دانشگاه تربیت مدرس

مجله

زیست فناوری پزشکی مدرس

سال اول ■ زمستان ۹۴ ■ شماره ۲ ■ شماره مجوز :۲۶۹۸۳
صاحب امتیاز : انجمن علمی دانشجویی بیوتکنولوژی پزشکی

مهندسی بافت

از سلول تا اندام

در این شماره می خوانید

مهندسی بافت
نانو واکسن
اگزوزوم در درمان سرطان
لاروتراپی
و . . .

قیمت : ۳۵۰۰۰ ریال

بسم الله الرحمن الرحیم

فصلنامه زیست فناوری پزشکی مدرس

دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده پزشکی

صاحب امتیاز: انجمن علمی دانشجویی زیست فناوری پزشکی دانشگاه تربیت مدرس

مدیر مالی: محمود گنجی

مدیر مسئول: علیرضا فراست

ویراستار: معصومه کریمی‌بخش

سردبیر: عمار تقوی

صفحه‌آرا: اکرم پاک‌قلب

طراح جلد: محمد رضا جباری

مدیر اجرایی: زهرا السادات هاشمی

شمارگان: ۱۰۰۰ جلد

هیئت تحریریه: فاطمه سلیمی، زهرا السادات‌هاشمی، مجید عسگری، نوید پوررزدشت، شعبانعلی خداشناس، عمار تقوی

رایانامه: medical.biotech@modares.ac.ir

آدرس: تهران، تقاطع جلال آل احمد و بزرگراه چمران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده پزشکی شماره ۳، گروه زیست فناوری پزشکی

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

کلام نخست ۶
معرفی ۷
داربست‌های مهندسی بافت ۷
۱- ویژگی‌های ساختاری داربست‌ها ۹
۱- انواع داربست‌ها ۱۲
پلیمرهای طبیعی ۱۳
پلیمرهای سنتزی ۱۴
منابع ۱۶
فیتاز، پر استفاده‌ترین پروتئین نوترکیب ایران ۲۰
مقدمه ۲۰
کاربردهای فیتاز ۲۱
کاربردهای اصلی فیتاز به عنوان یک مکمل غذایی ۲۱
به عنوان مکمل غذایی ۲۲
منابع ۲۳
میکروب‌ها ۲۳
فیتازهای قارچی و مخمری ۲۴
فیتازهای باکتریایی ۲۵
سایر میکروارگانیسم‌ها ۲۶
مقایسه بین ۳ فیتازها و ۶ فیتازها ۲۶
بهبود مقاومت حرارتی ۲۷
تغییر pH اپتیمم فعالیت آنزیم ۲۷
مطالعه برای یافتن سیستم بیانی مناسب ۲۸
حیوانات ترانس ژنیک تولید کننده فیتاز ۲۹
منابع ۳۰

خبر **۳۲**
اهمیت زنجیره ارزش ذخایر ژنتیکی در اقتصاد مقاومتی توسط کارگروه زیست‌بانک و ذخایر ژنتیکی ستاد توسعه زیست‌فناوری **۳۲**
درمان زخم با کمک لارودرمانی در عصر مقاومت آنتی بیوتیکی **۳۵**
منابع ۴۶
نانوواکسن‌ها: انواع تولیدشده با نانوذرات اکسیدآهن **۵۱**
مقدمه ۵۱
نانوتکنولوژی و واکسن ۵۲
نانوتکنولوژی در خدمت واکسیناسیون ۵۳
کاربرد نانوذرات اکسیدآهن در تولید واکسن ۵۵
استفاده از نانوذرات اکسیدآهن برای انتقال واکسن‌های DNA ۵۸
نانوذرات اکسید آهن در واکسن‌های مورد استفاده برای درمان سرطان ۵۸
منابع ۶۲
نقش اگزوزوم در سرطان **۶۳**
۱- انتقال اسیدهای نوکلئیک توسط اگزوزوم‌ها ۶۴
۲- نقش اگزوزوم درساخت کنام متاستاتیک ۶۵
۳- نقش اگزوزوم در کارسینوژنزیس ۶۵
۳- نقش اگزوزوم در متاستاز تومور ۶۶
۱- کسترش سلول‌های توموری ۶۶
۲- Intravasation ۶۸
۳- تکثیر ۷۲
منابع ۷۴
رخدادهای پیش رو **۸۰**

کلام نخست

درود و سلامی به سرسبزی بهار و رایحه گل‌های بهاری، تقدیم به همه دوستان و همراهان گرامی.

زمستان کوله بارش را بست و زمین لباس سپیدش را از تن درآورد. نوروز هر ساله یادآور این است که هیچ زمستانی ماندنی نیست. فرارسیدن سال نو، نوید بخش افکار نو، کردار نو، تصمیم‌های نو برای آینده وآغاز فصل بهار، حیات دوباره زمین را به همه شما عزیزان تبریک می‌گویم. در سال جدید امیدوارم سلامتی، سرور، سبزی، سعادت، سیادت، سروری، سرزندگی هفت سین سفره زندگی‌تان باشد.

علم نیاز بشر است و دانستن، برنامه او. در واقع بشر امروز به‌خوبی این حقیقت را دریافته است که بدون علم، زندگی‌اش یکنواخت و گاه سخت می‌شود.

شاید اولین وآخرین دلیل آدمی‌برای در پی علم رفتن رفاه او باشد. اما نباید از این واقعیت غافل باشیم که علم و دانش سلاح امروز بشر است و با نگاه واقع‌بینانه اگر بگوییم امروزه علم سلاح هر کشوری است پر بیراه نگفته‌ایم؛ چرا که این علم است که هم نشان از پویایی یک جامعه می‌دهد و هم ثمره‌ای از جنس بی‌نیازی به‌دنبال دارد.

زیست فناوری نیز از جمله علوم نوین است که علی‌رغم سابقه نه چندان طولانی، جایگاه مهمی‌در عرصه‌های دانشگاهی و صنعت دارد. این شاخه از دانش بسیار گسترده است و زمینه‌های کاری بسیار متنوع دارد که از جمله آنها زیست فناوری پزشکی را می‌توان نام برد. همان‌طور که در شماره پیشین نیز اشاره شد هدف از چاپ نشریه پیش‌رو بررسی و معرفی رخدادهای مرتبط با حوزه زیست فناوری پزشکی است. امیدواریم که مطالب ارائه شده در این شماره مورد توجه دانشجویان و اساتید عزیز قرار بگیرد.

سردبیر

معرفی

عمار تقوی، دانشجوی دوره دکتری تخصصی زیست فناوری پزشکی دانشگاه تربیت مدرس

سال‌هاست که رابطه صنعت و دانشگاه با چالش‌های جدی روبه‌رو است به‌طوری که این دو ساختار نتوانسته‌اند ارتباطی پویا در راستای اهداف یکدیگر داشته باشند. دانشگاه‌های ما از لحاظ رشد علمی‌و کیفیت آموزشی جایگاه خوبی یافته‌اند و اغلب در مرزهای دانش قرار دارند که می‌توانند مزیتی برای صنعت محسوب شوند و موتور محرک صنعت باشند.

ارتباط صنعت و دانشگاه با توجه به میزان تاثیرگذاری آن بر فرایند توسعه دانش محور و پایدار در طول تاریخ مورد توجه عموم صاحب‌نظران خصوصاً سیاست‌گذاران بوده و بدین‌جهت بحث‌های متعددی درباره ابعاد این ارتباط مطرح شده است. در بسیاری از کشورهای توسعه یافته، با اتخاذ راهکارهای مناسب و مطالعات فروان، ارتباط موثر و پایداری میان دانشگاه‌ها و مراکز صنعتی به‌وجود آمده است که حاصل آن ایجاد اقتصاد مبتنی بر علوم مختلف است. از جمله مهم‌ترین دستاوردهای قرن گذشته که با موفقیت فراوان در عصر حاضر نیز ادامه یافته است ظهور شرکت‌هایی است که اساس آنها بر مبنای دانش بوده است. علوم مختلف کاربردهای فراوانی در ایجاد اشتغال و تولید سرمایه داشته‌اند که زیست فناوری نیز از این قاعده مستثنی نبوده است. در این بخش بزرگ‌ترین شرکت‌های بین‌المللی فعال در زمینه زیست فناوری بطور اجمالی معرفی می‌شوند و در شماره‌های بعدی به معرفی جامع این شرکت‌ها خواهیم پرداخت.

نام شرکت	کشور	سال تاسیس	ارزش کل سهام در بازار بورس (۲۰۱۶) (میلیارد دلار)	ارزش کل سهام در بازار بورس(۲۰۱۵) (میلیارد دلار)
Johnson & Johnson	آمریکا	۱۸۸۶	۲۹۸,۹	۲۸۴,۲
Roche	سوئیس	۱۸۹۶	۲۰۸,۸	۲۳۴,۷
Novartis	سوئیس	۱۹۹۶	۱۹۵,۲	۲۰۶,۱
Pfizer	آمریکا	۱۸۴۹	۱۸۶,۴	۱۹۹,۳
Merck & Co.	آمریکا	۱۸۹۱	۱۴۸	۱۴۷,۶
Gilead Sciences	آمریکا	۱۹۸۸	۱۲۴,۹	۱۴۸
Amgen	آمریکا	۱۹۸۰	۱۱۳,۳	۱۲۲,۵
Novo Nordisk	دانمارک	۱۹۲۳	۱۱۲	۱۵۳,۹
Sanofi	فرانسه	۲۰۰۴	۱۰۶,۶	۱۱۱,۸

فصلنامه زیست فناوری پزشکی
سال اول، شماره ۲، زمستان ۱۳۹۴

داربست‌های مهندسی بافت

زهرا السادات‌هاشمی[۱]

مهندسی بافت، حیطه‌ای چند رشته‌ای از اصول وکاربرد روش‌های مهندسی و علوم زیستی در جهت شناخت بنیادی رابطه بین ساختار و عملکرد در بافت‌های طبیعی و بیمار است. این حیطه ترکیبی از سلول، مهندسی، مواد و عوامل فیزیکی و شیمیایی مناسب می‌باشد که هدف آن حفظ حالت پایدار بافت، یا بهتر کردن عملکرد بافت هدف و یا جایگزین کردن عملکرد زیستی بافت است(۲-۱). بدین جهت در بحث طب ترمیمی و مهندسی بافت، شاهد استفاده از سلول‌های بنیادی هستیم. اصطلاح مهندسی بافت به شکل امروزی اولین بار در سال ۱۹۸۵ توسط فونگ[۲]مطرح شد و از سال ۱۹۸۷ یعنی پس از جلسه بنیاد ملی علوم[۳] سرمایه‌گذاری بر روی مهندسی بافت آغاز گردید. پیشرفت‌های اخیر در زمینه مهندسی بافت برای غلبه بر محدودیت در روش‌های مرسوم پیوند عضو و پیوند

۱. دانشجوی دوره دکتری تخصصی زیست فناوری پزشکی دانشگاه تهران

2. Y.C. Fung
3. National Science Foundation (NSF)

مواد می‌باشد(۳). در این زمینه برای ساخت عضو و بافت‌های مصنوعی توانایی بالقوه وجود دارد به‌طوری که بافت و عضو پیوند زده شده پس از پیوند، همراه با فرد گیرنده رشد کند. با این روش یک راه حل دائمی برای درمان بافت‌های آسیب دیده وجود دارد به‌طوری که به درمان‌های مکمل نیاز ندارد؛ در نتیجه هزینه درمان بسیار کاهش می‌یابد(۴). تاکنون از مهندسی بافت برای ترمیم بسیاری از بافت‌ها مانند استخوان، غضروف، رگ خونی و پوست استفاده شده است. باید گفت هر بافت برای انجام عمل خود یک‌سری ویژگی‌های ساختمانی و مکانیکی دارد. پس برای به‌دست آوردن این شرایط در مهندسی بافت، از سلول‌هایی که در داخل یک سیستم پشتیبانی مصنوعی قرار دارند، استفاده می‌شود. سلول‌ها اغلب در داخل ساختارهای مصنوعی کاشت و یا جای داده می‌شوند که این ساختارها قادر به تقلید و حمایت از ساختار بافت سه‌بعدی هستند. این ساختار داربست نامیده می‌شود که هم به‌صورت *in vivo* و هم *ex vivo* به‌کار می‌رود. در هر دو حالت داربست تقلیدی از بافت زنده در داخل بدن است که در این حالت به سلول‌های کاشت شده اجازه داده می‌شود روی میکرومحیط اطراف خود تاثیر بگذارند. داربست‌های زیستی با استفاده از مواد زیست سازگار و تخریب پذیر بدست می‌آیند. ساختار این داربست‌ها باید تاحد امکان به بافت منطقه کاشت شبیه باشد. بدین ترتیب بازسازی و بهبود بافت صدمه دیده از لحاظ کیفی و کمی‌افزایش می‌یابد. ساختمان داربست به‌صورت ماتریس متخلخلی است که این تخلخل به چسبندگی و جای‌گیری بهتر سلول‌ها کمک می‌کند. اندازه و شدت تخلخل قابل کنترل است. باید گفت اصلی‌ترین بخش کار، طراحی داربست است

که در این طراحی اندازه حفره‌ها، شـدت تخلخـل و درجـه تخریب‌پـذیری تعیـین می‌شود به‌طوری که تا رسیدن به زمان تخریب نسبت به تنش‌های ناحیه‌ای مقاوم باشد و این فشارها را در کل ناحیه لانه گزینی به‌صورت همگون و مسـاوی پخـش کند(۵).

۱- ویژگی‌های ساختاری داربست‌ها

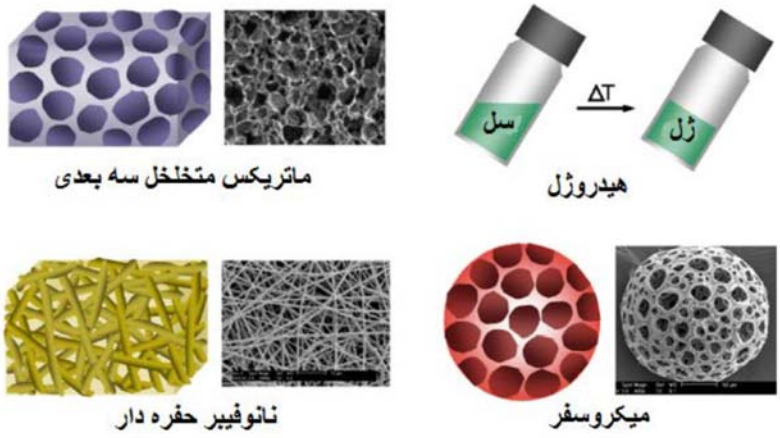
۱- تخلخل بالا و تا حد امکان اندازه منافذ در کل داربست مساوی و به یـک انـدازه باشد. این ویژگی به لانه‌گزینی بهتر، سریع‌تر و راحت‌تر سلول‌ها کمک کـرده و نیز انتشار مواد غذایی و مهاجرت سلول‌ها را در کل ساختمان داربست تسـهیل می‌کند.

۲- تخریب‌پذیری داربست به‌عنوان یکی دیگر از عوامل ضروری محسـوب می‌شـود به‌طوری که داربست توسط بافت‌های اطراف جذب شود و دیگر نیازی به عمـل جراحی برای حذف داربست نمی‌باشد.

۳- قابل تزریق بودن داربست؛ این ویژگی به دو صورت بیان می‌شود:

۴- الف) قابلیت تزریق سلول‌ها بـه آن وجـود دارد. بـه‌طوری کـه در ایـن حالـت سلول‌ها پس از ورود به فضای داخل داربست روی سـطح داربسـت جـایگزین شده و پوششی از سلول‌ها روی سطح داربست ایجاد می‌شود که در این حالت دیگر نیازی به پوشش دادن سلول‌ها با استفاده از مواد شیمیایی مثل تیتانیوم نیست (۶).

ب) قابلیت تزریق داربست به همراه سلول‌های موجود در آن، بدون نیاز به عمل جراحی، در محل مورد نظر در بدن، وجود دارد. به‌طوری که داربست در همان محل کاشته می‌شود.



شکل۱. اشکال مختلف داربست‌های پلیمری در مهندسی بافت(۷).

این داربست‌های قابل تزریق خود به دو دسته (۱) هیدروژل و (۲) میکروسفر یا ریزکره تقسیم می‌شوند (شکل ۱). داربست‌های هیدروژل مشتق شده از آلژینات، ژلاتینوفیبریناست (۹-۸). داربست‌های قابل تخریب هیدروژل از پلیمرهای آب‌دوست مانند پلی‌اتیلن گلایکول(PEG) ساخته می‌شوند. این داربست‌ها محیط و شرایط ملایم‌تر و قابل کنترلی را برای رشد و تمایز سلول‌ها ایجاد می‌کنند ولی کارایی زیادی ندارند که به این ترتیب و دو مشکل عمده پدیدار می‌شود:

الف) به دلیل ساختار حساس و ملایم آن‌ها، برای انتقال محدودیت دارند.

ب) به دلیل آب‌دوست بودن این پلیمرها، سطح داربست غیرچسبنده بوده و خاصیت اتصالی مناسب داربست را ندارد.

پلیمرهای آبگریز به دو صورت نانوفیبر و به فرم میکروسفر (داربست‌های ماتریکسی و قابل تزریق) ساخته می‌شود؛ اگرچه این پلیمرها به محصولات جانبی اسیدی تجزیه می‌شود که این حالت اسیدی می‌تواند بر رشد و چسبندگی سلول اثر منفی داشته باشد(۱۰).

میکروسفرها بیشتر از جنس پلی‌لاکتیک/ گلایکولیک اسید (PLGA) است که برای تکثیر in vitro سلول‌ها به‌کار می‌رود (۱۱) و همچنین برای ترمیم بافت غضروفی به محل آسیب‌دیده تزریق می‌شود (۱۴-۱۲). در انتخاب داربست باید عوامل جانبی و فرعی را نیز در نظر گرفت (۱۵):

۱- حفرات موجود دردارست با یکدیگر مرتبط و به‌صورت به‌هم پیوسته باشد به‌طوری که مثل سیستم گردش خون و رگ در بدن عمل کند.
۲- از موادی تهیه شود که بتوان توان تخریب و تجزیه آن را به راحتی کنترل کرد تا در نهایت جایگزین بافت هدف شود.
۳- دارای بار، قطبیت و خواص شیمیایی مناسب در سطح خود باشد به‌طوری که برای اتصال، تکثیر و تمایز سلول‌ها مناسب باشد.
۴- دارای خواص مکانیکی مناسب باشد. شدت مقاومت مکانیکی در داربست‌ها باید متناسب با بافت هدف یا همان محل لانه‌گزینی باشد. مقاومت مکانیکی داربست باید به گونه‌ای محاسبه شود که هنگام کار یا نقل و انتقال به آن صدمه وارد نشود.
۵- نباید سیستم ایمنی را تحریک و منجر به پاسخ ایمنی شود.

ش- به‌راحتی به اشکال و اندازه‌های مختلف تبدیل شود.

۱- انواع داربست‌ها

تقسیم‌بندی کلی برای داربست‌ها به سه صورت است:

۱- قابلیت تزریق سلول‌ها به آن:

۱-۱- قابل تزریق

۱-۲- غیرقابل تزریق

وجود یا عدم وجود این قابلیت در ویژگی‌های ساختاری داربست‌های زیستی توضیح داده شد. اشاره شد که این ویژگی از اهمیت بسیاری برخوردار است. حالتی که پلیمر به‌کار رفته از نظر کلیه موارد، مناسب بافت هدف باشد ولی مثل داربست‌های خونی قابل تزریق نباشد، محققان خطر عمل جراحی را در نظر گرفته و از این داربست که قابل تزریق به محل لانه‌گزینی نیست، استفاده می‌کنند.

