

دارو رسانی با "باکتری ها" روش نوینی در گسترش دانش دارو رسانی

دارورسانی چیست ؟

به تمام روش هایی که بتوان از راه آنها ذرات دارویی را به بدن رساند، به طوری که این ذرات بتوانند در بدن فعال شوند، دارورسانی گفته می شود. در همین راستا دارو باید به مقدار کافی (دوز معین) و به طور کنترل شده ای به بدن برسد تا بتوان درمان موثری را برای بیمار پیش بینی کرد.

روش های زیادی برای این کار وجود دارند. از این میان متداول ترین آنها می توان به قرص ها و کپسول ها اشاره کرد. همچنین داروهای تزریقی نیز نقش مهمی در دارورسانی دارند. با این حال در تمام این راه ها داروها ممکن است در کنار پیش بردن راه درمان مناسب، عوارضی نیز داشته باشند که در برخی موارد این عوارض باعث بروز آسیب های جدی به بدن می شوند، مانند داروهای شیمی درمانی که آسیب های زیادی به بافت های سالم بدن می رسانند. به همین علت در علم دارورسانی مدرن استفاده از باکتری ها به عنوان حمل کننده های ذرات دارویی به بدن پیشنهاد شد.

در این بررسی، بهره گیری از باکتری ها برای ترابری نانو ذرات و دارو ها به بخش های گونه گون بدن، بررسی شده است. در پژوهش های انجام شده، از باکتری های متفاوتی برای آزمایش این کار استفاده شده، که برجسته ترین آن ها روی E.coli و Listeria Monocytogenes بوده است. روی هم رفته در سه روش بررسی شده، ذرات مورد نظر (نانو ذرات) با روش های مختلف روی این باکتری ها سوار شده اند. ارزشمندی ویژه بودن به کارگیری از E.coli برای رساندن داروهای شیمی درمانی به سلول های سرطانی، می تواند در آینده ای نزدیک مایه ی دگرگونی بزرگی در شاخه ی دارورسانی شود.

پیش گفتار

تا کنون، بدست آوردن یک سیستم بسیار ویژه برای دارورسانی به بدن، در دانش پزشکی از نگرانی های بزرگ این شاخه به شمار می آید. یک سیستم دارورسانی کنترل شده و ویژه، پزشکان را توانمند می سازد که بتوانند دارو را با دوزی شناخته شده و دقیق، به دور از هرگونه افزایشی که به دیگر بافتهای بدن آسیب برساند، و به گونه ای کارا تر به جایگاه ویژه و دلخواه در بدن بفرستند. در این باره هم بازدهی درمان افزایش پیدا می کند و هم بیمار کمتر در برابر اثرهای جانبی دارو قرار می گیرد. در همین راستا، ایده ی استفاده از باکتریها برای این کار مطرح شد. باکتری ها میکروارگانیسم هایی هستند که در حالت عادی به گونه ی بی شمار در بدن انسان وجود دارند، و بسیاری از آنها نیز برای بدن سودمند بشمار می آیند، برای نمونه: پروبیوتیک ها در روده که به هضم مواد غذایی کمک می کنند، همچنین هر کدام از این باکتری ها در بدن انسان دارای زیست بوم ویژه خود می باشند (با اینکه می توانند در تمام نقاط بدن حضور داشته باشند، حضور آنها در برخی نقاط ویژه بدن بیشتر است) پس به محض ورود به بدن به سمت زیست بوم خود می روند، پس از این ویژگی ها می توان برای رساندن دارو به مناطق دلخواه در بدن استفاده کرد. به طوری که دیگر بافتهای بدن کمترین صدمه را ببینند.

