بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه پیام نور

دانشکده علوم پایه و کشاورزی

مرکز تهران شرق

پایان نامه

برای دریافت مدرک کارشناسی ارشد

رشته بیوشیمی

گروه زیست شناسی

عنوان پایان نامه:

بررسی اثر مهاری نانوذرات ICD-85 (پپتیدهای مشتق از سموم جانوری) روی سلول سرطانی HeLa

سعید مرادحاصلی

اساتید راهنما:

دکتر عباس زارع میرک آبادی

دکتر رضا حاجی حسینی

اسفند۱۳۹۰

جمهوری اسلامی ایران
وزارت علوم تحقیقات و فناوری

مجتمع علوم پایه و کشاورزی

شماره .....
تاریخ .....
پیوست .....

دانشگاه پیام نور
دانشگاه پیام نور استان تهران
العلم محل لولبک الفرح والعافیه والنصر

صورت جلسه دفاع از پایان نامه دوره کارشناسی ارشد

جلسه دفاع ازپایان نامه دوره کارشناسی ارشد آقای سعید مراد حاصلی
دانشجوی رشته بیوشیمی به شماره دانشجویی 880272707

تحت عنوان:

" بررسی اثر مهاری نانو ذرات ICD-85 (پپتیدهای مشتق از سموم جانوری) روی سلول سرطانی Hela "

جلسه دفاع با حضور داوران نامبرده ذیل در روز چهار شنبه مورخ: 90/12/10 ساعت 14-15 در محل مرکز تهران شرق برگزار شد و پس از بررسی پایان نامه مذکور بانمره (بعدد) ۱۹/۸ (بحروف) نوزده و هشت دهم. وبا درجه عالی مورد قبول واقع شد/نشد.

ردیف	هیات داوران	نام و نام خانوادگی	مرتبه علمی	دانشگاه/موسسه	امضاء
1	استاد راهنما	دکتر عباس زارع میرک آبادی	دانشیار	پیام نور	
2	استاد راهنمای همکار	دکتر رضا حاجی حسینی	دانشیار	پیام نور	
3	استاد داور	دکتر سیما نصری	استادیار	پیام نور	۹۰/۱۲/۱۰
4	نماینده علمی گروه	دکتر سیما نصری	استادیار	پیام نور	۹۰/۱۲/۱۰

تهران، خیابان استاد نجات اللهی
خیابان شهید فلاح پور، پلاک ۲۷
تلفن: ۸۸۸۰۰۲۵۲
دورنگار: ۸۸۳۱۹۴۷۵
WWW.TPNU.AC.IR
science.agri@tpnu.ac.ir

گواهی اصالت، نشر و حقوق مادی و معنوی اثر

اینجانب **سعید مرادحاصلی** دانشجوی ورودی سال ۱۳۸۸ مقطع کارشناسی ارشد رشته **بیوشیمی** گواهی می نمایم چنانچه در پایان نامه خود از فکر، ایده و نوشته دیگری بهره گرفته ام با نقل قول مستقیم یا غیر مستقیم منبع و ماخذ آن را نیز در جای مناسب ذکر کرده ام. بدیهی است مسئولیت تمامی مطالبی که نقل قول دیگران نباشد بر عهده خویش می دانم و جوابگوی آن خواهم بود.

دانشجو تأیید می نماید که مطالب مندرج دراین پایان نامه نتیجه تحقیقات خودش می باشد و در صورت استفاده از نتایج دیگران مرجع آن را ذکر نموده است.

نام و نام خانوادگی دانشجو: **سعید مرادحاصلی**

تاریخ و امضاء

اینجانب **سعید مرادحاصلی** دانشجوی ورودی سال ۱۳۸۸ مقطع کارشناسی ارشد رشته **بیوشیمی** گواهی می نمایم چنانچه براساس مطالب پایان نامه خود اقدام به انتشار مقاله، کتاب، و... نمایم ضمن مطلع نمودن استاد راهنما، با نظر ایشان نسبت به نشر مقاله، کتاب، و ... و به صورت مشترک و با ذکر نام استاد راهنما مبادرت نمایم.

نام و نام خانوادگی دانشجو: **سعید مرادحاصلی**

تاریخ و امضاء

کلیه حقوق مادی مترتب از نتایج مطالعات، آزمایشات و نوآوری ناشی از تحقیق موضوع این پایان نامه متعلق به دانشگاه پیام نور می باشد.

اسفند ۱۳۹۰

به پاس تعبیر عظیم و انسانی‌شان از کلمه ایثار و از خودگذشتگی‌شان

به پاس عاطفه سرشار و گرمای امیدبخش وجودشان که در سردترین روزگاران

بهترین پشتیبانم بودند

به پاس قلب‌های بزرگشان که فریادرس است،

و سرگردانی و ترس در پناهشان به شجاعت می‌گراید

و به پاس محبت‌های بی‌دریغشان که هرگز فروکش نمی‌کند

این مجموعه را به پدر و مادر عزیزم تقدیم می‌کنم.

