronic).
[16]A. J. Davidson *et al*., "Neurodevelopmental outcome at 2 years of age after general anaesthesia and awake-regional anaesthesia in infancy (GAS): an international multicentre, randomised controlled trial," (in eng), no. 1474-547X (Electronic).
[17]P. Banerjee *et al*., "Association Between Anesthesia Exposure and Neurocognitive and Neuroimaging Outcomes in Long-term Survivors of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia," (in eng), no. 2374-2445 (Electronic).
[18]E. P. Lin, J. R. Lee, C. S. Lee, M. Deng, and A. W. Loepke, "Do anesthetics harm the developing human brain? An integrative analysis of animal and human studies," (in eng), no. 1872-9738 (Electronic).
[19]S. C. Deoni *et al*., "Cesarean Delivery Impacts Infant Brain Development," (in eng), *AJNR Am J Neuroradiol*, vol. 40, no. 1, pp. 169-177, 2019, doi: 10.3174/ajnr.A5887.
[20]D. J. Culley, R. Baxter M Fau - Yukhananov, G. Yukhananov R Fau - Crosby, and G. Crosby, "The memory effects of general anesthesia persist for weeks in young and aged rats," (in eng), no. 0003-2999 (Print).
[21]G. Stratmann *et al*» ,.Isoflurane differentially affects neurogenesis and long-term neurocognitive function in 60-day-old and 7-day-old rats," (in eng), no. 1528-1175 (Electronic).
[22]C. Zhu *et al*., "Isoflurane anesthesia induced persistent, progressive memory impairment ,caused a loss of neural stem cells, and reduced neurogenesis in young, but not adult, rodents," (in eng), no. 1559-7016 (Electronic).

[23]L. Ly *et al*., "Intergenerational impact of paternal lifetime exposures to both folic acid deficiency and supplementation on reproductive outcomes and imprinted gene methylation," (in eng), no. 1460-2407 (Electronic).
[24]G. R. Rompala and G. A.-O. Homanics, "Intergenerational Effects of Alcohol: A Review of Paternal Preconception Ethanol Exposure Studies and Epigenetic Mechanisms in the Male Germline," (in eng), no. 1530-0277 (Electronic).
[25]L. G. Chastain and D. K. Sarkar, "Alcohol effects on the epigenome in the germline: Role in the inheritance of alcohol-related pathology," (in eng), no. 1873-6823 (Electronic).
[26]S. Rattan and J. A. Flaws, "The epigenetic impacts of endocrine disruptors on female reproduction across generations†," (in eng), no. 1529-7268 (Electronic).
[27]M. J. Beckstead, J. R. Phelan R Fau - Trudell, M. J. Trudell Jr Fau - Bianchini, S. J .Bianchini Mj Fau - Mihic, and S. J. Mihic, "Anesthetic and ethanol effects on spontaneously opening glycine receptor channels," (in eng), no. 0022-3042 (Print).
[28]D. C. Rees, T. J. Knisely Js Fau - Breen, R. L. Breen Tj Fau - Balster, and R. L. Balster, "Toluene, halothane, 1,1,1-trichloroethane and oxazepam produce ethanol-like discriminative stimulus effects in mice," (in eng), no. 0022-3565 (Print).
[29]J. Shih *et al*., "Delayed environmental enrichment reverses sevoflurane-induced memory impairment in rats," (in eng), no. 1528-1175 (Electronic).
[30]H. Zheng *et al*., "Sevoflurane anesthesia in pregnant mice induces neurotoxicity in fetal and offspring mice," (in eng), *Anesthesiology*, vol. 118, no. 3, pp. 516-526, 2013, doi: 10.1097/ALN.0b013e3182834d5d.
[31]M. Q. Zhang *et al*., "Neurobehavioural abnormalities induced by repeated exposure of neonatal rats to sevoflurane can be aggravated by social isolation and enrichment deprivation initiated after exposure to the anaesthetic," (in eng), no. 1471-6771) Electronic.(
[32]S. R. D'Mello, "Regulation of Central Nervous System Development by Class I Histone Deacetylases," *Developmental Neuroscience*, vol. 41, no. 3, pp. 149-165, 2019, doi: 10.1159/000505535.
[33]S. McClelland, J. Korosi A Fau - Cope, A .Cope J Fau - Ivy, T. Z. Ivy A Fau - Baram, and T. Z. Baram, "Emerging roles of epigenetic mechanisms in the enduring effects of early-life stress and experience on learning and memory," (in eng), no. 1095-9564 (Electronic).
[34]A. Rudenko and L. H. Tsai, "Epigenetic modifications in the nervous system and their impact upon cognitive impairments," (in eng), no. 1873-7064 (Electronic).
[35]A. Fischer, A. Sananbenesi F Fau - Mungenast, L.-H. Mungenast A Fau - Tsai, and L. H. Tsai, "Targeting the correct HDAC(s) to treat cognitive disorders," (in eng), no. 1873-3735 (Electronic).
[36]S. R. Kinney and S. Pradhan, "Regulation of expression and activity of DNA (cytosine-5) methyltransferases in mammalian cells," (in eng), no. 1878-0814 (Electronic).
[37]F .Lyko, "The DNA methyltransferase family: a versatile toolkit for epigenetic regulation," (in eng), no. 1471-0064 (Electronic).
[38]J. Wu, M. Bie B Fau - Naguib, and M. Naguib, "Epigenetic Manipulation of Brain-derived Neurotrophic Factor Improves Memory Deficiency Induced by Neonatal Anesthesia in Rats," (in eng), no. 1528-1175 (Electronic).
[39]A. Lehrner *et al*., "Maternal PTSD associates with greater glucocorticoid sensitivity in offspring of Holocaust survivors," (in eng), no. 1873-3360 (Electronic).
[40]M. Pembrey, R. A.-O. Saffery, and L. O. Bygren, "Human transgenerational responses to early-life experience: potential impact on development, health and biomedical research," (in eng), no. 1468-6244 (Electronic).
[41]F. K. Graham, "The more or less startling effects of weak prestimulation," *Psychophysiology*, vol. 12, no. 3, pp. 238-248, 1975, doi: 10.1111/j.1469-8986.1975.tb01284.x.
[42]K. A.-O. Tervahartiala *et al*., "Toddlers' diurnal cortisol levels affected by out-of-home, center-based childcare and at-home, guardian-supervised childcare: comparison between different caregiving contexts," (in eng), no. 1435-165X (Electronic).
[43]F. A.-O. Luo *et al*., "Maternal Exposure of Rats to Isoflurane during Late Pregnancy Impairs Spatial Learning and Memory in the Offspring by Up-Regulating the Expression of Histone Deacetylase 2," (in eng), no. 1932-6203 (Electronic).
[44]A. S. Khashan *et al*., "Higher risk of offspring schizophrenia following antenatal maternal exposure to severe adverse life events «,(in eng), no. 1538-3636 (Electronic).
[45]M. J. Landram, A. J. Koch, and J. L. Mayhew, "Salivary stress hormone response and performance in full competition after linear or undulating periodization training in elite powerlifters," (in eng), no. 1827-1928) Electronic.

مقاله

مروری بر ماهیت زیست‌شناختی حافظه

یاسمن مؤذن صفائی

دانشجوی کارشناسی‌ارشد دو رشته‌ای زیست‌شناسی و روانشناسی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

چکیده

هویت ما، آنچه هستیم، آن‌طور که فکر می‌کنیم و محصول تصمیم‌گیری‌هایمان، همه از حافظه تأثیر می‌پذیرد. در مسیر شناخت این توانمندی ارزشمند، یکی از چالش‌های اساسی پاسخ به سؤال مادی یا غیرمادی بودن ماهیت حافظه است. در این مقاله تلاش بر این است که با مرور برخی پژوهش‌های مرتبط و مطرح در این زمینه برای حل این چالش دوگانه قدمی برداریم.

کلمات کلیدی: حافظه، انگرام، انعطاف‌پذیری عصبی

۱. مقدمه

اگر مطابق تعریف اریک کندل، یادگیری را فرآیند زیستی تعریف کنیم که شناخت جهان را ممکن می‌سازد و به خاطر سپردن را فرایندی بدانیم که حفظ و بازسازی این شناخت را در طول زمان میسر می‌کند؛ آنگاه می‌توان پذیرفت که بیشتر شناخت ما از جهان پیرامون، همان چیزی است که یاد گرفته‌ایم، به یاد می‌آوریم یا فراموش می‌کنیم. بدون ماهیت یکپارچه کننده حافظه، زندگی به ثانیه‌های پراکنده بی‌معنا در طول حیات انسان تقلیل می‌یافت [۲].

۱. ۱. حافظه، توانمندی شناختی در ذهن یا فرایندی زیستی در مغز

اول در مورد س.ب. در نقطه شماره ۱۹ روی گیجگاه راست، اولین تماس نوک الکترود باعث شد که بیمار بگوید: آن گوشه یک پیانو بود و یک نفر داشت می‌زد. من آهنگ را می‌شنیدم. وقتی همان نقطه بدون اخطار دوباره تحریک شد، بیمار گفت: یک نفر داشت با یکی دیگر حرف می‌زد. او اسمی را به زبان آورد که من نفهمیدم، درست مثل این بود که داشت خوابی را تعریف می‌کرد. همان نقطه را برای بار سوم تحریک کردم- این بار نیز بدون اخطار قبلی. بیمار همزمان با تماس الکترود گفت: آره. آهنگ ماریا، ماریا است. یک نفر دارد می‌خواند. وقتی نوک الکترود آن نقطه را برای بار چهارم برانگیخت، او صدای خواندن آهنگ می‌شنید و یادش آمد این آهنگ در آن‌وقت‌ها آرم یک برنامه رادیویی بود. وقتی نقطه شماره ۱۶ تحریک شد، یعنی بعدازاینکه سوزن الکترود در جای خود قرار گرفت؛ او گفت: یک خاطره‌ای دارد یادم می‌آید، کارخانه سون‌آپ را می‌بینم...نانوایی هاریسون... ما به او گفتیم که داریم شوک می‌دهیم ولی در حقیقت نوک الکترود به نقطه‌ای وصل نبود. او گفت: هیچی...[۳].

-گزارش وایلدر پنفیلد (جراح مغز و استاد دانشگاه مک گیل) از پاسخ بیمار به تحریک الکتریکی ضعیف قشر مخ (ازآنجایی‌که بیمار مبتلابه صرع کانونی تحت بیهوشی موضعی عمل می‌شود قادر است حین جراحی با پزشک صحبت کند).

آنچه از گزارش‌های پنفیلد برمی‌آید این است که تحریک الکتریکی مغز بیمار، باعث شده تا خاطره مشخصی را به یاد آورد. مشاهدات پنفیلد در دهه ۶۰، یکی از پژوهش‌های چند دهه اخیر است که حافظه را از مفهومی صرفاً متعلق به دنیای روان‌شناسی و با ماهیت ذهنی، به‌عنوان مفهومی زیستی با ماهیت عینی معرفی می‌کند. گرچه این ایده که مغز خاطرات را ذخیره می‌کند؛از زمان افلاطون مطرح بوده است اما آغاز مطالعات تجربی این رویکرد به اوایل قرن بیستم برمی‌گردد.

