لیزر در پزشکی؛ ۱۳۹۸، دورهٔ ۱۶، شمارهٔ ۱، صفحات: ۴۳-۳۶.

مقاله مروری

اپتوژنتیک: اهمیت و محدودیت‌های کاربردی

افشان شیرکوند[۲،۱]
شیرین فریور[۳]

۱. *گروه پژوهشی لیزر پزشکی، مرکز تحقیقات لیزر در پزشکی، پژوهشکده یارا، جهاد دانشگاهی واحد علوم پزشکی تهران، تهران، ایران*

۲. *آزمایشگاه بیوفوتونیک، دپارتمان فوتونیک، پژوهشکدهٔ لیزر و پلاسما، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران*

۳. *ژنتیک و سلولهای بنیادی، دپارتمان زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم زیستی و بیوتکنولوژی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران*

نویسندهٔ مسئول: شیرین فریور، تلفن: ۰۲۱۶۶۴۹۴۶۴۹
پست الکترونیک: s_farivar@sbu.ac.ir

خلاصه

اپتوژنتیک به‌عنوان یک فناوری جدید و زیرشاخهٔ بیوتکنولوژی ترکیبی به‌کارگیری دو علم اپتیک و ژنتیک به‌منظور مطالعه و کنترل عملکرد انواع خاصی از سلول‌ها به‌ویژه سلول‌های عصبی در بافت‌های زنده را فراهم می‌آورد. این فناوری با استفاده از روش-های دستکاری ژنتیکی و بیان اختصاصی پروتئین‌های حساس به نور (اُپسین‌ها) در سلول یا سلول‌های هدف، امکان کنترل تحریکی یا مهاری جمعیت خاصی از سلول‌ها و رفتارهای مرتبط را با دقت مکانی و زمانی بالا فراهم می‌آورد. ازآنجاکه بیان این پروتئین‌ها در سلول‌های ویژه‌ای ازجمله سلول‌های عصبی انجام می‌پذیرد، بیشترین مطالعات اپتوژنتیکی در زمینهٔ مغز و سیستم عصبی انجام گرفته و انتشار یافته است. هدف از این مقالهٔ مروری، معرفی مفهوم اپتیک در اپتوژنتیک و اهمیت و چالش کاربرد آن در پزشکی می‌باشد..

واژه‌های کلیدی: اپتوژنتیک، تحریک و مهار، اُپسین

مقدمه

اپتوژنتیک[1]: تکنیک اپتوژنتیک ترکیبی از دو علم اپتیک و ژنتیک می‌باشد که امکان مطالعه و کنترل عملکرد سلول‌های خاص در بافت‌های زنده را فراهم می‌آورد. این تکنیک با استفاده از روش‌های دستکاری ژنتیکی و بیان اختصاصی پروتئین‌های حساس به نور (اُپسین‌ها) در سلول یا سلول‌های هدف، امکان تحریک یا مهار جمعیت خاصی از سلول‌ها و رفتارهای مرتبط را با دقت مکانی و زمانی بالا فراهم می‌آورد[۱و۲].

اصول پایه‌ای اپتوژنتیک در مطالعات و مدلسازی‌ها به انتخاب صحیح اُپسین، روش انتقال نور و بیان اختصاصی ژن مربوط می‌شود. پروتئین‌های حساس به نور به محققان این امکان را می‌دهند که نورون‌ها را به‌طور انتخابی فعال و غیرفعال (on و off) نمایند. معرفی این پروتئین‌ها به سلول‌های کشت‌داده‌شده و یا سلول‌های مغزی جانوران زنده سبب تسهیل بررسی‌های ساختاری و عملکردی شبکه‌های عصبی می‌شود. این ابزارهای اپتوژنتیک امید تازه‌ای در کاربردهای بالینی به‌همراه دارد و در عین‌حال پتانسیل مدوله کردن فعالیت سلول‌های زنده خصوصاً سلول‌های مدارهای مغزی را دارد که در بسیاری از ناهنجاری‌های نورولوژیکی یا اختلال دید نوروپاتی می‌تواند مؤثر واقع شود[۳]. روش‌های قدیمی آنالیزهای عملکردی در نورون‌ها بر تحریم مستقیم با الکترودهای بسیار ریز قرار داشت. اگرچه روش مؤثری بود اما، به‌دلیل دقت زمانی مکانی محدود، تاحدی نامطمئن تشخیص داده شد. با ظهور تکنولوژی و ابزارهای اپتوژنتیکی، سوئیچ‌های کدشدهٔ ژنتیکی توانایی بالاتر دقیق‌تری را برای on و off کردن سلول‌ها به‌وسیلهٔ کنترل نوری دارند. لذا، مطالعهٔ عملکردی سلول‌ها در ساختارهای شبکه‌ای وسیع‌تر با امید به پیدایش و در دسترس قرار گرفتن پروتئین‌های اپسینی ویژه محتمل‌تر خواهد بود[۸-۵].