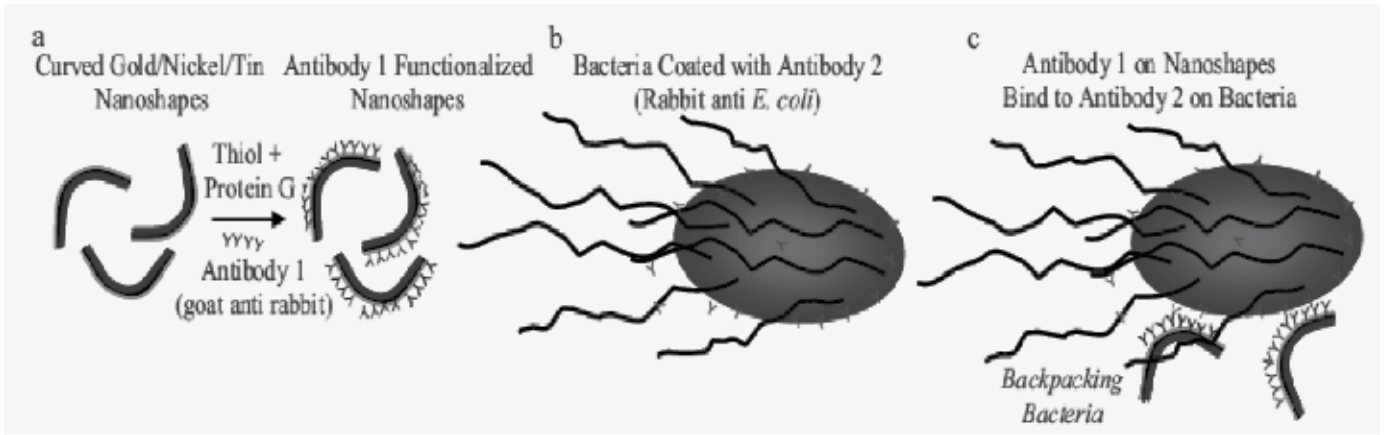


Figure 1) Two antibody scheme for assembling backpacking bacteria on curved nanoshapes. (a) Curved gold/nickel/tin nanoshapes are coated with Antibody 1 (goat anti rabbit antibody) using thiol chemistry and protein G. (b) Bacteria are coated with antibody 2 (rabbit anti E. coli). (c) Antibody 1 on nanoshapes binds to Antibody 2 coating bacteria.

ندارد تا بتواند دارویی را که وارد خون شده را به آن نقاط برساند، البته داروهای تزریقی هم شامل این محدودیت ها هست. همچنین برخی از دارو ها بعد از وارد شدن به بدن می توانند دچار تغییراتی در ساختارشان شوند که به کلی ویژه ی آنها را تغییر دهد. در بدن ما به طور عادی میلیون ها باکتری (Non Pathogenic) در حال زیستن هستند و وجود برخی گونه های آن ها در بدن نقش مهمی ایفا می کنند. هر کدام از این باکتری ها در بدن ما زیست بوم مخصوص به خود دارند. در واقع برتری که بردارهای حامل دارو (Bacterial Drug Vectors) نسبت به قرص ها در بدن دارند در طبیعت و ماهیت خود باکتری است که هر کدام در زیست بوم خود دارند. برای مثال باکتری *Escherichia coli* بعد از اینکه وارد بدن می شوند (از راه دهان (Oral)) در پایین روده جمع می شوند. این باکتریها طی میلیونها سال نمو داشته اند و تریلیون ها بار رونوشت برداری شده اند تا بتوانند در محیط روده زنده بمانند، مواد مغذی جمع کنند و در مقابل سیستم ایمنی بدن (Host Defences) دوام بیاورند. اگر احتیاج باشد دارویی مستقیماً به روده رسانده شود انتخاب *E. coli* می تواند انتخاب به جایی باشد، یعنی "دارورسانی ویژه محل" (Site Specific Drug Delivery). یکی از فواید بارز دارورسانی ویژه محل، کمتر شدن اثرات جانبی دارو ها در بدن توسط داروهای وارد شده است برای مثال استروئیدهای کاتابولیک (Catabolic Steroids) که می توانند برای یک عضو از بدن مفید واقع شوند، و باید از راه دهان (Orally) وارد بدن شوند، می توانند باعث بروز عوارض جانبی زیادی مانند افزایش فشار خون، افزایش وزن، کاهش حجم توده های عضلانی، حساس تر شدن بدن نسبت به عفونت ها، در استفاده ی طولانی مدت از آنها شوند. علاوه بر این عوارض جانبی هنگامی بروز می کنند که محل ورود آنها خون باشد و خون نیز در تمام بدن پخش شده و استروئیدها را به تمام نقاط

استفاده از باکتری به عنوان بردار حامل دارو

حال این سوال پیش می آید که چرا از باکتری که عامل خیلی از بیماری هاست و باعث ترس و وحشت افراد می شود به عنوان بردار حامل دارو استفاده کنیم؟ آیا استفاده از قرص ها و کپسول ها ایمن تر و مقرون به صرفه تر نیست؟