۲. در جستجوی حافظه

جامعه علمی، طرح مفهوم مادی حافظه را مرهون نظریه‌پردازی ریچارد سیمون، جانورشناس و زیست‌شناس تکوینی آلمانی است. سیمون بیش از ۱۰۰ سال پیش برای اولین بار نظریه -انگرام حافظه- را ارائه داد. به سبب تازگی موضوع و ازآنجایی‌که معتقد بود واژگان رایج در حوزه حافظه، ظرفیت انتقال مفاهیم دقیق علمی ندارند؛ بنای نظریه بر مبنای واژگانی است که ابتدا توسط خود او معرفی شدند:

engram در تعریف سیمون، انگرام، تغییرات پایداری است که محرک بر ماده تحریک‌پذیر می‌گذارد. این تغییرات پایدار در ابتدا نهفته هستند [۴].

در ادبیات متداول عصب شناسان معاصر، رد حافظه، واژه‌ای است که به‌عنوان مترادف انگرام استفاده می‌شود. به زبان علم امروز، انگرام، تغییرات فیزیکی یا شیمیایی پایداری است که در اثر یادگیری ایجاد می‌شود و مبنای تداعی‌های تازه حافظه است. بنابراین سلول‌های انگرام، جمعیت‌های نورونی هستند که طی یادگیری فعال‌شده‌اند. این نورون‌ها در اثر یادگیری، تغییرات سلولی پایداری پیداکرده‌اند. درصورتی‌که بخشی از محرک اولیه دخیل در یادگیری، مجدد این جمعیت نورونی را تحریک کند، خاطرات ذخیره‌شده بازیابی یا یادآوری می‌شوند [۵].

engraphy سیمون معتقد بود تمام تحریکات هم‌زمانی که یک ارگانیسم دریافت می‌کند، درون موجود زنده، به یک کمپلکس یکپارچه و واحد از تحریکات به هم متصل تبدیل می‌شود.

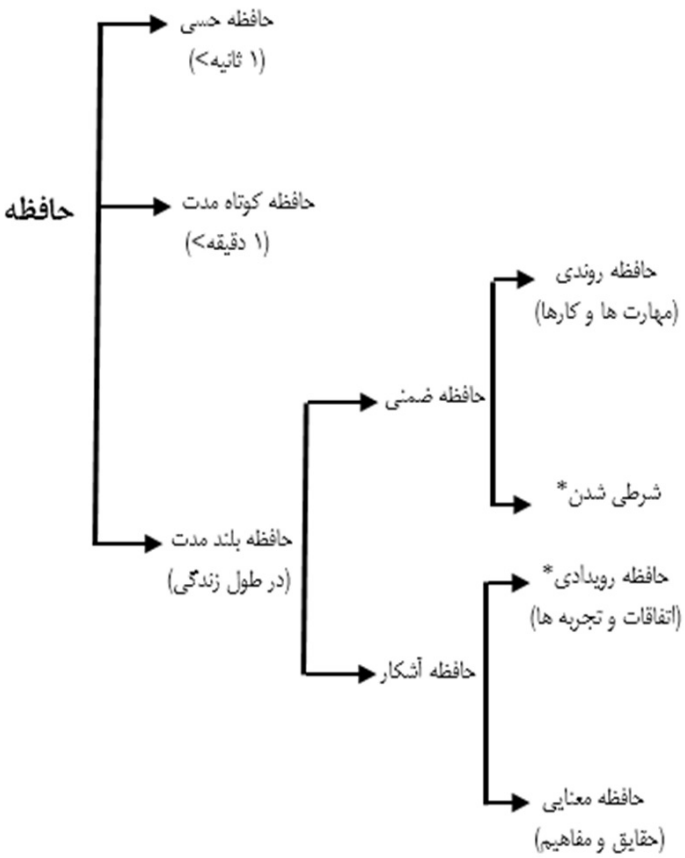
ecphory به تأثیراتی که انگرام را از حالت نهفته خارج کرده و فعال می‌کند، گفته می‌شود [۴].

دو اصطلاح اخیر بیانگر دو قانون اصلی تئوری انگرام حافظه سیمون است که در ادبیات امروزی به ترتیب معادل فرآیند ذخیره و یادآوری خاطرات است.

پیش از آنکه به سراغ سیر مطالعات زیستی حافظه برویم، لازم است ۲ مقدمه مطرح شود:

۱) ابتدا به‌طور مختصر تعاریف و دسته‌بندی‌های حافظه را مرور می‌کنیم. حافظه، ابزاری است که به کمک آن تجربه‌های گذشته را حفظ می‌کنیم تا بتوانیم از این اطلاعات در زمان حال استفاده کنیم. در تعریف دیگر، حافظه فرایندی شامل ذخیره‌سازی، نگهداری و بازیابی اطلاعات درباره تجربیات گذشته است [۶].

ازآنجایی‌که تمام خاطرات ما، محتوای یکسان ندارند؛ در یک تقسیم‌بندی کلی انواع حافظه را مطابق نمودار ۱ طبقه‌بندی می‌کنیم. مواردی که با * مشخص‌شده‌اند،



نمودار ۱. انواع حافظه.

انواعی از حافظه هستند که در این مقاله به بررسی پژوهش‌های مرتبط با آن‌ها می‌پردازیم.

حافظه رویدادی، یادآوری آگاهانه یک تجربه شخصی است، از اینکه چه چیزی، کجا و کی اتفاق افتاده است [۷]. مانند خاطره روز اول مدرسه. هنگام ثبت این خاطرات، حالات درونی نیز ذخیره می‌شوند [۷].

۲) پژوهش‌هایی که از ماهیت زیستی حافظه حمایت می‌کنند در سه دسته مطالعه مشاهده‌ای، نقص عملکرد و کسب عملکرد منظم می‌شوند. مطالعات مشاهده‌ای، هم‌بستگی میان فعالیت یک جمعیت سلولی و نمود رفتاری یک خاطره مشخص را نشان می‌دهند. ازآنجایی‌که این گروه از پژوهش‌ها از نوع هم‌بستگی بوده و رابطه علت و معلولی را شناسایی نمی‌کنند، نسبت به دو نوع دیگر از اعتبار کمتری برخوردار هستند. در این مقاله از طرح مطالعات مشاهده‌ای صرف‌نظر شده است. مطالعات نقص عملکرد از این ایده که یک جمعیت نورونی ویژه برای بروز نمود رفتاری یک خاطره مشخص لازم است، حمایت می‌کنند. هدف از گروه سوم، آزمایش‌های کسب عملکرد، بررسی کافی بودنِ فعال کردنِ یک جمعیت نورونی ویژه برای بروز نمود رفتاری خاطره‌ای مشخص است. گروه آخر داده‌های قوی‌تری در اختیار دانشمندان قرار می‌دهد [۵]. اکنون می‌توانیم به جستجوی رد حافظه در سلول‌های مغز بپردازیم.

۲. ۱. مطالعات نقص عملکرد – حضور نورون‌ها برای حفظ خاطرات لازم است!

۲. ۱. ۱. ضایعه‌ی مغزی

چند دهه پس از مطالعات سیمون، کارل لشلی، روانشناس آمریکایی، نتایج پژوهش خود بر رد حافظه را منتشر کرد. او بعد از آموزش تکلیف ماز به موش‌های صحرایی، بر نواحی مختلف قشر مخ آن‌ها ضایعاتی با اندازه‌های مختلف ایجاد کرد. با ایجاد ضایعه جونده ماز را نمی‌شناخت و نمی‌توانست تکلیف را به‌درستی انجام دهد. هدف لشلی این بود که ارتباطی میان این ضایعات قشری و توانایی جانور برای حل تکلیف ماز بیابد. داده‌ها نشان می‌داد اختلالات رفتاری مشاهده‌شده به دلیل وجود ضایعات است و میان شدت اختلال رفتاری و وسعت ضایعه رابطه مستقیم وجود دارد. بر همین اساس لشلی مدعی شد که سلول‌های انگرام یک خاطره واحد، در مکان خاصی از قشر مغز قرار ندارند؛ بلکه در نواحی مختلف مغزی پراکنده‌اند (قانون فعالیت توده‌ای لشلی). امروزه می‌دانیم این نتیجه‌گیری برای همه انواع حافظه، مانند حافظه رویدادی، صادق نیست [۵].

هنری مولیسون، بیمار معروفی است که پس از حادثه دوچرخه‌سواری دچار حملات صرع شده است. تلاش اسکوویل و میلنر برای درمان این حملات به نتایج علمی ارزشمندی منتهی شد. اسکوویل با عمل جراحی، بخشی از لوب گیجگاهی میانی (شامل هیپوکامپ و نواحی مجاور) را از هر دو نیم‌کره خارج می‌کند. پس‌ازاین عمل هنری به فراموشی پیش‌رونده مبتلا شده و توانایی تشکیل خاطرات رویدادی جدید را از دست می‌دهد. او همچنین حافظه رویدادی یک سال پیش از عمل را نیز از دست می‌دهد (فراموشی پس‌رونده مقطعی). بااین‌وجود انواع دیگر حافظه او، مانند حافظه حرکتی (بخشی از حافظه روندی) بدون آسیب باقی مانند. نتیجه‌گیری می‌شود حافظه رویدادی در لوب گیجگاهی میانی و به‌طور خاص در هیپوکامپ ذخیره می‌شود [۵].

۲. ۱. ۲. مهار و حذف نورونی

هان در سال ۲۰۰۷ نشان داد نورون‌ها برای مشارکت در شکل‌گیری رد حافظه با یکدیگر رقابت می‌کنند. از عوامل پیش بین موفقیت نورون در این رقابت، میزان بیان مولکول CREB است [۸]. پیرو این یافته علمی، برای ردیابی حافظه در سطح سلولی، گروهی از پژوهشگران بیان مولکول CREB را به‌طور رندوم در یک جمعیت نورونی در آمیگدال جانبی موش افزایش می‌دهند. هدف از افزایش بیان این فاکتور رونویسی، بالا بردن احتمال مشارکت این سلول‌ها در تسک ترس شرطی‌سازی شده است. پس از شرطی‌سازی، حذف هدفمند این سلول‌ها

با توکسین دیفتری یا مهار عملکرد آن‌ها با آلاتوستاتین، یادآوری تداعی ترس را در موش مختل می‌کند [۵]. پس از حذف نورون‌های با بیان بالای CREB، در سطح رفتاری، موش‌ها به‌طور اختصاصی، کامل و دائم خاطره ترس را فراموش کرده‌اند. این در حالی است که با حذف تعداد مشابهی نورون (این بار نه از جمعیتی که بیان بالای CREB دارند) در آمیگدال جانبی حذف خاطره ترس صورت نگرفته است. بنابراین سلول‌های مشخصی در ذخیره خاطره واحد ترس شرطی‌سازی شده نقش داشته‌اند [۹].

۲. ۲. مطالعات کسب عملکرد- حضور نورون‌ها برای یادآوری خاطرات کافی است!