ازنظر سابقهٔ تاریخی، کاشف ساختار مولکول DNA اعلام کرد که روش‌های موجود تا آن زمان قادر به مطالعهٔ دقیق ساختارهای شبکه‌ای مغز و نقش آن‌ها در رفتار و عملکرد موجود نیستند و این روش‌ها نیازمند ایجاد فناوری‌های جدیدی برای این منظور می‌باشد. وی در این مقاله به نقش نور و استفاده از این پدیدهٔ فیزیکی اشاره نمود. در سال ۱۹۷۴، مطالعهٔ دیگری خصوصیات یک پروتئین غشایی در باکتری هالوباکتریوم انتشار یافت[۹]. در سال‌های بعد مشخص شد که این گروه از پروتئین‌های غشای میکروبی به نام اُپسین به‌دلیل وجود ساختار قرنیه در درون خود و تأثیرپذیری این موکلول در مقابل نور، ساختار مولکول پروتئینی آن‌ها تغییر شکل می‌دهد و درنهایت منجر به عبور برخی از یون‌ها از کانال می‌شود. تا سال ۲۰۰۵، اُپسین‌های مختلفی در پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها کشف و حساسیت نوری آن‌ها شناسایی شد. به‌طوری‌که در این سال برای اولین بار با وارد کردن ژن بیان‌کنندهٔ اُپسین‌های میکروبی به درون سلول‌های عصبی و بیان آن در این سلول‌ها، انقلاب بزرگی در عرصهٔ علوم اعصاب رخ داد. از این سال به بعد مطالعات بسیاری برای شناسایی نقش و عملکرد شبکه‌های عصبی با وارد کردن ژن انواع مختلف پروتئین‌های غشای اُپسین میکروبی به سلول‌ها و شبکه‌های عصبی انجام شده است[۱۰و۱۱].

بیان ساده از اپتوژنتیک به‌صورت تحریک یا مهار نوری سلول‌های هدف نیست، بلکه اپتوژنتیک باید دستور انجام دادن یا ندادن یک فعالیت خاص را به سلول برساند. در سطح پایه، سیستم عصبی می‌تواند با تغییر وضعیت پمپ یونی فعال شود یا به حالت استراحت برود. سیگنال‌های اکتیواسیون به‌عنوان مثال از حامل‌های نورونی، سبب جریان یون‌های بار مثبت به سلول از محیط خارج می‌شود. این فعال شدن یا نشدن سلول در اثر تغییر جریان یون‌های بار مثبت یا منفی به‌وسیلهٔ اپتوژنتیک نیز قابل اجراست[۱۶-۱۲]. انقلابی واقعی در کشف پروتئین‌های اختصاصی اپسینی که با کنترل تابش نور با طول‌موج معین (آبی یا زرد) کنترل جریان یونی غشایی و درنتیجه روشن و خاموش کردن سلول‌ها را برای محققان این زمینه ممکن ساخته است[۱۹-۱۷].

دستکاری‌های فارماکوژنتیکی می‌توانند برروی هر نوع سلولی با هدف بیان پروفایل‌های خاص مورد نظر صورت بگیرد، اما به‌دلیل کمبود دقت زمانی عمدتاً این روش برای کد کردن سیگنال‌های سلول عصبی که در این مقیاس زمانی قرار دارد، به‌کار می‌رود. به‌همین‌دلیل این تکنولوژی را مهم‌ترین پیشرفت چند دههٔ اخیر در رشتهٔ علوم اعصاب می‌دانند. اگرچه ویروس‌ها برای کاربردهای کلینیکی و تحویل ژن و کد کردن بیان ژنی‌های مورد نیاز در کنترل یک سلول پیشنهاد مؤثرتری هستند، اما هنوز فرآیندها به‌صورت بررسی و تحقیقات آزمایشگاهی است[۲۲-۲۰].