کپسول ها از زمان تولید آنها در سال ۱۸۳۴ تا کنون در حال استفاده هستند. سیستم آنها طوری است که ذرات دارویی در داخل یک محیط Functionally important مانند روغن با مقادیر ترکیبی مشخص قرار می گیرند، که دارای دوز مشخص نیز می باشند. این مواد دارویی در داخل یک پوشش با پوسته ی پایدار هستند که این پوشش (که معمولاً از پلیمرهای ویژه ی ساخته می شود) در بدن حل شده و داروی داخل آن آزاد می شود. به طوری که گفته شد روش دیگر استفاده از قرص ها است، که همچنان موثرترین روش در دارورسانی نمی باشند. علاوه بر این در بدن ما نقاطی وجود دارند که سیستم خونرسانی بدن به آن ها دسترسی

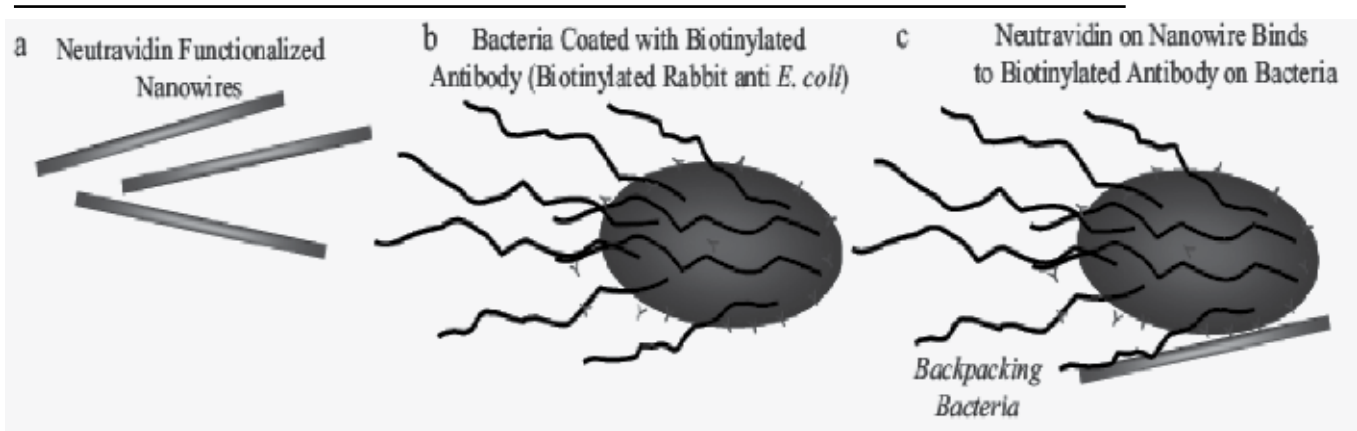


Figure 2) Dual binding scheme for assembling backpacking bacteria on gold nanowires. (a) Neutravidin coated nanowires. (b) Bacteria are coated with biotinylated antibody (biotinylated rabbit anti *E. coli*). (c) Neutravidin on nanowires binds to biotin on the antibody coating the bacterial surface.

خطرات دارورسانی با باکتری

با این که دارورسانی توسط باکتری ایده ای نو و جذاب است، با این حال فکر حضور یک باکتری خطرناک و زنده در بدن ممکن است برای بسیاری از افراد ترسناک باشد. همچنین اگر سیستمی که توسط آن دارو به بدن می رسد طوری طراحی شود که ذرات دارویی در داخل باکتری قرار گیرند، در این صورت هنگام پاره شدن غشا فسفولیپیدی تمام محتوای داخل سلول نیز به همراه ذرات دارو وارد محیط سلول شوند که می توانند شامل مواد شیمیایی باشند که خود آنها می توانند به عنوان محرک عمل کرده و باعث شوند بدن نسبت به آنها حساسیت نشان دهد. البته دنگرای های دیگر وجود *endotoxin* های موجود در غشا فسفولیپیدی است، که می توانند باعث بروز مشکل شوند. بخصوص *endotoxin* های موجود در غشا باکتری های گرم منفی که عامل اصلی بیماریزا بودن این باکتری ها هستند، که باعث بروز شوک عفونی می شوند، پس مشکل *endotoxin* ها باید قبل از هرگونه آزمایش *Invivo* حل شوند.