۲. ۲. ۱. تحریک الکتریکی مغز

پنفیلد، دانشمندی که مقاله را با گزارش او آغاز کردیم؛ برای یافتن کانون حملات صرع بیماران، نواحی مختلف قشر مغز را با جریان ضعیف الکتریکی تحریک می‌کرد. تقریباً ۸ درصد از کسانی که مغز آن‌ها در ناحیه قشر گیجگاهی جانبی تحریک‌شده بود خاطرات واضح رویدادی به یاد می‌آوردند. این مطالعه قدم اولیه در مسیر پژوهش‌هایی است که امروزه ژنتیکدانان آن را مطالعات کسب عملکرد می‌نامند [۵].

۲. ۲. ۲. تحریک نوری نورون‌ها

یکی از تکنیک‌های کاربردی در مطالعه رد حافظه اپتوژنتیک است. در سال ۲۰۱۲، محققان دانشگاه ام آی تی، جمعیت نورونی که حین یادگیری ترس فعال‌شده بودند را شناسایی و با کانال ردوپسین ۲ برچسب‌گذاری کردند. این جمعیت نورونی در شکنج دندانه‌ای هیپوکامپ قرار داشت. پس از شرطی شدن موش‌ها در حضور محرک غیرشرطی شوک الکتریکی، این جانوران در حضور محرک شرطی محیط(به‌طور مثال همان قفسی که در آن شوک را تجربه کرده است)، حالت بدنی انجماد یا فلج نشان می‌دهند که نوعی رفتار بیانگر ترس است. نتایج این پژوهش به این شکل بود (شکل ۱):

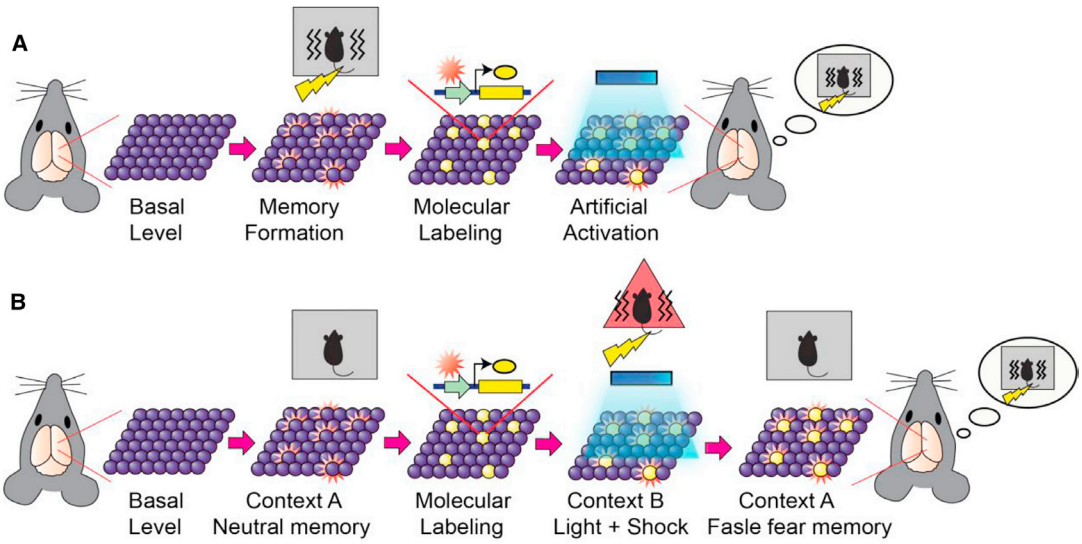
۱) با تحریکِ نوریِ نورون‌های نشان‌دار شده با ChR2، موش‌های شرطی شده در محیطی غیر از محیط یادگیری (بدون حضور محرک شرطی) پاسخ ترس را بروز می‌دهند. نورون‌های نشان‌دار خاطره ترس را ذخیره کرده‌اند.

۲) با تحریک نوری، پاسخ ترس در موش‌های شرطی نشده‌ای که همان تعداد از نورون‌های شکنجه دندانه‌ای هیپوکامپشان با ChR2 برچسب‌گذاری شده بود، دیده نشد.

۳) با تحریکِ نوریِ نورون‌های نشان‌دار شده با پروتئین فلورسانس زردرنگ، موش‌های شرطی شده پاسخ ترس بروز نمی‌دهند.

۴) درحالی‌که موش‌ها در محیط شماره ۱ شرطی شده‌اند؛ نورون‌های فعال در محیط شماره ۲ -محیط خنثی- را با ChR2 برچسب‌گذاری کرده‌اند. تحریکِ نوریِ نورون‌های نشان‌دار در این موش‌های شرطی شده، پاسخ ترس به همراه نداشت. خاطره ترس و جمعیت نورونی درگیر اختصاصیت محیطی(به‌عنوان محرک شرطی) دارد.

۵) نورون‌های فعال در محیط شماره ۱ -محیط خنثی- برچسب‌گذاری شده و موش را به محیط شماره ۲ منتقل



شکل ۱. دستکاری اپتوژنتیک جمعیت سلول‌های انگرام حافظه (الف) فعال شدن نور جمعیت سلولی انگرام حافظه باعث یادآوری حافظه شد. نورون‌های فعال در طول شکل‌گیری حافظه ترس با ChR2 برچسب‌گذاری شدند. هنگامی که این نورون‌ها به‌طور مصنوعی با تحریک نور در زمینه‌ای متفاوت فعال شدند، حیوانات رفتار انجمادی از خود نشان دادند که نشان‌دهنده یادآوری زمینه قبلی مرتبط با ترس است. (ب) ایجاد حافظه ترس نادرست. نورون‌های فعال در یک محیط خنثی با ChR2 برچسب‌گذاری شدند و بعداً توسط نور در یک زمینه متفاوت دوباره فعال شدند در حالی که حیوانات به طور همزمان شوک پا دریافت کردند. هنگامی که حیوانات به محیط خنثی اصلی بازگردانده شدند، یک واکنش ترس از خود نشان دادند که نشان دهنده یادآوری یک خاطره کاذب مرتبط با محیط خنثی و شوک پا بود [۵].

کرده‌اند. در این محیط هم‌زمان با تحریک نوری نورون‌های نشان‌دار به موش‌ها شوک الکتریکی داده‌شده است. پس از بازگرداندن موش به محیط شماره ۱، رفتار ترس بروز پیداکرده است. در اینجا شاهد ایجاد حافظه کاذب هستیم [۱۰].

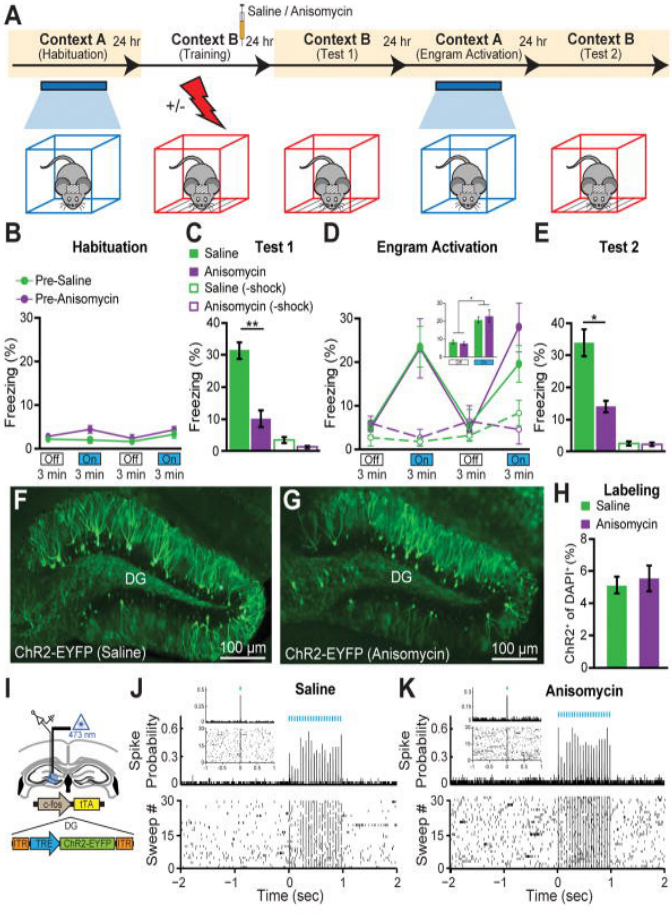
۳. ماهیت تغییرات پایدار بیولوژیکی که حافظه را می‌سازند، چیست؟

پس از طرح انگرام به‌عنوان تغییرات پایدار بیوشیمی فیزیکی در سلول و ارائه شواهد تجربی تائید کننده وجود آن اکنون به بررسی ماهیت این تغییرات می‌پردازیم.

۳. ۱. تغییر قدرت ارتباط سیناپسی

نورون‌هایی که با هم شلیک می‌شوند، یک مسیر عصبی یکپارچه تشکیل می‌دهند. هدف هِب از بیان این جمله، اشاره به تغییرات پایدار در ارتباط سیناپسی نورون‌ها در اثر فعالیت هم‌زمان آن‌ها با یکدیگر است. در حضور محرک، شلیک شدن هم‌زمان نورون‌های رمزنگار محرک حافظه و نورون‌های پیش سیناپسی باعث تقویت ارتباط سیناپسی میان آن‌ها می‌شود.

از این مفهوم به‌عنوان انعطاف‌پذیری عصبی یاد می‌شود. انعطاف‌پذیری عصبی به این معناست که تجربه می‌تواند عملکرد یک شبکه عصبی را تحت تأثیر قرار



شکل ۲. تحریک اپتوژنتیک سلول‌های DG Engram حافظه ترس را در فراموشی رتروگراد بازیابی می‌کند.

دهد. درنتیجه این تغییر افکار، احساسات و رفتارهای بعدی ارگانیسم تغییر خواهد کرد. به‌بیان‌دیگر به تغییرات قدرت و کارایی انتقال سیناپسی که در اثر تجربه و فعالیت صورت می‌گیرد، انعطاف‌پذیری عصبی می‌گوییم [۱۱].

ریان و همکاران در سال ۲۰۱۵ به بررسی رابطه تقویت ارتباطات سیناپسی و حافظه پرداختند. در این آزمایش نورون‌های گرانولی شکنج دندانه‌ای هیپوکامپ نشان‌دار شدند. نورون‌های نشان‌دار شده درواقع همان نورون‌هایی هستند که طی شرطی شدن پاسخ به ترس، فعال‌شده بودند. این نورون‌ها با فلوئوفور mCherry (مبتنی بر پروموتر c-fos) برچسب‌گذاری شده‌اند. به‌طور موازی سلول‌های پیش سیناپسی در قشر انتورینال با ChR2 (مبتنی بر پروموتر CaMKII) نشان‌دار شده‌اند. به‌این‌ترتیب با تحریک نوری می‌توان به‌طور هم‌زمان فعالیت نورون‌های انگرامی و غیرانگرامی شکنج دندانه‌ای هیپوکامپ را با پچ کلمپ اندازه‌گیری کرد. نتایج ثبت‌شده از پچ کلمپ اسلایدهای هیپوکامپ نشان می‌دهد. یک روز پس از یادگیری، جریان پس سیناپسی تحریکی AMPA/NMDA در سلول‌های انگرامی (نشان‌دار شده با mCherry) به‌طور قابل‌توجهی بیش از سلول‌های غیر انگرامی است. زمانی که موش‌ها دقیقاً پس از آموزش، در معرض آنیزومایسین، مهارکننده سنتز پروتئین آمنستیک، قرارگرفته باشند؛ اثر افزایشی قدرت سیناپسی دیده نمی‌شود. در این حالت موش دچار فراموشی پیش‌رونده شده است. آنیزومایسین، ۲۴ ساعت بعد از آموزش (زمانی که تثبیت خاطرات صورت گرفته باشد) بر تغییر قدرت سیناپسی اثری ندارد (شکل۲) [۵].