۲- از لحاظ ساختمان:

۲-۱- ساده(Simple)

۲-۲- پیچیده(Complex)

در داربست‌هایی با ساختمان ساده تنها یک نوع پلیمر وجود دارد، ولی در داربست‌های پیچیده از چندین پلیمر استفاده می‌شود. حالتی از این داربست می‌تواند به‌صورت مخلوطی از چند پلیمر محلول باشد که به فرم مورد نظر قالب‌گیری می‌شود. در حالت دیگر دو یا تعداد بیشتری پلیمرهای زیستی به فرم فیبر تهیه و سپس این الیاف را به‌صورت بافته شده در کنار یکدیگر قرار می‌دهند. همچنین داربست پیچیده می‌تواند تنها یک پلیمر باشد ولی تیمارهای مختلف با انواع نمک‌ها، مواد آلی و معدنی

روی سطح آن انجام شود به‌طوری که داربست از فرم ساده خارج و پیچیدگی یک بافت و ماتریکس طبیعی را به خود بگیرد.

۳- از لحاظ منشا

۳-۱- زیستی وطبیعی

۳-۲- سنتزی(۱۶)

در پلیمرهای زیستی و طبیعی چسبندگی سلول‌ها کارآمدتر است و در داربست‌های سنتزی می‌توان راحت‌تر ویژگی‌های مکانیکی و شدت تخریب پذیری را کنترل کرد(۱۷). ویژگی‌های مکانیکی داربست بسیار اهمیت دارد؛ زیرا کشت روی داربست منجر به افزایش و تکثیر سلول‌ها به‌ویژه سلول‌های بنیادی می‌شود(۱۸). باید گفت که عمل تقسیم و تمایز سلول‌های بنیادی روی داربست وابسته به خواص فیزیکی داربست است. به‌طور کلی داربست‌ها را براساس منشا به دو گروه کلی طبیعی و سنتزی دسته‌بندی می‌کنند.

پلیمرهای طبیعی

۱- پلیمرهایی که از استخراج بافتی به‌دست می‌آید. در این حالت سلول‌های بافت هدف حذف شده و عصاره بافتی حاصل به‌عنوان داربست به‌کار برده می‌شود.

۲- پلیمرهایی که به‌صورت مستقیم از ماتریکس خارج سلولی جداسازی ومشتق می‌شود.

۳- داربست‌هایی با ساختار پروتئینی مانند کلاژن(۱۹) و فیبرین(۲۰).

۴- مواد پلی‌ساکارید و قندی مانند آلژینات، چیتوزان(۲۳-۲۱) و گلیکوزامینوگلیکان. ازآلژینات برای انتقال به موقع و اختصاصی داروی ملوکسی‌کام (Meloxicam) استفاده می‌شود(۲۴) که این دارو ضدالتهاب و استروئیدی است. این مواد

پلی‌ساکاریدی، با بدن و بافت زنده سازگار هستند ولی گاهی نیز برای بدن خاصیت ایمنی‌زایی دارند.

۵- برای افزایش پایداری پلیمرهای پلی‌ساکاریدی از ترکیب گلیکوزامینوگلیکان و هیالورونیک اسید(۲۵) استفاده می‌شود که در این بین از موادی مثل گلوتارالدئید، کربودی‌آمید برای برقراری اتصالات عرضی استفاده می‌شود.

پلیمرهای سنتزی

این پلیمرها با بدن سازگار، قابل تجزیه و در نهایت قابل جذب هستند. اداره کل غذا و دارو(Food And Drug Administration (FDA این مواد را تأیید کرده و حتی آنها را تهیه می‌نماید. این پلیمرها به‌راحتی به ماتریکس‌های سه بعدی با ساختارهای متنوع تبدیل می‌شود. پلیمرهای سنتزی که برای مهندسی بافت به‌کار می‌رود شامل پلی‌آلفا هیدروکسی استرها که پلی‌استرهای آلیفاتیک است، پلی آن هیدرید و پلی اورتواسترهااست (۲۶). پلی آلفا هیدروکسی استرها انواع مختلف دارند(۲۷):

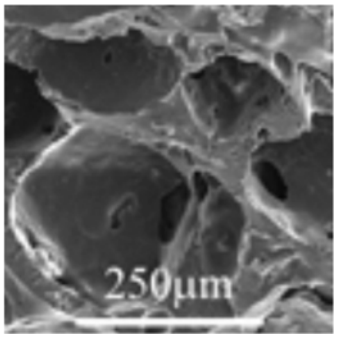
۱- پلی‌گلیکولیک اسید (polyglycolic acid - PGA)

۲- پلی‌لاکتیک اسید (polylactic acid - PLA)

محصول‌های زیستی از نوع مونومری گلیکولیک اسید و لاکتیک اسید در بدن انسان به‌صورت طبیعی در مسیرهای متابولیک تولید و سپس حذف می‌شوند. در حالت داربست همین مواد را به‌صورت پلیمر تهیه می‌کنند. تفاوت این دو در شدت تخریب‌پذیری آنهاست به‌طوری که پلی‌گلیکولید سریع‌تر از پلی‌لاکتیک تجزیه می‌شود(۲۸).

۳- کوپلیمر لاکتیک اسید و گلیکولیک اسید PLGA (شکل ۲):

می‌توان رفتار و میزان تخریب‌پذیری کوپلیمر PLGA را کنترل کرد. همچنین می‌توان ویژگی‌های مکانیکی آن را براساس بافت مورد نظر تنظیم نمود. این ویژگی مزیت اصلی این پلیمر و دلیل کاربرد آن در پزشکی است.



شکل۲. ساختمان متخلخل PLGA (29).

۴- پلی کاپرولاکتون PCL(۱۵, ۳۰-۳۱): ازاین داربست برای تمایز سلول‌های بنیادی سوماتیک غیرمحدودشده Unrestricted Somatic Stem Cells به سلول‌های کبدی استفاده می‌شود(۳۲).

منابع

1. Bell E. Tissue engineering, an overview. In: Bell E, editor. Tissue Engineering: Current Perspectives: Birkhauser Verlag AG 1993. p. 3-15.
2. Shalak R, Fox C. Preface. In: Shalak R, Fox C, editors. Tissue Engineering. New York: Alan R.Liss; 1998. p. 2.۹-٦
3. Langer R, Vacanti J. Tissue engineering. Science Magazine. 1993;260(5110):920-6.
4. Patrick CW, Jr., Mikos AG, McIntire LV. Prospectus of Tissue Engineering. In: Patrick CW, Jr., Mikos AG, McIntire LV, editors. Frontiers in Tissue Engineering. NewYork: Elsevier Science; 1998. p. 3-11.
5. Cheung H, Lau K, Lu T, Hui D. A critical review on polymer-based bio-engineered materials for scaffold development. Composites Part B: Engineering. 2007;38(3):291-300.
6. Hartman E, Vehof J, Spauwen P, Jansen J .Ectopic bone formation in rats: the importance of the carrier. Biomaterials. 2005;26(14):1829-35.
7. Chung HJ, Park TG. Surface engineered and drug releasing pre-fabricated scaffolds for tissue engineering. Advanced drug delivery reviews. 2007;59(4-5):249.٦٢-
8. Rowley J, Madlambayan G, Mooney D. Alginate hydrogels as synthetic extracellular matrix materials. Biomaterials. 1999;20(1):45-53.
9. Passaretti D, Silverman R, Huang W, Kirchhoff C, Ashiku S, Randolph M, et al. Cultured chondrocytes produce injectable tissue-engineered cartilage in hydrogel polymer. Tissue Engineering. 2001;7(6):805-15.
10. Williams C, Kim T, Taboas A, Malik A, Manson P, Elisseeff J. In vitro chondrogenesis of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in a photopolymerizing hydrogel. Tissue Engineering. 2003;9(4):679-88.
11. Chun K, Yoo H, Yoon J, Park T. Biodegradable PLGA microcarriers for injectable delivery of chondrocytes: effect of surface modification on cell attachment and function. Biotechnology progress. 2004;20(6):179.٨٠١-٧
12. Mercier N, Costantino H, Tracy M, Bonassar L. A novel injectable approach for cartilage formation in vivo using PLG microspheres. Annals of biomedical engineering. 2004;32(3):418-29.

13. Kang S, Jeon O, Kim B. Poly (lactic-co-glycolic acid) microspheres as an injectable scaffold for cartilage tissue engineering. Tissue Engineering. 2005;11(3-4):438-47.
14. Thissen H, Chang K, Tebb T, Tsai W, Glattauer V, Ramshaw J, et al. Synthetic biodegradable microparticles for articular cartilage tissue engineering. Journal of Biomedical Materials Research Part A. 2006;77(3):590-8.
15. Hutmacher D. Scaffold design and fabrication technologies for engineering tissues state of the art and future perspectives. Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition. ۲۰۰۱;۱۲(۱):۱۰۷-۲٤ .
16. Koch T, Berg L, Betts D. Current and future regenerative medicine—Principles, concepts, and therapeutic use of stem cell therapy and tissue engineering in equine medicine. The Canadian Veterinary Journal. 2009;50(2):155.
17. Dado D ,Levenberg S. Cell-scaffold mechanical interplay within engineered tissue. Elsevier. 2009;20(6):656-64.
18. Feng Q, Chai C, Jiang X, Leong K, Mao H. Expansion of engrafting human hematopoietic stem/progenitor cells in three dimensional scaffolds with surface immobilized fibronectin. Journal of Biomedical Materials Research Part A. 2006;78(4):781-91.
19. Pieper J, Hafmans T, Van Wachem P, Van Luyn M, Brouwer L, Veerkamp J, et al. Loading of collagen heparan sulfate matrices with bFGF promotes angiogenesisand tissue generation in rats. Journal of biomedical materials research. 2002;62(2):185-94.
20. Sakiyama-Elbert S, Hubbell J. Development of fibrin derivatives for controlled release of heparin-binding growth factors. Journal of Controlled Release. 2000;6.٥(٣):٣٨٩-٤٠٢
21. Nettles D, Elder S, Gilbert J. Potential use of chitosan as a cell scaffold material for cartilage tissue engineering. Tissue Engineering. 2002;8(6):1009-16.
22. Li Z, Ramay H, Hauch K, Xiao D, Zhang M. Chitosan-alginate hybrid scaffoldsfor bone tissue engineering. Biomaterials. 2005;26(18):3919-28.
23. Perets A, Baruch Y, Weisbuch F, Shoshany G, Neufeld G, Cohen S. Enhancing the vascularization of three-dimensional porous alginate

scaffolds by incorporating controlled release basic fibroblast growth factor microspheres. Journal of Biomedical Materials Research Part A. 2003;65(4):489-97.

24. Sharma S, Pawar A. Low density multiparticulate system for pulsatile release of meloxicam. International journal of pharmaceutics. 2006;313(1-2):15.۸-۰

25. Baier Leach J, Bivens K, Patrick Jr C, Schmidt C. Photocrosslinked hyaluronic acid hydrogels: natural, biodegradable tissue engineering scaffolds. Biotechnology and bioengineering. 2003;82(5):578-89.

26. Gunatillake P, Adhikari R. Biodegradable synthetic polymers for tissue engineering. Eur Cell Mater. 2003;5(1):1–16.

27. Shi G, Cai Q, Wang C, Lu N, Wang S, Bei J. Fabrication and biocompatibility of cell scaffolds of poly (L-lactic acid) and poly (L-lactic-co-glycolic acid). Polymers for advancedtechnologies. 2002;13(3-4):227-32.

28. Ma P, Elisseeff J. Scaffolding in tissue engineering: CRC press; 2005.

29. Poly (lactic-co-glycolic acid) (PLGA) porous scaffold for tissue engineering. 2011; Available from: http://www.doitpoms.ac.uk/miclib/systems.php?id=85.

30. Freed L, Vunjak-Novakovic G. Culture of organized cell communities. Advanced drug delivery reviews. 1998;33(1-2):15-30.

31. Agrawal C, Ray R. Biodegradable polymeric scaffolds for musculoskeletal tissue engineering. Journal of biomedicalmaterials research. 2001;55(2):141-50.

32. Hashemi S, Soleimani M, Zargarian S, Haddadi-Asl V, Ahmadbeigi N, Soudi S, et al. In vitro Differentiation of Human Cord Blood-Derived Unrestricted Somatic Stem Cells into Hepatocyte-Like Cells on Poly (-Caprolactone) Nanofiber Scaffolds. Cells Tissues Organs. 2008;190(3):135-49.

فصلنامه زیست فناوری پزشکی
سال اول، شماره ۲، زمستان ۱۳۹۴

فیتاز، پر استفاده‌ترین پروتئین نوترکیب ایران

نوید پورزردشت[۱]

مقدمه

فیتاز یکی از مهم‌ترین آنزیم‌ها در زمینه تغذیه، حفظ محیط زیست و سلامت دام و طیور می‌باشد. نقش این آنزیم جدا کردن گروه‌های فسفات از حلقه مرکزی ترکیبی به نام فیتات است. فیتات اصلی‌ترین ترکیب فسفات‌دار گیاهان می‌باشد به‌طوری که ۵۰ تا ۷۰ درصد از فسفات گیاهی را شامل می‌شود. این ترکیب از یک حلقه اینوزیتول ۶ کربنه تشکیل شده است که بر روی هر کربن آن یک فسفات قرار دارد. یک واحد فیتاز به صوت میزانی از فیتاز تعریف می‌شود که برای جدا کردن یک میکرومول فسفات غیر ارگانیک در هر دقیقه از محلول سدیم فیتات ۵ mM در pH= ۵/۵ و دمای ۳۷ درجه مورد نیاز است. فیتازهای مختلفی از منابع مختلف مانند گیاهان و میکروب‌ها جدا و براساس ویژگی‌های مختلف طبقه‌بندی می‌شوند. این ویژگی‌ها عبارتاند از : (۱) pH

۱- دانشجوی دوره دکتری تخصصی بیوشیمی‌بالینی دانشگاه تربیت مدرس

بهینه (انواع اسیدی و بازی)، (۲) مکانیسم عمل (هیستیدین اسید فسفاتازها، فیتازهای پروانه‌ای، سیستئین فسفاتازها و اسید فسفاتازهای ارغوانی)، (۳) ویژگی‌های فضایی هیدرولیز فیتات (۳ یا ۶ فیتازها).

از آنجایی که حیوانات تک معده‌ای به علت فقدان و یا کمبود آنزیم فیتاز در لوله گوارشی خود فاقد توانایی تجزیه فیتات هستند؛ بنابراین تحقیقات اخیر در رابطه با فیتاز در جهت استفاده از این ترکیب به منظور تولید فسفات برای رژیم غذایی حیوانات تک معده‌ای و نیز برای کاهش دفع فسفات توسط آنها در جهت جلوگیری از آلودگی محیط زیست می‌باشد. هرچند آنزیم فیتاز برای آزادسازی فسفات در رژیم غذایی انسانی در راستای بهبود تغذیه و وضعیت سلامت کاربرد هم دارد.

کاربردهای فیتاز

کاربردهای اصلی فیتاز به عنوان یک مکمل غذایی

نقش اصلی آنزیم فیتاز افزایش دسترسی به فسفات موجود در بافت‌های گیاهی، توسط هیدرولیز آنزیمی‌فیتات می‌باشد که منجر به بهبود استفاده از فسفات‌های آزاد شده از فیتات در خوراک دام و طیور می‌شود که آن‌هم به افزایش مصرف فسفات توسط موجودات و کاهش دفع آن در مدفوع حیوانات می‌انجامد و بنابراین، منجر به کاهش فسفات وارد شده به محیط زیست می‌شود و کاهش آلودگی‌های ناشی از آن را باعث می‌شود. افزایش دسترسی به فسفات‌های بیولوژیک منجر به کاهش نیاز برای اضافه کردن فسفات‌های غیر ارگانیک مانند منو یا دی‌کلسیم فسفات می‌شود. از آنجایی که استفاده از فسفات‌های معدنی در رژیم غذایی بسیار گران‌قیمت است استفاده از آنزیم در مواد غذایی بسیار مقرون به صرفه می‌باشد. علاوه برآن فسفات‌های غیرارگانیک فاقد

منابع تجدیدپذیر هستند و قابل پیش‌بینی است که فسفات‌های موجود در سطح زمین طی ۵۰ سال آینده نابود خواهند شد. اولین بار در سال ۱۹۹۱ فیتاز به صورت تجاری به عنوان مکملی در خوراک حیوانات تک معده‌ای به کار رفت.

ممنوعیت استفاده از مکمل‌های غذایی گوشت و گوشت ــ استخوان به عنوان یک منبع ارزان قیمت برای فسفات غذایی در اروپا به منظور جلوگیری از انتقال بیماری‌های بین‌گونه‌ای مانند BSA، منجر به تغییرات اساسی در مدیریت تامین فسفات گردید. این کار منجر شد که فیتات تاثیر اقتصادی زیادی بر تولید فسفات غذایی برای خوراک دام و طیور داشته باشد. فیتات گیاهی تولید شده در سال ۲۰۰۰ حجمی‌بیش از ۵۱ میلیون تن داشت که این مقدار معادل با ۶۵ درصد از میزان فسفات جامد موجود در داخل کودهاست. آنزیم فیتاز می‌تواند منجر به تبدیل فیتات گیاهی به یک منبع تجدیدپذیر برای تولید فسفات و بهبود دسترسی زیستی آن در رژیم غذایی حیوانات شود.

به عنوان مکمل غذایی

مکمل‌های غذایی فیتازی نشان داده‌اند که تاثیر زیادی بر بهبود استفاده از فسفات در حیوانات تک معده‌ای در شرایط رژیمی‌مختلف دارند. رژیم‌های غذایی بر مبنای ذرت که دارای آنزیم فیتاز با فعالیت جزئی می‌باشد بهتر از رژیم غذایی بر پایه گندم است که فاقد فیتاز می‌باشد. در حیوانات تک معده‌ای استفاده از مکمل‌های فیتازی میکروبی با فعالیت ۷۵۰ unit/kg منجر به افزایش فسفات در دسترس در ذرت از ۱۸ تا ۵۶ درصد و در گندم از ۶۲ تا ۷۴ درصد شده است. در نتیجه میزان فسفات دفعی آنها به همان میزان کاهش نشان می‌دهد. برای حیوانات تک معده‌ای یک گرم فسفات غیرارگانیک، معادل با فیتاز میکروبی در حد ۵۰۰ FTU/kg می‌باشد.

فیتیک اسید یک عامل ضد تغذیه قوی است؛ زیرا این ماده با جمع‌آوری یون‌های فلزی دو ظرفیتی همانند آهن، روی، کلسیم، منیزیم و اسیدهای آمینه و سایر مواد مغذی مانع از جذب آنها در روده می‌گردد. از آنجایی که این مواد در فعال‌سازی واکنش‌های درون‌سلولی و برون‌سلولی نقش دارند و همچنین برای کنترل واکنش‌های متابولیک و تعادل اسمزی سلول و محیط اطرافش موثر است، کمبود هرکدام از این مواد معدنی باعث یک نقص متابولیک شدید و گاه جبران‌ناپذیر می‌شود که سلامت انسان یا حیوان را به خطر می‌اندازد. بنابراین مکمل‌های فیتازی با از بین بردن ساختار طبیعی فیتاز مانع از عملکرد آن شده و منجر به افزایش بهبود دسترسی به مواد معدنی می‌شود همچنین منجر به افزایش انرژی و کالری دریافتی از یک رژیم غذایی مشخص می‌گردد. بنابراین، با استفاده از میزان کمتری غذا می‌توان همان اندازه انرژی را در حیوان ایجاد کرد.

