بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه اصفهان

دانشکده علوم

گروه زیست شناسی

پایان نامه‌ی کارشناسی ارشد
رشته‌ی زیست شناسی- علوم سلولی مولکولی

بررسی اثرنانوذرات نقره در بیان ژن‌های پروکاسپاز ۸، *Bax* و *Bcl2* در مغز نوزادان موش صحرایی

استادراهنما:

دکتر سید جمال مشتاقیان

استاد مشاور:

دکتر ابوالقاسم اسماعیلی

پژوهشگر:

زهرا طاهریان

دی ماه سال ۱۳۹۰

کلیه حقوق مادی مترتب برنتایج مطالعات
ابتکارات ونوآوری‌های ناشی از پژوهش موضوع این پایان نامه
متعلق به دانشگاه اصفهان است

تقدیم به،

خورشید پنهان

و بهترین های زندگیم

پدر بزرگوار و مادر دلسوز و مهربانم که همه هستیم وام دار وجود این دو عزیز است.

همسر مهربانم

او که بودنش امید زندگی من است.

برادران عزیزم

و

پسر کوچکم امیرمهدی

[redacted]

سپاس پروردگار جهان را که بی هیچ منتی لطف و کرم خویش را بر بنده اش روا داشت.

[redacted]

از پدر و مادر عزیزم که صبورانه در طول این سال ها همراه و یاورم بودند خاضعانه سپاسگزارم.

[redacted]

سپاس فراوان از کمک های بی دریغ استاد بزرگوارم جناب آقای دکتر مشتاقیان که در اتمام این پایان نامه کمال لطف و همکاری را نمودند.

[redacted]

همچنین از اساتید گرانقدر، جناب آقای دکتر اسماعیلی و جناب آقای دکتر قلندری بابت راهنمایی های ارزشمندشان صمیمانه سپاسگزارم.

[redacted]

از استاد گرانقدر سرکار خانم دکتر که با توصیه های ارزنده مرا در دستیابی به اهداف پژوهش یاری نمودند سپاسگزارم.

[redacted]

از همکلاسی ها و دوستان عزیزم که یاری و همراهی شان، این دوره از زندگیم را خاص و به یادماندنی نمود، قدردانی می نمایم.

چکیده

دستکاری و استفاده از مواد در مقیاس نانو برای بهره‌مندی از مزایای خواص فیزیکی و شیمیایی متفاوت آن‌ها در سطح اتم یا مولکول و طراحی و استفاده از ساختارهای نانو به عنوان فناوری نانو شناخته شده است. با توجه به نسبت فوق‌العاده بالای سطح به حجم در ذرات نانو، خواص فیزیکی و شیمیایی آن‌ها کاملا متفاوت از مواد در اندازه معمولی است. بنابراین، استفاده از نانو مواد در زمینه های مختلف، به ویژه در زمینه پزشکی افزایش یافته است. اخیراً، استرس اکسیداتیو ناشی از تغییر در بیان ژن و القاء آپوپتوز در سلول‌های عصبی در موش تیمار شده با نانوذرات گزارش شده است. بیماری‌های تحلیل عصبی و اختلال در عملکرد مغز ناشی از استفاده فزاینده مواد نانو یک تهدید جدی برای سلامت انسان است. این مطالعه به منظور بررسی اثرات غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره در بیان سه ژن درگیر در فرایند مرگ برنامه ریزی شده سلولی در تکوین سیستم عصبی موش صحرایی طراحی شده است.

ژن‌های *Bax* و *Bcl2* به عنوان شاخص‌های مسیر داخلی آپوپتوز وژن کاسپاز ۸ به عنوان یک نشانگر مسیر خارجی آپوپتوز در نظر گرفته شدند. برای بررسی بیان این ژن‌ها ، توالی های mRNA از وبگاه NCBI مورد استفاده قرار گرفت. آغازگرها با استفاده از نرم افزار Beacon Designer طراحی شدند. موش‌های صحرایی باردار در روز صفر حاملگی به سه گروه توزیع شد. هر یک از گروه‌ها به ترتیب غلظت‌های ۰، ۱ یا ۱۰ پی‌پی‌اِم نانوذرات نقره دریافت نمودند. ذرات نقره محلول در اتیلن‌گلایکول در آب آشامیدنی تا حد دوز مورد نیاز برای تیمار رقیق شد. هر نوزاد رات بلافاصله پس از تولد بر روی یخ بی‌هوش و یوتانیزه شد و مغز آن جدا شده در ازت مایع منجمد شده در فریزر نگهداری شد. از فن آوری ریل تایم پی‌سی‌آر برای بررسی میزان بیان ژن استفاده شد. میزان بیان ژن‌های خانواده *Bcl2* در اثر هر دو غلظت‌های آزمایش شده در مغز موش‌های صحرایی نوزاد تیمار شده با نانوذرات نقره تفاوت معنی‌داری نشان نداد. در حالیکه، بیان میزان بالایی از کاسپاز ۸ ناشی از تیمار ۱۰ پی‌پی‌اِم نانونقره در هر دو جنس نر و ماده ایجاد شده بود.

این القاء آپوپتوز در مغز جنین می‌تواند با تکوین طبیعی مغز تداخل داشته باشد. این مشاهدات می‌تواند اینگونه تفسیر شود که نانو ذرات نقره از طریق فعال شدن گیرنده واسطه مرگ و فعال نمودن کاسپاز ۸ اثرات خارج سلولی بُروز داده است. به عبارت دیگر ، با توجه به نتایج این مطالعه مسیر خارجی آپوپتوز مهم است.