تقدیر و تشکر

از استاد ارجمند جناب آقای **دکتر عباس زارع میرک آبادی** رئیس بخش جانوران سمی و تهیه پادزهر موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی که مساعدتها و رهنمودهای بی‌دریغشان در تمام این مدت چراغی فراسوی تمام مشکلاتم بوده است و از فضایل اخلاقی و تجربیات گرانقدر ایشان در تمامی مراحل کار بهره مند گشتم، تشکر و قدردانی می‌نمایم.

همچنین از استاد ارجمند جناب آقای **دکتر رضا حاجی حسینی** که همواره از راهنماییهای دلسوزانه، زحمات بی دریغ و ارزنده شان بهرمند گردیده‌ام، تشکر و قدردانی می‌نمایم.

از کلیه مسئولین و کارکنان بخش های جانوران سمی و کنترل کیفی موسسه رازی به دلیل حمایت های صمیمانه و همیشگی ایشان در طول این دوره سپاسگزارم.

در پایان از همه کسانی که مرا در انجام این تحقیق یاری کردند، صمیمانه سپاسگزاری نموده و برای همگی آنان، از درگاه ایزد منان آرزوی توفیق روز افزون دارم.

و این نیست جز جلوه‌ای از لطف و رحمت پروردگاری که از ادای شکر حتی یک نعمت او ناتوانم...

چکیده

بسیاری از داروهای ضد سرطان دارای شاخص درمانی بسیار باریکی هستند و درنتیجه موجب ایجاد عوارض جانبی و تاثیر بر بافت های غیرسرطانی می شوند. توسعه نانوحامل های دارویی بر پایه نانوذرات پلیمری به عنوان یک رویکرد امید بخش برای کاستن از این مشکلات مطرح می باشد. در مطالعات قبلی، ثابت شد که ترکیب ICD-85 (پپتیدهای مشتق از سموم جانوری) به عنوان یک ترکیب ضد سرطانی بر روی سلول های سرطانی MDA-MB 231 و HL-60 اثر سایتوتوکسیک دارد. در این مطالعه اثر سایتوتوکسیک فرم انکپسوله ICD-85 محصور در نانوذرات سدیم آلژینات و فرم آزاد ICD-85 بر روی سلول های سرطانی HeLa و سلول های نرمال MRC-5 و LK مورد مقایسه و تحقیق قرار گرفت.

تاثیر فرم های آزاد و انکپسوله ICD-85 بر رشد سلول های سرطانی HeLa و سلول های نرمال MRC-5 و LK با سنجش MTT در زمان های مختلف (۲٤، ٤٨ و۷۲ ساعت) بررسی گردید. اثر نکروتیک با اندازه گیری آنزیم لاکتات دهیدروژناز تعیین گردید. آپوپتوز ناشی از فرم های آزاد و انکپسوله ICD-85 با استفاده از کیت کالریمتری کاسپاز ۸ بررسی شد. تغییرات مورفولوژی سلول های تیمار شده توسط میکروسکوپ اینورت مقایسه شد.

نتایج حاصل از تست MTT نشان داد که فرم انکپسوله ICD-85 موجب افزایش سایتوتوکسیسیته در برابر سلول های سرطانی HeLa شده و میزان IC_{50} در مدت زمان ۷۲ ساعت از 25±2.9µg/ml در فرم آزاد ICD-85 به 15.5±2.4µg/ml در فرم انکپسوله ICD-85 کاهش یافته است. همچنین نتایج ثابت نمود که مکانیسم القاء آپوپتوز توسط فرم های آزاد و انکپسوله ICD-85 بر روی سلول های HeLa از طریق فعال شدن کاسپاز ۸ هدایت می شود. آنالیز نتایج سنجش کاسپاز ۸ نشان داد که میزان القای آپوپتوز فرم انکپسوله ICD-85 در مقایسه با فرم آزاد دو برابر بیشتر است. نتایج تست MTT در سلول های نرمال نشان داد که سایتوتوکسیسیته فرم انکپسوله ICD-85 در مقایسه با فرم آزاد آن در غلظت های مشابه و در سلول های یکسان کاهش یافته است. میزان IC_{10} در سلول های نرمال LK از 9±2.7µg/ml در فرم آزاد به 52±4.3µg/ml در فرم انکپسوله ICD-85 افزایش یافت. نتایج فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز نشان داد که فرم آزاد ICD-85 به صورت وابسته به غلظت بر سلول های نرمال MRC-5 و LK اثر نکروتیک دارد و این در حالی است که اثر نکروتیک در فرم انکپسوله ICD-85 به صورت معناداری کاهش یافته است. علاوه بر این، سلول های نرمال تحت تیمار با فرم انکپسوله ICD-85 در مقایسه با گروه کنترل تغییرات مورفولوژیکی معنادار نشان ندادند.