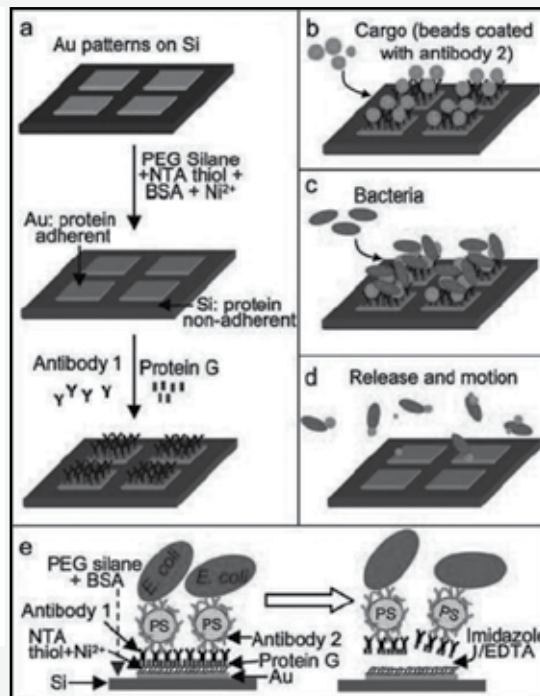
بدن - حتی به جاهایی که نباید بروند - می رساند، پس اگر بتوان استروئیدها را مستقیماً به محل مورد نیاز آن وارد کرد، نه تنها این، بلکه در کل مقدار دوزی که سلول ها احتیاج دارند کمتر از آنی است که توسط قرص یا تزریق وارد بدن می شوند، پس در صورت استفاده از باکتری برای رساندن آنها می توان از دوز کمتری استفاده کرد و اثرات جانبی دارو را به حداقل و یا حتی به صفر رساند. یک مثال دیگر، استفاده از آنتی بیوتیک هایی است که برای درمان عفونت های مختلف در بدن استفاده می شوند، استفاده از دوزهای بالای آنتی بیوتیک ها باعث از بین رفتن *Gut flora*، قبل از حل شدن آن در جریان خون می شود. *E.coli* vector ها نه تنها قادر هستند دارو را با دوز کمتر (دوز مورد نیاز) حمل کنند، بلکه دارو را به محل مورد نظر در روده می رسانند که در نتیجه ی آن صدمه کمتری به باکتری همزیست آن یعنی *Gut flora* وارد می شود. پس قابلیت رسیدن باکتری به محل مورد نظر برای دارورسانی ویژگی است که از آنرا از دیگر روش ها متمایز می کند، در نتیجه آسیب کمتری به دیگر بافت های بدن وارد می کند، به همین دلیل پروسه درمان موثر تر خواهد بود. البته فقط *E.coli* نیست که می توان از آن استفاده کرد، باکتری های دیگر با زیست بوم های مختلف در بدن وجود دارند که می توان برای دارورسانی از آنها استفاده کرد برای مثال *Haemophilus influenza* که در قسمت بالای اندام تنفسی قرار دارند (*Upper respiratory*). باکتری دیگری که جالب توجه است *Staphylococcus aureus* است که به عنوان کلون کننده ی غشاهای مخاطی شناخته شده. هر دو این باکتری ها مشخصه های زیستی مختلفی دارند که می توان از آنها برای رساندن دارو به مناطق مختلف بدن استفاده کرد. اما در کل از هر باکتری غیر بیماریزایی که دارای آفینیتته بالا برای رسیدن به محل مورد نظر است می توان استفاده کرد.

◆ استفاده از E.coli و روش Backpacking Bacteria

در این روش دو نوع ذره ی مختلف - نانو ذرات طلا و نانو سیم های طلا - به دو روش مختلف روی باکتری سوار می شوند . از دو نوع آنتی بادی استفاده می شود، آنتی بادی ۱ روی نانو ذرات طلا قرار می گیرند . آنتی بادی ۲ روی باکتری ها قرار می گیرد ، سپس در حین تماس نانو ذرات و باکتری دو آنتی بادی به هم متصل شده و به این ترتیب ذرات روی باکتری سوار می شوند .