کلید واژه‌ها: نانوذرات نقره، آپوپتوز، کاسپاز۸

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه

۱-۱ فناوری نانو ۱
۱-۱-۱ تاریخچه ۱
۱-۱-۲ تعاریف و کاربرد های آن ۱
۱-۲ نانو ذرات نقره ۳
۱-۲-۱ ویژگی های عمومی فلز نقره ۳
۱-۲-۲ خواص نانوذرات نقره ۳
۱-۲-۳ کاربردهای مفید نانوذرات نقره در پزشکی ۴
۱-۲-۳-۱ خاصیت ضد باکتریایی ۴
۱-۲-۳-۲ خاصیت ضد قارچی ۶
۱-۲-۳-۳ انتقال دارو به بافت هدف ۶
۱-۳ فناوری نانو و سرطان ۷
۱-۳-۱ استفاده در تشخیص و درمان ۸
۱-۳-۲ نانوذرات چند منظوره برای تصویربرداری تومور ۱۰
۱-۴ پراکنش ذرات نانو در بدن ۱۱
۱-۴-۱ توزیع در دستگاه تنفسی ۱۱
۱-۴-۲ جابه جایی به سیستم گردش خون ۱۲
۱-۴-۳ جذب در دستگاه گوارش ۱۲
۱-۴-۴ جذب پوستی ۱۳
۱-۴-۴ جذب در سیستم اعصاب مرکزی ۱۳
۱-۵ اثرات سمی ۱۴
۱-۵-۱ مکانیسم احتمالی تاثیر نانو ذرات نقره در افزایش القای آپوپتوز ۱۵
۱-۶ آپوپتوز ۱۵
۱-۶-۱ اهمیت آپوپتوز ۱۶
۱-۶-۲ ویژگی‌های ریخت شناسی آپوپتوز ۱۷
۱-۶-۳ مکانیسم های مولکولی مسیرهای پیام‌رسان آپوپتوز- ۱۸
۱-۶-۳-۱ کاسپازها آغاز کنندگان مرکزی آپوپتوز ۱۸
۱-۶-۳-۲ خانواده Bcl_2 ..... ۱۹

عنوان **صفحه**

۱-۶-۳-۳ مسیرهای خارجی آپوپتوز تیپ I و تیپ II ۲۱
۱-۶-۳-۴ مسیر داخلی ۲۲
۱-۷ اهداف پژوهش ۲۵
۱-۸ اهمیت کار ۲۵

فصل دوم: مواد و روش ها

۲-۱ تجهیزات و دستگاه‌ها ۲۶
۲-۲ وسایل مورد نیاز ۲۷
۲-۲-۱ وسایل مورد نیاز جهت جراحی ۲۷
۲-۳ مواد مورد نیاز و نحوه ساخت ۲۷
۲-۳-۱ مواد مورد نیاز جهت جراحی ۲۷
۲-۳-۲ مواد مورد نیاز جهت استخراج RNA ۲۷
۲-۳-۳ مواد مورد نیاز جهت ژل الکتروفورز ۲۷
۲-۳-۳-۱ بافر Tris-HCL ۲۷
۲-۳-۳-۲ بافر الکتروفورز 10X TAE ۲۸
۲-۳-۳-۳ اتیدیوم بروماید ۲۸
۲-۳-۳-۴ رنگ لودینگ ۲۸
۲-۳-۳-۵ شناساگرهای اندازه DNA ۲۸
۲-۳-۴ مواد مورد نیاز جهت سنتز cDNA ۲۸
۲-۳-۵ مواد مورد نیاز جهت تکنیک Real time PCR ۲۹
۲-۳-۵-۱ پرایمر اختصاصی ۲۹
۲-۳-۵-۲ SYBR Green ۳۰
۲-۳-۵-۳ تیوب ویژه Real time PCR ۳۰
۲-۴ حیوانات آزمایشگاهی ۳۰
۲-۵ گروه بندی و تیمار رات‌ها ۳۲
۲-۶ محاسبه غلظت مورد نیاز نانو سیلور جهت تیمار رت ها ۳۲
۲-۷ جراحی ۳۲
۲-۸ استخراج RNA ۳۳
۲-۸-۱ شرح مراحل استخراج RNA ۳۳
۲-۸-۲ ارزیابی مقدار RNA استخراج شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر ۳۴

عنوان **صفحه**

۲-۹ سنتز cDNA ۳۴
۲-۹-۱ آماده‌سازی RNA ۳۴
۲-۹-۲ تعیین کیفیت ساخت cDNA با انجام واکنش PCR ۳۵
۲-۹-۲-۱ مواد لازم برای انجام واکنش PCR (کیت شرکت سیناژن) ۳۵
۲-۹-۲-۲ پروتکل دمایی و تعداد سیکل های PCR ۳۵
۲-۱۰ ژل الکتروفورز ۳۶
۲-۱۱ تنظیمات و روش انجام واکنش Real time PCR ۳۶
۲-۱۱-۱ ایجاد سریال رقت به منظور شناسایی رقت بهینه ۳۶
۲-۱۱-۲ آماده سازی نمونه های cDNA جهت واکنش Real time PCR ۳۷
۲-۱۲ آزمونهای آماری ۳۸