۳. ۲. انعطاف‌پذیری ساختاری

علاوه بر اپتوژنتیک، میکروسکوپ دو فوتونی، تکنیک دیگری است که به شناخت رد حافظه کمک می‌کند. به لطف تصاویر این میکروسکوپ، امروز می‌دانیم تشکیل و حذف خارهای دندریتی در پاسخ به تحریک حسی و یادگیری حرکتی صورت می‌گیرد [۵].

۳. ۳. افزایش تحریک‌پذیری نورونی

افزایش تحریک‌پذیری نورون‌ها در اثر افزایش بیان CREB یکی دیگر از تغییرات پایدار بیوشیمی فیزیکی در سلول است که در حفظ خاطرات نقش ایفا می‌کند [۵].

۴. نتیجه‌گیری

مطالعات مشاهده‌ای، کسب و نقص عملکرد نشان می‌دهد حافظه ماهیت زیستی دارد. ازجمله مکانیسم‌های زیستی دخیل در شکل‌گیری حافظه می‌توان به تغییر قدرت ارتباطات سیناپسی، انعطاف‌پذیری ساختاری و افزایش تحریک‌پذیری نورونی اشاره کرد.

شـناخت دقیق‌تـر مکانیسـم حافظـه می‌توانـد فرصتـی بـرای درمـان بیمـاری آلزایمـر و اختـلال ترومـای پـس از ضربـه فراهم کنـد. هم‌چنیـن امـکان مداخلاتـی چـون ایجـاد حافظـه کاذب یـا دسـت‌کاری حافظـه بـرای بشـر فراهـم کنـد.

منابع

[1] R. Bisaz, A. Travaglia, and C. M. Alberini, “The neurobiological bases of memory formation: From physiological conditions to psychopathology,” Psychopathology, vol. 47, no. 6, pp. 347–356, Apr. 2014, doi: 10.1159/000363702.

[2] E. R. Kandel, Y. Dudai, and M. R. Mayford, “The molecular and systems biology of memory,” Cell, vol. 157, no. 1. Elsevier B.V., pp. 163–186, Mar. 27, 2014. doi: 10.1016/j.cell.2014.03.001.

[۳] ای. هریـس، تامـس، وضعیـت آخـر، ترجمـه فصیـح، اسـماعیل، تهـران، نشـر نـو بـا همـکاری نشـر آسـیم، ۱۳۹۳

[4] D. L. Schacter, J. E. Eich, and E. Tulvlng, “Richard Semon’s Theory of Memory,” 1978.

[5] S. Tonegawa, X. Liu, S. Ramirez, and R. Redondo, “Memory Engram Cells Have Come of Age,” Neuron, vol. 87, no. 5. Cell Press, pp. 918–931, Sep. 02, 2015. doi: 10.1016/j.neuron.2015.08.002.

[6] R. Strenberg and K. Strenberg, Cognitive Psychology, 6th ed. 2012. Accessed: Nov. 30, 2021. [Online]. Available: http://cs.um.ac.ir/images/87/books/Cognitive%20Psychology_Strenberg%206th%20.pdf

[7] B. M. Pause, A. Zlomuzica, K. Kinugawa, J. Mariani, R. Pietrowsky, and E. Dere, “Perspectives on episodic-like and episodic memory,” Frontiers in Behavioral Neuroscience, no. APR 2013. Apr. 06, 2013. doi: 10.3389/fnbeh.2013.00033.

[8] J. H. Han et al., “Neuronal competition and selection during memory formation,” Science, vol. 316, no. 5823, pp. 457–460, Apr. 2007, doi: 10.1126/science.1139438.

[9] J. H. Han et al., “Selective erasure of a fear memory,” Science (New York, N.Y.), vol. 323, no. 5920, pp. 1492–1496, Mar. 2009, doi: 10.1126/SCIENCE.1164139.

[10] X. Liu et al., “Optogenetic stimulation of a hippocampal engram activates fear memory recall,” Nature, vol. 484, no. 7394, pp. 381–385, Apr. 2012, doi: 10.1038/nature11028.

[11] A. Citri and R. C. Malenka, “Synaptic Plasticity: Multiple Forms, Functions, and Mechanisms,” Neuropsychopharmacology 2008 33:1, vol. 33, no. 1, pp. 18–41, Aug. 2007, doi: 10.1038/sj.npp.1301559.

گزارش

بررسی انواع روش‌های Immune checkpoint Inhibition استفاده شده جهت درمان Hepatocellular carcinoma

حمیدرضا اخباریون

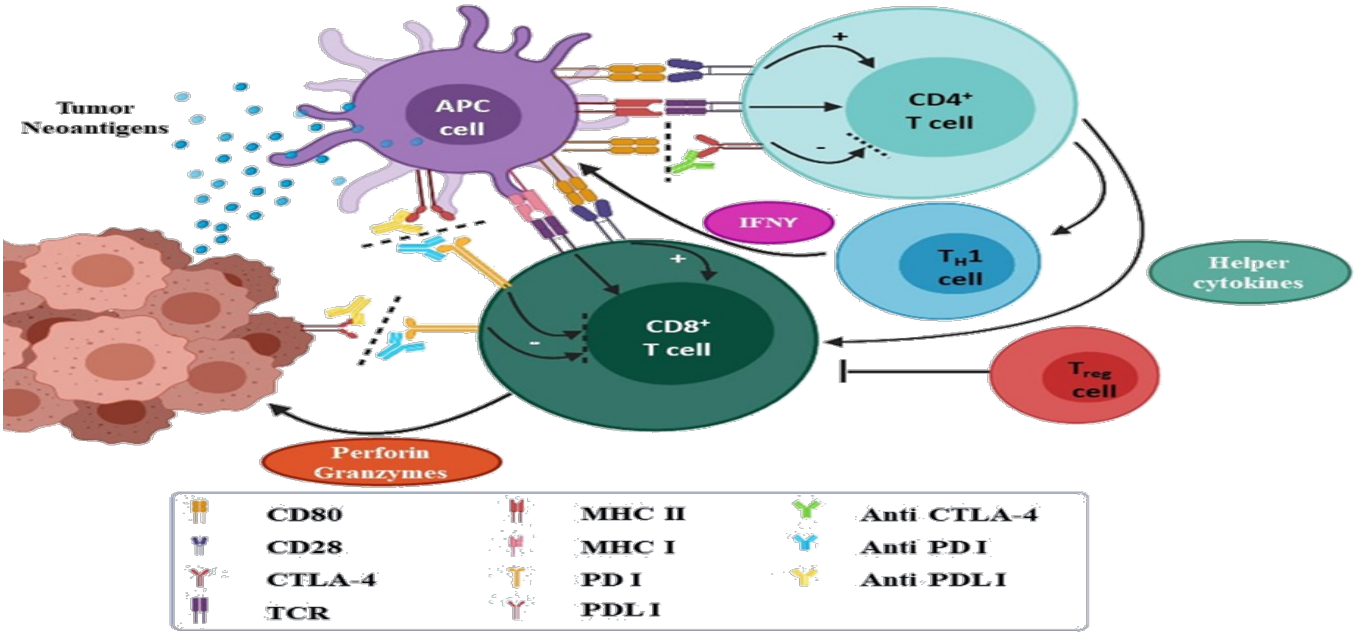
کارشناسی‌ارشد بیوشیمی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

همانطور که در مقالات گذشته به تفصیل در مورد انواع روش‌های ایمونوتراپی سرطان و اهمیت آن‌ها به ویژه روش ممانعت از اتصال ایمیون چکپوینت‌ها (ICI) اشاره شد، این روش موجب پیشرفت‌های بسیاری در حوزه درمان سرطان شده است. دلیل موفقیت این روش را می‌توان در بیان زیاد از حد دو چکپوینت اصلی یعنی پروتئین شماره ۴ مرتبط با لنفوسیت‌های تی سایتوتوکسیک (CTLA-4) و پروتئین ۱ مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلول (PD-1) و یا لیگاند آن، لیگاند ۱ مرگ برنامه‌ریزی‌شده (PDL-1) در محیط پیرامون سلول‌های سرطانی دانست. تحقیقات نشان داده است که بلاک کردن این چکپوینت مارکرها تاثیر بسزایی در افزایش فعالیت سیستم ایمنی فرد بیمار به ویژه لنفوسیت‌های تی علیه سلول‌های توموری می‌شود و در برخی موارد موجب از بین رفتن کامل بیماری فرد می‌شود. مکانیسم عمل این روش درمانی در شکل ۱ مشاهده می‌کنید.

در سال‌های گذشته آنتی‌بادی‌های ضد مارکرهای بیان‌شده تحت نام‌های تجاری و فعالیت‌های متفاوتی همچون پمبرولیزوماب و نیولوماب بر ضد PD-1، ترمیلیوماب و ایپیلیوماب بر ضد CTLA-4 و همین‌طور آتزولیزوماب، آولوماب و دوروالوماب بر ضد PDL-1 تولید و مجوز استفاده برای انواع متفاوتی از سرطان‌ها را از سازمان غذا و دارو آمریکا دریافت کرده‌اند. بررسی آنتی‌بادی‌های جدید بر ضد چک پوینت مارکرهای دیگر همچون LAG3, TIGIT, TIM3, B7H3, CD39, CD73 همچنان ادامه دارد. تحقیقات جدید نشان داده است که ترکیب این روش درمانی با روش‌های متداول درمان سرطان همچون رادیوتراپی، نتیجه بهتری در بهبودی فرد بیمار دارد. در این مقاله در مورد انواع متدهای استفاده‌شده با این آنتی‌بادی‌ها جهت درمان سرطان نوعی سرطان کبد یا هپاتوسلولار کارسینوما (HCC) که نتیجه مناسبی مشاهده‌شده است، می‌پردازیم. در این مدل از سلول‌های سرطانی، به علت وجود التهاب گسترده مقدار زیادی از افزایش بیان چک پوینت مارکرها به‌ویژه PD-L1,CTLA-4, LAG-3 و TIM-3 مشاهده‌شده است که نشانگر کاهش فعالیت سیستم ایمنی در این ناحیه می‌باشد. استفاده از روش ICI نتایج بسیار امیدوارکننده‌ای جهت درمان این بیماری در پی داشته است.

در سال ۲۰۱۷ سازمان غذا و داروی آمریکا اولین تأییدیه خود جهت استفاده از این روش درمانی برای این بیماری را به آنتی‌بادی نیولوماب اعطا نمود که بر اساس فازهای ۱ و ۲ درمانی تحت عنوان CheckMate-040 بود. البته تأییدیه اعطاشده شامل پیش‌شرط استفاده از آنتی‌بادی سورافنیب قبل از آنتی‌بادی فوق می‌باشد که استفاده از این آنتی‌بادی موجه افزایش بیان PDL-1 در سلول‌های سرطانی می‌شود. در این مطالعات که بر روی ۲۶۲ و ۱۰۰۹ بیمار مبتلا به HCC انجام شد، بهبودی ویژه‌ای مشاهده شد.