بر اساس نتایج بدست آمده در این تحقیق می توان گفت که انکپسوله کردن ترکیب ICD-85 در نانوذرات سدیم آلژینات موجب افزایش خاصیت مهاری آن بر سلول های سرطانی می شود و در عین حال سبب کاهش معنادار اثرات نکروتیک بر روی سلول های نرمال نیز می گردد.

واژگان کلیدی: سایتوتوکسیسیته، سلول HeLa، آپوپتوز، کاسپاز ۸، لاکتات دهیدروژناز، سدیم آلژینات.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

۱- فصل اول: کلیات ۱
۱-۱- بیان مساله ۸
۱-۲- سرطان ۵
۱-۲-۱- تومورها ۵
۱-۲-۲- نامگذاری تومورها ۷
۱-۲-۳- آنژیوژنز ۸
۱-۲-٤- عوامل موثر در پیدایش سرطان ۹
۱-۲-۵- همه‌گیرشناسی سرطان ۱۱
۱-۲-٦- سرطان در ایران ۱۲
۱-۲-۷- ایمونولوژی سرطان ۱٤
۱-۲-۸- درمان سرطان ۱٦
۱-۲-۹- شیمی درمانی ۱۷
۱-۲-۱۰- کمپتوتسین (CPT) ۱۸
۱-۳- آپوپتوزیس ۲۰
۱-۳-۱- دگرگونی‌های سلولی در هنگام آپوپتوز ۲۲
۱-۳-۲- تفاوت آپوپتوز و نکروز ۲۳
۱-۳-۳- روش‌های تشخیص آپوپتوز ۲٤
۱-۳-٤- مکانیسم آپوپتوز ۲٦
۱-۳-۵- کاسپازها ۲۸
۱-٤- نانوتکنولوژی ۲۹
۱-٤-۱- پیشینه نانوتکنولوژی ۳۰
۱-٤-۲- نانومواد ۳۱
۱-٤-۳- نانوتکنولوژی در پزشکی ۳۲
۱-٤-٤- کاربرد نانوذرات در سیستم‌های دارویی ۳۵
۱-٤-۵- پلیمرهای زیست تخریب‌پذیر و دارو رسانی ۳٦
۱-٤-٦- پلیمرهای پلی‌ساکاریدی ۳۸
۱-٤-٦-۱- آلژینات ۳۹
۱-٤-٦-۲- موارد مصرف سدیم آلژینات ٤۱
۱-٤-٦-۳- کایتوزان ٤۲
۱-٤-٦-٤- صمغ آگار ٤۵

۱-۵- کشت سلول ٤٦
۱-۵-۱- انواع سلول‌ها ٤٧
۱-۵-۲- انواع کشت سلول ٤٩
۱-۵-۳- کاربرد کشت سلول ٤٩
۱-۵-٤- فواید و مضرات استفاده از کشت سلولی ۵۰
۱-٦- سموم جانوری و کاربرد آن در پزشکی ۵۱
۱-۷- مروری بر منابع ۵۳
۱-۸- ترکیب ICD-85 ..... ۵۷
۱-۸-۱- پیشینه ICD-85 ..... ۵۷
۱-۸-۲- هدف از تهیه نانوذرات ICD-85 ..... ۵۸
۱-۸-۳- ویژگی‌های نانوذرات ICD-85 ..... ۵۹
۲- فصل دوم: مواد و روش‌ها ٦۲
۲-۱- کشت سلول ٦٦
۲-۱-۱- طرز تهیه محیط کشت DMEM ٦٦
۲-۱-۲- روش آماده کردن سرم جنین گاو (FBS) ٦۷
۲-۱-۳- روش تهیه محلول Trypsin/ EDTA ٦۷
۲-۱-٤- روش تهیه رنگ تریپان بلو ٦۸
۲-۱-۵- روش تهیه محلول PBS ٦۸
۲-۱-٦- نحوه پاساژ دادن سلول‌ها ٦۸
۲-۱-۷- روش فریز کردن سلول‌ها ٦۹
۲-۱-۸- خارج کردن سلول‌ها از تانک ازت (Thawing) ۷۰
۲-۱-۹- آماده‌سازی ترکیب ICD-85 ..... ۷۰
۲-۱-۱۰- تیمار کردن سلول‌ها با فرم‌های آزاد و انکپسوله ICD-85 ..... ۷۱
۲-۱-۱۱- بررسی مورفولوژی سلول‌ها ۷۲
۲-۲- سنجش میزان سایتوتوکسیسیته (MTT Assay) ۷۲
۲-۲-۱- روش آزمایش MTT ۷۳
۲-۲-۲- اندازه‌گیری IC_{50} ۷٤
۲-۳- اندازه‌گیری لاکتات دهیدروژناز (LDH cytotoxicity assay) ۷۵
۲-۳-۱- مراحل آماده‌سازی سلول ۷۵
۲-۳-۲- آماده‌سازی محلول‌ها ۷٦
۲-۳-۳- روش آزمایش ۷٦
۲-٤- اندازه‌گیری آنزیم کاسپاز ۸ به روش کالریمتری ۷۷
۲-٤-۱- روش اندازه‌گیری آنزیم کاسپاز ۸ ..... ۷۸
۳- فصل سوم: نتایج ۸۰