محرک‌ها و سنسورهای اپتوژنتیکی مورداستفاده در کاربردهای کنترلی عملکرد سلولی انواع مختلفی دارند. ازجملهٔ این محرک‌ها می‌توان به channelrhodopsin، halorhodopsin و archaerhodopsin اشاره نمودو برای سنسور اپتوژنتیکی انواع تغییر وضعیت کلسیم (Aequorin, Cameleon, GCaMP)، کلراید (Clomeleon) یا ولتاژ غشاء (mermaid) را برشمرد. با اینکه channelrhodopsin و halorhodopsin به‌صورت طبیعی حساس به نور هستند، اما به‌نظر می رسد که دستکاری این پروتئین‌ها می‌تواند حساسیت آن‌ها را در پاسخ به نور به‌کاررفتهٔ تابیده بهتر و آن‌ها را تبدیل به یک سوئیچ سریع‌تر نماید[۲۳و۲۴].

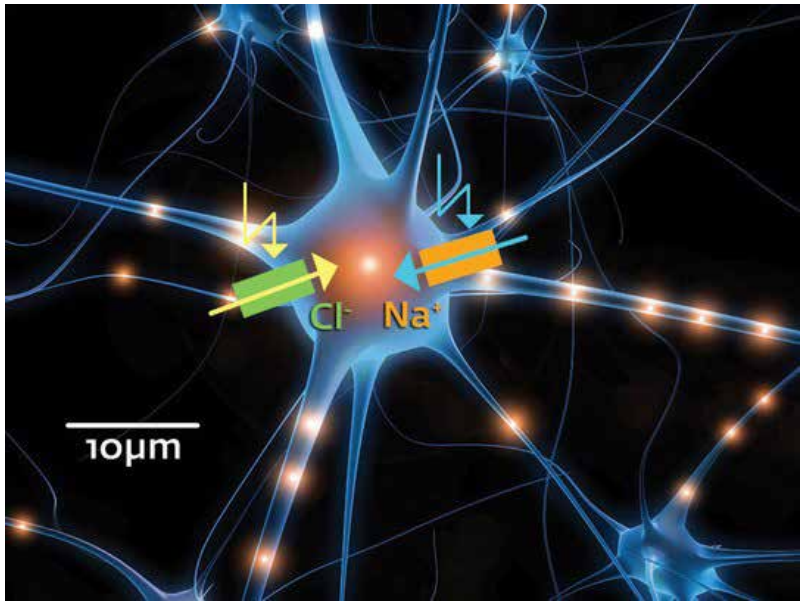
طراحی مطالعهٔ اپتوژنتیک

به‌طور پایه‌ای پنج مرحلهٔ اساسی در طراحی مطالعات و آزمایش‌های اپتوژنتیکی برای مطالعهٔ رفتار مدل‌های بیماری و یا عملکرد نرمال وجود دارد[۲۱و۲۹-۲۶]:

۱. انتخاب اپسین مناسب برای آزمایش

۲. انتخاب استراتژی مناسب هدف‌گذاری به‌وسیلهٔ روش‌های انتقال ویروسی یا وکتورهای بیان اپسین‌ها در هدف سلولی

1. Optogenetics



شکل۱: شماتیک بیان شـــدن فعالیت channelrhodopsin و halorhodopsin در سلول عصبی. اکتیواسیون با نور آبی سبب باز شدن کانال می‌شود و اجازه می‌دهد یون‌های سدیم وارد و نورون‌ها on شـــوند. نور زرد در عوض، یون‌های کلراید را وارد می‌نماید و سلول‌های نورونی را off می‌کند.