بعدازآن، نوبت به پمبرولیزوماب رسید که تأییدیه این سازمان را برای درمان HCC با همان پیش‌شرط گفته‌شده دریافت کند؛ که در فازهای مطالعاتی این دارو، افزایش حدود ۵ ماه عمر فرد بیمار مشاهده شد درحالی‌که در تعداد مناسبی از این بیماران بهبودی کامل مشاهده گردید. در سال گذشته داروهای دیگر بر ضد این بیومارکرها هم به‌نوبت موفق به دریافت این مجوز شده‌اند. در مطالعه دیگری، آنتی‌بادی ترمیلیوماب بر روی بیماران تست شد که نتیجه قابل‌توجهی دریافت نشد و در حدود ۱۷ درصد از بیماران بهبودی نسبی داشتند.



شکل ۱. اثر آنتی‌بادی ضد چک پوینت مارکرهای سیستم ایمنی و نحوه فعال‌سازی سلول‌های ایمنی به خصوص +CD8 T علیه سلول‌های سرطانی

جدول ۱. کارآزمایی‌های بالینی انسداد ایمیون چک پوینت‌ها در درمان HCC

Clinical trial No.	Agent	Design	Status	End point	Ref
NCT02576509	Nivolumab vs. Sorafenib	Phase III trial	Active accrual	TTP/OS	1
NCT02702414	Pembrolizumab	Phase II trial	Accrual complete	ORR/OS	2
NCT03859128	Toripalimab	Phase II trial	Active accrual	Recurrence-freesurvival	3
NCT01008358	Tremelimumab	Phase II trial	Accrual complete	PR/SD	4
NCT03682276	Nivolumab plus Ipilimumab	Phase I-II trial	Active accrual	adverse events	5
NCT03510871	Nivolumab plus Ipilimumab	Phase II trial	Active accrual	tumor shrinkage	6
NCT01658878	Nivolumab vs. Ipilimumab + N vs. Sorafenib vs. Cabozantinib + N vs. Sorafenib vs. N+C	Phase I-II trial	Accrual complete	ORR/OS	7
NCT02715531	Atezolizumab plus Bevacizumab	Phase II trial	Accrual complete	PR	8
NCT03434379	Atezolizumab plus Bevacizumab vs. Sorafenib	Phase III trial	Active accrual	OS/PFS	9
NCT03847428	Durvalumab plus Bevacizumab vs. D vs. Placebo	Phase I-II trial	Active accrual	Recurrence-freesurvival	10
NCT03006926	Lenvatinib plus Pembrolizumab	Phase III trial	Accrual complete	PR/SD	11
NCT03713593	Lenvatinib plus Pembrolizumab	Phase I-II trial	Active accrual	PFS/OS	12
NCT01853618	TACE, radiofrequency ablation, or cryoablation plus Tremelimumab	Phase I-II trial	Accrual complete	PR	13
NCT03397654	Pembrolizumab plus TACE	Early phase I trial	Active accrual	Safety	14
NCT03143270	Nivolumab plus TACE	Early phase I trial	Active accrual	Safety	15
NCT03812562	Nivolumab plus Yttrium90 Radioembolization	Phase II trial	Active accrual	Recurrence rate	16
NCT03092895	SHR-1210 + ApatinibSHR-1210 + FOLFOX4 or GEMOX regimen	Early phase I trial	Active accrual	Safety	17
NCT02702401	Pembrolizumab vs BSC	Phase III trial	Accrual complete	PFS/OS	18
NCT03298451	Durvalumab +/– Tremelimumab vs Sorafenib	Phase III trial	Active accrual	OS	19
NCT02519348	Durvalumab +/– Tremelimumab	Phase I-II trial	Active accrual	Safety/ORR	20

در مطالعات جدیدی، آنتی‌بادی‌های متفاوت بر ضد این بیومارکرها به‌صورت هم‌زمان تزریق شد و اثر آن‌ها بررسی گردید که در تعدادی از آن‌ها نتیجه به‌مراتب بهتری دریافت شد. مثلاً در دو مطالعه اثر دوروالوماب و ترملیوموماب نشان از بهبود مناسبی در بیماران داشت. ترکیب ایپیلیوموماب و نیولوماب نیز تأثیر بسیار مناسبی در این بیماری نشان داد که نتایج آن در جدول ۱ قابل‌مشاهده می‌باشد. همان‌طور که در بالا گفته شد، محققان با ترکیب کردن آنتی‌بادی‌ها با یکدیگر و همین‌طور ترکیب با روش‌های دیگر درمانی سرطان، موفق به دریافت نتایج ویژه‌ای شده‌اند. در مطالعه‌ای، تأثیر بواسیزوماب به‌عنوان آنتی‌بادی ضد VEGF به همراه ترملیوموماب بررسی گردید که در ۶۱ درصد از بیماران بهبودی نسبی مشاهده گردید. در حال حاضر مطالعه اثر بواسیزوماب با دیگر آنتی‌بادی‌های ضد ایمیون چک پوینت‌ها همچون دوروالوماب ادامه دارد. تأثیر دیگر انواع روش‌های ترکیبی استفاده‌شده با ایمیون چک پوینت‌ها جهت درمان HCC طور کامل در جدول ۱ قابل‌مشاهده است.

در پایان باید به این نکته اشاره کرد که مشابه دیگر روش‌های درمانی سرطان، این روش هم دارای عوارضی همچون افزایش فعالیت سیستم ایمنی و حتی واکنش‌های آلرژیک و خود ایمنی می‌باشد که البته با توجه به زمان و حجم محدود استفاده از این داروها، این‌گونه عوارض به‌صورت مقطعی می‌باشد. با مقایسه این عوارض با عوارض دیگر روش‌های درمانی می‌توان به مزیت‌های بی‌شمار این روش پی برد. با پیشبرد استفاده از این روش و ترکیب آن با روش‌های دیگر ازجمله نانو واکسن‌ها، می‌توان به آینده درمانی بیماران سرطانی امید بسیاری داشت.

منابع

[1] Reignat S, Webster GJM, Brown D, Ogg GS, King A, Seneviratne SL, et al. Escaping high viral load exhaustion: CD8 cells with altered tetramer binding in chronic hepatitis B virus infection. J Exp Med 2002. https://doi.org/10.1084/jem.20011723.

[2] Fisicaro P, Valdatta C, Massari M, Loggi E, Biasini E, Sacchelli L, et al. Antiviral Intrahepatic T-Cell Responses Can Be Restored by Blocking Programmed Death-1 Pathway in Chronic Hepatitis B. Gastroenterology 2010. https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.09.052.

[3] Owusu Sekyere S, Suneetha PV, Kraft ARM, Zhang S, Dietz J, Sarrazin C, et al. A heterogeneous hierarchy of co-regulatory receptors regulates exhaustion of HCV-specific CD8 T cells in patients with chronic hepatitis C. J Hepatol 2015. https://doi.org/10.1016/j.jhep.2014.08.008.

[4] Schurich A, Khanna P, Lopes AR, Han KJ, Peppa D, Micco L, et al. Role of the coinhibitory receptor cytotoxic T lymphocyte antigen-4 on apoptosis-Prone CD8 T cells in persistent hepatitis B virus infection. Hepatology 2011. https://doi.org/10.1002/hep.24249.

[5] Li H, Wu K, Tao K, Chen L, Zheng Q, Lu X, et al. Tim-3/galectin-9 signaling pathway mediates T-cell dysfunction and predicts poor prognosis in patients with hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma. Hepatology 2012. https://doi.org/10.1002/hep.25777.

[6] Yan W, Liu X, Ma H, Zhang H, Song X, Gao L, et al. Tim-3 fosters HCC development by enhancing TGF-β-mediated alternative activation of macrophages. Gut 2015. https://doi.org/10.1136/gutjnl-2014-307671.

[7] An Immuno-therapy Study to Evaluate the Effectiveness, Safety and Tolerability of Nivolumab or Nivolumab in Combination With Other Agents in Patients With Advanced Liver Cancer - Full Text View - ClinicalTrials.gov n.d. https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01658878 (accessed March 29, 2021).

[8] Eggert T, Greten TF. Tumor regulation of the tissue environment in the liver. Pharmacol Ther 2017. https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2017.02.005.

[9] Kassel R, Cruise MW, Iezzoni JC, Taylor NA, Pruett TL, Hahn YS. Chronically inflamed livers up-regulate expression of inhibitory B7 family members. Hepatology 2009. https://doi.org/10.1002/hep.23173.

[10] Tzeng HT, Tsai HF, Liao HJ, Lin YJ, Chen L, Chen PJ, et al. PD-1 blockage reverses immune dysfunction and hepatitis B viral persistence in a mouse animal model. PLoS One 2012. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039179.

[11] Kuang DM, Zhao Q, Peng C, Xu J, Zhang JP, Wu C, et al. Activated monocytes in peritumoral stroma of hepatocellular carcinoma foster immune privilege and disease progression through PD-L1. J Exp Med 2009. https://doi.org/10.1084/jem.20082173.

[12] El-Khoueiry AB, Sangro B, Yau T, Crocenzi TS, Kudo M, Hsu C, et al. Nivolumab in patients with advanced hepatocellular carcinoma (CheckMate 040): an open-label, non-comparative, phase 1/2 dose escalation and expansion trial. Lancet 2017;389:2492–502. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31046-2.

[13] Kudo M, Matilla AM, Santoro A, Melero I, Gracian AC, Acosta MR, et al. Nivolumab in patients with child-pugh B advanced hepatocellular carcinoma (aHCC) in the checkmate-040 study. Hepatology 2018.

[14] NCT02576509. An Investigational Immuno-therapy Study of Nivolumab Compared to Sorafenib as a First Treatment in Patients With Advanced Hepatocellular Carcinoma. Https://ClinicaltrialsGov/Show/NCT02576509 2015.

[15] Zhu AX, Finn RS, Edeline J, Cattan S, Ogasawara S, Palmer D, et al. Pembrolizumab in patients with advanced hepatocellular carcinoma previously treated with sorafenib (KEYNOTE-224): a non-randomised, open-label phase 2 trial. Lancet Oncol 2018. https://doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30351-6.

[16] Finn RS, Ryoo B-Y, Merle P, Kudo M, Bouattour M, Lim H-Y, et al. Results of KEYNOTE-240: phase 3 study of pembrolizumab (Pembro) vs best supportive care (BSC) for second line therapy in advanced hepatocellular carcinoma (HCC). J Clin Oncol 2019. https://doi.org/10.1200/jco.2019.37.15_suppl.4004.

[17] Sangro B, Gomez-Martin C, De La Mata M, Iñarrairaegui M, Garralda E, Barrera P, et al. A clinical trial of CTLA-4 blockade with tremelimumab in patients with hepatocellular carcinoma and chronic hepatitis C. J Hepatol 2013. https://doi.org/10.1016/j.jhep.2013.02.022.