۳-۱- نتایج ۸۱
۳-۱-۱- تاثیر فرم آزاد ICD-85 بر روی سلول‌های سرطانی HeLa ۸۱
۳-۱-۲- تاثیر فرم انکپسوله ICD-85 بر روی سلول‌های سرطانی HeLa ۸٤
۳-۱-۳- مقایسه اثر مهاری فرم‌های آزاد و انکپسوله ICD-85 بر روی سلول‌های HeLa ۸٦
۳-۱-٤- مقایسه اثر نکروتیک فرم‌های آزاد و انکپسوله ICD-85 بر روی سلول‌های HeLa ۸۷
۳-۱-۵- اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاسپاز ۸ در سلول‌های HeLa ۸۸
۳-۱-٦- تغییرات مورفولوژیکی سلول‌های HeLa ۹۰
۳-۲-۱- تاثیر فرم آزاد ICD-85 بر روی سلول‌های نرمال MRC-5 ..... ۹۱
۳-۲-۲- تاثیر فرم انکپسوله ICD-85 بر روی سلول‌های نرمال MRC-5 ..... ۹۲
۳-۲-۳- مقایسه اثر مهاری فرم‌های آزاد و انکپسوله ICD-85 بر روی سلول‌های MRC-5 ..... ۹۳
۳-۲-٤- مقایسه اثر نکروتیک فرم‌های آزاد و انکپسوله ICD-85 بر روی سلول‌های MRC-5 ..... ۹٤
۳-۲-۵- اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاسپاز ۸ در سلول‌های نرمال MRC-5 ..... ۹۵
۳-۲-٦- تغییرات مورفولوژیکی سلول‌های نرمال MRC-5 ..... ۹۵
۳-۳-۱- تاثیر فرم آزاد ICD-85 بر روی سلول‌های نرمال LK ۹٦
۳-۳-۲- تاثیر فرم انکپسوله ICD-85 بر روی سلول‌های نرمال LK ۹۷
۳-۳-۳- مقایسه اثر مهاری فرم‌های آزاد و انکپسوله ICD-85 برروی سلول‌های نرمال LK ۹۸
۳-۳-٤- مقایسه اثر نکروتیک فرم‌های آزاد و انکپسوله ICD-85 بر روی سلول‌های نرمال LK ۹۹
۳-۲-۵- اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاسپاز ۸ در سلول‌های نرمال LK ۱۰۰
۳-۳-٦- تغییرات مورفولوژیکی سلول‌های نرمال LK ۱۰۰
٤- فصل چهارم: بحث و نتیجه‌گیری ۱۰۱
٤-۱- بحث ۱۰۲
٤-۲- نتیجه‌گیری ۱۱۲
٤-۳- پیشنهادات ۱۱۳
۵- فصل پنجم: منابع ۱۱٤
۵-۱- منابع فارسی ۱۱۵
۵-۲- منابع لاتین ۱۱٦
چکیده انگلیسی ۱٤۰