گزارش شده است که ۵۰۰ واحد از آنزیم فیتاز تجاری شده می‌تواند جایگزین ۳۰mg یون روی افزوده به رژیم غذایی بر پایه ذرت، سویا و لوبیا شود.

افزایش سطوح کلسیم از ۰/۴ تا ۰/۸ درصد در رژیم‌های دارای کمبود فسفات منجر به کاهش تاثیر فیتاز میکروبی در خوک‌های نوزاد می‌شود. علاوه بر اینها فیتازهای میکروبی بر هضم نشاسته پروتئین و اسید آمینه موثر هستند.

منابع

میکروب‌ها

فیتازها از منابعی مانند : قارچ، مخمر، باکتری و پروتوزوآ قابل تامین است. بیشتر انواع این آنزیم‌ها به طبقه هیستیدین اسید فسفاتازها و یا فیتازهای قلیایی تعلق دارند.

تاکنون بسیاری از انواع فیتازهای میکروبی برای تهیه مکمل‌های غذایی تجاری سازی شده‌اند.

فیتازهای قارچی و مخمری

معمولا در دسته سوم فیتازها طبقه‌بندی می‌شوند. بیشتر فیتازهای جدا شده از مخمرها و قارچها در زمره هیستیدین اسید فسفاتازهای گلیکوزیله هستند که در انواع مختلف سوبستراها فعالیت دارند.

فیتاز قارچ آسپرژیلوس نیجر اولین فیتاز مورد مطالعه قرار گرفته و تجاری شده است. اندازه ژن مربوط به این آنزیم ۱۰۴ kb می‌باشد و این آنزیم مونو مر بوده و وزن ملکولی تقریبی آن ۸۰kD است. نمودار pH اپتیمم آن در دو نقطه ۲/۵ و ۵/۵-۵ و همچنین نمودار اپتیمم دمایی آن در دمای ۶۰-۵۵ بیشترین فعالیت را از خود نشان می‌دهد و میل اتصالی بالایی به اسید فیتیک دارند. فیتاز از منشا آسپرژیلوس فومیگاتوس به میزان ۶۶ درصد با آسپرژیلوس نیجر شباهت دارد ولی نسبت به آن مقاومت حرارتی بالاتری دارد. این مقاومت حرارتی بالاتر به توانایی این آنزیم برای ایجاد فولدینگ مجدد بعد از اعمال حرارت مربوط می‌شود. آنزیم توانایی فعالیت در بازه وسیعی از pHهای مختلف و نیز فعالیت بالا در اینوزیتول فسفات (فیتات) را دارد هرچند که فعالیت ویژه آن در برابر فیتاز پایین است. فیتاز مربوط به پنوفورا لیسی نیز تاکنون تجاری سازی شده است. این نوع فیتاز از انواع ۶-فیتازها می‌باشد در۴/۵-۴=pH و نیز دمای ۵۵- ۵۰ بهینه فعالیت خود را دارد و نیز فرم فعال آن به صورت دایمر می‌باشد. این نوع فیتاز نسبت به حرارت و پروتئازها مقاوم است و pH عمل آن اسیدی می‌باشد.

آنزیم فیتاز از منشا کلاموسپوریم سوبتیلیس یکی دیگر از انوع فیتازهاست که فاقد گلیکوزیلاسیون می‌باشد و pH بهینه آن ۳/۵ و دمای بهینه آن ۴۰ می‌باشد. محصول نهایی این آنزیم اینوزیتول تری فسفات می‌باشد. فیتازهای استخراج شده از قارچ‌های گرمادوست نظیر ترمومایسس لانوجینووس مقاومت حرارتی و قدرت کاتالیتیکی بهتری نسبت به آسپرژیلوس نیجر نشان می‌دهند.

نوع دیگری از مخمر به نام کاندیدا کروسی وجود دارد که از خاک جدا شده است. فیتاز استخراج شده از این مخمر دارای دو زیر واحد است که وزن ملکولی آنها ۱۱۶ و۳۱kD می‌باشد و تا حدود ۳۵ درصد گلیکوزیله می‌باشد و بهینه فعالیت pH و دمای آن به ترتیب ۴/۶ و ۴۰ می‌باشد.

فیتاز از گونه‌های دیگری از جمله پیکیا آنومالا، ساکرومایسس سرویزیه، شائون نئومایسس کاستلی استخراج شده که فعالیت بهینه pH آن در حیطه اسیدی می‌باشد و دمای بهینه آن ۶۰-۷۴ درجه می‌باشد.

فیتازهای باکتریایی

فیتازهای استخراج شده از باکتری از انواع غیر گلیکوزیله هیستیدین اسید فسفاتازی یا فیتازهای قلیایی می‌باشند. فیتاز باکتری ای‌کولای یک پروتئین پری پلاسمیک (موجود در فضای بین دو لایه دیواره) با جرم مولکولی تقریبی KD ۴۲ است. به علت pH اسیدی بهینه، مقاومت زیاد در برابر تجزیه شدن در برابر پپسین و فعالیت ویژه بسیار بالا خیلی مورد توجه است. فیتاز باکتری ای‌کولای بیشتر از فیتاز آسپرژیلوس نیجر در آزادسازی فسفات‌های فیتاز در رژیم غذایی دام و طیور موثر می‌باشد. مواردی از بیان فیتاز باکتریای در مخمر پیکیا پاستوریز ارائه شده است.

فیتازهای باسیلوسی مونومری و دارای وزن مولکولی KD ۳۸-۴۸ می‌باشند و pH بهینه آنها در حد خنثی و دمای بهینه آنها در حد ۷۰- ۵۵ است.

انواع مختلفی از فیتاز در سیرابی گاوها یافت شده است و گونه سلموناس به عنوان بیشترین عامل تولید کننده این آنزیم مورد استفاده قرار می‌گیرد.

سایر میکروارگانیسم‌ها

نوعی فیتاز در یک پروتوزوآ به نام پروتوزوآن پاراماسیوم یافت شده است که دارای حالت هگزامری است و pH بهینه آن ۷ می‌باشد و برای فعالیت خود نیازمند کاتیون‌های دو ظرفیتی نمی‌باشد. همچنین از لحاظ ساختاری برای تجزیه فسفات‌ها در موقعیت‌های ۶،۵،۴،۱ مناسب است. این آنزیم حدود ۳۰ درصد شبیه نوع جدا شده از باسیلوس سوبتیلیس می‌باشد.

مقایسه بین ۳ فیتازها و ۶ فیتازها

طبقه‌بندی براساس ۳ یا ۶ فیتازها به اولین فسفری که توسط آنزیم برداشت می‌شود مربوط است. به عبارت دیگر ۳ فیتازها ابتدا فسفات متصل به کربن شماره ۳ و ۶ فیتازها ابتدا فسفات متصل به کربن ۶ را جدا می‌کنند. ۶ فیتازها بعد از جدا کردن فسفات ۶ تنها فسفات ۱ را جدا می‌کنند در صورتی که ۳ فیتازها بعد از جدا کردن فسفات ۳ به ترتیب فسفات‌های ۱، ۶، ۵ و ۴ را جدا می‌کنند. فسفات متصل به کربن شماره ۲ فیتات در برابر تمام فیتازها مقاوم است که علت آن قرار گرفتن در محور این فسفات نسبت به حلقه می‌باشد.

با اینکه فیتازهای نوع ۳ تعداد بیشتری از فسفات‌ها را نسبت به فیتازهای نوع ۶ جدا می‌کنند ولی قدرت کاتالیتیکی و سرعت عمل آنزیم‌های فیتاز نوع ۶ بیشتر است و

عملاً ۶ فیتازها (مانند فیتاز ای‌کولای) برای آزاد کردن قوی‌تر از ۳ فیتازها (مانند فیتاز آسپرژیلوس نیجر) عمل می‌کنند.

بهبود مقاومت حرارتی

اکثر فیتازها حتی با منشا گیاهی و میکروارگانیسم‌ها فعالیت‌شان در دمای ۶۰-۵۵ درجه از بین می‌رود. برای مثال T_mبرای آنزیم فیتاز از منشا آسپرژیلوس نیجر ۶۳/۳ می‌باشد که دناتوره شدن آن با تغییر برگشت‌ناپذیر در ساختار پروتئین همراه است که ۷۰ تا ۸۰ درصد فعالیت پروتئین را از بین می‌برد.

محدودیت مقاومت حرارتی بزرگ‌ترین مشکل آنزیم فیتاز می‌باشد. زیرا طی آماده‌سازی فیتاز چه برای غذای انسان و چه برای خوراک دام و طیور، آنزیم‌ها برای مدتی در دمای ۹۰-۸۰ درجه قرار می‌گیرند تا آلودگی‌های سالمونلایی حذف شود که این مسئله می‌تواند به ساختار و عملکرد آنزیم آسیب برساند. تهیه آنزیم فیتاز از میزبان‌های ترموفیل (گرمادوست) می‌تواند برای حل این مشکل مفید باشد. همچنین استفاده از روش مهندسی پروتئین و جهش‌زایی در پروتئین‌ها می‌تواند در افزایش مقاومت حرارتی آن نقش داشته باشد. همچنین ایجاد پوشش‌های شیمیایی برای آنزیم‌ها آنها را در برابر حرارت محافظت می‌کند. البته احتمال دارد که منجر به کاهش قدرت کاتالیتیکی آنها شود.

تغییر pH اپتیمم فعالیت آنزیم

pH اسیدی موجود در معده موجود در خوک و ماکیان(۲-۵) و pH خنثی موجود در روده کوچک (۵/۵-۶/۷) موجب تلاش برای پایداری فیتازها در برابر pHهای مختلف غذایی می‌شود. محاسبه شده است که بیشتر فیتازهای میکروبی نسبت به فیتازهای

گیاهی مقاومت بیشتری در برابر تغییرات pH دارد انواع گیاهی بیشتر فعالیت خود را در pHهای کمتر از ۴ و بیشتر از ۷/۵ از دست می‌دهند در صورتی که بیشتر آنزیم‌های میکروبی در pH بین ۳ تا ۸ پایدار هستند.

گزارش شده است که فیتاز موجود در گندم بیش از فیتاز مربوط به آسپرژیلوس نیجر نسبت به تجزیه توسط آنزیم‌های پانکراسی و پپسین حساس است. بر خلاف آن، فیتاز باکتری ای‌کولای نسبت به آنها مقاوم است. در مقایسه دیگری که بین باسیلوس سوبتیلیس و ای‌کولای با چهار فیتاز قارچی نوترکیب فیتازهای قارچی انجام شد، انواع قارچی نسبت به پروتئازهای پانکراسی از منشا پانکراسی و پپسین، حساسیت بیشتری دارند و سریعتر تخریب می‌شوند. فیتاز از منشا باسیلوس سوبتیلیس در برابر هر دو نوع پروتئازهای پانکراتیک و پپسین مقاوم است.

ایجاد تغییر در بخش‌هایی از پروتئین که نسبت به پروتئازها حساس است می‌تواند منجر به کاهش حساسیت و تجزیه‌پذیری نسبت به پروتئازها شوند. فیتازهای تجاری همچنین باید در برابر تجزیه در طی فرایندهای تولید و ذخیره پایدار باشند.

مطالعه برای یافتن سیستم بیانی مناسب

گونه‌های قارچی شامل انواع آسپرژیلوس به میزان زیادی برای تولید فیتاز به‌کار می‌رود. همچنین سایر انواع قارچ‌های مزوفیلیک نیز برای این منظور به کار می‌روند. میزان تولید فیتاز را می‌توان با بهینه کردن شرایط محیط کشت، محدود کردن دوره اکسیژن و پایدار کردن و تغییر در ترجیح کدونی و تغییر پپتید نشانه به بیشترین مقدار ممکن رساند.

انواع بیان شده فیتازها در مخمر پیکیا پاستوریز وهانسنولا پلی مورفا موارد بسیار موفقی را از لحاظ حجم بیان، مقاومت حرارتی و فعالیت ویژه بالا نشان می‌دهد.

سیستم بیانی باسیلوس سوبتیلیس برای تولید فیتـاز خـارج سـلولی پیشـرفت‌های خـوبی به‌دسـت آورده اسـت. تـلاش می‌شـود کـه بیـان فیتـاز ای‌کـولای در باسـیلوس سوبتیلیس به بهترین حالت خود برسد که این خود شامل اجزای سیستم انتقالی وابسته به tat و همچنین استفاده از سیگنال‌های ترشحی مناسب است.

همچنین فیتاز ای‌کولای در سیستم بیانی سدوموناس پوتیدا بیان شد و انواع بیـان موثر این آنزیم با سیستم‌هایی از جمله استرپتومایس‌ها مشاهده شده است.

حیوانات ترانس ژنیک تولید کننده فیتاز

خوک‌های ترانس ژنیک فیتازی به نام Enviropy تولید شده‌اند که ژن آنزیم فیتاز به داخل سلول‌های بزاقی آنها وارد شده و منجر به بیان بالای فیتـاز ای‌کـولای در بـزاق آنها شده است. همچنین میزان دفع فسفات از طریق مـدفوع ایـن خوک‌هـا ۷۵ درصـد کاهش یافته است.

منابع

1. Braña, D. V., Ellis, M., Castañeda, E. O., Sands, J. S., & Baker, D. H. (2006). Effect of a novel phytase on growth performance, bone ash, and mineral digestibility in nursery and grower-finisher pigs. *Journal of Animal Science*, *84*(7), 1839–1849. http://doi.org/10.2527/jas.2005-565
2. Efsa-q-, Q. N. (2006). Opinion of the Scientific Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed and the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on the safety and efficacy of the enzymatic preparation Phyzyme XP (6- Phytase) for use as feed additi, 1–14.
3. Fruton, J. S. (1966). *Methods of Biochemical Analysis*. *The Yale journal of biology and medicine* (Vol. 38). http://doi.org/10.1016/S0300-9084(83)80101-1
4. Godoy, S., Chicco, C., Meschy, F., & Requena, F. (2005). Phytic phosphorus and phytase activity of animal feed ingredients. *Interciencia*, *30*(1), 24–28.
5. International, T. N., & Poultry, N. (2007). Invited Speakers, *2*(8), 47–52. http://doi.org/10.1080/00324720310001413 00
6. Kerovuo, J., Lauraeus, M., Nurminen, P., Kalkkinen, N., & Apajalahti, J. (1998). Isolation, characterization, molecular gene cloning, and sequencing of a novel phytase from Bacillus subtilis. *Applied and Environmental Microbiology*, *64*(6), 2079–2085.
7. Ogueira, A. N. A. R. I. T. A. A. N., Ana, G. De, & Sp, C. (n.d.). Orthophosphate , Phytate , and Total Phosphorus Determination, *1600*.
8. Scheidle, M. (2010). Optimizing Microbial Screenings Using Controlled-Release Systems.

9. Shobirin, A. (2010). Review Article Phytase : application in food industry, *21*, 13–21.
10. Sohail, S. S., & Roland, D. a. (1999). Influence of supplemental phytase on performance of broilers four to six weeks of age. *Poultry Science*, *78*(4), 550–555. http://doi.org/10.1093/ps/78.4.550
11. Tedeschi, L. O., Fox, D. G., Bellmann, O., Wegner, J., Schneider, F., Teuscher, F., & Ender, K. (n.d.). Nonruminant Nutrition : Minerals and vitamins, *81*, 97–100.
12. Wyss, M., Brugger, R., Kronenberger, A., Rémy, R., Fimbel, R., Oesterhelt, G., … Lehmann, M. (1999). Biochemical Characterization of Fungal Phytases (myo -Inositol Hexakisphosphate Phosphohydrolases): Catalytic Properties Biochemical Characterization of Fungal Phytases (myo -Inositol Hexakisphosphate Phosphohydrolases): Catalytic Properties, *65*(2), 367–373.
13. Wyss, M., Pasamontes, L., Friedlein, A., R??my, R., Tessier, M., Kronenberger, A., … Van Loon, A. P. G. M. (1999). Biophysical characterization of fungal phytases (myo-inositol hexakisphosphate phosphohydrolases): Molecular size, glycosylation pattern, and engineering of proteolytic resistance. *Applied and Environmental Microbiology*, *65*(2), 359–366.

فصلنامه زیست فناوری پزشکی
سال اول، شماره ۲، زمستان ۱۳۹۴

خبر

اهمیت زنجیره ارزش ذخایر ژنتیکی در اقتصاد مقاومتی توسط کارگروه زیست‌بانک و ذخایر ژنتیکی ستاد توسعه زیست‌فناوری

به گزارش پایگاه رسمی‌ستاد توسعه زیست فناوری، آقایان دکتر قانعی (دبیر ستاد توسعه زیست‌فناوری) به همراه دکتر طهماسبی (قائم مقام سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی) روز شنبه مورخ ۹۵/۰۲/۰۴ ضمن بازدید از بانک ژن گیاهی ملی ایران و بازدید از بخش‌های مختلف این مجموعه، راهکار دسترسی به منابع مالی مورد نیار برای مدیریت حفاظت از منابع ژنتیکی بانک‌های ژن را در تبیین برنامه و تعریف زنجیره ارزش برای بهره‌برداری اقتصادی از این ذخایر ارزشمند عنوان نمودند. در این دیدار، آقای دکتر بهزاد سرخی رئیس بانک ژن گیاهی ملی ایران و رئیس کارگروه زیست‌بانک و ذخایر ژنتیکی ستاد توسعه زیست‌فناوری بعد از معرفی بخش‌های مختلف بانک ژن به ارائه گوشه‌ای از پتانسیل‌های موجود را که می‌توانند به عنوان سرمایه‌های اقتصادی کشور در تعریف زنجیره ارزش استفاده گردند، ارائه نمودند. در ادامه دکتر طهماسبی تاکید کردند که اهمیت این مجموعه به دلیل حفاظت از نمونه‌های منحصر به فردی است که به عنوان نمونه‌های ژنتیکی، خویشاوندان و ارقام بومی محصولات زراعی نگهداری و متضمن امنیت غذایی حال و آینده کشور محسوب می‌گردند. در ادامه دکتر سرخی با اشاره به وظایف حاکمیتی دولت‌ها در مدیریت حفاظت از منابع ژنتیکی، به

تشریح وضعیت بانک‌های ژن بزرگ ژاپن (موسسه NIAS) و آلمان (موسسه IPK) و مجموعه Svalbard_seed_vault که با صرف هزینه‌های هنگفت اداره می‌شوند، پرداختند. ایشان خاطر نشان نمودند که با توجه به اینکه تنوع گونه‌های گیاهی ایران از تنوع تمامی‌قاره اروپا بیشتر است و با در نظر گرفتن اهمیت بانک ژن گیاهی ملی ایران به دلیل دارا بودن رتبه یک منطقه CWANA از حیث گیاهان زراعی و قرار گرفتن بانک ژن ایران به عنوان یکی از ده بانک ژن برتر دنیا از نظر اهمیت و تعداد نمونه‌های کلکسیون، جا دارد تا تمامی دست‌اندرکاران در جهت تحقق فرمایشات جناب آقای دکتر قانعی برای حفاظت و بهره برداری از این مجموعه بی‌نظیر دست یاری به‌هم دهند و با همسویی در جهت اعتلای این مجموعه که نقش خطیری در اجرا و پایبندی به سیستم اقتصاد مقاومتی دارد، گام‌های موثری بر دارند. ایشان در ادامه افزودند که کشور ایران از حیث نمونه‌های زعفران، پسته و انار بزرگ‌ترین کلکسیون‌های دنیا را دارا می‌باشد و در مورد محصولاتی نظیر خویشاوندان گندم، نخود و برخی از درختان میوه رتبه‌های بالای جهانی رو به خود اختصاص داده است. در ادامه به راهکارهای کمک به توسعه زیرساخت بانک ژن گیاهی ملی ایران و مشکلات زیست بانک‌های کشور از جمله عدم پذیرش اولویت حفاظت و بهره‌برداری از ذخایر ژنتیک و پرداختن و تخصیص بودجه مرتبط، نداشتن سردخانه‌های کافی برای حفاظت از مواد ژنتیکی و نداشتن نسخه امنیتی ذخایر ژنتیکی کشور به عنوان عمده مشکلات مربوطه مطرح و ارائه برنامه زنجیره ارزش توسط کارگروه زیست‌بانک و ذخایر ژنتیکی از اهم موارد قابل پیگیری بیان شد. ایشان گفتند که ارائه بسته‌ای مبنی بر چگونگی امکان خلق ثروت، فقرزدایی و تحول اقتصادی از ذخایر ژنتیکی می‌تواند در بسترسازی بهره‌برداری مناسب از ذخایر ژنتیکی چاره‌ساز باشد. در خاتمه این دیدار دکتر قانعی ارائه برنامه و پیگیری‌های آتی، توسط ستاد توسعه زیست‌فناوری در دولت را خاطر نشان کردند.