[18] Segal NH, Hamid O, Hwu W, Massard C, Butler M, Antonia S, et al. A Phase I Multi-Arm Dose-Expansion Study of the Anti-Programmed Cell Death-Ligand-1 (Pd-L1) Antibody Medi4736: Preliminary Data. Ann Oncol 2014. https://doi.org/10.1093/annonc/mdu342.11.

[19] Wainberg ZA, Segal NH, Jaeger D, Lee K-H, Marshall J, Antonia SJ, et al. Safety and clinical activity of durvalumab monotherapy in patients with hepatocellular carcinoma (HCC). J Clin Oncol 2017. https://doi.org/10.1200/jco.2017.35.15_suppl.4071.

[20] Floudas CS, Xie C, Brar G, Morelli MP, Fioravanti S, Walker M, et al. Combined immune checkpoint inhibition (ICI) with tremelimumab and durvalumab in patients with advanced hepatocellular carcinoma (HCC) or biliary tract carcinomas (BTC). J Clin Oncol 2019. https://doi.org/10.1200/jco.2019.37.4_suppl.336.

مصاحبه

نشست صمیمی با

جناب آقای دکتر محمدباقر محمودی

مدیرعامل شرکت دانش بنیان روژه تکنولوژی

مصاحبه‌کننده

حامد شهریارپور

دانشجوی کارشناسی‌ارشد بیوفیزیک، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

• جناب آقای دکتر محمودی سلام و عرض احترام. لطفاً برای آشنایی بیشتر خوانندگان نشریه دانشجویی زیست نوین با جنابعالی، اندکی از بیوگرافی و فعالیت‌های علمی و پژوهشی خود بفرمایید؟

بنده محمدباقر محمودی، تحصیلات کارشناسی خود را در رشته زیست‌شناسی سلولی و مولکولی در دانشگاه فردوسی مشهد (سال ۸۷ تا ۹۱)، کارشناسی ارشد را در رشته ژنتیک انسانی دانشگاه علوم پزشکی یزد (۹۱-۹۴) و دکتری را در رشته مدیریت در دانشگاه تهران اخذ نمودم. فعالیت پژوهشی خود را در سال اول کارشناسی شروع کردم. در آن سال توانستم وارد پژوهشکده بوعلی مشهد بشوم. ابتدا با هدف یادگیری وارد این کار شدم. با نوشتن پروپوزال و گرفتن تأییدیه از طرف دکتر محمودی جزء نفرات اصلی انجام پروژه‌ها قرار گرفتم. در مقطع کارشناسی در پژوهشکده بوعلی حدود ۱۱ پروژه تحقیقاتی را به انجام رساندیم که محور اصلی پروژه‌ها، بیماری مالتی پل اسکلروزیس (MS) و مدل حیوانی این بیماری (آنسفالومیلیت خودایمن تجربی EAE) بود. از ابتدا تا انتهای پروژه‌ها حضور کامل داشتم. در همان دوران بود که موفق به ارائه ۴۰ پوستر و سخنرانی شدم. برای مثال، در کنگره بین‌المللی ایمونولوژی میلان، یکی از سخنرانان بودم. در دوره کارشناسی چندین مقاله نوشتم. در این دوره با زمینه بیولوژی و تحقیقات مرتبط با آن آشنا شدم. در مقطع کارشناسی ارشد نیز موفق به انجام حدود ۲۰ پروژه شدم که درنهایت، منجر به انتشار مقالات متعدد، ارائه چند سخنرانی و ثبت یک اختراع شد.

• از نحوه شکل‌گیری شرکت و ایده اصلی ورود به این صنعت توضیحاتی ارائه بفرمائید.

با آغاز تحریم‌ها و کاهش بودجه‌های پژوهشی برای خرید کیت‌های استخراج در طی انجام یکی از پروژه‌ها به کمک همکار خود سرکار خانم شهوازیان، توانستیم کیت استخراج DNA ایجاد کنیم و توانستیم پروسه سالتینگ اوت ۲۷ ساعته را در دو ساعت و با حذف آنزیم به انجام برسانیم. پس از مدتی یکی از دوستان پرسشی را مطرح کرد که چرا با تجربیات فراوان در این زمینه، خودمان کیت تولید نمی‌کنیم؟ در راستای این پرسش، بهینه‌سازی کیت مذکور صورت گرفت و مدت‌زمان استخراج به ۲۰ دقیقه کاهش یافت. با این کار یک کیت استخراج DNA با روش تغییریافته سالتینگ اوت ایجاد گردید. سپس کار خود را گسترش دادیم، شرکتی ثبت کرده و وارد پارک علم و فناوری شدیم. از مرکز تحقیقات روماتولوژی که برادرم در آنجا مشغول به کار بودند، درخواست کردیم تا کیت مذکور را تست کنند. حدود ۹ ماه از این کیت در آن مرکز استفاده شد (حدود ۱۲۰۰۰ استخراج)، در حالت عادی از هر ۱۰۰ استخراج ۲ عدد تکرار می‌شود، اما جای تعجب بود که از ۱۲۰۰۰ استخراج انجام شده با این کیت حتی یک عدد تکرار گزارش نشد. سپس، کیت را به دکتر علی‌اکبر امیر زرگر در آزمایشگاه پاتوبیولوژی و ژنتیک نور معرفی کردیم. ایشان به مدت ۳ ماه این کیت را تست نمودند. بعدازآن بود که آزمایشگاه نور به‌عنوان بزرگ‌ترین مرکز تشخیصی بیماری HLA Disease در ایران، اقدام به خرید محصولات شرکت ما نمود. کیت را به چندین مرکز دیگر معرفی نمودیم

و بازخورد مثبتی دریافت کردیم. پس از مدتی با همکاری سرمایه‌گذاران بخش خصوصی بازاریابی را متوقف کردیم و شروع به تحقیق و توسعه (R&D) نمودیم. بعد از حدود ٤ سال توانستیم مجموعه کیتی به وجود بیاوریم که علاوه بر کیت سالتینگ اوت، ۱۶۰ شماره کاتالوگ محصول نیز در آن بود. این تازه شروع ماجرا بود چون ما هزینه کرده بودیم و باید نتیجه آن را می‌دیدیم. شهریور سال ۹۶ وارد بازار شدیم و تا پایان سال ۹۶ ما فقط ٤ نمونه خروجی داشتیم. مراکز حاضر نبودند از کیت ایرانی استفاده کنند؛ اما هر ٤ نمونه بعد از چند ماه منجر به خریدهای بعدی شدند. فروش ما از سال ۹۷ سیر صعودی داشت و تا پایان آن سال توانستیم به تعداد نسبتاً خوبی از مراکز در تهران، کیت را بفروشیم. بااین‌حال مبحث تحقیق و توسعه ادامه داشت و توانستیم محصولات استراتژیک تولید کنیم. در ابتدا، هدف ما تولید دامنه زیادی از محصولات بود که در دانشگاه‌ها و مراکز تشخیصی استفاده شود ولی هم‌اکنون به این نتیجه رسیدیم که وارد دانشگاه نشویم. تا پایان سال ۹۸ تقریباً تمام مراکز معتبر ایران مشتری شرکت روژه بودند ولی مشکل اینجا بود که تشخیص مولکولی بازار چندانی نداشت. سیر تشخیص مولکولی در ایران نسبت به اروپا و آمریکا پایین‌تر است، اما درنهایت توانستیم خودمان را معرفی کنیم و در بین مراکز خصوصی معتبر شناخته شویم.

اواخر سال ۹۸ همه‌گیری کووید-۱۹ شروع شد. در آن زمان کیت جداسازی RNA ویروسی ما ساخته‌شده بود و در سبد فروش قرار داشت. اما با توجه به اینکه مراکز یک کیت برای تشخیص و جداسازی همه ویروس‌ها می‌خواستند، امیدی به این کیت نداشتیم. تصمیم داشتیم تا آن را از سبد محصولات حذف کنیم ولی این کیت در زمان کووید خیلی مطرح شد. یک کیت DNA ویروسی داشتیم که هم ویروس‌های RNA دار و هم DNA دار را ایزوله می‌کرد و یک محصول کامل بود. زمانی که پاندمی کرونا شروع گردید، جلسه‌ای با حضور آقای دکتر آزادمنش در معاونت علمی برگزار شد. در آنجا مطرح شد که مشکل بسیار شدیدی در تأمین کیت‌های جداسازی کووید داریم زیرا در اوایل پاندمی، کشورهای دارای این فناوری آن را نمی‌فروختند زیرا نگران کمبود بودند. در این جلسه مطرح کردیم که چنین کیتی داریم و همان شب آن کیت را تست کردند و بازخورد دادند که خیلی عالی جواب می‌دهد. این کار باعث گردید که کارمان را شروع کنیم. تقریباً یک ماه قبل از شیوع کووید، حجم قابل‌توجهی از ستون و مواد اولیه گرفته بودیم و توانستیم تعدادی کیت را به وزارت بهداشت تحویل دهیم. این کیت، اولین کیتی بود که در حوزه مولکولی مجوز وزارت بهداشت را گرفت. ما اولین شرکتی بودیم که مجوز وزارت صنعت و معدن را در حوزه تشخیص مولکولی به‌عنوان یک صنعت دریافت کردیم. تا ۹ ماه تنها نقش‌آفرین این حوزه بودیم و باوجود سختی‌های کار، کیت‌های وزارت بهداشت و مراکز خصوصی را تأمین می‌کردیم. شرایط بسیار سخت بود و ما حتی در تأمین مواد اولیه هم با مشکل مواجه بودیم. اولین شرکتی بودیم که بسته تشخیصی ارائه داد. به صورتی‌که هم VTM را داریم هم کیت ایزولاسیون و هم تشخیص به‌وسیله‌ی PCR را. ما اولین شرکتی بودیم که افتراق کووید و آنفلوانزای

A و B را ارائه داد و موفق به کسب مجوز شد. در بحث کووید توانستیم در تمامی پروژه‌ها تأمین‌کننده باشیم. ما همچنین در زمینه‌های دیگر که مربوط به تشخیص‌های ویروسی و باکتریایی هست و نیاز بالایی به آن‌ها وجود دارد، که از طریق واردات تأمین می‌گردد، نیز کارمان را توسعه دادیم؛ از پاپیلوما ویروس گرفته تا هپاتیت B (به‌صورت کمی) تا HCV ، HIV ، MTB. به عبارتی کیت تشخیصی تمام این گروه‌های ویروسی پرمصرف را ساختیم و وارد بازار کردیم.

• درباره تیم پژوهشی و اجرایی خود و زمینه‌های فعالیت شرکت توضیحاتی را ارائه بفرمایید.