فهرست جداول ، نمودارها و اشکال

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱: میزان شیوع سرطان در سال ۲۰۰۵ در بین مردان ایرانی در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر جمعیت ۱۳
شکل ۱-۲: میزان شیوع سرطان در سال ۲۰۰۵ در بین زنان ایرانی در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر جمعیت ۱٤
شکل ۱-۳: ساختمان شیمیایی کمپتوتسین ۱۹
شکل ۱-٤: ساختمان شیمیایی CPT و آنالوگهای نیمه سنتزی آن ۲۰
شکل ۱-۵: تصویر یک سلول در حال آپوپتوز ۲۲
شکل ۱-٦: مقایسه سلول‌های آپوپتوتیک و نکروتیک ۲٤
شکل ۱-۷: نحوه اتصال Annexin V با PS در هنگام فرآیند آپوپتوزیس ۲۵
شکل ۱-۸: مسیرهای آپوپتوزیس ۲۷
شکل ۱-۹: ارتباط بین نانوتکنولوژی و بیولوژی ۳۰
شکل ۱-۱۰: زنجیره پلیمری آلژینات ۳۹
شکل ۱-۱۱: نحوه تشکیل ژل در کلسیم آلژینات ٤۰
شکل ۱-۱۲: ساختار پلیمری کیتین ٤۳
شکل ۱-۱۳: ساختار پلیمری کایتوزان ٤۳
شکل ۱-۱٤: انواع سلول‌های رایج کشت ٤۷
شکل ۱-۱۵: چسبیدن سلول‌های وابسته به اتصال به بستر جامد ٤۹
شکل ۱-۱٦: شکل و اندازه نانوذرات سدیم آلژینات ۵۹
شکل ۱-۱۷: شکل و اندازه نانوذرات سدیم آلژینات تحت Loading مقدار 500µg/ml از ICD-85 ٦۰
جدول ۱-۱: مقادیر عددی بازده انکپسوله شده (AE ٪) و ظرفیت احتباس (LC%) در نانوذرات سدیم آلژینات ٦۱
جدول ۱-۲: الگوی رهایش ICD-85 ٦۱
جدول۲-۱: مواد مورد استفاده ٦۳
جدول ۲-۲: وسایل مورد استفاده ٦٤
جدول ۲-۳: تجهیزات مورد استفاده ٦۵
شکل ۲-۱: روند تغییر رنگ حاصل از حل شدن بلورهای فورمازان در آزمایش MTT ۷٤
شکل ۲-۲: مکانیسم فعالیت کاسپاز ۸ طی فرآیند آپوپتوز ۷۷
شکل ۳-۱: نمودار اثر سایتوتوکسیک فرم آزاد ICD-85 بر روی سلول‌های سرطانی HeLa پس از ۲٤ ساعت ۸۲
شکل ۳-۲: نمودار اثر سایتوتوکسیک فرم آزاد ICD-85 بر روی سلول‌های سرطانی HeLa پس از ٤۸ ساعت ۸۳
شکل ۳-۳: نمودار اثر سایتوتوکسیک فرم آزاد ICD-85 بر روی سلول‌های سرطانی HeLa پس از ۷۲ ساعت ۸۳
شکل ۳-٤: نمودار اثر سایتوتوکسیک فرم انکپسوله ICD-85 بر روی سلول‌های سرطانی HeLa پس از ۲٤ ساعت ۸۵
شکل ۳-۵: نمودار اثر سایتوتوکسیک فرم انکپسوله ICD-85 بر روی سلول‌های سرطانی HeLa پس از ٤۸ ساعت ۸۵
شکل ۳-٦: نمودار اثر سایتوتوکسیک فرم انکپسوله ICD-85 بر روی سلول‌های سرطانی HeLa پس از ۷۲ ساعت ۸٦
شکل ۳-۷: نمودار مقایسه اثر مهاری فرم‌های آزاد و انکپسوله ICD-85 برروی سلول‌های سرطانی HeLa پس از ۷۲ ساعت ۸۷
شکل ۳-۸: نمودار مقایسه اثر نکروتیک فرم‌های آزاد و انکپسوله ICD-85 بر روی سلول‌های سرطانی HeLa پس از ۲٤ ساعت ۸۸

شکل ۳-۹: نمودار میزان فعالیت کاسپاز ۸ در سلول‌های سرطانی HeLa ۸۹
شکل ۳-۱۰: تصاویر تغییرات مورفولوژیکی سلول‌های سرطانی HeLa پس از ۲٤ ساعت..... ۹۰
شکل ۳-۱۱: نمودار اثر سایتوتوکسیک فرم آزاد ICD-85 بر روی سلول‌های نرمال MRC-5 پس از ۷۲ ساعت..... ۹۱
شکل ۳-۱۲: نمودار اثر سایتوتوکسیک فرم انکپسوله ICD-85 بر روی سلول‌های نرمال MRC-5 پس از ۷۲ ساعت..... ۹۲
شکل ۳-۱۳: نمودار مقایسه اثر مهاری فرم‌های آزاد و انکپسوله ICD-85 بر روی سلول‌های نرمال MRC-5 پس از ۷۲ ساعت..... ۹۳
شکل ۳-۱٤: نمودار مقایسه اثر نکروتیک فرم‌های آزاد و انکپسوله ICD-85 بر روی سلول‌های نرمال MRC-5 پس از ۲٤ ساعت... ۹٤
شکل ۳-۱۵: تصاویر تغییرات مورفولوژیکی سلول‌های نرمال MRC-5 پس از ۷۲ ساعت..... ۹۵
شکل ۳-۱٦: نمودار اثر سایتوتوکسیک فرم آزاد ICD-85 بر روی سلول‌های نرمال LK پس از ۷۲ ساعت..... ۹٦
شکل ۳-۱۷: نمودار اثر سایتوتوکسیک فرم انکپسوله ICD-85 بر روی سلول‌های نرمال LK پس از ۷۲ ساعت ۹۷
شکل ۳-۱۸: نمودار مقایسه اثر مهاری فرم‌های آزاد و انکپسوله ICD-85 بر روی سلول‌های نرمال LK پس از ۷۲ ساعت..... ۹۸
شکل ۳-۱۹: نمودار مقایسه اثر نکروتیک فرم‌های آزاد و انکپسوله ICD-85 بر روی سلول‌های نرمال LK پس از ۲٤ ساعت..... ۹۹
شکل ۳-۲۰: تصاویر تغییرات مورفولوژیکی سلول‌های نرمال LK پس از ۷۲ ساعت..... ۱۰۰