در رویدادی دیگر، دبیر ستاد توسعه زیست فناوری اعلام کردند که تا پایان سال ۹۵، نقشه راه زیست فناوری و برنامه توسعه دانش‌بنیان تدوین می‌شود. به نقل از پایگاه ستاد توسعه زیست فناوری با هدف دسترسی به اهداف کلان اسناد بالادستی و سند ملی زیست فناوری، نقشه راه زیست فناوری و برنامه توسعه دانش‌بنیان تدوین می‌شود.

به گزارش مرکز روابط عمومیو اطلاع رسانی معاوت علمی و فناوری ریاست جمهوری، مصطفی قانعی، دبیر ستاد توسعه زیست‌فناوری معاونت علمیو فناوری ریاست جمهوری، با اشاره به اینکه نقشه راه زیست‌فناوری و برنامه توسعه دانش‌بنیان تدوین می‌شود، تصریح کرد: تا پایان سال ۹۵، نقشه راه زیست‌فناوری ایران با هدف دسترسی به اهداف کلان اسناد بالادستی و سند ملی زیست‌فناوری تدوین خواهد شد.

وی افزود: پروژه تدوین نقشه راه زیست فناوری و تدوین برنامه توسعه دانش‌بنیان با حمایت ستاد توسعه زیست فناوری و همکاری دانشگاه علامه طباطبایی در حال انجام است و نقشه‌راه زیست فناوری تا پایان امسال نهایی خواهد شد.

به گفته دکتر قانعی، نقشه راه زیست فناوری ایران با هدف دسترسی به اهداف کلان اسناد بالادستی و سند ملی زیست فناوری و در سطح نقشه راه علم و فناوری و همچنین نقشه راه صنعت در چهار بخش کشاورزی؛ محیط زیست؛ سلامت و پزشکی و صنعت و انرژی تدوین می‌شود.

وی خاطرنشان کرد: این نقشه‌راه وضعیت حوزه‌های مختلف زیست‌فناوری را بررسی کرده و برنامه‌های کوتاه‌مدت، میان مدت و بلند مدت این حوزه‌ها را ارائه می‌دهد.

فصلنامه زیست فناوری پزشکی
سال اول، شماره ۲، زمستان ۱۳۹۴

درمان زخم با کمک لارودرمانی در عصر مقاومت آنتی بیوتیکی

مجید عسگری[۱]

زخم در سطح پوست و مخاط می‌تواند به علل متفاوت ایجاد شود. در پی ایجاد آسیب به بافت پوست و مخاط (تروما ، خراش ، بریدگی ، سوختگی و ...)، یکپارچگی ساختار بافت آسیب دیده از بین می‌رود. در پی این امر، مسیرهای ترمیمی‌برای بهبود آسیب ایجاد شده بلافاصله فعال شده وبه سرعت فرایند ترمیم آغاز می‌گردد. (۱, ۲)درنتیجه فعالیت سلولی و مولکولی مرتبط با تخریب و ترمیم مجدد ماتریکس خارج سلولی (ECM) راه‌اندازی می‌شود تا با عملکردی به شدت تنظیم شده، مجددا تمامیت ساختار بافت‌های آسیب دیده برقرار گردد.(۳, ۴) ترمیم زخم، فرایندی بسیار پیچیده است که و شامل چهار مرحله اصلی و متمایز می‌شود:

۱- هومئوستاز بافت آسیب دیده

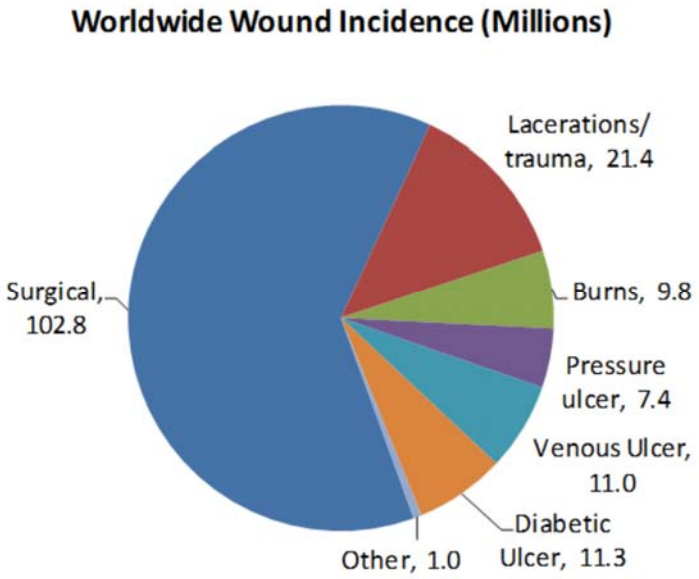
۲- التهاب (Inflammation)

۱- دانشجوی دوره دکتری تخصصی زیست فناوری پزشکی انستیتو پاستور

۳- تکثیر (Prolifration)

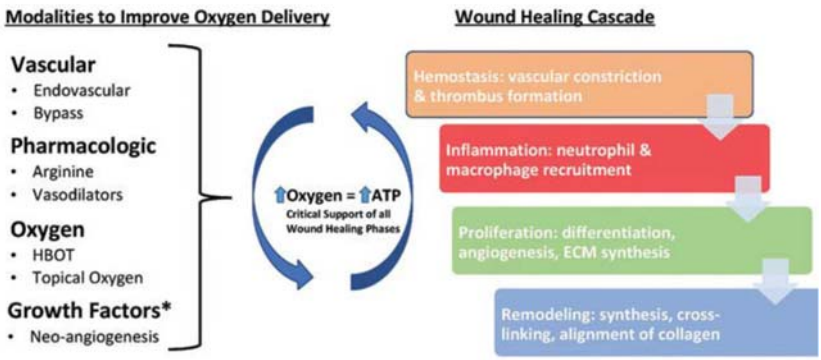
۴- بازآرایی مجدد بافت آسیب دیده (Remodeling) (۵, ۶)

تداخل هر کدام از این مراحل موجب به تأخیر افتـادن بهبـود زخـم Morbidity و گاهی هم مرگ افراد می‌شود.



طی مرحله هومئوستاز، به‌واسطه حضور پلاکت‌ها در محل خونریزی و ایجـاد لختـه فیبرینی، خونریزی متوقف می‌گردد. بعد از گذشت چند ساعت از ایجاد آسیب، فـاز دوم فرآیند ترمیم زخم آغـاز می‌شـود کـه در طـی آن بـه وسـیله عوامـل بیگانـه‌خوار کـه (نوتروفیل در ابتدا و سپس مونوسیت/ ماکروفاژ) خود را به محـل آسـیب رسـانده‌اند و بـا ترشحات آنها (سایتوکاین‌های مرتبط با التهاب)، جریان خون در ناحیـه آسـیب دیـده و ملتهب افزایش می‌یابد(۸-۶). طی مرحله سوم، مهاجرت سلول‌های فیبروبلاست از کناره زخم به بستر زخم، مهاجرت سلول‌های اندوتلیال و در نهایت بافت گرانـولی (بـه عنـوان

پایه‌ای برای تشکیل بافت جدید) صورت می‌گیرد. در مرحله آخر ترمیم نیز که بین چند هفته تا چند سال می‌تواند به طول بیانجامد، بازآرایی در بافت جدید رخ می‌دهد (جایگزینی و رسوب کلاژن ، جهت گیری مجدد کلاژن‌ها و تغییر تیپ کلاژنی). همچنین در این مرحله، اپیتلیزه شدن مجدد (Reepitilization)بافت صورت گرفته (با مهاجرت سلول‌های اپیتلیال به بستر زخم) و در نهایت اسکار در محل زخم تشکیل می‌گردد. (۶, ۹, ۱۰)



به طور کلی زخم‌ها به دو دسته حاد و مزمن تقسیم بندی می‌گردند. زخم‌های گروه حاد مراحل ترمیمی‌را به خوبی پشت سر گذاشته و بعد از بسته شدن زخم، مدتی بعد بهبود می‌یابند. ولیکن زخم‌های مزمن فرایند ترمیمی‌را به درستی طی نکرده و فرایند ترمیم زخم را با تاخیر طی کرده یا به پایان نمی‌رسانند. این گروه زخم‌ها، اصولا در پی مشکلی پاتولوژیکی مثل نارسایی عروق، ایجاد زخم‌های تحت فشار، زخم‌های مجاور عروقی، زخم پای دیابتی، زخم بستر و ... ایجاد می‌گردند.از نظر تئوری به هر زخمی‌که پس از ۱۲ هفته بهبود نیابد، مزمن اطلاق می‌شود. (۱, ۲) در زخم‌های مزمن چندین مشکل عمده مشاهده می‌شود:

۱- در محل زخم، فاز التهابی پایدار باقی مانده و فاکتورهای پیش التهابی هنوز جای خود را به فاکتورهای ضد التهاب نداده اند که این امر باعث پایدار شدن فاز التهابی و تخریب و آسیب دائم به بافت ناحیه درگیر می‌شود (در حالت عادی، پس از مدتی فاکتورهای ضد التهاب از امتداد فاز التهابی جلوگیری کرده تا فرآیند ترمیم کامل گردد).

۲- همچنین در پی امتداد فاز التهابی، فعالیت‌های پروتئولیتیکی تداوم می‌یابد که این امر اجازه نمی‌دهد بستر ابتدایی (ماتریکس موقتی) بافت جدید در محل زخم را تشکیل شود.

۳- اضافه شدن عوامل پاتولوژیکی دیگر و عوامل کومنسال که باعث عفونی شدن زخم می‌گردد نیز عامل دیگری است که در بهبود زخم تأخیر ایجاد می‌کند. برخی از باکتری‌های ساکن در زخم با ایجاد بیوفیلم، به زخم اجازه بهبود و همچنین تأثیر عوامل آنتی‌بیوتیکی بیشتر را نمی‌دهند. از سوی دیگر، برخی از باکتری‌های مقاوم نسبت به عوامل درمانی باعث ایجاد مشکلات بیشتر در بهبود زخم می‌شوند.

۴- با مختل شدن سیستم کمپلمان، تأخیر در بهبود و ایجاد آسیب‌های بیشتر نیز اجتناب‌ناپذیر است(۷-۳, ۹, ۱۳-۱۱)

به طور کلی زخم‌های مزمن یکی از مشکلات عمده بهداشتی در سرتاسر جهان است. براساس تخمین‌های جهانی ۱-۲ درصد از جمعیت کشورهای توسعه‌یافته در طول زندگی خود با زخم‌های مزمن روبه‌رو می‌شوند. در کشوری مانند آمریکا، هزینه کنترل و درمان سالیانه این دسته از زخم‌ها بیش از ۲۵ میلیارد دلار می‌باشد. در اروپا ۲ درصد از بودجه کشورهای اروپایی صرف درمان بیماران دارای زخم‌های مزمن می‌شود. در بریتانیا

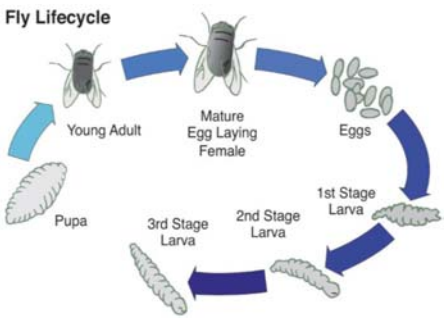
هزینه‌ای معادل ۲/۳ تا ۳/۱۵ میلیارد پوند صرف درمان زخم‌های مزمن می‌شود. فراوانی این دسته از زخم‌ها زیاد هستند و هر ساله نیز به آمار بیماران درگیر با زخم‌های مـزمن افزوده می‌شود(۱۶-۱۴). افزایش فراوانی آن پیرو عوامـل متعـددی چـون افـزایش سـن (افزایش سن امید به زندگی)، افـزایش جمعیـت، افـزایش چـاقی، کـاهش بیماری‌هـای کشنده، افزایش بروز مقاومت‌های دارویی، افزایش حساسیت افـراد مسـن و ... می‌باشـد. علاوه بر تمام ضررهای اقتصادی که بـه سیسـتم‌های بهداشـتی ملـل مختلـف تحمیـل می‌گردد، این زخم‌ها باعث از دست رفتن سالیانه ۲ میلیون روز کاری به طور متوسط در سطح جهان می‌شوند(۲۰-۱۶).

برای تسریع در فرایند بهبود زخم ، برداشتن بافـت تخریـب شـده یـا Debriment (عفونی شده، آسیب دیـده ، نکروتیـک و ...) اولـین گزینـه درمـانی اسـت. برداشـت یـا دبریدمان می‌تواند به روش‌های متفاوت چون: جراحـی، روش مکـانیکی، شـیمیایی (بـا عوامل توپیکال) ، اتولیتیکی و آنزیمی انجام شود. هر کدام از این روش‌ها معایب خـاص خود را چون خونریزی، تخریب بافت سالم، عفونی شدن، هزینه بالا، نارضایتی، بسـتری، بیهوشی و ... دارد (۱, ۲۳-۲۱). با توجه به افزایش روزافزون زخم‌هـای مـزمن، مقاومـت دارویی و عوامل ذکر شده در بالا، نیاز به نوعی روش درمانی با ایجاد کمتـرین آسـیب و آثار جانبی و با بیشترین بازده درمانی به شدت احساس می‌شود. در حال حاضـر تـلاش جهانی برای کشف ترکیباتی برای درمان زخم‌های مـزمن در حـال انجـام اسـت و امیـد است با کشف آنها بیماران از ناراحتی، تزریقات مکرر (در مورد پای دیابتی) ، جراحـی و دیگر عوامل آزاردهنده رهایی یافته و از سوی دیگر باعث صرفه‌جویی اقتصادی در بودجه بهداشتی کشورها شود. یکی از منابعی که برای درمان زخم‌ها خصوصـاً انـواع مـزمن آن

مورد استفاده قرار می‌گیرد، لارودرمانی(Biosurgery ، دبریدمان با کمک لارو یا مگوتراپی) است. (۱)

استفاده از لاروها در درمان زخم‌ها قدمتی چندین هزار ساله دارد. استفاده از لاروها برای این منظور در متون تاریخی اقوامی‌چون : قوم مایا در آمریکای جنوبی ، اقوام باستانی در استرالیا ، میانمار (برمه) ، اقوامی‌در آفریقا، طب سنتی چین و حتی توسط ابن‌سینا دانشمند ایرانی بارها ذکر شده است. این موارد در عصر تمدن نوین بشر، بیشتر ثبت شده‌اند، به صورتی که در سده ۱۵ میلادی از پزشک فرانسوی Ambroise Pare به عنوان اولین فردی نام برده می‌شود که متوجه مزیت لارو مگس برای درمان زخم شد. در سال ۱۸۲۹ جراح فرانسوی دیگری بنام Baron Dominic Larrey گزارش داد که استفاده از لاروها در بهبود برخی از زخم‌ها موثر است. در سال ۱۹۱۷ William S. Baer جراح ارتش آمریکا در جنگ جهانی اول اثر لاروها را در بهبود و تمیز کردم محیط زخم گزارش کرد. امروزه از او به عنوان بنیان‌گذار لارودرمانی مدرن یاد می‌شود. او اولین بار در سال ۱۹۲۹ از لاروها برای بهبود زخم‌های مزمن در بیمارستان استفاده نمود. بین دهه ۳۰ تا ۴۰ حدود ۳۰۰ بیمارستان در ایالت متحده آمریکا و کانادا از لارو برای بهبود زخم‌هایی چون استئومیلیت مزمن و گانگرن‌ها استفاده می‌کردند. در دهه ۴۰ میلادی عصر جدیدی در پزشکی آغاز شد که به عصر طلائی آنتی‌بیوتیک‌ها معروف است(۱, ۶, ۲۴-۲۶). در سال ۱۹۴۵ با کشف بی‌نظیر الکساندر فلمینگ (پنی‌سیلین) و در پی آن سایر آنتی‌بیوتیک‌ها عملاً لارودرمانی به فراموشی سپرده شد و بسیار به ندرت مورد استفاده قرار گرفت. ولی مجددا استفاده از روش لارو درمانی و تحقیق و توسعه در مورد آن در اواسط دهه ۸۰ میلادی با بروز مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی گسترده به عنوان روشی مفید از سر گرفته شد. از آن زمان تاکنون برای درمان زخم‌های متفاوتی چون: زخم

پای‌دیابتی (DFU) (۱, ۲۷, ۲۸)، استئومیلیت (۲۹, ۳۰)، زخم‌های تحت فشار(۳۱)، زخم‌های ناشی از عفونت، سوختگی، زخم بستر و ... (۲۱, ۳۱, ۳۲) به کرات مورد استفاده قرار گرفته است.



به طور کلی از مراحل لاروی مگس Lucilia Sericata (لوسیلیا سریکاتا) یا Green bottle fly، از حشره‌ای از خانواده کالیفوریده و متعلق به راسته دوبالان (Diptera) برای لارودرمانی استفاده می‌گردد. سیکل زندگی این حشره متشکل از ۴ مرحله: تخم، سه مرحله لاروی (Instar)، شفیره و فرم بالغ است. تحت مراقبت ویژه لاروهای تازه خارج شده از تخم را روی ناحیه زخم با پوشش، کیسه فومی و ... قرار می‌دهند که این لارو شروع به تغذیه از بافت‌های نکروتیک و عفونی می‌کند. بعد از ۳ الی۷ روز که لاروها به پایان مرحله لاروی خود قبل از مرحله شفیره می‌رسند از ناحیه زخم برداشته می‌شوند.

از سال ۱۹۹۶ نیز که نشست جهانی سالانه Biotheraphy راه‌اندازی شد، یکی از محورهای اصلی نشست بیوتراپی، تاکید بر لارودرمانی زخم‌ها است. لارو درمانی تا سال ۲۰۰۴ به شکل غیر رسمی‌مورد استفاده قرار می‌گرفت تا اینکه در این سال، سازمان غذا

و داروی آمریکا و آژانس پزشکی اروپا تاییدیه استفاده از این روش را صادر کردند(۲۶, ۳۳, ۳۴). بیش از ۱۰ سال است که این روش در بیمارستان‌های آمریکا، بریتانیا، مصر، نیوزلند، مالزی، هنگ‌کنگ، استرالیا، کانادا، آفریقای جنوبی، مکزیک، آلمان، ژاپن و اسرائیل به طور موفقیت‌آمیز مورد استفاده قرار می‌گیرد(۸, ۲۱, ۲۴, ۳۱, ۳۳, ۳۴). از سال ۲۰۱۰، از لارو درمانی به عنوان Biosurgury برای درمان بسیاری از زخم‌ها استفاده می‌شود. دلیل آن، این است که اثر لاروها تنها بر بافت‌های عفونی و نکروتیک است و هیچ‌گونه اثر سوئی بر بافت‌های سالم ندارند. از سوی دیگر بارها و در مطالعات متفاوت، اثر لاروها بر عفونت‌های مزمن محل زخم باکتری‌های گرم مثبت و منفی، قارچ‌ها و باکتری‌های تولیدکننده بیوفیلم و سخت درمان، ثابت شده است (۶, ۱۴, ۳۵-۳۹).