۳. انتخاب روش‌های نوررســـانی بهینه برای نفوذ بهتر نور به عمق بافت مورد مطالعه

۴. انتخاب پارامترهای زمانی مناســـب نـــوری مانند پهنای زمان پالس، فرکانس و شدت نور برحسب منبع نوری مورد استفاده

۵. اعتبارســـنجی دســـتکاری آزمایشـــگاهی و تعیین عملکرد ابزار اپتو ژنتیکی برحسب الکتروفیزیولوژی یا ایمونوهیستوشیمی

ژنتیک

بـــرای اعمال ایـــن تکنیک باید ابتـــدا بافت مورد نظر را با اســـتفاده از مهندسی ژنتیک به‌نحوی تغییر داد تا بتواند نوعی پروتئین حساس به نور بســـازد. این پروتئین به‌طور طبیعی توسط نوعی جلبک ساخته می‌شود. ایـــن مجموعـــه از ابـــزار اپتوژنتیک که حاصـــل مهندســـی مولکولی و تلاش‌هـــای ژنومیک می‌باشـــد، امـــکان ایجـــاد تغییرات آزمایشـــگاهی برای دســـتیابی به اثرهـــای فیزیولوژیکی دلخواه، ویژگی‌های جنبشـــی مدولاسیون وابسته به نور و طول‌موج مورد نیاز، توان و گستردگی فضایی پالس نوری را می‌دهـــد. در اپتوژنتیک یکـــی از ارکان مهم هدف‌گذاری اپسین‌های مفید می‌باشد. ازآنجاکه ابزارهای اپتوژنتیکی پیوسته از لحاظ ایمنی و بازدهی درحال بهینه شـــدن هستند، یک آزمایش عصب‌شناسی موفق نیازمند روش متناســـب هدف‌گیری بافت زنده بـــا ابزار اپتوژنتیک می‌باشد. روش‌های معمول بهره گیری از اپتوژنتیک در بافت زنده عبارت‌انداز: هدف‌گیری از طریق توزیع میکروبـــی، هدف‌گیری تصویری، هدف‌گیری حیوانات از طریق ترانس‌ژنتیک، هدف‌گیری زمانی - مکانی.

اســـتفاده از اُپسین‌ها[2] که می‌توانند مولکول‌های ارگانیک کوچکی را در خود جا داده و به یک گیرندهٔ نوری تبدیل شـــوند. اپســـین‌های میکروبی قابل استفاده موجود برای مطالعه عملکرد سیستم عصبی عبارت‌اند از:

۱. channelrhodopsins (ChR1, ChR2, VChR1 and SFOs) برای تحریک نورون‌ها

۲. رودوپســـین‌های میکروبی همچون halorhodopsin (NpHR, eNpHR, eNpHR3) و

۳. archaerhodopsin (Arch) و باکتریورودوپســـین بهبودیافتـــه (eBR) و Leptosphaeria maculans fungal opsins (Mac) که به راحتی برای مطالعات مهار نورونهای مغزی حیوانات در حال حرکت بکار می روند[۲۵-۲۱].