فصل سوم: نتایج

۳-۱ نتایج استخراج RNA ۳۹
۳-۲ نتایج ژل الکتروفورز محصولات PCR معمولی ۳۹
۳-۳ نتایج سریال رقت cDNA برای واکنش Real time PCR ۴۰
۳-۴ نتایج Real time PCR ۴۱
۳-۴-۱ منحنی‌های Real time PCR ۴۱
۳-۴-۲ منحنی دمای ذوب ۴۲
۳-۴-۳ پروفایل به دست آمده مربوط به ژن های Cas8، Bax و Bcl_2 ..... ۴۴
۳-۵ آزمونهای آماری ۴۴
۳-۶ نتیجه سنجش Real time PCR ۴۴

فصل چهارم

۴-۱ بحث ۴۸
۴-۲ پیشنهادات ۵۴
منابع و مآخذ ۵۵

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱ نمودار مقایسه اندازه برخی مولکول های زیستی ۳
شکل ۱-۲ مکانیسم فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات نقره ۵
شکل ۱-۳ استفاده از فناوری نانو در انتقال دارو به بافت هدف ۷
شکل ۱-۴ تصویر شماتیک پایه نانومتری ۹
شکل ۱-۵ تصویر شماتیک نانو ذره چندین عملکردی. ۱۱
شکل ۱-۶ مسیر ذرات نانو استنشاق شده به لوب بویایی ۱۴
شکل ۱-۷ مقایسه آپوپتوز و نکروز ۱۷
شکل ۱-۸ فعال شدن پروکاسپاز ۱۹
شکل ۱-۹ خانواده Bcl_2و تنظیم آپوپتوز ۲۱
شکل ۱-۱۰ فعال سازی کاسپازها با واسطه گری گیرنده ها و تشکیل کمپلکس Disc ۲۲
شکل ۱-۱۱ تشکیل کمپلکس آپوپتوزوم ۲۳
شکل ۱-۱۲ شمای کلی از مسیرهای داخلی و خارجی پیام رسان آپوپتوز ۲۴
شکل ۲-۱ جراحی نوزادان رت و جدا کردن مغز ۳۲
شکل۳-۱ تأیید استخراج RNA با استفاده از ژل الکتروفورز ۳۹
شکل ۳-۲ نتایج PCR پرایمرها برای انتخاب دمای بهینه ۴۰
شکل ۳-۳ سریال رقت cDNA ۴۰
شکل ۳-۴ نمایش منحنی‌های Real time PCR مربوط به ژن Cas8 ، ژن خانه‌گردان Gapdh و کنترل منفی یا NTC ۴۱
شکل ۳-۵ منحنی ذوب ژن خانه‌گردان Gapdh ، عدم تشکیل. محصول نا مطلوب و پرایمر دایمر ۴۲
شکل ۳- ۶ منحنی ذوب ژن Cas8، عدم تشکیل محصول نا مطلوب و پرایمر دایمر ۴۳
شکل ۳- ۷ منحنی ذوب ژن Bax، عدم تشکیل محصول نا مطلوب و پرایمر دایمر ۴۳
شکل ۳- ۸ منحنی ذوب ژن Bcl_2، عدم تشکیل محصول نا مطلوب و پرایمر دایمر ۴۴
شکل ۳- ۹ بیان نسبی ژن Cas8 در غلظت های PPM 1و 10PPM برای جنس نر در مقایسه با کنترل ۴۵
شکل ۳- ۱۰ بیان نسبی ژن Bax در غلظت های PPM 1و 10PPM برای جنس نر در مقایسه با کنترل ۴۵
شکل ۳- ۱۱ بیان نسبی ژن Bcl_2 در غلظت های PPM 1و 10PPM برای جنس نر در مقایسه با کنترل ۴۶

شکل ۳- ۱۲ بیان نسبی ژن Cas8 در غلظت های PPM 1و 10PPM برای جنس ماده در مقایسه با کنترل..... ۴۶
شکل ۳- ۱۲ بیان نسبی ژن Bax در غلظت های PPM 1و 10PPM برای جنس ماده در مقایسه با کنترل..... ۴۶
شکل ۳- ۱۲ بیان نسبی ژن Bcl_2 در غلظت های PPM 1و 10PPM برای جنس ماده در مقایسه با کنترل..... ۴۷

فهرست جدول‌ها

عنوان **صفحه**

جدول ۲-۱ دستگاههای مورد نیاز ۲۶

جدول ۲-۲ پرایمر های طراحی شده ۲۹

جدول ۲-۳ پارامترهای فیزیولوژیکی موش صحرایی ۳۱

فصل اول

مقدمه

۱-۱- فناوری نانو

۱-۱-۱-تاریخچه

اگر چه فناوری‌نانو[1]به عنوان یک علم مدرن شناخته می‌شود، ولی سابقه بسیار طولانی دارد. پیش‌بینی حوزه فناوری نانو برای اولین بار در سال ۱۹۵۹ توسط ریچاردفیمن[2]با سخنرانی معروف خود تحت عنوان"فضای زیادی در پایین وجود دارد[3]" صورت گرفت. ساخت اولین دستگاه‌های زیراکس و توانایی بالقوه انسان در ساخت ماشین‌های کوچک از جمله پیشرفت‌های مهم در این سال می‌باشد. نوریوتانگوچی[4]دانشمند ژاپنی در سال۱۹۷۴در یک کنفرانس برای اولین بار از واژه فناوری‌نانو استفاده کرد. طبق تعریف او، فناوری‌نانو پردازش، جداسازی، تثبیت و تغییر شکل مواد در سطح اتم یا مولکول است.فناوری‌نانو به طور فوق العاده در سال ۱۹۸۱ با کشف فلورن[5]مطرح شد. نهایتاً در سال ۱۹۹۸ بود که پتانسیل این فناوری برای ایجاد تحول در قرون آینده مورد توجه جدی قرار گرفت(Ernest and Shetty, 2005; Pal and Nayak, 2010)