از نظر بازار اقتصادی مرتبط با لارو درمانی، شرکت‌های متفاوتی فعالیت دارند، مانند شرکتZubioteck limited که در این زمینه پیشرو است و لاروهای ۳۸۰۰ بیمارستان در بریتانیا را تأمین می‌کند ویا شرکت دیگری به نام مونارک که در زمینه تولید بیوبگ فعالیت می‌کند (۳۴, ۴۰, ۴۱).

به طور کلی استفاده از لارو و محصولات آن باعث کاهش میزان مصرف آنتی‌بیوتیک، بستری شدن در بیمارستان، ویزیت پزشکان، تزریقات پیاپی (تا ۶۲ درصد برای افراد دیابتی) و هزینه‌های پرستاری می‌شود (۲۲, ۲۶). میزان اثربخشی لاروها در بهبود زخم در موارد بالینی مختلف، ۶۸-۸۸ درصد گزارش شده است. در گزارش‌های مختلف لاروها در کاهش مدت زمان بسیار تاثیرگذار هستند که به طور متوسط این زمان را از ۳ ماه به ۵ روز کاهش داده‌اند (۴۶-۴۲). از سوی دیگر اثر لارودرمانی در میزان قطع پای افراد دیابتی ۴۰ تا۵۰ درصد کاهش نشان می‌دهد. افراد دچار زخم پای

دیابتی، شایع‌ترین گروه هدف برای درمان زخم بوده که ۱۵ درصد از جمعیت دیـابتی را درگیر می‌کند که استفاده از این روش درمانی منجر به کاهش سالیانه ۷۰۰۰۰ مـورد از تزریقات شده است. استفاده از لاروهـا بـه شـدت باعـث صـرفه اقتصـادی می‌شـود (در مقایسه با روش‌های درمانی دیگر) و در حال حاضر بازاری حدود ۹ میلیارد دلار دارد(۳, ۱۹, ۲۱, ۲۷, ۲۸, ۳۷, ۴۲).

برای اینکه یک زخم مزمن بهبود یابد باید مسیر زیر طی شود(۶) :

۱- تخریب (Degrdation) بستر زخم به شکل کامل،

۲- عفونت زدایی (Disinfection) و زدودن آلودگی‌ها از بستر زخم

۳- ایجاد و تشکیل مناسب بافت جهت ترمیم کامل و بسته شدن زخم

ترشحات لاروی (Excretion/Secreation) دارای عوامل و آنزیم‌های متنوعی چـون پروتئازها، لیپازها، نوکلئازها، گلیکوزیدار و ... می‌باشند. ترشحات لاروهـا باعـث پیشـبرد مهاجرت فیبروبلاست‌ها به بسـتر زخـم، حفـظ و تقویـت مورفولـوژی سـلول ، پیشـبرد سازماندهی مجدد ماتریس خارج سلولی مابین بـاقی سـلول‌ها و از همـه مهم‌تـر بـا اثـر مستقیم تغییرات پروتئولیتیک در ماتریس خارج سلولی باعث بهبـود زخـم می‌شـود. از خصوصیات مهم این ترشحات، مقاومت بالای آنها در مقابل گرما است که می‌توانـد ۱۰۰ درجه سانتیگراد را به مدت نیم ساعت تحمل کند، همچنین خاصیت پروتئازی آنزیم‌هـا بعد از ۱۰ دوره فریز کردن حفظ می‌شود (۶, ۲۱, ۳۸).

تاکنون برای بهبود زخم توسط لاروها مکانیسم‌های متنوعی مطرح شده است:

۱- دبریدمان بافت نکروتیک و بافت آسیب دیده بستر زخـم (تخریـب مـاتریکس خارج سلولی بافت آسیب دیده) (Debriment)

۲- عفونت‌زدایی از بستر زخم (Disinfection)

۳-القـا و تحریـک فراینـد ترمیمـی زخـم بـا پیشـبرد تکثیـر سـلول‌های جدیـد (اندوتلیال و فیبروبلاست)

۴-اثـر پـیش رگ‌زایـی (Pre-angiogenesis) ترشـحات کـه موجـب افـزایش خون‌رسانی و تحریک رشد سلول‌ها می‌شود.

استفاده از لارو درمانی در مقایسه با روش‌های متداول، باعث بهبود سریع‌تر زخم‌ها می‌شود. لاروها باعث کاهش درگیری بافت‌های سـالم بـا بافت‌هـای نکـروزی شـده و از انتشار بیشتر سطح زخم جلوگیری می‌کنند. توسط پروتئازها بسـتر زخـم را لاروهـا بـه صورت مایع در می‌آورند = Liquifection (خصوصا ماتریکس خارج سلولی زخـم)، ایـن کار منجـر بـه هضـم آنزیمی‌بافـت نکروتیـک، تسـهیل در آنژیـوژنز و تحریـک تشـکیل ماتریکس خارج سلولی جدید و تغییر pH از اسیدی به قلیایی می‌شود(۶, ۲۱, ۳۴, ۴۷).

به دنبال افزایش میزان چاقی در سطح جهان و کشور و افـزایش احتمـال ابـتلا بـه دیابت، درگیری افراد مبتلا با پدیده‌ای به نام زخم پـای دیـابتی (کـه از عـوارض شـایع دیابت ملیتوس می‌باشد) و افزایش چشمگیر بیماری‌ها و زخم‌های بستر مرتبط بـا آنهـا، استفاده از لارو درمانی برای درمان این موارد در کشور ضـروری بـه نظـر می‌رسـید. در همین راستا با تلاش و پیگیری‌های مستمر محققان کشور در سالیان اخیر، آنهـا، موفـق به راه‌اندازی این سیستم درمانی مفید در کشور شده‌اند. در حال حاضر تولیـد لاروهـای استریل به منظور کمک به درمان بیماران فوق در انسکتاریوم ملی ایران واقع در مجتمع تولیدی انستیتو پاستور ایران، دانشگاه علوم پزشکی تهران و ... انجام می‌شود.

C)
A)
D)
B)

A
B

C
D

منابع

1. Morgan C, Nigam Y. Naturally derived factors and their role in the promotion of angiogenesis for the healing of chronic wounds. Angiogenesis. 2013;16(3):493-502.
2. Tonnesen MG, Feng X, Clark RA, editors. Angiogenesis in wound healing. Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings; 2000: Nature Publishing Group.
3. Harper D, Young A, McNaught C-E. The physiology of wound healing. Surgery (Oxford). 2014;32(9):445-50.
4. Velnar T, Bailey T, Smrkolj V. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. Journal of International Medical Research. 2009;37(5):1528-42.
5. Broughton 2nd G, Janis JE, Attinger CE. The basic science of wound healing. Plastic and reconstructive surgery. 2006;117(7 Suppl):12S-34S.
6. NigamY, Dudley E, Bexfield A, Elizabeth Bond A, Evans J, James J. The physiology of wound healing by the medicinal maggot, Lucilia sericata. Advances in insect physiology. 2010;39:39.
7. De la Torre J, Sholar A. Wound healing: Chronic wounds. Emedicine com Accessed January. 2006;20:2008.
8. Chambers L, Woodrow S, Brown A, Harris P, Phillips D, Hall M, et al. Degradation of extracellular matrix components by defined proteinases from the greenbottle larva Lucilia sericata used for the clinical debridement of non-healing wounds. British Journal of Dermatology. 2003;148(1):14-23.
9. Broderick N. Understanding chronic wound healing. The Nurse Practitioner. 2009;34(10):16-22.
10. Schultz GS, Ladwig G, Wysocki A. Extracellular matrix: review of its roles in acute andchronic wounds. World Wide Wounds. 2005;2005.

11. Elder JW, Grover CA. Wound debridement: lessons learned of when and how to remove “wild” maggots. The Journal of emergency medicine. 2013;45(4):585-7.
12. Enoch S, Leaper DJ. Basic science of wound healing. Surgery (Oxford). 2008;26(2):31-7.
13. Zieske JD. Extracellular matrix and wound healing. Current opinion in ophthalmology. 2001;12(4):237-41.
14. Bohova J, Majtan J, Takac P. Immunomodulatory properties of medicinal maggots Lucilia sericata in wound healing process. TANG. 2012;2(3):18-24.
15. Posnett J, Franks PJ. The burden of chronic wounds in the UK. Nursing Times. 2008(104):44-5.
16. Pritchard DI, Brown AP. Degradation of MSCRAMM target macromolecules in VLU slough by Lucilia sericata chymotrypsin ۱ (ISP) persists in the presence of tissue gelatinase activity. International wound journal. 2013.
17. Lewis R, Whiting P, ter Riet G, O’Meara S, Glanville J. A rapid and systematic review of the clinical effectiveness and cost-effectiveness of debridingagents in treating surgical wounds healing by secondary intention: Core Research; 2001.
18. Ramundo J, Gray M. Enzymatic wound debridement. Journal of Wound Ostomy & Continence Nursing. 2008;35(3):273-80.
19. Sherman RA. Maggot therapy takes us back to the future of wound care: new and improved maggot therapy for the 21st century. Journal of diabetes science and technology. 2009;3(2):336-44.
20. Steed DL. Debridement. The American journal of surgery. 2004;187(5):S71-S4.
21. Heuer H, Heuer L. Blowfly Strike and Maggot Therapy: From Parasitology to Medical Treatment. Nature Helps: Springer; 2011. p. 301-23.

22. Sun X, Jiang K, Chen J, Wu L, Lu H, Wang A, et al. A systematic review of maggot debridement therapy for chronically infected wounds and ulcers. International Journal of Infectious Diseases. 2014;25:32-7.
23. Zarchi K, Jemec GB. The efficacy of maggot debridement therapy–a review of comparative clinical trials. International wound journal. 2012;9(5):469-77.
24. Fleischmann W. Maggot debridement. Surgery in Wounds: Springer; 2004. p. 125-8.
25. Gupta A. A review of the use of maggots in wound therapy. Annals of plastic surgery. 2008;60(2):224-7.
26. Whitaker IS, Twine C, Whitaker MJ, Welck M, Brown CS, Shandall A. Larval therapy from antiquity to the present day: mechanisms of action, clinical applications and future potential. Postgraduate medical journal. 2007;83(980):409-13.
27. Sherman RA. Maggot therapy for treating diabetic foot ulcers unresponsive to conventional therapy. Diabetes care. 2003-٤٤٦:(٢)٢٦; .٥١
28. Tantawi T, Gohar Y, Kotb M, Beshara F, El-Naggar M. Clinical and microbiological efficacy of MDT in the treatment of diabetic foot ulcers. Journal of wound care. 2007;16(9):379-83.
29. Sherman RA, Tran JM-T, Sullivan R. Maggot therapy for venous stasis ulcers. Archives of dermatology. 1996;132(3):254-6.
30. Wayman J, Nirojogi V, Walker A, Sowinski A, Walker MA. The cost effectiveness of larval therapy in venous ulcers. Journal of tissue viability. 2000;10(3):91-4.
31. Sherman RA. Maggotversus conservative debridement therapy for the treatment of pressure ulcers. Wound Repair and regeneration. 2002;10(4):208-14.
32. Namias N, Varela EJ, Varas RP, Quintana O, Ward GC. Biodebridement: a case report of maggot therapy for limb salvage

afterfourth-degree burns. Journal of Burn Care & Research. 2000;21(3):254&hyhen.

33. Church J. Larva therapy in modern wound care: a review. Primary Intention. 1999;7(2):63-8.
34. Sherman RA, Hall M, Thomas S. Medicinal maggots: an ancient remedy for some contemporary afflictions. Annual review of entomology. 2000;45(1):55-81.
35. Altincicek B, Vilcinskas A. Septic injury-inducible genes in medicinal maggots of the green blow fly Lucilia sericata. Insect molecular biology. 2009;18(1):119-25.
36. Cazander G, Pritchard DI, Nigam Y, Jung W, Nibbering PH. Multiple actions of Lucilia sericata larvae in hard-to-heal wounds. Bioessays. 2013;35(12):1083-92.
37. Parnés A, Lagan K. Larval therapy in wound management: a review. International journal of clinical practice. ۲۰۰۷;۶۱(۳):۴۸۸-۹۳ .
38. Turkmen A, Graham K, McGrouther D. Therapeutic applications of the larvae for wound debridement. Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery. 2010;63(1):184-8.
39. Valachova I, Takac P, Majtan J. Midgut lysozymes of Lucilia sericata–new antimicrobials involved in maggot debridement therapy. Insect molecular biology. 2014;23(6):779-87.
40. Vilcinskas A. From traditional maggot therapy to modern biosurgery. Insect Biotechnology: Springer; 2011. p. 67-75.
41. Wang X-y, LiX-r, Gao L, Wang J-n. Could microbe stimulated maggots become a targeted natural antibiotics family? Medical hypotheses. 2014;83(1):60-1.
42. Gottrup F, Jørgensen B. Maggot debridement: an alternative method for debridement. Eplasty. 2011;11.

43. Mumcuoglu KY, Ingber A, Gilead L, Stessman J, Friedmann R, Schulman H, et al. Maggot therapy for the treatment of intractable wounds. International journal of dermatology. 1999;38(8):623-7.
44. Sherman RA, Sherman J, Gilead L, Lipo M, Mumcuoglu KY. Maggot debridement therapy in outpatients. Archives of physical medicine and rehabilitation. 2001;82(9):1226-9.
45. Sherman RA, Wyle F, Vulpe M. Maggot therapy for treating pressure ulcers in spinal cord injury patients. Age. 1995;58:44-68.
46. Steenvoorde P, Jacobi CE, Van Doorn L, Oskam J. Maggot debridement therapy of infected ulcers: patient and wound factors influencing outcome–a study on 101 patients with 117 wounds. Annals of the Royal College of Surgeons of England. 2007;89(6):596.
47. Whitaker IS, Welck M, Whitaker MJ, Conroy FJ. From the Bible to Biosurgery: Lucilia sericata–-Plastic Surgeon's Assistant in the 21st Century. Plastic and reconstructive surgery. 2006;117(5):1670-1.

فصلنامه زیست فناوری پزشکی
سال اول، شماره ۲، زمستان ۱۳۹۴

نانوواکسن‌ها: انواع تولیدشده با نانوذرات اکسیدآهن

فاطمه سلیمی[۱]

مقدمه

امروزه به داروهای جدید و پیشرفته بسیار نیاز است. نانوواکسن‌ها به عنوان راهکاری جدید در روش‌شناسی واکسیناسیون مطرح هستند. نانوواکسن‌ها نسبت به واکسن‌های معمول کارایی بیشتری دارند؛ زیرا پاسخ‌های ایمنی هومورال و سلولی را به طورهمزمان القا می‌کنند. امید است که نانوواکسن‌ها از سیستم ایمنی بدن برای کشتن عفونت‌زاها و نیز برای پیش‌گیری از عفونت‌ها و گسترش آنها استفاده کنند. نانوواکسن‌ها احتمالا کاندیداهای امیدبخشی برای بیماری‌های خودایمنی مزمن مانند اسکلروزیس چندگانه، آرتریت روماتوئید، ایدز، مالاریا و دیگر بیماری‌ها هستند.

نانوواکسن‌ها، واکسن‌هایی هستند که از نانوذرات تشکیل شده‌اند. اینها به عنوان انواع جدید واکسن‌ها برای هدف گرفتن مستقیم منطقه‌ای از بدن که بیماری یا عفونت

۱- دانشجوی دوره دکتری تخصصی زیست فناوری پزشکی دانشگاه تربیت مدرس

از آن منشأ گرفته‌است، مطرح هستند. در مقابل، واکسن‌های معمول همه بدن را تحت تأثیر قرار می‌دهند.

نانوواکسن‌ها از این جهت که هم سیستم ایمنی هومورال و هم ایمنی وابسته به سلول را فعال می‌کنند نسبت به واکسن‌های معمول کارایی بیشتری دارند. استفاده از آنها نیز آسان‌تر است؛ زیرا می‌توانند به شکل اسپری در بینی نیز به کار بروند. در حالی که دیگر واکسن‌ها مانند انواع برپایه DNA که در مدل‌های حیوانی به خوبی عمل می‌کنند، در انسان‌ها به‌خصوص در پیش‌گیری از گسترش بیماری ضعیف هستند. نانوواکسن‌ها، امکان فهم بهتری از چگونگی عملکرد بدن و نحوه درمان بیماری را نیز فراهم می‌کنند. از طرفی، هزینه استفاده از نانوواکسن‌ها از واکسن‌های معمول کمتر است.

نانوتکنولوژی و واکسن

تولید واکسن به عنوان یکی از موفق‌ترین اختراعات برای سلامتی بشر، تاریخچه گسترده‌ای دارد. تولید واکسن‌ها روزبه‌روز به سمت مفاهیم جدید طراحی منطقی پیش می‌رود. بیشتر واکسن‌های کاندید، کمترین ترکیبات را دارند که عمدتاً ایمنی‌زایی کمتری دارد. وجود ادجوانت‌ها و سیستم‌های انتقال جدید که ایمنی‌زایی را افزایش می‌دهند روزبه‌روز برای ایجاد واکسن‌های جدید ضروری هستند.

نانوتکنولوژی شانس طراحی نانوذرات مختلف را از نظر اندازه، ترکیب، شکل و ویژگی‌های سطحی فراهم می‌کند. نانوپارتیکل‌ها به دلیل شباهت اندازه‌شان به ترکیبات سلولی می‌توانند با استفاده از مکانیسم‌های اندوسیتوز سلولی وارد سلول‌ها شوند. در واقع، نانوذرات، انقلابی در تشخیص بیماری‌ها و انتقال ترکیبات فعال بیولوژیکی برای درمان و پیش‌گیری از ابتلا به بیماری به شمار می‌روند. ظهور ذرات ویروس، مانند و

تجدید فعالیت نانوذراتی مانند ذرات کوانتومی و نانوذرات مغناطیسی یک همگرایی از بیوتکنولوژی پروتئین با نانوتکنولوژی غیرآلی را نشان می‌دهد که امیدهایی برای پیشرفت در حوزه جدید نانومدیسین فراهم کرده‌اند. چند واکسن و سیستم انتقال اندازه نانو وجود دارد که در پیش‌گیری و درمان بیماری‌ها مؤثر هستند.

استفاده از نانوتکنولوژی در حوزه واکسن، به طور خاص در دهه گذشته افزایش یافته است. نانوواکسن‌ها در هر دو زمینه پیش‌گیری و درمان به عنوان ابزار انتقالی به کار می‌روند تا پردازش آنتی‌ژن‌ها را افزایش دهند و یا به عنوان ادجوانت تحریک‌کننده سیستم ایمنی، در جهت افزایش ایمنی واکسن عمل کنند. از نانوواکسن درمانی بیشتر برای درمان سرطان استفاده می‌شود. اما اخیرا این ابزار به حوزه بیماری‌های دیگر مانند آلزایمر، افزایش فشار و اعتیاد به نیکوتین هم وارد شده است. از نانوواکسن‌های پیش‌گیری‌کننده برای جلوگیری از ابتلا به بیماری‌های مختلف استفاده می‌شود. چند نانوواکسن پیش‌گیری‌کننده برای استفاده در انسان تأیید شده‌اند و یا در آزمایشات بالینی یا پیش بالینی قرار دارند(1).