اپتیک در اپتوژنتیک

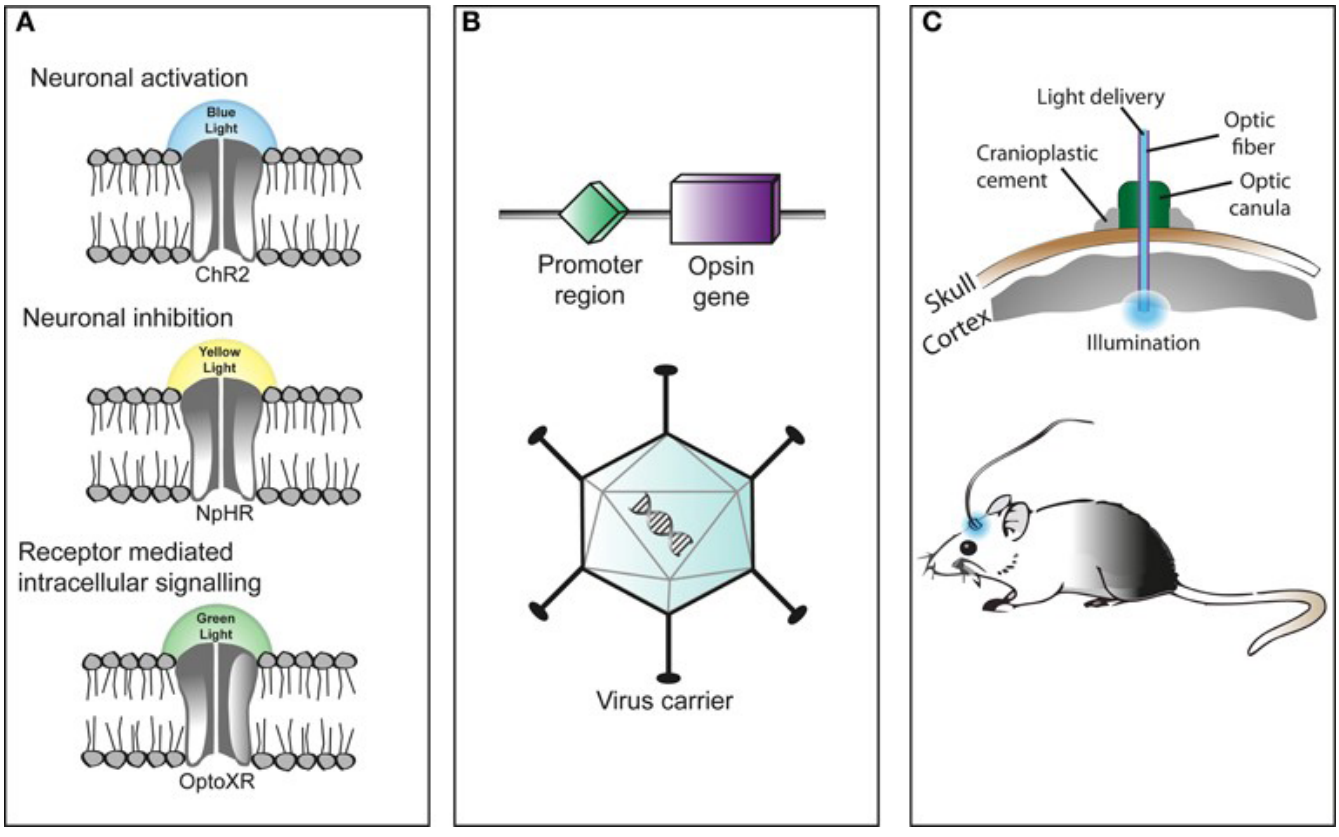
روش‌های نوری در مقایسه با روش‌های الکتریکی و دارویی به‌دلیل برخورداری از ســـرعت و دقت بالاتر و آسیب‌رسانی کمتر، ابزار مناسبی در مطالعات علوم اعصاب هستند[۱۷]. در سیستم‌های عصبی، تولید و انتقال پیام‌های عصبی با استفاده از یک‌سری کانال‌های یونی موجود در سلول عصبی و تغییر غلظت یون‌ها در درون و خارج ســـلول عصبی صورت می‌گیرد. در روش‌های معمول الکترو فیزیولوژی تحریک سیستم‌های عصبی با استفاده از الکترودهای فلزی خاص و جریان الکتریکی انجام می‌شود. در تحریک نوری سیستم عصبی این فرآیند با استفاده از تحریک کانال‌های پروتئینی حساس به نور صورت می‌گیرد به‌گونه‌ای که این کانال‌های پروتئینی در سلول عصبی با استفاده از تکنیک‌های ژنتیکی ایجاد شده است. لذا، برای تحریک نوری قسمت‌های متفاوت سیستم عصبی مغز نیاز است تا پروب‌های نوری متفاوت طراحی و ساخته شود تا تحریک نوری جای‌گزیده و مکان‌یابی‌شده از سیستم عصبی صورت گیرد. تکنولوژی انتقال نور و منابع نوری مورد استفاده جهت رساندن نور برای فعال‌سازی اپسین‌های تعریف‌شده و تغییر در عملکرد بیولوژی سلولی از مهم‌ترین بخش فیزیک نور این فرآیند می‌باشد[۱۸و۳۲-۲۹]. جریان نوری ناشی از یک پالس نوری در نور به عوامل مختلفی از قبیل ویژگی اپسین مورد استفاده، طول‌موج نور، شدت و مدت تابش نور و حتی تعداد سلول‌های حساس به نور در شروع، میانه و انتهای فرآیند بستگی دارد. به‌طورکلی خصوصیات مهم چشمه‌های نور تابشی مورد استفاده در اپتوژنتیک عبارت‌انداز: خصوصیات طول‌موج مورد نیاز برای کنترل اپسین مورد استفاده، کنترل زمانی تابش نور، اینکه باید نور به‌طور متمرکز یا پهن میدان تابش شود، باید چندباریکه تابیده شود یا تک‌باریکه، ارائه‌ای از منابع نوری دیودی لازم است یاخیر و چگونگی انتشار نور در بافت بیولوژیک [۱،۵، ۱۱و۱۶].