Figure 3) Schematic of the selective attachment and release of cargocarrying bacteria from patterned surfaces. a) Au-patterned Si substrate.

The substrate is treated so that Au becomes his-tag protein adherent (via thiolation with NTA thiol and treatment with Ni²⁺ ions) while Si is protein non-adherent (via PEG silanization and blocking with BSA). The Au surface is further functionalized with protein G and antibody 1 (a cargo-specific antibody; goat anti-rabbit IgG). b) Cargo beads coated with antibody 2 (rabbit anti- E. coli IgG) are then introduced causing them to bind to the antibodies on the Au patterns. c) Bacteria (E. coli) then specifically attach to the beads and d) motile bacteria-cargo conjugates are released on-demand using either imidazole or EDTA. e) Schematic showing bound and released cargo-carrying bacteria.



البته چون مولکول های endotoxin در DNA تولید می شوند این کار نیز فراتر از دسترسی دانشمندان نخواهد بود . در این بین همچنین ممکن است عوارضی نیز از فعل و انفعالات بین سیستم ایمنی و باکتری نیز حاصل شوند زیرا در این کار ما بدن را با تجمعی از باکتریهای مهاجم آغشته خواهیم کرد

حال اینکه سیستم ایمنی

بدن به این عوامل محرک چگونه پاسخ دهد مجهول است. همچنین استفاده از راهکارهایی که باعث شود باکتری در بدن توسط سیستم ایمنی قابل شناسایی نباشد نیز، راهکار امنی نیست .

مطالعه موردی

در این گزارش سه مورد دارورسانی بررسی شده که در هر سه از روش سوار کردن داروها روی سطح باکتری استفاده می شود به طوری که ذرات ۴۰ تا ۲۰۰ نانومتری به روش

های مختلف با استفاده

از فعل و انفعالات بین آنتی بادیها روی باکتری سوار می شوند و هنگامی که وارد سلول می شوند آزاد شده و آنتی بادی موجود در روی باکتری نیز (که آنتی بادی مخصوص به از بین بردن باکتری حامل است) باعث از بین رفتن باکتری می شود ، پس باکتری در مدت زمان کوتاهی در داخل سلول باقی می ماند و سپس از بین می رود.

در روش دوم از فعل و انفعالات بین بیوتین و نوترائیدین استفاده می شود . پیوند بین این دو پیوندی بسیار قوی است که در شرایط سخت و به صورت برگشت پذیری شکسته می شوند . از این نوع پیوند ها در موارد زیادی برای اتصال ذرات مختلف استفاده می شود.

پس نانو سیم های طلا در اینجا در معرض نوترائیدین قرار می گیرند و باکتری نیز بایوتینیله می شود سپس با قرار گرفتن باکتری بایوتینیله شده و ذراتی که روی آنها نوترائیدین قرار دارد ، این دو (بیوتین و نوترائیدین) با یک پیوند قوی به یکدیگر متصل می شوند و به واسطه آنها نانو سیم های طلا روی باکتری قرار می گیرند.

◆ جذب سطحی دارو بر روی EColi

در این روش از دو آنتی بادی استفاده شده اما اتصال نانو ذرات به باکتری توسط یک آنتی بادی برقرار می شود .
در ابتدا سوبسترای از جنس Si تهیه شده و روی آن صفحه های مربعی Au قرار گرفته . در ابتدا آنتی بادی ۱ وارد محیط می شود و روی سطح طلا قرار می گیرند . نانو ذرات به طور جداگانه توسط آنتی بادی ۲ پوشانده شده اند و وارد محیط شده روی آنتی بادی ۱ قرار می گیرند و آنتی بادی ۱ و ۲ به هم متصل می شوند . سپس باکتریها وارد محیط شده و توسط آنتی بادی ۲ به نانو ذرات متصل می شوند و به این ترتیب نانو ذرات روی سطح باکتری سوار می شوند .

در مقیاس ۴۰ تا ۲۰۰ نانومتری با استرپتاویدین پوشانده می شوند . آنتی بادی (آنتی لیستریا) روی ذرات استرپتاویدین قرار گرفته و زمانی که باکتریها در معرض ذرات قرار می گیرند ذرات با پیوند محکمی به روی باکتری سوار می شوند .