۱-۱-۲-تعاریف و کاربردهای آن

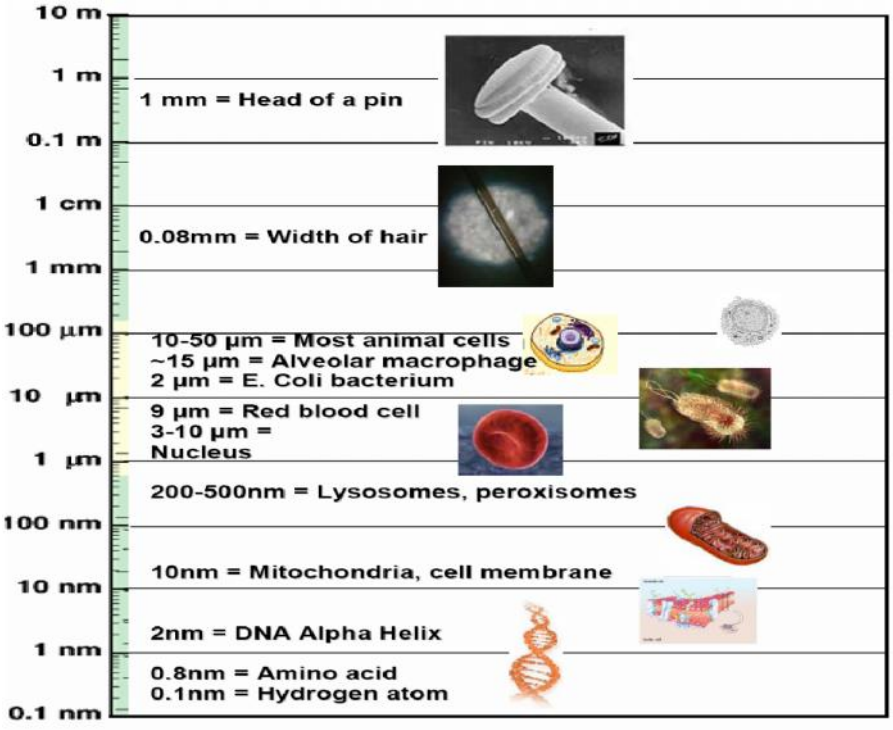
فناوری‌نانو طراحی، تولید و کاربرد ساختارها و دستگاه‌ها در مقیاس نانومتر می باشد. به عبارت دیگر دستکاری خواص فیزیکی و شیمیایی یک ماده در سطح اتم یا مولکول (در مقیاس زیر ۱۰۰نانومتر) تحت عنوان فناوری‌نانو، نامیده می‌شود(Pal and Nayak, 2010). دانش نانو[6]به مطالعه پدیده‌های مشاهده شده در سیستم‌هایی

---

1 - Nanotechnology
2 -Richard Feyman
3 -There is plenty of room at the bottom
4 -Norio Tanguchi
5-Fullerenes
6 -Nanoscience

می‌پردازد که ابعادشان در حدود چند نانو است و در واقع خواص آن‌ها ناشی از اندازه نانومتری آن‌ها می‌باشد (Mukhopadhyay et al, 2009). فناوری‌نانو زمینه فکری انسان را تغییر داده است، در این علم مرز بین فیزیک، شیمی و زیست نامشخص است، این زدودن مرز چالش‌های بسیاری را مطرح می‌کند و به تحقیقات سویه جدیدی می‌دهد(Ernest and Shetty, 2005). یک نانومتر واحد طولی برابر با یک میلیاردم متر($۱۰^{-۹}$) است. این اندازه تقریبا، ۱۰ برابر قطر یک اتم هیدروژن می‌باشد. برای درک مفهوم این مقیاس بهتر است بدانیم، پهنای یک مولکول DNA ۲/۵ نانومتر و یک پروتئین حدود ۵ نانومتر می باشد. همچنین اندازه سلول‌های خونی انسان ۷۰۰۰ نانومتر و قطر موی انسان ۸۰۰۰ نانومتر است(Ernest and Shetty, 2005; Senjen, 2009). مقیاس نانو از اهمیت بالایی برخوردار است، به طوری که با تولید ساختارهایی در مقیاس نانومتر امکان کنترل خواص ذاتی مواد از جمله دمای ذوب و رنگ مواد بدون تغییر در ترکیب شیمیایی آن وجود دارد (Borm et al , 2006). از آن‌جا که ساختارهای نانو دارای نسبت سطح به حجم بالایی هستند، خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خارق‌العاده‌ای از خود نشان می‌دهند. به خاطر این خصوصیات، امروزه استفاده از آن‌ها در زمینه‌های مختلف به طور چشمگیری گسترش یافته است، که چند مورد از آن ذکر می‌شود. در زمینه پزشکی برای انتقال دارو به بافت هدف[1]، تشخیص و درمان بسیاری از بیماری‌های صعب العلاج استفاده می‌شود(Bhaskar et al 2010,). امروزه استفاده از فناوری نانو در مواد بهداشتی و آرایشی نیز گسترش یافته است، به‌طوری که کرم‌های ضدآفتابی محتوی دی اکسید تیتانیوم[2]ویا اکسید روی[3]تولید شده است و توانایی بالقوه آن‌ها در شکست اشعه ماوراء بنفش باعث محافظت پوست می‌شود(Moaddab et al , 2011). در زمینه کشاورزی نیز مصرف بی رویه آفت کش‌ها اثرات سویی بر سلامتی انسان و محیط زیست می‌گذارد. امروزه با پیشرفت چشم‌گیر در زمینه فناوری‌نانو داروهای هوشمندی در ابعاد نانو تولید شده است و به بخش خاصی از گیاه که مورد حمله آفت است وارد می‌شود، در نتیجه، از بروز اثرات سمی جانبی، جلوگیری می‌کند(Greulich et al , 2009; Joseph and Morrison, 2006).