فصل اول

کلیات

۱–۱ بیان مساله:

سرطان[1] ناشی از ناهماهنگی میان رشد و مرگ سلول ها است (۵). رشد تومورهای بدخیم عمدتاً ناشی از ظرفیت تکثیری سلول های توموری و نیز توانایی این سلول ها در تهاجم به بافت های بدن میزبان و متاستاز[2] آنها به مکان های دورتر است (۸–٦). سن مهمترین عامل خطرساز در ابتلا به سرطان است. حدود دوسوم همه موارد سرطان ها در افراد بالای ٦۵ سال ایجاد می شود (۹). روشهای کنونی برای درمان سرطان بسیار تهاجمی و غیر اختصاصی بوده و با عوارض جانبی[3] گسترده همراه هستند (۱۲–۱۰). استفاده از فناوری نانو در تحقیقات سرطان به عنوان یک پتانسیل بالقوه برای غلبه بر این مشکلات مطرح شده است (۱۵–۱۳).

نانوتکنولوژی[4] یکی از شیوه های جدید و تخصصی درمان بیماری ها است. محققان نانوتکنولوژی با ابعاد وسیعی از کاربردهای نانوذرات آشنا شده اند که ممکن است نقش بسیار زیادی در پزشکی، درمان بیماری ها و تولید دارو داشته باشد (۱٦ و ۱۷). نانوذرات به دلیل خصوصیات ویژه‌ای که دارند بسیار مورد توجه دانشمندان هستند. نانوذرات نسبت سطح به حجم بزرگتری دارند که به فرآیند انتشار کمک می کند (۱۸). در سیستم های تحویل و رهایش دارو[5]، نانوذرات به دلیل افزایش حلالیت برخی داروها در آب (۱۹)، طولانی کردن نیمه عمر و حضور آنها در گردش خون (۲۰) و به حداقل رساندن عوارض جانبی (۲۱) بسیار مورد توجه قرار گرفته اند و مطالعات گسترده ای در مورد خصوصیات و کاربردهای آنها صورت گرفته است.

---

[1] Cancer
[2] Metastasis
[3] Side effects
[4] Nanotechnology
[5] Drug Delivery

چنین رویکردی در تحقیقات و صنعت داروسازی برای استفاده از سامانه های نانوپارتیکلی از دو دهه پیش به منظور هدفمند کردن رهایش دارو و کاهش عوارض جانبی آنها مورد توجه قرار گرفته است (۲۴-۲۲). در دو دهه گذشته تعدادی از نانوذرات بر اساس خصوصیات منحصر به فرد ذکر شده در تشخیص و درمان سرطان، دیابت، آسم، آلرژی و عفونت مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته اند (۲۵). در این میان نانوذرات بیوپلیمریک دارای چندین مزیت هستند که از آن جمله می توان به ماهیت زیست تخریب پذیر[1]، سازگاری با بافت های بدن و ثبات بالا در مایعات بیولوژیک بدن اشاره کرد (۲۸-۲۶). کاربرد پلیمرهای زیست تخریب پذیر به عنوان یکی از پیشرفت های عمده در تحقیقات مواد در پزشکی مطرح است. مواد زیست تخریب پذیر کاربردهای بی شماری در پزشکی و جراحی دارند (۲۹ و ۳۰).

پلیمرهای زیست تخریب پذیر پلی ساکاریدی به دلیل ارزان بودن و وجود ساختمان های مختلف با خواص متفاوت، به راحتی به صورت شیمیایی و بیوشیمیایی قابل تغییر می باشند. از دیگر خواص آنها می توان به پایداری، ایمنی، غیر سمی بودن، آبدوستی و تشکیل ژل اشاره کرد (۳۳-۳۱). این خصوصیات، استفاده از پلی ساکاریدها را برای سیستم های دارو رسانی امکان پذیر می سازد (۳۴). انواع پلی ساکارید های طبیعی مانند کوردلان[2] (۳۵)، دکستران[3] (۳۶)، آلژینات[4] (۳۷) و کایتوزان[5] (۳۸) (۳۸) در سیستم های دارو رسانی مورد استفاده قرار گرفته اند.

آلژینات از ترکیب دو نوع اسید اورونیک به نام های α-L-گلوکورونیک اسید و β-D- مانورونیک اسید تشکیل شده است که پلیمری خطی بدون شاخه را ایجاد می نماید (۴۲-۳۹).