بعد از فرستاده شدن ذرات به نزدیک سلول ها ، سلول توسط فرآیند فاگوسیتوسیس

(بیگانه خواری -

Phagocytosis) باکتری

ها را وارد سیتوزول کرده و نانو ذرات روی باکتری آزاد می شوند و آنتی لیستریا نیز باعث از بین رفتن خود لیستریا می شود. در این بین بحث سمیت لیستریا پیش می آید ، که در آزمایش ها دیده شده که زمانی که این باکتری در سلول تولید سم می کند بسیار کوتاه و قابل اغماز است به طوری که بلافاصله بعد از آزاد شدن ذرات و آنتی بادی، لیستریا نیز از بین

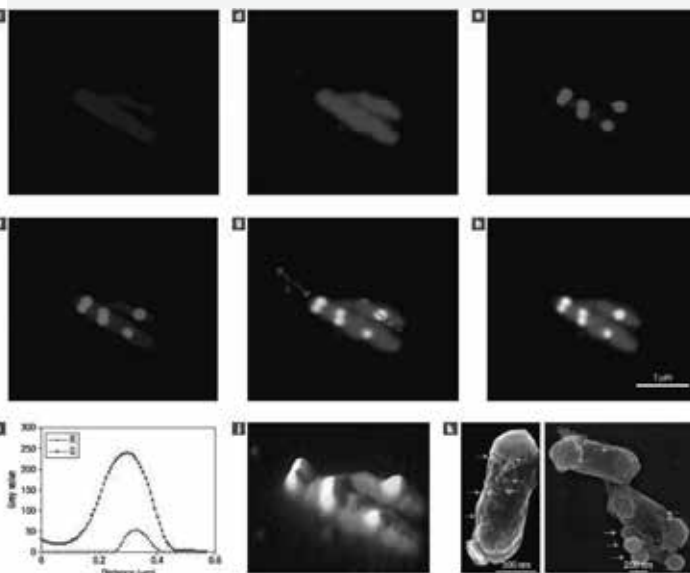


Figure 4) Bacteria-mediated delivery of nanoparticles and cargo. a, Docking of bacteria with functionalized multiple-sized nanoparticles through biotinylated antibodies and surface-antigen interactions (microbots). Streptavidin-coated nanoparticles can carry biotinylated cargo. b, Delivery of intervention agents using microbots. c-k, Assembled microbots with their cargos: bacteria (blue) (c), streptavidin-coated 40-nm fluorescent-red nanoparticles (d), neutravidin-coated 200-nm fluorescent-green nanoparticles (e). f-h, Overlays of images c and e (f), images d and e (g), and images c-e (h). i, Profiles of lines G and R from g. j, Simulated height image. k, SEM images of microbots (arrows show nanoparticles).

می رود.

◆ ریز ساختارهای حمل دارو Listeria Monocytogenes

در این روش نیز ذرات (نانو ذرات) به جای حمل شدن در داخل پوسته ی باکتری ، بر روی آن حمل می شوند. سیستم در این روش نیز مشابه است ولی با کمی تفاوت. در این روش از پیوند بین استرپتاویدین (Streptavidin) و بیوتین استفاده شده ، که پیوند بین این دو پیوندی بسیار قوی است که فقط در شرایط ویژه ی شکسته می شود، معمولا از این پیوند بیشتر در چسباندن ذرات مختلف به یکدیگر استفاده می شود . در ابتدا باکتریها (L.monocytogenes) با یوتینیل شده و سطح آنها با بیوتین پوشانده می شود . از طرف دیگر نانو ذرات

E.coli و درمان سرطان

با توجه به مطالب گفته شده دیدیم که می توان ذرات دارو را در ابعاد نانو روی باکتری هایی مانند E.coli سوار کرد. حال این سوال پیش می آید که آیا می توان از این روش برای دارورسانی در درمان های سختی مانند تومورهای