1 -Drug delivery
2 -TiO2
3 -ZnO



شکل ۱-۱، نمودار مقایسه اندازه برخی مولکول‌های زیستی (Carlson, 2006).

۱-۲-نانو ذرات نقره

۱-۲-۱-ویژگی‌های عمومی فلز نقره

نقره یکی از عناصر اساسی تشکیل دهنده سیاره زمین است، عنصر کم‌یابی که، کمی سخت‌تر از طلا و بسیار رسانا و چکش‌خوار می باشد. نقره خالص نسبت به سایر فلزات دارای بالاترین رسانایی الکتریکی و گرمایی و پایین ترین مقاومت را نسبت به تماس دارد. در محیط زیست، نقره همراه با یون‌های دیگری نظیر سولفید یا بی-کربنات یافت می‌شود. فلز نقره به خودی خود در آب نامحلول است، اما نمک‌های فلزی آن نظیر نیترات نقره[1] و کلرید نقره[2] محلول در آب هستند(Elechiguerra et al , 2005; Fries et al , 2010).

۱-۲-۲-خواص نانوذرات نقره

نانوذرات نقره ساختارهایی در اندازه نانوهستند، که از اتم‌های نقره‌ای که با یکدیگر اتصالات فلزی دارند تشکیل یافته‌اند . نانوذرات از نظرریخت‌شناسی به صورت میله‌ای، کروی، مکعبی و سیمی هستند و اندازه‌ی آن‌ها نیز در رنج ۱۰۰-۱ نانومتر می‌باشد. مشخصه اصلی نانو ذرات نقره اندازه بسیار کوچک آن‌هاست، این اندازه کوچک منجر به ایجاد سطح وسیعی در هر توده می‌شود و در نتیجه اتم‌های زیادی در تماس فوری با محیط قرار

1 -AgNO3
2 -AgCl

می‌گیرند و برای انجام واکنش قابل دسترس می‌باشند. برای مثال واکنش‌های نانوذرات نقره با باکتری‌ها و ویروس‌ها به خاطر اندازه بسیار کوچک و شکل خاص آنها است. اندازه‌ی کوچک آن‌ها همچنین باعث می‌شود، این ذرات تحرک زیادی داشته باشند(Asharani et al , 2009; Wang and Dortmans, 2004). از جمله خواص نانوذرات نقره می توان به پایداری و استحکام زیاد ، قابلیت تحمل شرایط سخت ، بالا بودن مقاومت حرارتی و خاصیت ضد باکتریایی آن اشاره کرد. در واقع خاصیت ضد باکتریایی نانوذرات نقره از مهم ترین خواص آن‌ها می باشد، که استفاده بالینی از این ذرات را در بیمارستان‌ها و در درمان بسیاری از بیماری‌ها از جمله سوختگی فراهم کرده است (Wijnhoven et al , 2009).

۱-۲-۳- کاربردهای مفید نانوذرات نقره در پزشکی

به اعتقاد بقراط پدر طب مدرن نقره برای درمان بسیاری از بیماری‌ها می تواند مفید باشد. فناوری نانو زمینه ای فراهم کرده است که ذرات نقره با اندازه‌ای در مقیاس نانو، جای‌گزین ذرات بزرگ‌تر شوند و به خاطر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی منحصر به فردی که دارند از جمله فعالیت‌های ضد باکتریایی، ضدقارچی، ضد ویروسی، و ضد التهابی، توانایی این را دارند که مانند یک سلاح به جنگ با عفونت‌ها روند (Vaidyanathan et al , 2009). نانوذرات نقره همچنین در محصولات تجاری پزشکی به کار می رود. ابزارهای قابل پیوند[1] یکی از پر خطرترین فاکتورها برای انتقال عفونت در بیمارستان‌ها می‌باشد. نوعی از این ابزارها به طور کامل در بدن بیمار جای‌گذاری می‌شود و انواع دیگر بخشی در داخل بدن و قسمتی در معرض محیط خارجی قرار می‌گیرد. در طول مراحل جایگزینی نوع اول، امکان انتقال عفونت وجود دارد، بنابراین مصرف آنتی بیوتیک‌ها در روزهای آغازین بعد از عمل جراحی الزامی است. در مقابل وسائلی مانند لوله‌های ظریف وریدی[2] به طور مداوم در معرض محیط خارجی قرار دارند و امکان انتقال باکتری‌ها و خطر بروز عفونت بسیار زیاد است. بنابراین نانوذرات نقره به عنوان یک پوشش ضدمیکروبی در سطح این لوله‌های ظریف، باعث محافظت در مقابل طیف وسیعی از باکتری‌ها به مدت طولانی و جلوگیری از بروز اثرات سمی جانبی می‌گردد(Casals et al , 2008; Chaloupka et al., 2010).