[1] Biodegradable
[2] Curdlan
[3] Dextran
[4] Alginate
[5] Chitosan

آلژینات از جلبک های قهوه ای استخراج می شود. ساختاری زیست سازگار با بدن دارد و غیر ایمنوژنیک است. حلالیت آلژینات در آب بستگی به کاتیون های مرتبط با آن دارد. برای مثال سدیم آلژینات در آب محلول است در حالی که کلسیم آلژینات در آب تشکیل ژل می دهد (٤٦-٤٣).

سامانه های نانوپارتیکلی در داروهای ضد سرطان در مورد کمپتوتسین[1] (٤٧)، دوکسوروبیسین[2] (٤٨)، پکلیتاکسل[3] (٤٩)، دوستاکسل[4] (٥٠) و سیسپلاتین[5] (٥١) به منظور هدفمند کردن رهایش دارو و کاهش عوارض جانبی آنها مورد مطالعه قرار گرفته است.

با توجه به شواهد فوق و در تایید این ذهنیت که سامانه های نانوپارتیکلی ترکیبات ضد سرطانی، سبب افزایش کارآیی[6] و کاهش عوارض جانبی آنها می شود، در این مطالعه کارآیی و ایمنی[7] فرم انکپسوله ICD-85 (پپتیدهای مشتق از سموم جانوری) محصور در نانوذرات سدیم آلژینات با فرم آزاد[8] ICD-85 مورد مقایسه و تحقیق قرار گرفته است.

[1] Camptothecin
[2] Doxorubicin
[3] Paclitaxel
[4] Docetaxel
[5] Cisplatin
[6] Efficacy
[7] Safety
[8] Free

۱-۲ سرطان:

سرطان عبارت است از ناهماهنگی میان رشد و مرگ سلول‌ها که نتیجه آن انباشته شدن تعداد بیش از حد سلول‌ها است. به سلول‌های انباشته شده غده یا تومور[1] می‌گویند که ممکن است به شکل یک دست مشت شده یا یک نارنگی در بیاید. این نوع تومور معمولاً خوش خیم است و می‌توان آن را با عمل جراحی خارج کرد. بسیاری از تومورهای سینه در زنان و پروستات در مردان خوش خیم هستند. نوع دیگر تومور شبیه دست باز شماست. این نوع تومور بدخیم و خطرناک است و به آن سرطان می‌گویند (۱).

۱-۲-۱- تومورها:

گروه بزرگی از بیماری‌های انسان را تومورها تشکیل می‌دهند و در حال حاضر در ردیف دوم بعد از بیماری‌های قلبی و عروقی قرار دارند. تومور در میان مردم به اشتباه برابر با سرطان دانسته می‌شود. در حالی که سرطان همیشه بدخیم است ولی تومور می‌تواند ماهیت خوش‌خیم و یا بدخیم داشته باشد. تومورها توده‌هایی از سلول‌ها هستند که در آنها تقسیم سلولی به صورت فزاینده انجام می‌شود و غیر قابل کنترل است. تومور می‌تواند در انواع مختلف بافت‌ها و اندام‌های بدن ایجاد شود. بطور خلاصه تومور یک توده غیر طبیعی نسجی می‌باشد. بررسی و مطالعه تومورها را انکولوژی[2] می‌نامند (۱).

[1] Tumor
[2] Oncology

تمامی نئوپلاسم‌ها[1] از جهت تغذیه و تامین عروقی وابسته به میزبان می‌باشند و حتی در بعضی موارد نئوپلاسم‌ها احتیاج به پشتیبانی هورمونی نیز دارند. از نظر نمای ماکروسکوپی، شکل و قوام تومورها به محل و نوع تومور بستگی دارد. در نواحی سطحی به شکل برجستگی‌های گل کلمی شکل دیده می‌شوند. در نسوج عمقی‌تر، اگر تومور خوش‌خیم باشد معمولاً دارای حدود مشخص است و دارای کپسول می‌باشد، در حالی که در تومور بدخیم حدود مشخص وجود ندارد (۲).

تومورهای خوش‌خیم به آهستگی رشد کرده و به بافت‌های دیگر تهاجم نمی‌نمایند. این تومورها روی بافت‌های مجاور فشار وارد می‌کنند ولی رشدشان ممکن است پس از مدتی قطع شود و آنگاه بدون تغییر باقی می‌مانند. سلول‌های تومورهای خوش‌خیم معمولاً شبیه به سلول‌های بافتی که از آن بوجود آمده‌اند می‌باشند. با برداشتن کامل این تومورها با عمل جراحی دیگر عود نمی‌کنند و معمولاً طول عمر بیمار را کوتاه نمی‌کنند. البته وجود تومورهای خوش‌خیم در محل‌های خاصی ممکن است کشنده باشد. برای مثال تومورهای خوش‌خیمی که در مغز بوجود می‌آیند، خارج کردن کامل آنها غالباً مشکل یا غیرممکن است. زیرا به بافت‌های مجاور آسیب وارد می‌شود و ممکن است باعث مرگ گردد. تومورهای بدخیم به صورت تصاعدی رشد کرده و اگر جلوی رشدشان گرفته نشود به طرق مختلف باعث مرگ بیمار می‌گردند. این تومورها سریعاً رشد کرده و سلول‌های تشکیل دهنده آنها از سلول‌های تومورهای خوش‌خیم کمتر تمایز یافته‌اند. به عبارت دیگر این تومورها تمایل دارند که همانند بافت جنینی که از آن عضو اصلی (قبل از سرطانی شدن) توسعه پیدا کرده‌اند باشند. تومورهای بدخیم غالباً به سایر بافت‌ها انتشار می‌یابند (۲ و ۵۲).