در ابتدا تیم پژوهشی وجود نداشت. دو نفر مؤسس بودیم و تیم پژوهشی جداگانه‌ای نداشتیم. ۹۰ درصد کیت‌ها را خودمان توسعه دادیم. اما در دو سال گذشته تغییراتی را ایجاد کردیم. ما از اساتید مختلف و دانشجوها و فارغ‌التحصیلان دکتری و ارشد و حتی کارشناسی در رشته‌های مختلف کمک گرفتیم. تیم‌های متفاوتی را تشکیل دادیم که از این تیم‌ها می‌توانیم به تیم متمرکز بر تشخیص مولکولی، تیم متمرکز بر الایزا و آنتی‌بادی‌ها، تیم متمرکز بر مباحث سلولی و تیم متمرکز بر بحث بین‌رشته‌ای اشاره کنیم. علاوه بر بیولوژیست‌ها، تحقیق و توسعه را در رشته‌های معماری، کدنویسی و فیزیک نیز گسترش دادیم. پروژه‌ها بر مبنای زمان‌بندی تقسیم شدند. پروژه‌هایی که در بازه زمانی یک ماه، شش ماه ، یک سال تا بیست سال نتیجه می‌گیرند. پروژه‌ها در قالب موضوعات مختلفی دسته‌بندی‌شده‌اند که بر اساس آن‌ها، فرد محقق به تیم اضافه می‌شود. بدین شکل برنامه‌ریزی کردیم که در هر دهه تحولی را تجربه کنیم و بتوانیم کار متفاوتی را انجام دهیم. به‌عنوان‌مثال یکی از پروژه‌هایی که نتایج خوبی هم گرفته است و قسمت آزمایشگاهی را به انتها رساند، پروژه‌ی «آجر بیولوژیک» است. در این پروژه می‌توانیم بدون استفاده از سیمان، بلوک‌های ساختمانی تولید کنیم. البته هنوز با صنعت فاصله دارد و یک پروژه‌ی چندساله است. از میان پروژه‌های دیگر می‌توان به این موارد اشاره کرد: بیوراکتورهای پرتابل، بایوکامپیوتینگ و یا مثلاً بایو دیتا استوریج. معمولاً از آدم‌های متفاوتی استفاده می‌کنیم و تیم بسیار متنوعی داریم. برای ما، مدرک دانشگاهی اهمیت کمی دارد. برای مثال، یکی از بهترین نیروهای ما دیپلم دارد و یا حتی فردی هست که با مدرک دوره راهنمایی اینجا مشغول به کار هست. همان‌طور که گفتم این‌ها آدم‌های متفاوت و نابغه‌ای هستند. هرچند که تعداد زیادی از افراد تشکیل‌دهنده‌ی تیم تحقیق و توسعه، مدرک دکتری دارند اما ما توانایی‌های افراد را در نظر می‌گیریم و با مدرک آن‌ها کاری نداریم.

• در مورد چالش‌های خود در این مسیر و تجربیات خود برای خوانندگان نشریه بفرمائید.

تقریباً در ۸۰ درصد مسیر، در حال گذشتن از موانع بودیم. ایده‌ی ابتدایی تأسیس شرکت یکی از همین موانع بوده است. به این صورت که دریکی از پروژه‌ها تا ساعت ۲ شب در حال نمونه‌گیری از مردم در خانه‌هایشان بودیم. این پروژه مربوط به حوزه‌ی دیابت و موضوع وراثت‌پذیری و پلیرهای ژنتیکی بود.

تعدادی نمونه بدون محافظ مخصوص داشتیم و امیدی هم برای رساندن به‌موقع نمونه‌ها به دانشگاه وجود نداشت. خوشبختانه با یکی از دوستان هماهنگ کردیم و نمونه‌ها را به بیمارستان بردیم و داخل فریزر بیمارستان گذاشتیم. صبح ساعت ۷:۳۰، نمونه‌ها را از فریزر بیمارستان برداشتم تا داخل فریزر دانشکده بگذارم. آن‌ها نگذاشتند! نمونه‌ای که بااین‌همه زحمت گرفته بودیم نزدیک ۳-٤ ساعت بیرون بود. همان‌جا به اساتیدم گفتم که دیگر وارد این دانشگاه نمی‌شوم. حتی پایان‌نامه را هم در دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام دادم و برای روز دفاع به آن دانشگاه برگشتم. همان روز راه‌حلی پیدا کردیم. یک عدد فریزر خریدیم و آن را داخل ساختمانی که قبلا نانوایی بود، گذاشتیم. درواقع پروژه اصلی ازآنجا شروع شد. هزینه‌ی کل آن ٦ ماه تقریبا ۱۸ میلیون تومان شد. مقداری از هزینه‌ها با برگزاری کارگاه تأمین شد و مقداری هم با سرمایه‌گذاری. چیز عجیبی که وجود داشت سنگ‌اندازی‌هایی بود که همیشه اتفاق می‌افتاد. بعضی وقت‌ها حرف‌های قشنگی زده می‌شد ولی کمی که می‌گذشت می‌دیدی اصلا خبری نیست. خیلی اتفاق می‌افتاد که حتی در همان ابتدای کار ما با مخالفت مواجه می‌شدیم. تا اینکه به این نتیجه رسیدیم که با دانشگاه و مراکز فناوری دولتی به نتیجه نخواهیم رسید. واقعا هم همین‌طور بود؛ اگر داخل همان فضا مانده بودیم قطعا یا یک مجموعه کوچک مانده بودیم یا اینکه کلا تعطیل‌شده بودیم. پس دانشگاه را رها کردیم و خودمان وارد کار شدیم. بعدازآن، قضیه‌ی دانش‌بنیان شروع شد. بعد از چند سال کار تئوری، سال ۹٦ برای ورود به بازار وقتی‌که برای خرید تجهیزات کنترل کیفیت و تولید آب وام می‌خواستیم؛ بعد از یک سال رفت‌وآمدهای تکراری، جلسه‌ای برگزار شد که یکی از اساتید در آن جلسه بعد از دیدن کار، شرایط و کاتالوگ‌ها و نتایج خیلی ناراحت شد و گفت: «شما در حوزه‌ی بیوتک چه نیازی به دستگاه کنترل کیفیت دارید؟، شش ماه یک‌بار بدهید بیرون برای تست و کنترل». گفتم: «آقای دکتر شما نانوایی هم که می‌روید، بنده خدا نانوا اولین نان را به شما نمی‌دهد، اولی را چک می‌کنند اگر خام بود می‌گذارد کنار و دومی یا سومی را به شما می‌دهد. حالا شما می‌خواهید ما در حوزه‌ی بیوتک کنترل کیفیت نداشته باشیم؟». گفت: «نه شما کنترل کیفیت نمی‌خواهید و می‌خواهید تحقیق و توسعه کنید و تشخیصی تولید کنید!». گفتم: «خب مگر چه اشکالی دارد؟! مثلا دستگاه ریل تایم که کنترل کیفیت انجام می‌دهد، می‌توان با آن تحقیق و توسعه هم انجام داد. چرا نباید از آن استفاده کرد؟». درحالی‌که ایشان اذعان داشتند کار ما سطح بالایی دارد، درخواست وام ۳۰۰ میلیونی ما را رد کرد. پس از مدتی تماس گرفتند و گفتند ما ۳۰ میلیون تومان به شما وام می‌دهیم. مخالفت کردم و بعد از یک هفته دوباره زنگ زدند که ۱۰۰ میلیون وام می‌دهیم. من هم گفتم: «۲۹۹ میلیون هم نمی‌خواهم، همان ۳۰۰ میلیون را اگر می‌خواهید بدهید». مسئله این است که این کار مانند حلقه‌های یک زنجیر است و با نداشتن سرمایه‌ی مناسب ممکن است در وسط کار دست‌خالی بمانیم. این‌طور شد که به سراغ سرمایه‌گذار خصوصی رفتیم. بهتر هم شد و با آن توانستیم شرکت را شکل بدهیم. پس از موفقیت، صندوق‌های زیادی بودند که به دنبال دادن وام بودند.

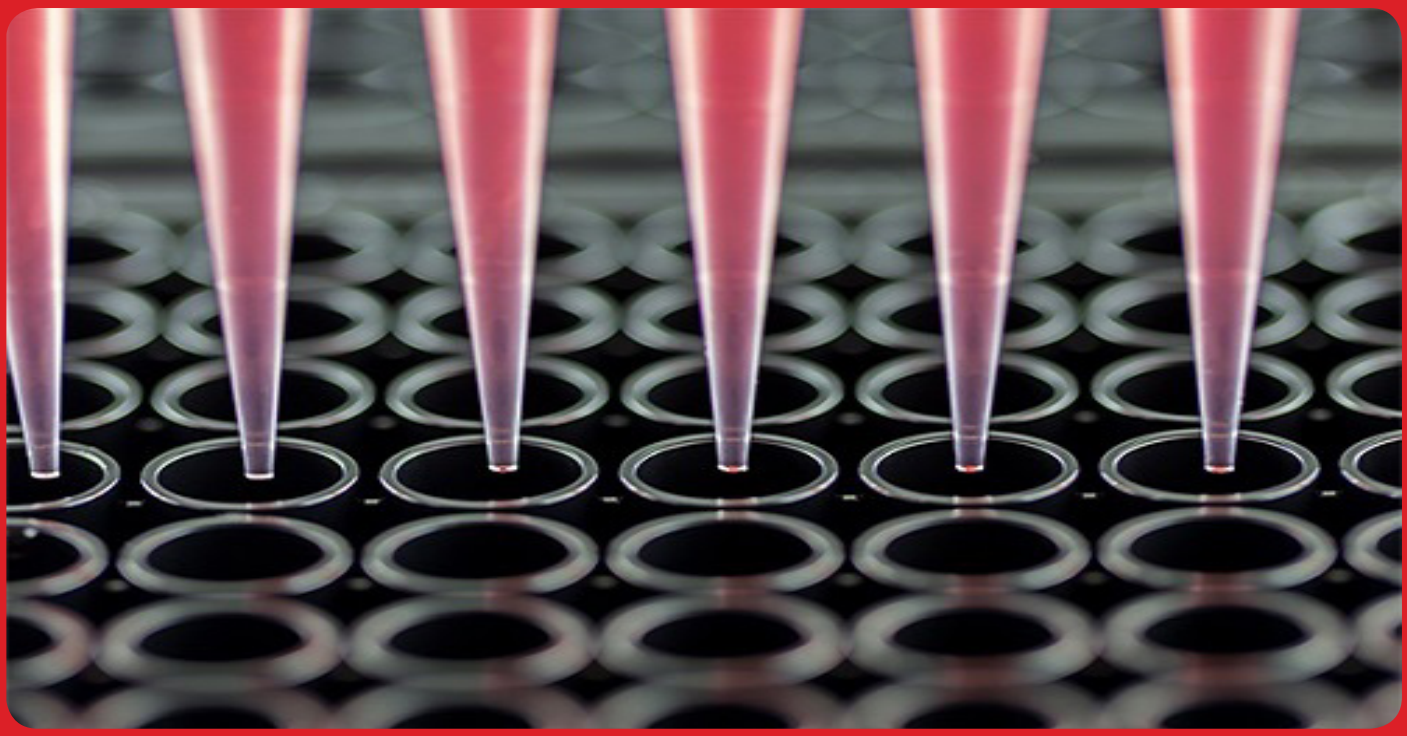
یکی دیگر از مشکلات، سطح فرهنگ بود. سه سال کار ما این بود که به مردم این باور را بدهیم که ایرانی هم می‌تواند درست عمل کند. از طرفی دیگر، مملکت آن‌قدر پیشرفت نکرده بود که تست مولکولی بگذارد. جا انداختن این موضوع که تست مولکولی چقدر می‌تواند مفید عمل کند، زمان زیادی از ما گرفت. کرونا به‌خوبی توانست به دنیا بفهماند که چه میزان نیاز به تغییر وجود دارد. موانع بسیار زیادند؛ یک استارتاپ ۹۹۹ حالت ممکن است شکست بخورد و ۱ حالت ممکن است پیروز شود. ازآنجایی‌که شرکت ما هم محصول کار و تلاش است ، نتیجه‌اش رسیدن به آن ۱ حالت پیروزی بود.