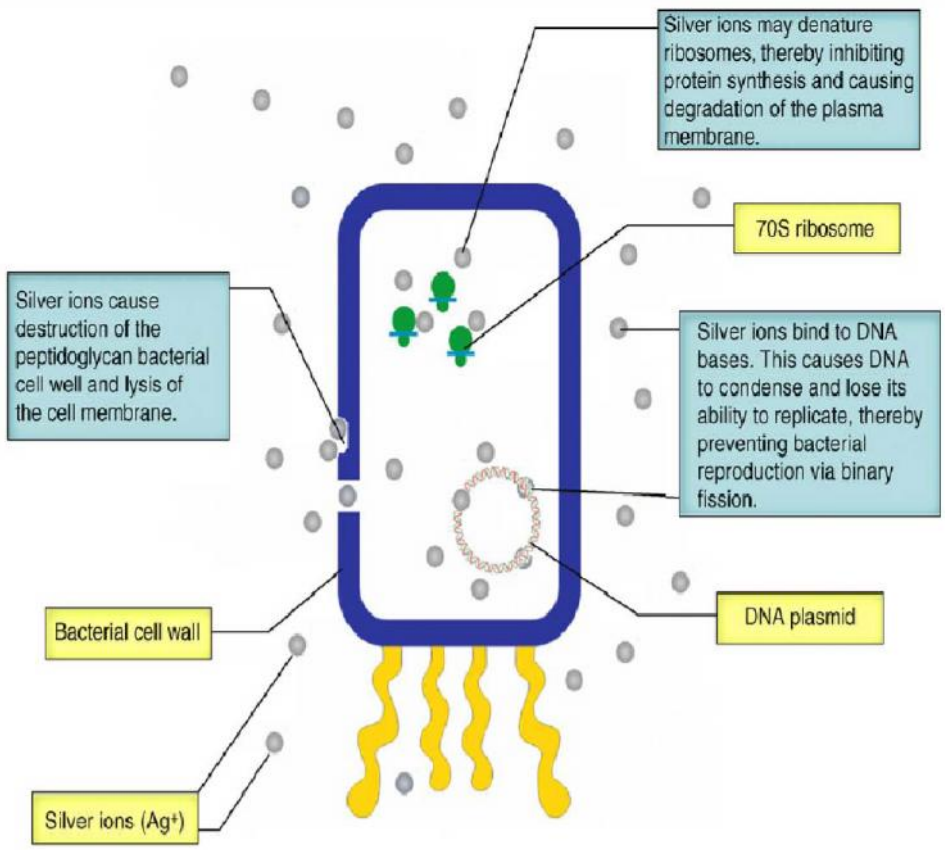
۱-۲-۳-۱-خاصیت ضد باکتریایی

نانوذرات نقره برای از بین بردن طیف وسیعی از باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی و باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک کاربرد دارد. مطالعات اخیر نشان می‌دهد، نانوذرات نقره با قطر ۳۲-۵ نانومتر، باعث افزایش قدرت ضدباکتریایی انواعی از آنتی بیوتیک‌ها می‌شود. مثلاً قدرت ضد باکتریایی پنی سیلین G بر علیه استافیلوکوکوس آرئوس در حضور نانوذرات نقره افزایش می‌یابد. میزان خاصیت ضدباکتریایی نانوذرات نقره، بستگی به اندازه‌ی آن‌ها دارد. نسبت سطح به حجم زیاد و اندازه‌ی نانومتری آن‌ها باعث می‌شود در غلظت‌های خیلی کم نیز خاصیت ضدباکتریایی از خود نشان دهند (Melaiye and Youngs, 2005; Senjen, 2007). مکانیسم

---

1 -Implantable device
2- Venos catheters

اثر ضدباکتریایی نانوذرات به طور کامل شناخته نشده است، اما با توجه به مطالعات اخیر پیشنهاد شده که نانو ذرات نقره از طریق تداخل با پپتیدوگلیکان دیواره باکتری‌ها، همچنین تعامل با DNA و پروتئین‌ها خصوصاً آنزیم‌های اساسی در فرآیند انتقال الکترون، خاصیت میکروب‌کشی خود را اعمال می‌کنند. نانوذرات نقره همچنین با پیوند به عوامل سطحی غشا و آسیب به عملکرد آن باعث کشتن باکتری‌ها می‌شود. نانوذرات با مهار بسیاری از آنزیم‌ها، باعث ایجاد اختلال در زنجیره تنفسی و فرآیند تولید ATP می‌گردد. همچنین این ذرات از طریق مداخله با همانند سازی DNA، منجر به از بین رفتن ساختمان باکتری می‌شوند (Chaloupka et al., 2010; Foldbjerg et al , 2011). خاصیت میکروب‌کشی نانو ذرات نقره، در منسوجات پزشکی نیز کاربرد فراوان دارد، مثلاً پارچه‌های استریل که بر روی زخم‌های آلوده به انواع میکروارگانیسم‌ها قرار داده می‌شود با نانوذرات نقره غنی‌سازی می‌شوند. بنابراین، برای کاهش یا پیش‌گیری از عفونت ، نانوذرات نقره در پنبه‌ها و پارچه‌های ابریشمی همه منسوجات پزشکی کاربرد دارد(Kim et al , 2010; Vaidyanathan et al , 2009).



شکل ۱-۲، مکانیسم فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات نقره (Chaloupka et al , 2010).