[1] Neoplasm

تمامی تومورها چه خوش‌خیم و چه بدخیم دو قسمت اصلی دارند:

۱. بافت اصلی تومور یا سلول‌های تکثیر شده نئوپلاستیک که از ترکیب یک یا چند سلول خاص با رشد فعال بوجود آمده و پارانشیم آن را تشکیل می‌دهد.

۲. استرومای[1] نگهدارنده که از بافت همبند و عروق خونی و لنفاوی تشکیل شده است. رشد یک تومور به طور نامحسوسی به استرومای آن بستگی دارد. تومورهای بدخیمی که سلول‌های پارانشیم آن زیاد و استرومای همبندی عروقی آن کم است، دارای قوام نرم و گوشتی می باشند، در حالی که بعضی تومورهای بدخیم که دارای استرومای همبند فراوان بوده دارای قوام سخت و سفت می‌باشند (۲ و ۵۲).

۱-۲-۲- نامگذاری تومورها:

تومورهای خوش‌خیم معمولاً با اضافه کردن پسوند Oma به سلول منشاء مشخص می‌شوند که این مسئله در مورد تومورهای با منشاء مزانشیم کاملاً صادق است. مثلا فیبروما تومور خوش‌خیم فیبروبلاست است. تومورهایی با منشاء اپیتلیال نامگذاری پیچیده‌تری دارند که بر اساس منشاء و الگوهای ماکروسکوپی و ساختمان میکروسکوپی آن می‌باشد. تومورهای بدخیم با منشاء مزانشیم را سارکوما[2] گویند (Sar در زبان یونانی به معنی گوشتی) که دارای بافت همبند کمی می باشد و نئوپلاسم بدخیم اپیتلیال با منشاء بافت پوششی دیگر کارسینوما نامیده می‌شود (۵۲).

[1] stroma
[2] sarcoma

۱-۲-۳- آنژیوژنز:

رگ‌زایی[1] یک خصوصیت ذاتی برای فرآیند تومورزایی است که منجر به ایجاد شبکه عروقی قوی در تومور می‌گردد. بستر شبکه عروقی تومور در مقایسه با بافت‌های طبیعی، به دلیل عدم پوشش کافی و یک دست سلول‌های اندوتلیال تراواتر است. این پدیده روزنه‌هایی در عروق خونی ایجاد می‌نماید که اجازه خروج ماکرومولکول‌ها و ذراتی را می‌دهد که در حالت طبیعی از عروق سالم برای رسیدن به بافت‌های سالم با محدودیت‌های زیادی همراهند. علاوه بر این، دسته وسیعی از مواد افزایش دهنده نفوذپذیری عروق توسط سلول‌های توموری ساخته می‌شوند که شامل برادی‌کینین[2]، نیتریک‌اکسید[3]، پروستاگلاندین‌ها[4]، عامل رشد اندوتلیال عروقی[5]، کالیکرین[6] و سایتوکین‌هایی مانند عامل نکروز توموری. همه اینها سبب افزایش نفوذپذیری عروق تومور می‌گردند. علاوه بر همه این‌ها، آنزیم تخریبگر بافت متالوپروتئین‌ها[7] (کلاژناز[8]) با تأثیر و تخریب بافت‌های اطراف عروق خونی تومورها، سبب افزایش خصوصیات نشتی آنها می‌گردد (۵۳). به دلیل اینکه سامانه جریان لنفاوی نیز در این تومورها به درستی عمل نمی‌نماید، از این رو به طور انتخابی ماکرومولکول‌های بزرگتر از ٤٠ کیلو دالتون و ذرات کوچکتر از ۳۰۰ نانومتر در درون تومورها باقی می‌مانند (٥٤ و ٥٥). این ذرات و مولکول‌ها می‌توانند از محل نقص‌های عروقی به خارج از عروق نشت پیدا کنند، اما برخلاف مولکول‌های کوچک نمی‌توانند دوباره با غلظت عمومی جریان خون به تعادل نهایی برسند، زیرا

---

[1] Angiogenesis
[2] Bradykinin
[3] Nitric oxide
[4] Prostaglandins
[5] Vascular endothelial growth factor
[6] Kallikrein
[7] Metalloproteins
[8] Collagenases