نام برد و استفاده ی بهینه نمود. این میکروارترتیسیم می تواند با سرعت بالا در بدن حرکت کنند (به علت دارا بودن فلاگلا) و ذرات سوار شده بر روی آن ها را به نقاط مورد نظر در بدن برسانند یعنی نقاطی که سیستم خونرسانی بدن نیز به آنها دسترسی ندارد پس از این نظر نیز می توانند به عنوان وسیله ای مناسب برای دارورسانی در نظر گرفته شوند. علاوه بر این خواص کلی، ایده ی سوار کردن ذرات دارو بر روی سطح باکتری ها (نه در داخل پوسته ی آنها) می تواند به مقدار زیادی ویژه ییت تهاجمی باکتری را کمتر کرده به طوری که آنتی بادی مخصوص به همان باکتری نیز همراه ذرات وارد سلول می شوند در واقع زمانی که باکتری می تواند در سلول تولید سم کند، بسیار کوتاه است. استفاده از گونه ی *E.coli*، برای ردیابی مستقیم سلول های سرطانی نیز از ایده هایی است که با توجه به خواص این باکتری کاملاً عملی و شدنی است اما با این حال نیاز به مطالعه ی بیشتر دارد. اما در کل این فرآیند که باکتری ها را چگونه و به چه وسیله ای وارد بدن کنیم تا زمان رسیدن آن به محل مورد نظر کمتر شود و همچنین چگونگی استفاده از *E.coli* در رساندن داروهای مخصوص شیمی درمانی (درمان سلول های سرطانی) همچنان احتیاج به مطالعه بیشتر دارد.

منابع

- [1]. Cho, Jeong-Hyun, and David H. Gracias. "Self-assembly of lithographically patterned nanoparticles." *Nano letters* ۹, ۱۲: ۴۰۴۹-۴۰۵۲ (۲۰۰۹).
- [2]. Fernandes, Rohan, et al. "Enabling Cargo-Carrying Bacteria via Surface Attachment and Triggered Release." *Small* ۷, ۵: ۵۹۲-۵۸۸ (۲۰۱۱).
- [3]. Akin, Demir, et al. "Bacteria-mediated delivery of nanoparticles and cargo into cells." *Nature nanotechnology* ۲, ۷: ۴۴۱-۴۴۹ (۲۰۰۷).
- [4]. Lathrop, Amanda A., et al. "Characterization and application of a *Listeria monocytogenes* reactive monoclonal antibody C11E9 in a resonant mirror biosensor." *Journal of immunological methods* ۲۸۱, ۱: ۱۱۹-۱۲۸ (۲۰۰۳).
- [5]. Vassaux, Georges, et al. "Bacterial gene therapy strategies." *The Journal of pathology* ۲۰۸, ۲: ۲۹۰-۲۹۸ (۲۰۰۶).

ادامه منابع را از وبسایت دنبال کنید.

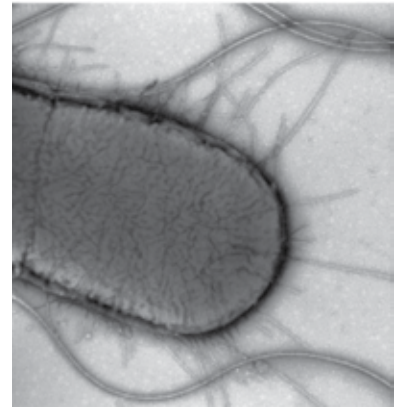


Figure 5) Electron micrograph of Escherichia coli, close-up.

سرطانی استفاده کرد یا نه؟

جواب مثبت است، سلول های سرطانی توده های سلولی هستند که می توانند در هر نقطه ای از بدن قرار گیرند، این توده ها مصرف اکسیژن بالایی دارن و در هر نقطه از بدن که قرار بگیرند اطراف آن منطقه را مصرف کرده و اطراف آنجا دارای کمبود اکسیژن می شود.

با این تفاسیر می توان گفت که اولاً چون باکتری ها به خصوص *E.coli* قابلیت دسترسی به تمام نقاط بدن و با سرعت بالا را دارند و دوماً *E.coli* یک باکتری Facultative anerobic است به سرعت می تواند نقاطی را که در آنجا کمبود اکسیژن هست را حس کند، پس می تواند دارویی را که روی آن سوار شده مستقیماً به محل تومورهای سرطانی برساند.

نتیجه گیری

ایده ی استفاده از باکتریها برای حمل ذرات دارویی به داخل بدن ایده ایست نوین، جالب و در عین حال تا حدودی خطرناک. باکتری ها دارای خواص جالبی است که می توان از آنها به عنوان فواید باکتری