لیزرها و دیودهای نورگسیل[3]

دو منبع نوری مهم مورد استفاده برای تابش در بیشتر فرآیندهای نوری

2. Membrane-bound protein-bound

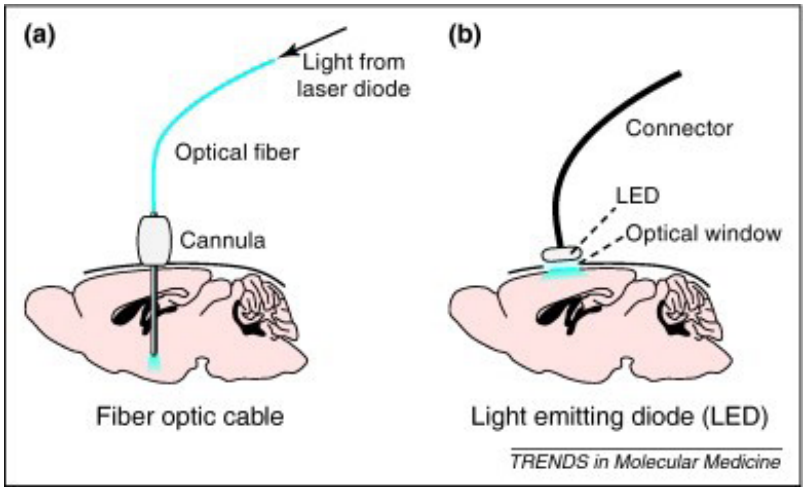
3. LED



شکل۲: ارکان مهم فرآیند اپتوژنتیک

عبارت‌انداز: لیزر و دیودهای نورگسیل.

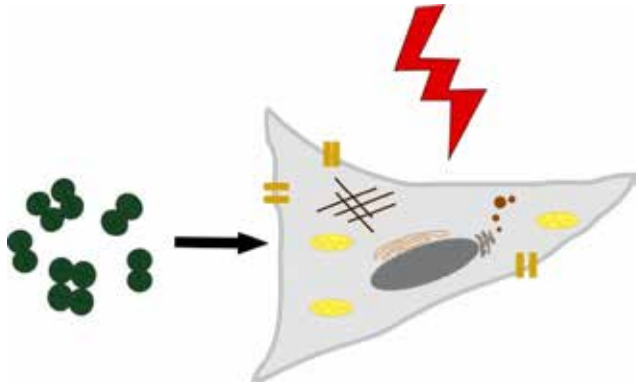
لیزرهـــا عموماً به‌دلیل داشـــتن یـــک پهنای طیفـــی باریک (<nm1) می‌توانند گزینهٔ بسیار مناسبی باشند زیرا می‌توانند برروی طول‌موج لازم برای فعال‌سازی یک ابزار خاص تنظیم شوند و همچنین بسیاری از لیزرها می‌توانند طول‌موج‌هـــای بلند NIR–farIR را تابـــش نمایند. در میان طول‌موج‌های نوری، بســـیاری از اپسین‌های موجود به آبی و زرد حساس هستند اما براساس مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۶، در مقایسه با نور آبی، نور قرمز دارای مزایای متعددی به‌ویژه با توجه به برنامه‌های کاربردی در سیستم‌های مدل برای بیماری‌ها اســـت[۱۹]. نور قرمز می‌تواند به عمق بافت‌ها نفوذ





شکل۳: رساندن نور به بافت هدف در فرآیند اپتوژنتیک

کند و به روشی غیرتهاجمی و بدون نیاز به عمل جراحی، حداقل خطر را برای بافت‌های انسانی و حیوانی داشته باشد، همچنین هیچ عارضه‌ای برای پروتئینهای فلورسنت به‌همراه ندارد. روش‌های اپتوژنیک اغلب دارای کاربردهای مختلف در آزمایشگاه‌های تحقیقاتی است. پروتئین‌های