• در خصوص محصولات ابداعی شرکت و نحوه ارائه محصولات به بازار توضیحاتی ارائه بفرمائید. آیا به نظر شما کیفیت محصولات شما با نمونه‌های خارجی قابل‌مقایسه است؟

قطعاً قابل‌مقایسه است!. ما با شرکت‌های داخلی ارائه‌دهنده‌ی کیت‌های کووید تمایز مهمی داریم. تمایز ما این است که قبل از کووید بودیم و زمینه و تجربه‌ی کاری داشتیم. دیگر شرکت‌ها یا نبودند (در نود درصد موارد) و یا اگر هم بودند زمینه‌ی کاری متفاوتی داشتند. تقریباً ۷ سال در این زمینه فعالیت داریم. زمانی رقابت را شروع کردیم که تنها کیت‌های مصرفی، کیاژن و روش بودند. ما باید با این‌ها رقابت می‌کردیم و هیچ مزیتی نداشتیم و باید یک محصول باقیمت معمول و کیفیت خوب می‌ساختیم. اگر یک درصد کیفیت پایین می‌آمد، قبول نمی‌کردند. حتی در آن شرایط هم توانستیم کار کنیم و خودمان را حفظ کنیم و جواب بگیریم. به این معنا که کیت‌های ما در مقایسه با برندهای خارجی می‌توانست جواب بگیرد. اگر این‌طور نمی‌شد، قطعاً ۵ سال قبل از کووید از بین رفته بودیم. ماحصل کار ما نتیجه‌ی کووید نیست بلکه ماحصل کار ما نتیجه‌ی ۵-۶ سال قبل از آن است. حتی همین‌الان اگر بازار را چک کنید، مشاهده می‌کنید که پایدارترین برند از شروع کووید تا الان ما بوده‌ایم.

• با توجه به پاندمی ویروس کرونا بخش تحقیق و توسعه مجموعه ژیوان زیست‌فناوری روژه در این حوزه به چه سمتی پیش می‌رود و چه استراتژی‌هایی لحاظ خواهد کرد؟

در ابتدا باید بگویم که کووید تا ابد وجود نخواهد داشت تا بخواهیم یک استراتژی بلندمدت برای آن ایجاد کنیم. ما در حوزه‌ی تشخیص مولکولی فعالیت می‌کنیم و در این حوزه نمونه‌گیری را بهینه کردیم. علاوه بر VTM، VITM را هم لحاظ کردیم که پروسه‌ی لیز و غیرفعال‌سازی را هم‌زمان با نمونه‌گیری انجام می‌دهد. ایزولاسیون و اتوماسیون را نیز بهینه کردیم که وارد بازار شده‌اند. کیت تشخیص مولتی‌پلکس کووید مجوز گرفت و وارد بازار شد. همچنین کیت افتراق کووید و آنفلوانزا مجوز گرفت و وارد بازار شد(که اولین مورد از این کیت بود). ما تنها شرکتی هستیم که یک کامل را خودش تولید می‌کند. علاوه بر این‌ها، ایمونوگلوبولین‌ها و رپید تست هم در تحقیق و توسعه ما وجود دارد که اواخر کار تحقیقشان است. به این معناست که در موضوع تشخیص کووید مورد



دیگری وجود ندارد که در ایران بتواند مجوز اخذ کند که ما نتوانسته باشیم به آن برسیم. همه این موارد در ۹ ماه اول شروع پاندمی ویروس کرونا طی شد.

• چشم‌انداز و آینده شرکت را چگونه می‌بینید.

اسم تجاری ما روژه تکنولوژی است. روز اولی که روژه تأسیس شد، ما عمداً اسم تکنولوژی را اضافه کردیم. چهره‌ی امروز ما اگرچه تشخیص مولکولی است، ولی ده سال دیگر این چهره تغییر خواهد کرد. اما ما به تحقیق و توسعه وفاداریم و می‌توانیم دنیا را با آن تغییر دهیم. واقعیت این است که حس من نسبت به بودن در ایران، کپی کردن همه‌چیز نیست. اما لازمه‌ی رسیدن به پایداری در این صنعت، ایجاد ساختاری درآمدزاست تا بتوانیم کاری که می‌خواهیم را انجام بدهیم. کاری که می‌دانیم ده سال یا بیست سال ممکن است طول بکشد ولی باید انجام بشود و در آغاز کار شما باید تمام نقش‌هایی که برای به نتیجه رسیدن لازم است (مؤسس, سرمایه‌گذار, کارمند و...) را خودتان انجام بدهید. زیرا اگر واقعاً می‌خواهید یک پروژه‌ی خوب را وارد جامعه کنید، نیازمند زمان، هزینه‌ی زیاد و بستر فرهنگی مناسب است. برای اینکه حرفی برای گفتن داشته باشیم باید از الان به فکر بیست سال آینده باشیم تا بیست سال دیگر منتظر کپی کردن نباشیم؛ پس چشم‌انداز ما بلندمدت هست و عمده‌ی درآمد روژه هزینه‌ی آینده می‌شود.

• چه توصیه‌ای به دانشجویان علاقه‌مند به فعالیت‌های استارت آپ و تأسیس شرکت‌های دانش‌بنیان دارید؟

اصولاً کسی را نصیحت نمی‌کنم زیرا فکر می‌کنم هر آدمی مسیر خودش را دارد. اما تنها چیزی که می‌توانم بگویم این است که شما باید به‌گونه‌ای باشید که معنای شکست را هیچ‌وقت نفهمید و متوجه نشوید کجا شکست‌خورده‌اید. زیرا کار را رها می‌کنید!. باید بر کار خود متمرکز باشید. اصلا چنین چیزی ساده نخواهد بود. شرکت ما شاید ۱۰ بار رو به تعطیلی رفت و ما با شرکت‌مان ایستادیم و توانستیم آن را از منجلابی که داخلش بود خارج کنیم.

• اگر نکاتی در جهت تکمیل صحبت‌هایتان باقی‌مانده، بفرمایید.

با تشکر موفق و سربلند باشید.

ROJE
ROJETECHNOLOGIES

ROJE Technologies is an ISO9001:2015 trusted brand and original manufacturer & supplier of high quality innovative solutions, services, kits and R&D reagents within the molecular & cell biology field.

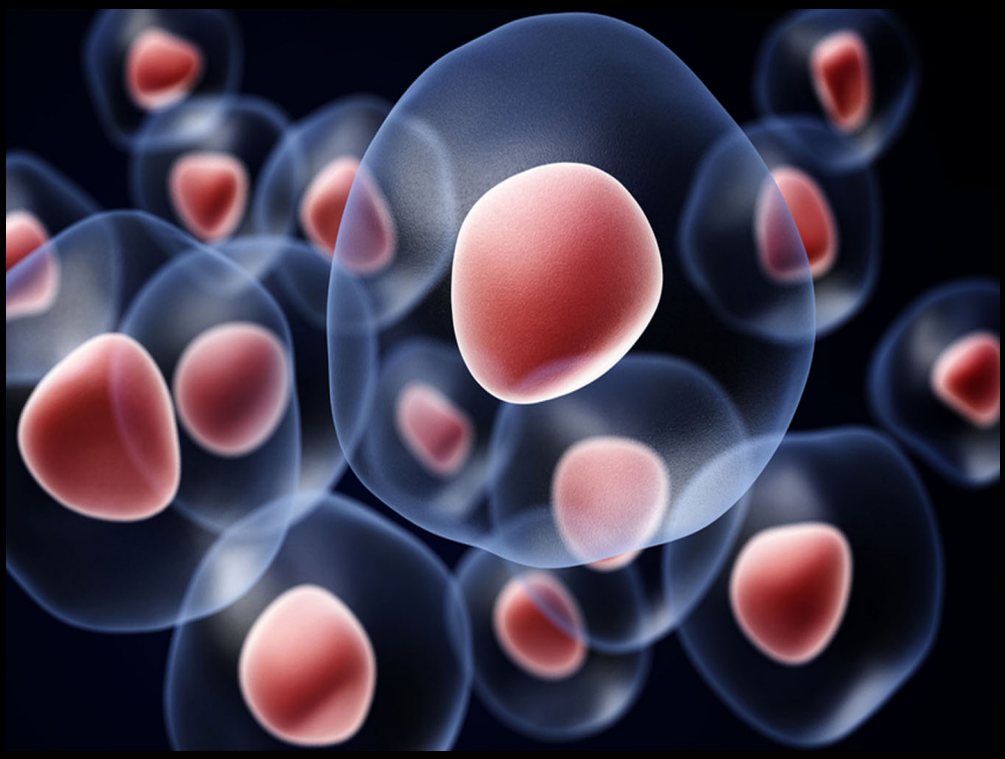
At ROJETechnologies, we are dedicated to advancing and optimizing the laboratories. For more than 5 years, we have been a trusted partner for laboratory professionals, helping to advance scientific research and patient care. Our focus on innovation, reliability and efficiency has led us to become the partner of choice for clinical, research and industrial customers in IRAN.

Thanks to our reliable, cost-effective and easy-to-use products, we enable our customers to improve their laboratory productivity and accelerate their discoveries. Our dedication to the molecular biology field has enabled us to deliver outstanding solutions to the life science market.

www.rojetechnologies.com

افتخارات انجمن علمی-دانشجویی بیوفیزیک دانشگاه تربیت‌مدرس

زیست نوین



سلول بنیادی مادر تمام سلول‌ها است و توانایی تبدیل به تمام سلول‌های بدن را دارد. این سلول‌ها توانایی خود نوسازی (Self Re-newing) و تمایز (Differentiating) به انواع سلول‌ها از جمله سلول‌های خونی، قلبی، عصبی و غضروفی را دارند. هم چنین در بازسازی و ترمیم بافت‌های مختلف بدن بدنبال آسیب و جراحت موثر بوده و می‌توانند به درون بافت‌های آسیب دیده‌ای که بخش عمده سلول‌های آن‌ها از بین رفته است، پیوند زده‌شوند و جایگزین سلول‌های آسیب دیده شده و به ترمیم و رفع نقص در آن بافت بپردازند.

به دلیل توانایی منحصر به فرد سلول‌های بنیادی، این سلول‌ها امروزه از مباحث جذاب در زیست شناسی و علوم درمانی است. هم چنین تحقیقات در این زمینه دانش ما را درباره چگونگی رشد و تکوین یک اندام از یک سلول منفرد افزایش داده و مهم‌تر آنکه به فهم مکانیزم جایگزینی سلول‌های سالم با سلول‌های آسیب دیده کمک کرده است.

دانشگاه تربیت مدرس
معاونت دانشجویی و فرهنگی و اجتماعی

SCIENTIFIC BIOPHYSICS ASSOCIATION OF TARBIAT MODARES UNIVERSITY
انجمن علمی دانشجویی بیوفیزیک دانشگاه تربیت مدرس