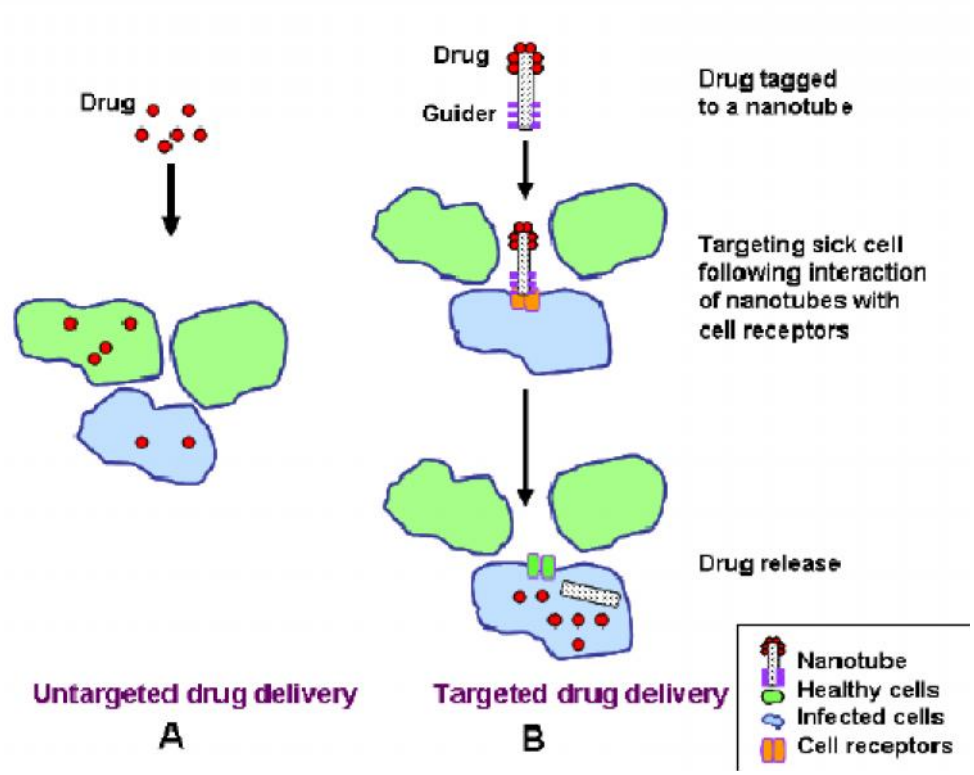
۱-۲-۳-۲-خاصیت ضد قارچی

عفونت‌های قارچی در سال‌های اخیر به یکی از شایع ترین نوع عفونت‌ها تبدیل شده است. اخیراً با مطالعاتی که در آزمایشگاه صورت گرفته، ثابت شده است نانوذرات نقره بر روی طیف وسیعی از انواع قارچ‌ها موثر هستند. نانوذرات نقره با تشکیل حفره در دیوار سلولی و غشا پلاسمایی، خاصیت ضد قارچی خود را اعمال می-کنند. با مطالعاتی که بر روی چرخه سلولی قارچ‌ها صورت گرفته است، ثابت شده با حضور نانوذرات نقره درصد سلول‌ها درفاز G2/M ۱۵٪ افزایش یافته است، همچنین درصد سلول‌ها در فاز G1 ، ۲۰٪ کاهش یافته است (Vaidyanathan et al , 2009; Wijnhoven et al , 2009).

۱-۲-۳-۳-انتقال دارو به بافت هدف

یکی از کاربردهای مهم، فناوری نانو در زمینه پزشکی، استفاده از آن درانتقال دارو به بافت هدف[1] می‌باشد. فناوری نانو از طریق بهبود حلالیت داروها و افزایش سرعت رهاسازی آن‌ها، مسیرهایی برای انتقال دارو فراهم می‌کند، که توان درمانی داروها را به نحو شگفت انگیزی بالا می‌برد. کپسوله کرن داروها توسط نانوذرات، از تجزیه شدن آنها جلوگیری می‌کند، بنابراین از بروز اثرات سمی جانبی ، ناشی از باز شدن کپسول‌ها در مسیر رسیدن به بافت هدف ممانعت می‌شود. پژوهش‌ها در این زمینه نشان می‌دهد، اگر مواد مورد استفاده در ساخت کپسول دارو، دربرگیرنده ذرات نانو کمتر از ۱۰۰ نانومتر باشد، به علت بالا رفتن نسبت سطح به حجم، اندازه حفره‌های جداره کپسول کوچکتر شده و کپسول از قدرت حلالیت بهتری برخوردار می‌شود. این مزیت‌ها باعث ارتقا قابلیت نفوذ و پخش دارو توسط کپسول می‌شود. ذرات نانو قابلیت گذر از غشاهای غیر قابل نفوذ از جمله سد مغزی-خونی[2] رانیز دارند. به خاطر همین برای انتقال دارو به مغز و درمان بسیاری از بیماری‌های صعب‌العلاج می تواند مفید واقع شود (Navalakhe and Nandedkar, 2007).

1 -Drug delivery
2 -Blood-brain barrier



شکل ۱-۳، استفاده از فناوری نانو در انتقال دارو به بافت هدف (Suri et al , 2007).