نانوتکنولوژی در خدمت واکسیناسیون

ادجوانت‌ها اغلب کیفیت پاسخ ایمنی به واکسن را تحت‌تأثیر قرار می‌دهند. هیچ فرمولاسیون ادجوانت منفردی که بتواند برای همه واکسن‌ها به کار رود، وجود ندارد. بنابراین، به راهکارهای جدید و مختلفی برای این منظور نیاز است.

یک راهکار، استفاده از سیستم‌های انتقال وابسته به ذرات است که می‌تواند اندازه‌های در حد میکرو و نانو داشته باشد. این راهکار برای افزایش ایمنی‌زایی وابسته به انتقال هدفمند یا ارائه آنتی‌ژن عمل می‌کند. در میان انواع مختلف ذرات مورد استفاده

می‌توان به انواع پلیمرهای لیپیدی، ذرات ویروس مانند، کمپلکس‌های تحریک‌کننده ایمنی، کیتوزان و ذرات غیرعالی را نام برد. چندین واکسن مانند واکسن هپاتیت ب و واکسن پاپیلومای انسانی با این روش تولید شده است. واکسن مالاریای برپایه نانوذرات، نانولیپوپروتئین برای واکسن انسفالیت نیل غربی، نانوذرات پلی پروپیلن سولفات برای انتقال داخل بینی و آنتی‌ژن‌های پپتیدی برای افزایش پاسخ ایمنی مخاطی نام برد.

نانوذرات جامد با اندازه کمتر از ۲۰ نانومتر می‌توانند رفتار بهتری به عنوان محلول‌های واقعی داشته باشند که احتمالا در تسهیل پراکندگی سریع و نفوذ بافتی برای رسیدن به اندام‌ها و جایگاه‌های ایمونولوژیکی نقش دارند. این مسائل می‌توانند در انتقال واکسن‌ها مفید و سودمند باشند. نانوذرات اکسید آهن ۲ با اندازه ۱۵ تا ۱۸۰ نانومتر و تغییرات سطحی اخیر در چندین مورد پزشکی مورد استفاده قرار گرفته‌اند(2).

تولید نانوحامل‌ها شامل نانوذرات، نانومولوسیون‌هاو لیپوزوم‌ها خدمت مهمی به سیستم‌های انتقال پیشرفته برای درمان سرطان بوده است. ایجاد بسترهای نانوتکنولوژی در ایمونوتراپی امکان کاربرد واکسن‌ها، ادجوانت‌ها و داروهای تعدیل کننده ایمنی را فراهم کرده‌است.

حامل‌های نانویی می‌توانند بدون نیاز به ادجوانت اضافی با انجام نقش آن، باعث پایداری آنتی‌ژن‌های واکسنی شوند. علاوه‌براین، سیستم‌های نانوذره‌ای می‌توانند ورود آنتی‌ژن به سلول‌های ارائه‌دهنده آنتی‌ژن را تسهیل کنند و منجر به پاسخ‌های ایمنی مناسب گردند. این ویژگی می‌تواند منجر به القای پاسخ‌های ایمنی از نوع سلول Th در پاسخ به بیماری‌زاهای داخل سلولی شود(3).

سلول‌های دندرتیک در شروع پاسخ‌های ایمنی سازشی نقش دارند که اخیراً از آنها در ایمونوتراپی بر علیه سرطان و بیماری‌های عفونی استفاده می‌شود. انتقال هدفمند

ذرات نانوواکسن به سلول‌های دندرتیک در بدن موجود زنـده راهکـار امیدبخشـی بـرای افزایش پاسخ‌های ایمنی است. وارد کردن دو عامـل تصـویربرداری داخـل یـک حامـل، امکان ردیابی نانوواکسن‌های هدفمند را در سطح زیرسـلولی، سـلولی و نیـز احتمـالا در تمام بدن موجود زنده ممکن می‌سازد. بدین‌منظور، حامل‌های نانوواکسن‌های هدفمند از پلی‌دی، ال لاکتید کولیکولید حامل ذرات اکسید آهن سوپرپارامغناطیسی و نیز آنتی‌ژن نشاندار با فلورسنت در یک ذره ساخته می‌شـود کـه امکـان تصـویربرداری چنـدمنظوره برهم‌کنش‌های نانوحامل و سلول‌های دندرتیک از سطح زیرسلولی تا سـطح تمـام بـدن موجود را فراهم می‌کند. علاوه‌براین، امکان انتقـال هدفمنـد بـه وسـیله پوشـاندن ذرات نانوواکسن با آنتی‌بادی‌های شناسایی‌کننده گیرنده‌های اختصاصی سلول دندرتیک را نیز فراهم می‌کند(4).

کاربرد نانوذرات اکسیدآهن در تولید واکسن

نانوذرات اکسیدآهن سوپرپارامغناطیسی تنها نانوذرات مغناطیسی هستند که از آنها به‌عنوان ابزار انتقال واکسن استفاده می‌شود. این ذرات از ۱ تا ۳۰ نانومتر قطر دارند. این ذرات یک دومن مغناطیسی تنها دارند که می‌تواند در معـرض یـک میـدان مغناطیسـی بدون پسماند قرار گیرد. این امر منجر بـه اسـتفاده از آنهـا در هـدف‌گیری مغناطیسـی می‌شود. این ذرات می‌توانند در تومورها تجمع کنند و به عنوان عامـل کنتراسـت MRI استفاده شوند، درحالی‌که دیگر ذرات برای این کار مناسـب نیسـتند. ایـن ذرات زیسـت تخریب‌پذیر هستند و به راحتی از بدن دفع می‌شوند. به دلیل تجمـع و چسـبیدن ذرات به‌هم و مشکلات پایداری در محلول‌ها، نیاز است تا حـدی تغییـرات سـطحی روی آنهـا ایجاد شود(5).

نانوذرات اکسید آهن به دلیل کنترل کامل بر توزیع اندازه ذرات، ویژگی‌های مغناطیسی این ذرات، وضعیت ایمنی خوب، هزینه پایین تولید آنها و توانایی حمل انواع مختلف بیومولکول‌ها با توجه به گروه‌های عاملی سطحی از اهداف اختصاصی بسیار مورد توجه این حوزه هستند.(6)

علاوه بر قابلیت ادجوانتی ذاتی موجود در نانوذرات آهن، دلایل دیگری نیز وجود دارد که استفاده از آنها را در ساخت واکسن‌ها مفید کرده است. اول اینکه نانوذرات اکسید آهن در محلول بسیار پایدار هستند و در طول دوره ۱۸۰ ماه هم از خاصیت آنتی‌ژنی آنها کاسته نمی‌شود. این ذرات قابل لیوفیلیزه کردن هستند و خواص آنتی‌ژنی و ایمنی‌زایی آنها در طول این فرایند و حل کردن دوباره آن کاهش نمی‌یابد. از آنجا که فرموله کردن و جابه‌جایی واکسن به صورت پودر در دمای محیط و نیز حل کردن دوباره آن بسیار اهمیت دارد، این مسئله بسیار مهم است.

علاوه بر این، در مطالعات بر روی حیوانات نخستی و نیز موش‌ها، نانوذرات اکسیدآهن هیچ سمیت و عارضه‌ای را پس از سه دوز تزریق نشان ندادند. مطالعات بیشتر نیز هیچ آسیب کبدی یا کلیوی را نشان نداد که این مسئله می‌تواند ناشی از اندازه کوچک این ذرات و حذف سریع آنها از بدن باشد.

از نانوذرات آهن با اندازه کوچک‌تر از ۲۰ نانومتر که دارای خواص پایداری، محلول در آب و متشکل از پوشش پلیمری آمفی‌فیلیک به عنوان حاملین واکسن مالاریا هستند، استفاده شد. سطح این ذرات دارای گروه‌های کربوکسیل بود که برای کونژوگاسیون با پروتئین، پپتید و DNA آماده بود. یک واکسن نوترکیب آنتی‌ژنی مالاریا به عنوان ایمونوژن با نانوذرات اکسید آهن به عنوان وسیله انتقال و بدون ادجوانت مورد بررسی قرار گرفت.

سطوح آنتی‌بادی تولید شده با این ترکیب آنتی‌ژن نانوذرات اکسید آهن برابر با آنتی‌بادی تولید شده در زمانی است که از ادجوانت فراود استفاده می‌شود.

پاسخ‌های سلولی اختصاصی آنتی‌ژن نشان می‌دهد که ایمنی‌زایی با نانوذرات اکسیدآهن با هر سه مسیر تزریق (زیرپوستی، درون صفاقی و درون ماهیچه‌ای) پاسخ اینترلوکین ۴ بیشتری نسبت به پاسخ اینترفرون گاما ایجاد می‌کند که این مسئله مشابه پاسخ ایجاد شده به وسیله ادجوانت‌های معمول است. ایمنی‌زایی اکسید آهن از مسیر زیرپوستی و درون صفاقی میزان بیشتری از اینترلوکین ۴ را نسبت به ادجوانت فراود القا می‌کند.

حذف سریع نانوذرات اکسیدآهن زیر ۲۰ نانومتر از بدن مانع از استفاده از آنها به عنوان ابزار انتقالی برای آنتی‌ژن‌های پلی‌پپتیدی می‌شود. بااین‌حال، اندازه کوچک و رفتار آن‌ها به عنوان محلول واقعی می‌تواند باعث نفوذ خوب به اندام‌های ایمونولوژیکی و سلول‌های ایمنی مانند سلول‌های ارائه‌دهنده آنتی‌ژن شود. این امر در بعضی از سلول‌ها می‌تواند منجر به تولید بیشتر عوامل ایمنی مانند فاکتورهای التهابی و کموکاین‌ها شود.

احتمالا آثار ترکیبی کموکاین‌ها و سیتوکاین‌های پیش‌التهابی تولید شده منجر به ارائه بهتر آنتی‌ژن روی سطح سلول‌های ارائه‌دهنده و نیز فعال سازی سلول‌های T می‌شود. نانوذرات اکسیدآهن به عنوان حامل یا انتقال‌دهنده واکسن می‌توانند دارای فعالیت و عملکرد تعدیل‌کننده سیستم ایمنی باشند و منجر به تولید پاسخ‌های ایمنی قوی بخصوص از طریق سلول‌های دندرتیک شوند.

میزان جذب نانوذرات آهن توسط سلول‌های متفاوت ایمنی منجر به فعال‌سازی متفاوت پاسخ‌های ایمنی در آنها می‌گردد. احتمالا جای‌گیری در اندامک‌های سلولی یا

جابه‌جایی ذرات در یک سلول می‌تواند باعث ایجاد پاسخ‌های التهابی مختلف در آنها و در نتیجه تفاوت در الگوی ایجاد ایمنی داخل سلولی شود.

استفاده از نانوذرات اکسیدآهن برای انتقال واکسن‌های DNA

همواره کارایی انتقال واکسن‌های DNA نسبت به واکسن‌های پروتئینی کمتر بوده است. نانوذرات سوپرمغناطیسی نه تنها می‌توانند در انتقال واکسن‌های پروتئینی یا پپتیدی مورد استفاده قرار گیرند بلکه ابزار سودمندی برای انتقال واکسن‌های از نوع DNA هستند. مطالعات، کارایی و بهبود عملکرد واکسن‌ها را نشان می‌دهند. زمان لازم برای ترانسفکشن ژنی بخصوص برای کاربردهای آزمایشگاهی می‌تواند با استفاده از این ذرات کاهش یابد(2).

نانوذرات اکسید آهن در واکسن‌های مورد استفاده برای درمان سرطان

یکی از مشکلات ایمونوتراپی سرطان، ایمنی‌زایی ضعیف واکسن‌های سرطان است. اثرات دور از نقطه هدف داروهای ایمنی و نیز برایند نامفید درمان در مورد درمان‌های مبتنی بر انتقال سلول‌های T نیز این حوزه را محدودتر کرده‌است. نانومواد با دارا بودن خواص فیزیکی و بیوشیمیایی خاص می‌توانند در برطرف کردن این چالش‌ها در حوزه واکسن و ایمونوتراپی مفید باشند.

مشاهده شده است که نانوذرات می‌توانند انتقال هدفمند آنتی‌ژن‌های سرطانی را بهبود دهند، همچنین فعالیت ایمنی را از طریق به‌کارگیری مواد تحریک‌کننده ایمنی جدید افزایش دهند و نهایتا منجر به افزایش ایمنی سلولی شوند. نانوذرات می‌توانند در حوزه واکسن برای انواع مختلف آنتی‌ژن‌های سرطانی شامل آنتی‌ژن‌های زیرواحدی (انکوپروتئین‌ها، آنتی‌ژن‌های جدید جهش‌یافته، آنتی‌ژن‌های DNA و mRNA) و نیز

آنتی‌ژن‌های توموری کل سلول، واکسن‌های برپایه سلول دندرتیک، سلول‌های ارائه‌دهنده آنتی‌ژن مصنوعی و ایمونوداروهای برپایه مرگ سلولی ایمونوژنیک، مهارکننده‌های نقاط بررسی ایمنی و درمان با سلول T مفید باشند(7).

از واکسیناسیون برپایه سلول‌های دندرتیک نیز برای ایمونوتراپی سرطان استفاده می‌شود. این واکسیناسیون می‌تواند آنتی‌ژن‌های اختصاصی تومور را به اندام‌های لنفی منتقل کند و موجب افزایش پاسخ ایمنی وابسته به سلول T شود. اما جذب کم آنتی‌ژن‌ها به وسیله سلول‌های دندرتیک موجب شده که محققان به دنبال راهی برای افزایش این انتقال باشند. نانوذرات می‌توانند در این مورد کارگشا باشند. استفاده از نانوذرات برای انتقال آنتی‌ژن‌های واکسنی سرطانی به سلول‌های ایمنی هدف منجر به افزایش پاسخ‌های ایمنی می‌شود.

واکسیناسیون برپایه نانوذرات در بعضی از انواع سرطان‌ها مؤثر است، اما همچنان تحقیقات بر روی انواع مختلف سرطان ادامه دارد. سطح بزرگ نانوذرات این امکان را فراهم می‌کند که عوامل درمانی متعددی روی آنها سوار شوند. نانوساختارهای اکسیدآهن می‌توانند در نشان‌دار کردن سلول‌های دندرتیک به منظور تصویربرداری رزونانس مغناطیسی و نیز تصویربرداری مرئی مورد استفاده قرار می‌گیرند. نانوذرات اکسیدآهن سوپرپارامپنتیک، کنتراست خوبی برای بافت‌های لنفی فراهم می‌کنند که می‌تواند تصاویر بسیار خوبی از بدن ارائه دهد و به پیگیری مسیر سلول‌های دندرتیک به سمت تولید سلول‌های T کشنده و T کمک‌کننده، کمک نماید. علاوه‌براین، راهکارهای مبتنی بر نانوذرات امکان انتقال هدفمند آنتی‌ژن‌ها به گره‌های لنفاوی از طریق رگ‌های لنفی فراهم می‌کنند(3).

قابل توجه است که بررسی بیشتر این ذرات برای استفاده در بالین به عنوان ابزار انتقال باید مورد مطالعه قرار گیرد، زیرا بیشتر این مطالعات روی موش‌ها انجام شده‌اند. درواقع، تزریق زیرپوستی به ناحیه سینه بیماران دارای سرطان سینه نشان می‌دهد که ذرات بزرگ‌تر از ۳۰۰ نانومتر نشاندارشده با رادیواکتیو در مقایسه با رقبای کوچک‌تر از ۵۰ نانومتر خود، به کندی از میان رگ‌های لنفی عبور می‌کنند و مدت طولانی‌تری در غدد لنفی ناحیه باقی می‌مانند. از طرفی زهکشی لنفاوی واکسن‌های برپایه نانوذرات به ترکیب ماده، شکل و ویژگی‌های سطحی ذرات نیز بستگی دارد.

در میان واکسن‌های جدید با نانوذرات در حوزه سرطان، تمایل زیادی به تولید سلول‌های ارائه‌دهنده آنتی‌ژن مصنوعی وجود دارد که از نظر سطحی بازآرایی شده و با آنتی‌ژن تومورسرطانی/کمپلکس MHC و آنتی‌بادی CD28 کونژوگه شده‌اند. منطقی است که فعال‌سازی مستقیم سلول‌های T اختصاصی آنتی‌ژن با سلول‌های ارائه دهنده آنتی‌ژن مصنوعی نیاز به انتقال آنتی‌ژن به سلول‌های ارائه دهنده بدن نیاز دارند؛ بنابراین پردازش و ارائه آنتی‌ژن و متعاقب آن فعال شدن مولکول‌های نقاط بررسی فاقد ایمنی است. اکسیدآهن از نانوذراتی است که از آن به عنوان حامل جهت ارائه آنتی‌ژن استفاده می‌شود. به طور اختصاصی، یک سلول ارائه‌دهنده آنتی‌ژن مصنوعی از یک هسته نانوذره آهن و یک مولکول تحریکی روی پوشش دکستران تشکیل شده است که هنگام انکوباسیون با سلول‌های T تحت میدان مغناطیسی خوشه‌بندی گیرنده‌ای، سلول T را القا می‌کند و امکان تکثیر وابسته به محرک خارجی سلول‌های T اختصاصی آنتی‌ژن را در بدن و خارج از بدن فراهم می‌کند(7).

آنتی‌ژن‌های کربوهیدراتی وابسته به تومور از اهداف مهم تولید واکسن‌های ضدسرطان هستند. ایمنی‌زایی ضعیف این آنتی‌ژن‌ها باعث شده است که پاسخ‌های

ایمنی ضعیفی نسبت به اینها ایجاد شود. نانوذرات مغناطیسی به دلیل زیست‌سازگاری بالا و ناحیه سطحی بزرگ می‌توانند برای انتقال این آنتی‌ژن‌ها مورد استفاده قرار گیرند. نانوذرات مغناطیسی با گلیکوپروتئین‌های مخصوص تومور (عملکردی شده با فسفولیپیدها از طریق برهم‌کنش‌های هیدروفوبی ـ هیدروفوبی) بدون نیاز به هرگونه اتصال کووالان پوشانده شدند. چندین کپی از این آنتی‌ژن‌ها روی نانوذرات قرار می‌گیرند که موجب برهم کنش بیشتر با سلول‌های B تولیدکننده آنتی‌بادی از طریق اتصال چندظرفیتی می‌شود. موش‌های ایمن‌شده با این نانوذرات پاسخ‌های آنتی‌بادی قوی تولید کردند. آنتی‌بادی‌های تولیدشده قادر به شناسایی سلول‌های توموری موشی و نیز انسانی تولیدکننده گلیکوپروتئین بودند(8).