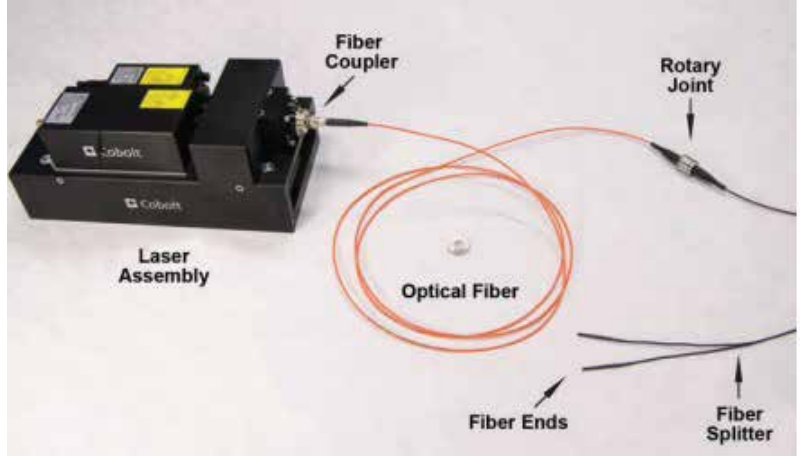


شکل۴: فعال‌سازی یک رسپتور خاص در سلول بافتی به‌وسیلهٔ نور قرمز

فلورسنت تمایل به فعال شدن یا سفید شدن توسط نور آبی دارند. اگرچه نور قرمز دارای مزایای بسیار بیشتری نسبت به نور آبی است اما، درحال حاضر تعداد بسیار کمی ابزار اپتوژنیک براساس نور قرمز عمل می‌کنند[۱۹].

دیودهای نور گسیل LED از منابع دیگری هستند که برای برخی آزمایش‌ها مناسب می‌باشند. پهنای طیفی کم مورد نظر را دارا می‌باشند، به‌راحتی برای فرکانس‌های مورد نیاز تنظیم می‌شوند، ساده و ارزان هستند و به ابزار الکترونیکی پیچیده برای کنترل نیاز ندارند. اما، زمانی‌که از آن‌ها در نزدیکی بافت‌ها استفاده می‌شود، ایجاد گرمای ثانویه در بافت باید درنظر گرفته شود. عموماً منابع نوری لیزر و یا دیودی از طریق کوپل با پروب‌های فیبر نوری برای تابش به موجود زنده استفاده می‌شوند. انتقال نقطه‌ای‌تر از نور به محل بافت هدف از این طریق امکان‌پذیر می‌شود[۳۳].

در سال ۲۰۱۸ مطالعه‌ای با توسعهٔ میکرو LED های وایرلس برای



شکل۵: منبع نوری کوپل‌شده با پروب فیبر نوری

نوررسانی به مدل حیوانی آزمایش‌های اپتوژنتیک انتشار یافت. در این تحقیق یک آرایهٔ قابل کنترل از چندین μ LED ، برای کاشت مستقیم برروی سر حیوان آزمایشگاهی با قابلیت توان نوری مستقل از زاویهٔ تابشی ارائه گردید. این قابلیت امکان مطالعهٔ رفتار مدل حیوانی را در شرایط آزادانه‌تر دراختیار می‌گذارد[۲].