۱-۳-فناوری‌نانو و سرطان

امروزه، سرطان یکی از بیماری‌های صعب العلاج رایج در جهان است. با پیشرفت‌هایی زیادی که در زمینه فناوری نانو صورت گرفته است، راه‌های جدیدی هم برای تشخیص و هم برای درمان این بیماری فراهم شده است. مکانیسم تاثیر ذرات نانو برسلول‌های سرطانی بسیار پیچیده است. هر چقدر اندازه نانو ذرات کوچکتر باشد، با کارایی بهتری به گیرنده‌هایی که بر سطح سلول‌های سرطانی وجود دارد پیوند می خورند. همچنین ذرات با اندازه ۲۰-۵ نانومتر اثرات سمی جانبی کمی بر سلول‌های اطراف می گذارند. به دلیل تفاوت‌های ریخت شناسی که بین سلول‌های سرطانی و سایر سلول‌ها وجود دارد، ذرات نانو قادر به تشخیص آن‌ها می باشند و به طور خاص به سمت سلول‌های سرطانی حرکت می‌کنند. بنابراین نانوذرات با پیوند به گیرنده‌های ناشناخته‌ای که بر سطح سلول وجود دارد، باعث مهار فسفریلاسیون PI3/AKT و در نتیجه منجر به آپوپتوز می‌شوند. نانو ذرات با برنامه-ریزی مسیرهای مرگ سلولی منجر به فعال سازی کاسپاز ۳ (آخرین کاسپاز در مسیر آبشار کاسپازی) می‌شوند. فعال‌سازی آبشار کاسپازی یا از طریق گیرنده‌های مرگ و یا از طرق کمپلکس آپوپتوزوم واسطه‌گری می‌شود و در نهایت باعث رها شدن سیتوکروم c از میتوکندری و مرگ سلول می‌شود. آنژیوژنز نیز یکی از فرآیندهای

زیستی مهم می‌باشد، که علاوه بر شرایط فیزیولوژیک در بسیاری از بیماری‌ها نظیر سرطان نیز رخ می‌دهد. پیام-های VEGF[1] در وضعیت فیزیولوژیکی این فرآیند، بستگی به تعادل بین فاکتورهای رشد و فاکتورهای مهار کننده رشد دارد. گیرنده‌های تیروزین کینازی بین غشایی با لیگاندهای خود در خارج سلول پیوند خورده و باعث فعال شدن آبشاری از پروتئین‌ها می شوند و در نهایت، منجر به دایمر شدن و اتو فسفریلاسیون گیرنده‌های تیروزین کینازی داخل سلول می‌شوند. VEGFA سایتوکینینی است که نقش اساسی در فرآیند آنژیوژنز ایفا می‌کند. این گلیکوپروتئین ترشحی نقش خود را از طریق تداخل با گیرنده‌های سطح سلول ایفا می‌کند. دایمریزه شدن گیرنده‌ها منجر به فعال سازی آنها و سپس اتوفسفریلاسیون تیروزین‌های بافتی باقی مانده می‌شود و در نهایت منجر به فعال سازی پیام‌های آبشاری داخل سلولی می‌شود. ذرات نانو از طریق اتصال به لیگاندهای مخصوص بافت که به سمت سلول سرطانی حرکت می‌کنند و با اتصال به گیرنده‌های VEGFA ، باعث مهار همه یا بعضی از کینازها در پیام‌های داخل سلولی می‌شوند و به همین دلیل به عنوان یک عامل آنتی‌آنژیوژنز شناخته می‌شود (Ferrari, 2005; Wang et al , 2008).

۱-۳-۱- استفاده در تشخیص و درمان

ابزارهای نانو نظیر پایه نانومتری[2] توانایی تشخیص مولکول‌های سرطانی و تغییرات آنها را حتی با درصد بسیار کمی در سلول دارند. این امکان باعث تشخیص زود و به هنگام سرطان و اعمال روش‌های درمانی مناسب می-شود. پایه یا سگدست میله‌هایی بسیار ریز نانومتری هستند که انتهای آن‌ها را می‌توان طوری طراحی کرد که توانایی پیوند به مولکول‌های سرطانی را داشته باشد، مثلا به آنتی‌بادی‌های مخصوص مجهز باشد. زمانی که این میله‌ها به مولکول‌های سرطانی متصل می‌شوند، تغییراتی در کشش سطحی آنها به وجود می‌آید که منجر به خمیده شدن میله شده، روی صفحه کامپیوتر جایی که میله خم شده است، دقیقاً همان جایی است که سلول سرطانی وجود دارد. نقطه‌های کوانتومی [3] قادر به تشخیص تغییرات DNA در بدن می‌باشد. نقطه‌های کوانتوم، کریستال‌های کوچکی هستند که وقتی با نور UV تحریک شوند، رنگ‌هایی از آنها ساطع می‌شود که طول موج و رنگ نور ساطع شده بستگی به سایز کریستال دارد. کریستال‌ها می‌توانند طوری طراحی شوند که به توالی‌های خاصی از DNA متصل شوند. ذرات معلق در یک لاتکس[4] می‌توانند از کریستال‌هایی پوشیده شوند که هرکدام به توالی‌های DNA مخصوص به خود، پیوند خورده اند. زمانی که این کریستال‌ها با نور تحریک شوند، رنگ‌هایی از آنها ساطع می‌شود که نوع رنگ، نشان‌گر نوع کریستال و توالی درون آن می‌باشد. برای تشخیص سلول‌های سرطانی می‌توان ذراتی طراحی کرد که محتوی کریستال‌های ویژه‌ای باشند و به توالی‌های خاصی از DNA در سلول‌های سرطانی متصل شوند (Ehdaie, 2007; Navalakhe and Nandedkar, 2007). با

1- Vascular endothelial growth factor
2 Cantilever
3-Tool Quantum dot
4-Latex bead