منابع

1. Zhao L, Seth A, Wibowo N, Zhao C-X, Mitter N, Yu C, et al. Nanoparticle vaccines. Vaccine. Elsevier Ltd; 2014 Jan 9 ;32(3):327–37.
2. Pusic K, Aguilar Z, McLoughlin J, Kobuch S, Xu H, Tsang M, et al. Iron oxide nanoparticles as a clinically acceptable delivery platform for a recombinant blood-stage human malaria vaccine. FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology. 2013 Mar [cited 2016 May 10];27(3):1153–66.
3. Park Y, Lee SJ, Kim YS, Lee MH, Cha GS, Jung ID, et al. Nanoparticle-Based Vaccine Delivery for Cancer Immunotherapy. 2013;13(5):177–83.
4. Sekhon B, Singh B, Pcte S, Saluja V, Group P. Nanovaccines-An overview. 2011;(February 2016).
5. Powles L, Xiang SD, Selomulya C, Plebanski M. The Use of Synthetic Carriers in Malaria Vaccine Design. Vaccines. 2015 Jan [cited 2016 May 10];3(4):894–929.
6. Al-deen FN, Selomulya C, Ma C, Coppel RL. DNA Vaccines. Rinaldi M, Fioretti D, Iurescia S, editors. New York, NY: Springer New York; 2014 [cited 2016 May 10];1143:181–94.
7. Fan Y, Moon JJ. Nanoparticle Drug Delivery Systems Designed to Improve Cancer Vaccines and Immunotherapy. Vaccines. 2015 Jan [cited 2016 Mar 21];3(3):662–85.
8. http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acsami.5b05497

فصلنامه زیست فناوری پزشکی
سال اول، شماره ۲، زمستان ۱۳۹۴

نقش اگزوزوم در سرطان

شعبانعلی خداشناس[۱]

علت اصلی مرگ دربیماران سرطانی، متاستاز است. متاستاز شامل مراحل موفق و وابسته به هم مانند پراکنش و دستیازی سلول‌های سرطانی به بافت‌های محصور شده و گسترش داخلی جریان، اتصال و گسترش به خارج از طریق مویرگ به اندام‌های هدف، تمایز و ایجاد یک میکرو متاستاز جدید است.[۱]

سلول‌های توموری برای ارتباط با سلول‌های استرومایی نه تنهافاکتورهای حلال بلکه میکرو وزیکول‌هایی از خود ترشح می‌کنند. میکرو وزیکول‌ها شامل اگزوزوم‌هایی با اندازه بزرگ‌تر از ۱۰۰ نانومتر هستند. به عنوان حامل اگزوزوم‌ها، در مراحل مختلف سرطان به واسطه انتقال عرضی ملکول‌های فعال بیولوژیک به سلول‌های گیرنده شرکت دارند. به خاطر وجود غشای دولایه فسفولیپیدی محتویات آنها از دسترس نوکلئازها وپروتئازها مصون می‌ماند[۲]. براساس نظریه کوکوشی بخشی از اگزوزوم از اندوتلیوم با

۱- دانشجوی دوره دکتری تخصصی زیست فناوری پزشکی دانشگاه تربیت مدرس

روش ترانس سلولار وپاراسلولار به جریان خون وارد می‌شود و وارد انواع مایعات بـدن از قبیل بزاق، ادرار، خون، مایع مغزی نخایی و شیر می‌شود[۳]. به خاطر دسترسی آسان و پاسخ سریع به محرک‌ها، اگزوزوم به عنوان یک کاندید برای تشـخیص‌های شخصـی‌نگر در نظر گرفته شده است. بعضی مارکرهای اگزوزومی با شروع تومورزایی بیان می‌شوند و ارزش پیش تشخیصی دارند به همین علت به عنوان بیومارکر در تشـخیص شخصـی‌نگر مورد بررسی قرار می‌گیرند. شرکت‌های زیادی ایجاد و طراحـی کیت‌هـای تشخیصـی را براساس اگزوزومرا در برنامه خود دارند.

۱- انتقال اسیدهای نوکلئیک توسط اگزوزوم‌ها

اگزوزوم‌های با منشا سلول‌های سرطانی محتوی طیف وسـیعی از انـواع اسـیدهای نوکلئیک شامل miRNA , mRNA هستند. مشخص شده که اگزوزوم‌هـای حـاوی ایـن ترکیبات می‌توانند محتویات خود را به سـلول‌های گیرنـده انتقـال داده باعـث تغییـرات فنوتیپی در آنها شوند. تحقیقـات نشـان می‌دهـداگزوزوم‌های سـرطانی حـاوی پروفایـل مشخصی از miRNAها در انواع مختلف سرطان‌ها مثل: سینه، ریه، تخمدان وپروسـتات هستند. همچنین مشخص شده که سلول‌های سرطانی با انتقال miRNAهای سـرطانی به سلول‌های هدف توسط این اگزوزوم‌ها، قادرند راه‌هـای دسترسـی بـه بافـت هـدف را آسـان کننـد. همچنـین عملکـرد هایـانکوژنی میکـرو RNA ممکـن اسـت از بیـان miRNAهای پیش یا ضد توموری ناشی شود. تحقیقات جدید مشخص کرده که اساسـاً اگزوزوم جهت انتقال miRNA و انتقال پیام آن لازم است کـه ایـن امـر بـرای سـرطان اهمیت دارد.

آزمایش‌ها نشان داده که اگزوزوم‌ها حاوی رونوشت mRNA جهش‌یافته و قطعات DNAهستند که ممکن است در رشد و تمایز بسیاری از سرطان‌های اولیه و متاستاتیک

در ارتباط باشند. همچنین مشخص شده است که اگزوزوم‌های مشتق از تومورها شامل طیفی از نوکلئوبیک اسیدها هستند که می‌تواند پاسخ سلولی را در سلول‌های هدف تغییر شکل یافته یا بدون تغییر القا کند. همچنین سلول‌های سرطانی پروفایل خاصی از RNAهای اگزوزومی را بیان می‌کنند که منعکس‌کننده وضعیت بیماری است. آثار ظریف و مشترک انتقال پیام miRNA و عملکرد شان زمانی که با پتانسیل انتقال پیام‌های متنوع عوامل دیگر داخل این اگزوزوم‌ها ترکیب شود بسیار پیچیده می‌شود.

۲- نقش اگزوزوم درساخت کنام متاستاتیک

گسترش متاستاتیک سلول‌های توموری از محل اولیه، به بافت‌های دیگر بدن اولین عامل مرگ و میر سرطان است. ولی مفهوم کارسینوژنزیس هنوز به خوبی مشخص نشده است. طبق نظریهpaget «نظریه دانه و خاک» مفهوم تشکیل کنام متاستاتیک به خوبی مشخص شده است[۴]. مطالعات نشان‌دهنده تغییرات انکوژنیک شامل دوباره‌سازی ماتریکس خارج سلولی و به‌کارگیری فاکتورهای پیش تومورزایی در مکان‌های جدید برای ایجاد تومور است. سلول‌های نرمال در داخل میکروانوارومنت داخلی تومور تحت تاثیر رفتارهای متاستاتیک قرار می‌گیرند[۵].

۳- نقش اگزوزوم در کارسینوژنزیس

به روشنی می‌دانیم که در ایجاد تومور سلول‌ها نیاز به مراحل بلندمدت و چندگانه کارسینوژنزیس برای فراهم نمودن تغییرات در سطح ژنتیکی یا اپی‌ژنتیکی که سرانجام آن برنامه‌ریزی دوباره سلول برای ورود به تمایز کنترل نشده و متاستاز است.

بیان اولیه انکوژن‌ها علاوه بر نیاز به بر هم‌کنش اولیه انکوژن‌ها، به فاکتورهای خارجی همانند اگزوزوم‌ها وابسته است که می‌تواند باعث تغییر الگوی بیان ژنها شود.

اگزوزوم همانند حامل‌های ارتباط بین سلولی با انتقال انکوژن‌ها و فاکتورهای انکوژی در آسان‌سازی تومورزایی نقش دارد. ملو و همکارانش دریافتند که اگزوزم‌های مشتق از سلول‌های سرطان سینه، سلول‌های نرمال اپیتلیالی را به سلول‌های سرطانی تبدیل می‌کند[۶]. همچنین لی وهمکاران نشان دادند که انکوژن H باعث شروع انتقال اگزوزم‌های حاویdnah ras می‌شوند که می‌تواند در بقا و تمایز سلول‌های سرطانی نقش داشته باشد[۷]. عبدالمجید و همکارانش مشخص کردند که اگزوزوم‌ها شامل انواع مختلفی از فاکتورهای انکوژنیک شامل رونوشت‌های انکوژن‌های h-ras,k-rasmirnaهای انکوژنیک، خانواده‌هایGTPas هستند [۸] همچنین اگزوزم‌های سلول‌های سرطان پروستات باعث تغییر نئوپلاستیک سلول‌های بنیادی چربی در in vivo می‌شوند. این یافته بیانگر عملکرد اگزوزوم‌های مشتق از سلول‌های سرطان پروستات در گسترش سلول‌های توموری است

براساس نقش ضروری در کارسینوژنزیس، اگزوزم‌ها می‌توانند به عنوان یک بیومارکر برای وجود سرطان مطرح باشند.

۳- نقش اگزوزوم در متاستاز تومور

۱- کسترش سلول‌های توموری

سلول‌های توموری از تومور جدا و از رگ‌های خونی دور می‌شوند و اغلب در شرایط هیپوکسی قرار می‌گیرند و به طرف بافت‌های مجاور گسترش می‌یابند تا اکسیژن و مواد غذایی بیشتری دریافت کنند[۹]. در ابتدای امر، سلول‌های توموری در مرحله‌ای که «عبور اپیتلیال مزانشیمال» EMT نامیده می‌شود اتصال سلول به سلول را از دست می‌دهند، از تومور اولیه جدا می‌شوند که این کار علامت اصلی متاستاز به‌شمار می‌آید. طی این دوره سلول‌های اپی‌تلیال اتصالات سلولی را از دست می‌دهند، قطبیت خودرا از

دست داده به طرف سلول‌های شبه مزانشیمی جهت‌گیری کرده و خاصیت تهاجمی پیدا می‌کنند. TAURO دریافت که در مقایسه با سلول‌های کنترل، اگزوزوم‌های مشتق از سلول‌های ترانسفرم شده با H-RAS حاوی پروتئاز انکسین واینتگرین هستند که ممکن است EMT را در سلول‌های گیرنده القا کند[۱]. همچنین ارتباطات بین سلولی به وسیله انتقال عرضی مولکول‌های اطلاعاتی در اگزوزوم می‌تواند انجام شود که به‌واسطه این مواد انتقالی EMT القا می‌شود.[۱۴،۱۱].

اخیراً جانسون و همکارانش سلول‌های سرطان پروستات را با اگزوزم‌های مشتق از سلول‌های استرومایی پروستات با بیان بالای MIR-409،کشت همزمان دادند که نتیجه آن تغییرات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی EMT بود. این اولین مطالعه‌ای بود که پیشنهاد کرد MIRNAهای مشتق از سلول‌های استرومایی باعث القا EMTدر سرطان می‌شوند[۱۲].

در ابتدا سلول‌های توموری محل اولیه خود را ترک کردند که ممکن بود به ماتریکس خارج سلولی بچسبند که تومور را محاصره کرده و که از کلاژن لامینین فیبرونکتین و الاستین ساخته شده است[۸۶]. سلول‌های سرطانی برای تغییر ECM متالوپروتئینازهایی مثل ADAM,ADMTS ترشح می‌کنند که در اگزوزوم‌ها دیده شده است. همچنین به طور واضح مشخص شده است که ارتباط مثبتی بین مقدار اگزوزوم ،مقدار آنزیم‌های لیتیک و ظرفیت تهاجمی در محیط IN VITRO وجود دارد[۱۳].

متعاقباً سلول‌های توموری تحت کموتاکسی قرار می‌گیرند که به عنوان بخش ضروری در متاستاز شناخته می‌شود. مهاجرت سلولی یک چرخه ادامه‌دار است که از چند مرحله وابسته به هم شامل پلاریزاسیون، ادامه گسترش اتصال پاهای کاذب به مواد ماتریکس خارج سلولی و سرانجام خروج از بافت تشکیل شده است[۱۴].

تحقیقات نشان می‌دهد اگزوزوم‌ها در مهاجرت سلول‌ها نقش دارند. لین و همکاران نشان دادند که اگزوزوم‌های مشتق از سلول‌های بنیادی مزانشیمال، محرک و آغازگر مهاجرت سلوهای mcf7 هستند[۱۵] که در آن مسیر پیام‌رسانی wnt/bcatenin فعال می‌شود. لوگا و همکاران دریافتند که این مسیر می‌تواند به‌وسیله CD81 روی اگزوزوم‌های مشتق از فیبروبلاست فعال شود و همچنین نقش مهمی را در مهاجرت تهاجمی سلول‌های سرطان سینه بازی کند[۱۶]. از طرف دیگر مشخص شده اگزوزوم‌های مشتق از سلول‌های سرطانی پروستات اینتگرین را به سلول‌های گیرنده انتقال می‌دهند که واسطه اتصال سلول‌های سرطانی بهECM هستند[۰۱۸, ۱۷] قابل توجه اینکه سلول‌های سرطانی در سطوح دو بعدی برای مهاجرت به ملکول هلی چسبان نیاز دارند. در شرایط سه بعدی سلول‌ها از حالت غیروابسته به کدهرین اکینبه به طرف مهاجرت آمیلوییدی حرکت می‌کنند[۱۸].

Intravasation -۲

یک مرحله محدودکننده و اساسی درمتاستاز است که به مرحله‌ای اطلاق می‌گردد که سلول‌های مهاجم توموری وارد رگ‌های لنفاوی یا خونی می‌شوند. سلول‌های توموری برای جذب مواد غذایی مطابق با شیب غلظت مواد شیمیایی به طرف نزدیک‌ترین رگ حرکت می‌کنند. به خاطر ویژگی مویرگ‌ها ممکن است سلول‌های توموری غیرفعال شوند. در ابتدا سلول‌های توموری از غشا پایه عبور می‌کنند آنها به سلوهای اندوتلیالی رگ متصل می‌شوند. از عرض غشا عبور می‌کنند در بعضی مکان‌ها سلول‌های توموری وارد مهاجرت انتقال اندوتلیالی(TEM) می‌شوند که راهی برای ورود به لومن مویرگ است. علاوه بر ویژگی‌های سلول‌های توموری، فاکتورهای دیگری همانند ماکروفاژو سیتوکین‌ها در محیط intravasation را تحت تاثیر قرار می‌دهند[۱۹].

در مقام یک حامل، اگزوزوم‌ها نقش مهمی در ارتباط سلول‌های توموریEC و ماکروفاژها بازی می‌کنند. در یک مورد اگزوزوم‌های مشتق از تومور سیتوکاین‌های پیش‌التهابی مسیر KB-NF ترشح می‌کنند که در نفوذپذیری غشا اندوتلیال و فرایند TEM نقش دارد[۲۰].

ماکروفاژها نیز به وسیله MFG-E8 مشتق از سلول‌های سرطانی پروستات فعال می‌شوند. بنابراین اگزوزوم‌های مشتق از تومور می‌توانند مهاجرت EC را تحریک کنند[۲۱]. اگزوزوم‌های توموری VEGF مثبت، می‌توانند باعث افزایش کدهرین اندوسیتوز و افزایش نفوذپذیری رگ و القای انقباض اندوتلیال و تغییر ماتریکس می‌شود. علاوه بر VEGF فاکتورهای مهم دیگر همانند فاکتور رشد تغییردهنده بتاTNF-a موجود در اگزوزوم‌های سایر سلول‌های توموری می‌تواند باعث آسان شدن تهاجم گردد[۲۲]. همچنین وجودmir-21 سلول‌های توموری در مهاجرت سلوهای توموری نفش دارد[۲۳]. همچنین وجود mir105 در اگزوزوم‌های سلول‌های توموری سرطان سینه باعث کاهش پروتین‌های مرتبط با اتصال محکم می‌شوند که این امر در افزایش تداخل ایندوتلیال نقش دارد[۲۴].

سلول‌های سرطانی بعد از نفوذ به داخل رگ‌های خونی در معرض عوامل برشی و سیستم ایمنی قرار می‌گیرند. یکی از استراتژی‌های اصلی برای مبارزه با این مورد، جذب پلاکت بر روی سلول‌های سرطانی از طریق تعامل بین selectin-P و موسین لیگاند آن است. آمبولی تشکیل شده از نیروی برشی مانند یک سپر فیزیکی عمل می‌کند[۲۵]. در همین حال، سلول سرطانی پلاکت چسبنده را فعال می‌کند و باعث ترشح مقدار زیادی اگزوزوم می‌شود. این میکرووزیکول‌ها نقش مهمی در متاستاز دارند. به عنوان مثال، PMV می‌تواند کموتاکسی سلول‌های تومور را به سلول‌های هدف از طریق انتقال از

اینتگـرین CD41 بـر روی سـلول‌های سـرطانی افـزایش می‌دهـد[۲۶]. زو و همکـاران مشاهده کردند کـه پدیـده‌ای مشـابه در آن اسـتخوان انسـان مغـز سـلول‌های بنیـادی مزانشیمی اگزوزم‌هـای را ترشـح کردنـد کـه باعـث افـزایش بیـان vegf و CXCR4 در سلول‌های تومور از طریق ERK1 / 2 ، P38 و مسیر MAPK شدند[۲۷, ۲۸].

در گردش خون، سلول‌های تومور حفاظت در برابر سرکوبگر ایمنی در تومور اولیـه را از دست می‌دهند و در برابر سیستم ایمنی آسـیب‌پذیر می‌شـوند. عـلاوه بـر ایـن زره پلاکت، از CTC اگزوزوم‌ها ترشح می‌شود که سیستم ایمنی را تغییـر می‌دهـد و باعـث بقای ایمونولوژیک می‌گردد.CTC مانع از فعالیت سیتوتوکسیک سلول‌های NK از طریق برخی از مکانیسم‌های مرتبط با اگزوزوم از قبیل ممانعـت از ترشـح پرفـورین perforin، کاهش CD3 و NKG2D[۲۸] و غیر فعال کردن مسیر JAK3 می‌شـود[۲۹]. عـلاوه بـر ایـن، سـلول‌های T از طریـق مکانیسـم‌های مشـابه ماننـد آپوپتـوز ناشـی از fas-l و اگزوزوم‌های مخصوص-TRAIL مهار می‌شوند[۳۰].

همچنین، با مهار لنفوسیت‌های افکتور ضدتومور، سلول‌های تومور نیـز سـلول‌های ایمنی نظارتی مانند Treg و سلول‌های سـرکوبگر مشـتق شـده ازمیلوئیـد (MDSC) را فعال می‌کنند. ثابت شده است که اگزوزوم‌های سرم بیمار می‌توانـد سـلول‌های CD4 + T-CD25 را بـه سـلول‌های FOXP3Treg + CD4 + CD25 از طریـق مکانیزم‌هـای مستقل از TFG-D4 تبدیل کنند. علاوه بر این، در سـرطان پسـتان، ملانـوم و سـرطان روده بزرگ، محققان مشاهده کردند که اگزوزوم‌ها می‌توانند بلوغ DC را تحت تاثیر قرار دهند و مانند MDSC آن را در حالت سرکوب سیستم ایمنی قرار دهند[۳۱].

تهاجم

اگر سلول‌های CTC زنده بمانند، در نهایت به یک دیواره رگ خونی متصل شده و در محل متاستاتیک قرارمی‌گیرند که به طور عمده وابسته به جریان خون (فرضیه مکانیک) و چسبندگی سلول (فرضیه بذر و خاک) است. برای کلونیزه کردن در ارگان هدف، سلول تومور به مویرگ‌ها نفوذ می‌کند. این فرایند شامل اتصال اولیه، پس از آن چسبندگی پایدار و تناسخ در نهایت مهاجرت است.

براساس فرضیه مکانیکی، اغلب در مویرگ‌های کوچک که در آن قطر کمتر از CTC است، نشت رخ می‌دهد. به طوری که CTC به دیواره رگ برخورد کرده و در آن فرو می‌رود، یک حرکت لغزشی بین سلول‌های تومور و اندوتلیوم وجود دارد، با روشی مشابه به لکوسیت، که امکان اتصال گیرنده لیگاند بین سلول‌های تومور و EC را فراهم می‌کند[۳۲]. اگر سلول‌های اندوتلیال از ارگان‌های خاص مولکول چسبندگی کافی بیان کنند و قدرت اتصال کافی ایجاد نمایند، سلول تومور می‌تواند اتصال ضعیف گذرا را آغاز کند. سلکتین در EC، به ویژه E- سلکتین، میانجی قرار گرفتن سلول‌های تومور است[۳۳]. در واقع، E- سلکتین در سلول‌های اندوتلیال خاموش در سطح بسیار پایین بیان می‌شود و می‌توان آن را به سایتوکاین‌های التهابی مانند α-TNF و IL-1 القا کرد[۳۴]. ثابت شده است که اگزوزوم‌های مشتق شده از سلول‌های تومور می‌توانند سلول‌های ایمنی بدن را تحریک به ترشح سایتوکاین‌های التهابی بیشتر تحریک کنند و اگزوزوم‌ها خود می‌توانند به عنوان یک وسیله انتقال α-TNF عمل کنند[۳۵]. با این حال، هنوز یک بررسی دقیق در مورد اثر اگزوزوم‌های سرطانی بر بیان E-سلکتین در EC انجام نشده است، اگر چه سلکتین یک عامل مهم در متاستاز سرطان است. علاوه بر

E- سلکتین، Nedawi آل و همکاران مشاهده کردند که وقتی EC اگزوزوم‌های حاوی EGFR مشتق از سلول‌های توموری را جذب کند مسیر MAPK فعل خواهد شد[۳۶]. ثابت شده است که در بیماری التهابی، فعال‌سازی MAPK می‌تواند نشت سلول از رگ را تسهیل کند[۳۷].

مدت کوتاهی پس از مرحله چرخش اولیه فضای بین سلول‌های تومور طویل شده و در فعال EC اتصال با ثباتی شکل می‌گیرد. عمدتاً این برهمکنش توسط اینتگرین سلول‌های تومور و اعضای ایمونوگلوبولین بالاخانواده مانند ICAM-1 و VCAM-۱ انجام می‌شود[۳۸]. به نظر می‌رسد که integrinβ1 به طور مداوم و بدون محرکفعال شده و در مقابل، افزایش لیگاند اینتگرین در فعال EC کنترل این اتصال با ثبات رابر عهده دارد. Taverna و همکاران دریافتند که در لوسمی‌میلوئیدی مزمن ، در آغاز چسبندگی پایدار، اگزوزوم‌هایتومور می‌توانند بیان VCAM-۱ و ICAM-1 در EC را القا کنند [۳۹].

۳- تکثیر

پس از نشت، ممکن است سلول‌های تومور منتشر نشده، بمیرند، یا درحالت خفته باقی بمانند، که این امر توسط سلول‌های تومور محیط ثانویه موسوم به کنام مشخص می‌گردد. در مقایسه با مکان اولیه، نیچ، بخش ضروری در پیشرفت تومور در اندام متاستاتیک است. عملکرد آنها شامل تسهیل در جایگزینی CTCS ، ترویج نشت، پرورش محیط التهابی تومور اولیه، تغییر تنظیم سیستم ایمنی بدن، ارائه بقا و سیگنال‌های پرولیفراتیو، نگه داشتن خواص "stemness" سلول‌های بنیادی سرطانی و حفظ حالت خفته است. مشخص شده است که، در واقع، کنام پیش متاستاتیک توسط عوامل ترشح شده توسط تومورهای اولیه قبل از ورود CTCS[۴۰]تغییر یافته است.

کستلانا و همکاران نشان دادند که اگزوزوم‌ها دارای همان آثار سیستمیک مشابه در بازسازی کنام پیش متاستاتیک را به عنوان عوامل محلول در تومورهای اولیه [۴۱]. به نظر می‌رسد که اگزوزوم برای ساخت کنام پیش متاستاتیک عاملی ضروری است[۴۲]. اگزوزوم‌های مشتق شده از سلول‌های تومور می‌توانند سلول میزبان رابه به سلولی پیش متاستاتیک مناسب برای بقای سلول‌های تومور و تکثیر آن تبدیل کنند. به عنوان مثال، اگزوزوم‌ها می‌تواند بیان ژن‌های مرتبط با تشکیل کنام پیش متاستاتیک را در سلول استروما غدد لنفاوی و فیبروبلاست ریه در آدنوکارسینوم متاستاتیک موش [۴۳] تغییر دهند. علاوه بر تغییر سلول‌های استروما به طور مستقیم، اگزوزوم‌ها می‌توانند آموزش و استخدام سلول‌های مشتق از مغز استخوان را برعهده گیرند که یک عنصر بسیار مهم کنام پیش متاستاتیک است. Peinado و همکاران نشان دادند که حرکت BMDC به دلیل انتقال عرضی انکوپروتئین MET توسط اگزوزوم[۴۴]انجام می‌شود.

اگر کنام مناسب نباشد، سلول‌های سرطانی وارد مرحله خفتگی می‌شوندتایک شرایط مناسب فراهم شود. این خواب می‌تواند به عنوان مکانیسم حفاظتی سلول‌های سرطانی در نظر گرفته شود. اگزوزوم مشتق شده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان می‌تواند B۲۳-miR را انتقال داده و بیان ژن MARCKS را کاهش داده و باعث خفتگی شوند [۴۴].

منابع

1 Fidler IJ. The pathogenesis of cancer metastasis: the'seed and soil'hypothesis revisited. Nature Reviews Cancer 2003;3(6):453-8.

2. Booth AM, Fang Y, Fallon JK, Yang J-M, Hildreth JE, Gould SJ. Exosomes and HIV Gag bud from endosome-like domains of the T cell plasma membrane. The Journal of cell biology 2006;172(6):923-35.

3. Cocucci E, Racchetti G, Meldolesi J. Shedding microvesicles: artefacts no more. Trends in cell biology 2009;19(2):43-51.

4. Paget S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast. The Lancet 1889;133(3421):571-3.

5 Kaplan RN, Riba RD, Zacharoulis S, Bramley AH, Vincent L, Costa C, MacDonald DD, Jin DK, Shido K, Kerns SA. VEGFR1-positive haematopoietic bone marrow progenitors initiate the pre-metastatic niche. Nature 2005;438(7069):820-7.

6 Gao Q, Zhao YJ, Wang XY, Guo WJ, Gao S, Wei L, Shi JY, Shi GM, Wang ZC, Zhang YN. Activating mutations in PTPN3 promote cholangiocarcinoma cell proliferation and migration and are associated with tumor recurrence in patients. Gastroenterology 2014;146(5):1397-407.

7. Lee TH, Chennakrishnaiah S, Audemard E, Montermini L, Meehan B, Rak J. Oncogenic ras-driven cancer cell vesiculation leads to emission of double-stranded DNA capable of interacting with target cells. Biochemical and biophysical research communications 2014;451(2):295-301.

8. Abd Elmageed ZY, Yang Y, Thomas R, Ranjan M, Mondal D, Moroz K, Fang Z, Rezk BM, Moparty K, Sikka SC. Neoplastic Reprogramming of Patient-Derived Adipose Stem Cells by Prostate Cancer Cell-Associated Exosomes. Stem Cells 2014;32(4):983-97.

9. Matsuoka J, Yashiro M, Doi Y, Fuyuhiro Y, Kato Y, Shinto O, Noda S, Kashiwagi S, Aomatsu N, Hirakawa T. Hypoxia stimulates the EMT of gastric cancer cells through autocrine TGFβ signaling. PloS one 2013;8(5):e62310.

10. Tauro BJ, Mathias RA, Greening DW, Gopal SK, Ji H, Kapp EA, Coleman BM, Hill AF, Kusebauch U, Hallows JL. Oncogenic H-ras reprograms Madin-Darby canine kidney (MDCK) cell-derived exosomal proteins following epithelial-mesenchymal transition. Molecular & Cellular Proteomics 2013;12(8):2148-59.
11. Azmi AS, Bao B, Sarkar FH. Exosomes in cancer development, metastasis, and drug resistance: a comprehensive review. Cancer and Metastasis Reviews 2013;32(3-4):623-42.
12. Josson S, Gururajan M, Sung S-Y, Hu P, Shao C, Zhau H, Liu C, Lichterman J, Duan P, Li Q. Stromal fibroblast-derived miR-409 promotes epithelial-to-mesenchymal transition and prostate tumorigenesis. Oncogene 2015;34(21):2690-9.
13. Bravo-Cordero JJ, Hodgson L, Condeelis J. Directed cell invasion and migration during metastasis. Current opinion in cell biology 2012;24(2):277-83.
14. Ramteke A, Ting H, Agarwal C, Mateen S, Somasagara R, Hussain A, Graner M, Frederick B, Agarwal R, Deep G. Exosomes secreted under hypoxia enhance invasiveness and stemness of prostate cancer cells by targeting adherens junction molecules. Molecular carcinogenesis 2015;54(7):554.
15. Lin R, Wang S, Zhao RC. Exosomes from human adipose-derived mesenchymal stem cells promote migration through Wnt signaling pathway in a breast cancer cell model. Molecular and cellular biochemistry 2013;383(1-2):13-20.
89. Luga V, Zhang L, Viloria-Petit AM, Ogunjimi AA, Inanlou MR, Chiu E, Buchanan M, Hosein AN, Basik M, Wrana JL. Exosomes mediate stromal mobilization of autocrine Wnt-PCP signaling in breast cancer cell migration. Cell 2012;151(7):1542-56.
16. Bijnsdorp IV, Geldof AA, Lavaei M, Piersma SR, van Moorselaar RJA, Jimenez CR. Exosomal ITGA3 interferes with non-cancerous prostate

cell functions and is increased in urine exosomes of metastatic prostate cancer patients. Journal of extracellular vesicles 2013;2.
17. Kriebel PW, Barr VA, Rericha EC, Zhang G, Parent CA. Collective cell migration requires vesicular trafficking for chemoattractant delivery at the trailing edge. The Journal of cell biology 2008;183(5):949-61.
18. Wyckoff JB, Wang Y, Lin EY, Li J-f, Goswami S, Stanley ER, Segall JE, Pollard JW, Condeelis J. Direct visualization of macrophage-assisted tumor cell intravasation in mammary tumors. Cancer research 2007;67(6):2649-56.
19. Bretz NP, Ridinger J, Rupp A-K, Rimbach K, Keller S, Rupp C, Marmé F, Umansky L, Umansky V, Eigenbrod T. Body fluid exosomes promote secretion of inflammatory cytokines in monocytic cells via Toll-like receptor signaling. Journal of Biological Chemistry 2013;288(51):36691-702.
20. Soki FN, Koh AJ, Jones JD, Kim YW, Dai J, Keller ET, Pienta KJ, Atabai K, Roca H, McCauley LK. Polarization of prostate cancer-associated macrophages is induced by milk fat globule-EGF factor 8 (MFG-E8)-mediated efferocytosis. Journal of Biological Chemistry 2014;289(35):24560-72.
21. Taraboletti G, D'Ascenzoy S, Giusti I, Marchetti D, Borsotti P, Millimaggi D, Giavazzi R, Pavan A, Dolo V. Bioavailability of VEGF in tumor-shed vesicles depends on vesicle burst induced by acidic pH. Neoplasia 2006;8(2):96-103.
22. Asangani I, Rasheed S, Nikolova D, Leupold J, Colburn N, Post S, Allgayer H. MicroRNA-21 (miR-21) post-transcriptionally downregulates tumor suppressor Pdcd4 and stimulates invasion, intravasation and metastasis in colorectal cancer. Oncogene 2008;27(15):2128-36.
23. Zhou W, Fong MY, Min Y, Somlo G, Liu L, Palomares MR, Yu Y, Chow A, O'Connor STF, Chin AR. Cancer-secreted miR-105 destroys vascular endothelial barriers to promote metastasis. Cancer cell 2014;25(4):501-15.

24. Egan K, Crowley D, Smyth P, O'Toole S, Spillane C, Martin C, Gallagher M, Canney A, Norris L, Conlon N. Platelet adhesion and degranulation induce pro-survival and pro-angiogenic signalling in ovarian cancer cells. PLoS One 2011;6(10):e26125.
25. Janowska-Wieczorek A, Wysoczynski M, Kijowski J, Marquez-Curtis L, Machalinski B, Ratajczak J, Ratajczak MZ. Microvesicles derived from activated platelets induce metastasis and angiogenesis in lung cancer. International journal of cancer 2005;113(5):752-60.
26. Zhu W, Huang L, Li Y, Zhang X, Gu J, Yan Y, Xu X, Wang M, Qian H, Xu W. Exosomes derived from human bone marrow mesenchymal stem cells promote tumor growth in vivo. Cancer letters 2012;315(1):28-37.
27. Hedlund M, Nagaeva O, Kargl D, Baranov V, Mincheva-Nilsson L. Thermal-and oxidative stress causes enhanced release of NKG2D ligand-bearing immunosuppressive exosomes in leukemia/lymphoma T and B cells. PloS one 2011;6(2):e16899.
28. Whiteside TL. Immune modulation of T-cell and NK (natural killer) cell activities by TEXs (tumour-derived exosomes). Biochemical Society transactions 2013;41(1):245-51.
29. M Cereghetti D, P Lee P. Tumor-derived exosomes contain microRNAs with immunological function: implications for a novel immunosuppression mechanism. Microrna 2013;2(3):194-204.
30. Filipazzi P, Bürdek M, Villa A, Rivoltini L, Huber V. Recent advances on the role of tumor exosomes in immunosuppression and disease progression. In: Seminars in cancer biology; 2012: Elsevier; 2012. p. 342-9.
31. Miles FL, Pruitt FL, van Golen KL, Cooper CR. Stepping out of the flow: capillary extravasation in cancer metastasis. Clinical & experimental metastasis 2008;25(4):305-24.
32. Hiratsuka S, Goel S, Kamoun WS, Maru Y, Fukumura D, Duda DG, Jain RK. Endothelial focal adhesion kinase mediates cancer cell homing to

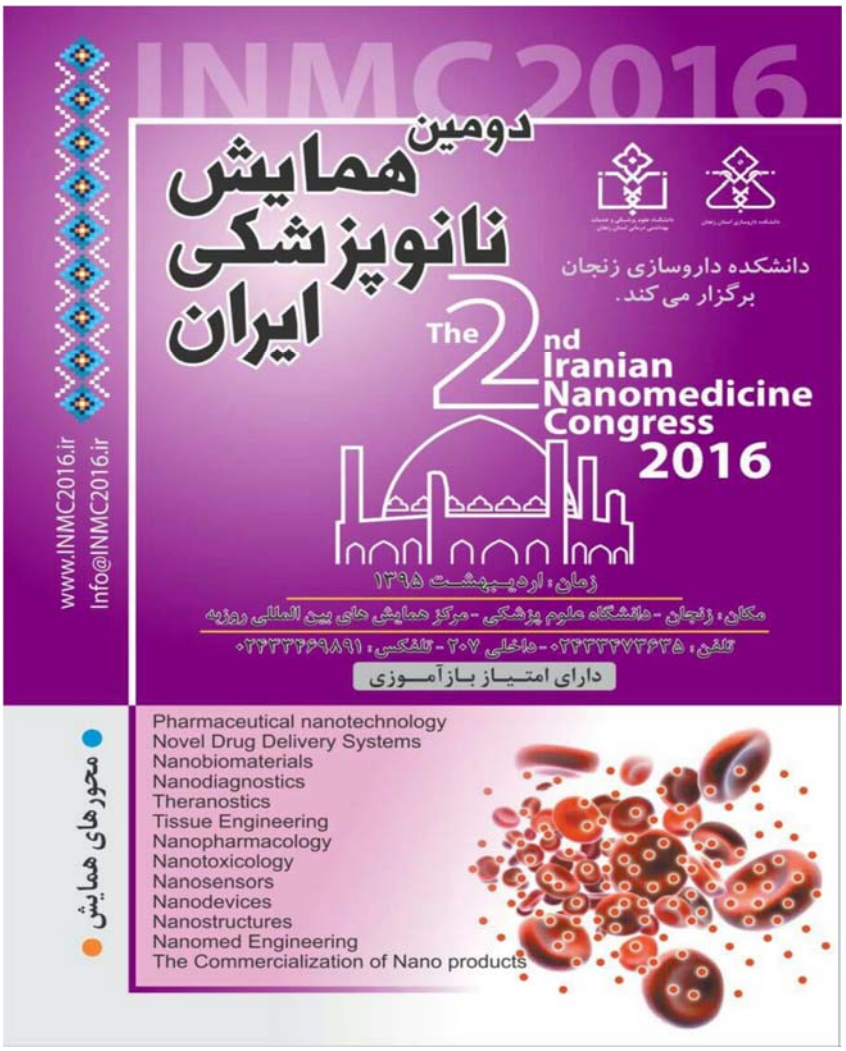
discrete regions of the lungs via E-selectin up-regulation. Proceedings of the National Academy of Sciences 2011;108(9):3725-30.
33. Bevilacqua MP, Pober JS, Mendrick DL, Cotran RS, Gimbrone MA. Identification of an inducible endothelial-leukocyte adhesion molecule. Proceedings of the National Academy of Sciences 1987;84(24):9238-42.
34. Söderberg A, Barral AM, Söderström M, Sander B, Rosén A. Redox-signaling transmitted in trans to neighboring cells by melanoma-derived TNF-containing exosomes. Free Radical Biology and Medicine 2007;43(1):90-9.
35. Al-Nedawi K, Meehan B, Kerbel RS, Allison AC, Rak J. Endothelial expression of autocrine VEGF upon the uptake of tumor-derived microvesicles containing oncogenic EGFR. Proceedings of the National Academy of Sciences 2009;106(10):3794-9.
36. Herlaar E, Brown Z. p38 MAPK signalling cascades in inflammatory disease. Molecular medicine today 1999;5(10):439-47.
37. Reymond N, Im JH, Garg R, Vega FM, d'Agua BB, Riou P, Cox S, Valderrama F, Muschel RJ, Ridley AJ. Cdc42 promotes transendothelial migration of cancer cells through β1 integrin. The Journal of cell biology 2012;199(4):653-68.
38. Taverna S, Flugy A, Saieva L, Kohn EC, Santoro A, Meraviglia S, De Leo G, Alessandro R. Role of exosomes released by chronic myelogenous leukemia cells in angiogenesis. International journal of cancer 2012;130(9):2033-43.
39. Kaplan RN, Rafii S, Lyden D. Preparing the "soil": the premetastatic niche. Cancer research 2006;66(23):11089-93.
40. Castellana D, Zobairi F, Martinez MC, Panaro MA, Mitolo V, Freyssinet J-M, Kunzelmann C. Membrane microvesicles as actors in the establishment of a favorable prostatic tumoral niche: a role for activated fibroblasts and CX3CL1-CX3CR1 axis. Cancer research 2009;69(3):785-93.
41. Jung T, Castellana D, Klingbeil P, Hernández IC, Vitacolonna M, Orlicky DJ, Roffler SR, Brodt P, Zöller M. CD44v6 dependence of

premetastatic niche preparation by exosomes. Neoplasia 2009;11(10):1093-IN17.
42. Rana S, Malinowska K, Zöller M. Exosomal tumor microRNA modulates premetastatic organ cells. Neoplasia 2013;15(3):281-IN31.
43. Peinado H, Alečković M, Lavotshkin S, Matei I, Costa-Silva B, Moreno-Bueno G, Hergueta-Redondo M, Williams C, García-Santos G, Ghajar CM. Melanoma exosomes educate bone marrow progenitor cells toward a pro-metastatic phenotype through MET. Nature medicine 2012;18(6):883-91.
44. Ono M, Kosaka N, Tominaga N, Yoshioka Y, Takeshita F, Takahashi RU, Yoshida M, Tsuda H, Tamura K, Ochiya T. Exosomes from bone marrow mesenchymal stem cells contain a microRNA that promotes dormancy in metastatic breast cancer cells. Sci Signal 2014;7(332):63.

رخدادهای پیش رو

دومین کنگره بین المللی و چهاردهمین کنگره ملی ژنتیک ایران

دومین همایش نانوپزشکی ایران



آدرس : تهران – خیابان جلال آل احمد – پل نصر – دانشگاه تربیت مدرس – دانشکده پزشکی شماره ۳

گروه بیوتکنولوژی پزشکی