اهمیت بالینی اپتوژنتیک

پیشرفت‌های اپتوژنتیک دریچهٔ جدیدی را در فهم و درک علمی چگونگی عملکرد ویژهٔ انواع سلول‌ها و بافت‌های بیولوژیک باز کرده‌است به‌طوری‌که نه‌تنها در عصب‌شناسی بلکه در سایر زمینه‌های زیستی همچون ماهیچه‌ها، رگ‌های شریانی، رشد سلول‌های جنینی و حتی سرطان برای تحقیقات به‌عنوان ابزاری قوی به‌کار گرفته شده است[۲۲]. به‌علاوه در مطالعات پیش‌بالینی، اپتوژنتیک برروی مدل‌های حیوانی درحال انجام است همچنان‌که به مدل‌سازی بیماری‌هایی مانند پارکینسون، اضطراب، آسیب شبکیه، تنفس و افسردگی کمک بسیاری کرده است. دقت، زمانی که به‌وسیلهٔ استفاده از نور در روش اپسین‌میکروبی تک‌مؤلفه‌ای فراهم می‌گردد، مهم‌ترین ویژگی این روش می‌باشد. درواقع رخ دادن یک عملکرد خاص در یک سلول ویژه در میان جمعیت سلول‌ها در یک زمان مشخص بسیار مهم می‌باشد. همچنین وجود گروه بزرگی از ابزارهای اپتوژنتیکی به خواص الکتریکی و بیوشیمیایی خاص سبب پیشرفت‌های زیادی در دستیابی به اهداف مورد نظر در اپتوژنتیک گشته است. زیست عصب‌شناس دانشگاه MIT معتقد است اگر بتوان سلول مغزی را کنترل نمود، می‌توان دریافت که قدرت آن‌ها چیست و از کجا می‌آیند، چگونه بر روی ارگان‌ها و عصب‌ها تأثیر می‌گذارند و علاوه‌برآن می‌توان دریافت که اگر بتوانیم کنترل مغز را به‌دست بگیریم، درمان‌های جدیدی را می‌توان ابداع کرد، مشکلات ناشی از عقب‌ماندگی ذهنی را درمان کرد و اختلالات عصبی و یا روانی را رفع نمود[۱۱]. چندین نمونه از کاربردهای اپتوژنیک به‌صورت خلاصه عبارت‌انداز:

۱. در مطالعات رفتاری، اپتوژنتیک انقلابی به پا کرده است. اپتوژنتیک این امکان را در اختیار محقق علوم رفتاری قرار می‌دهد که بتواند رفتارهای مدل حیوانی آزاد در قفس را در حالت on و off نور و با تغییر پارامترهای تابشی نور که ابزار کنترل یا مهار سلول است[۳۰]، مقایسه کند. این آزمایش‌ها می‌تواند هم به‌صورت تک‌جلسه هم چندروزه پیگیری شوند.

۲. در مطالعات علوم اعصاب اپتوژنتیک برای مطالعهٔ مدارهای عصبی درگیر در ناهنجاری‌های ترس و عصبانیت[۲۲و۳۱]، اعتیاد و هسته accumbens و بخش شناختی[۴] مغز در اعتیاد[۳۵-۳۲] به‌کار گرفته شده اس

۳. در مطالعات بیماری‌های عصبی برای بررسی بیماری افسردگی و مدار عصبی‌های آن در کورتکس مغز [۳۶]، همچنین در مدل‌های حیوانی

4. cognitive

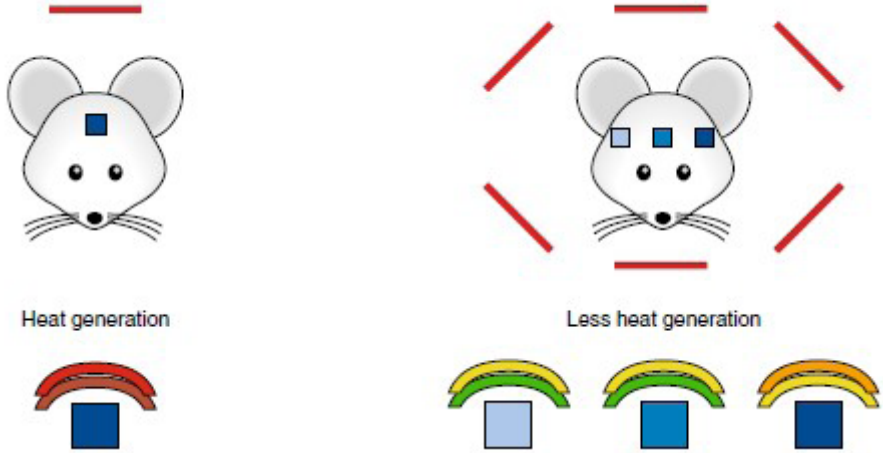
تشخیصی بیماری اسکیزوفرنی و اوتیسم اپتوژنتیک پارکینسون و صرع به کمک آمده است[۴۱-۳۷].

محققان درحال توسعهٔ روش‌های سریع‌تر و کم‌تهاجمی‌تر می‌باشند. به‌عنوان‌نمونه برخی از دانشمندان این روش را به‌نحوی تغییرداده‌اند که بدون نیاز به دستکاری ژنتیک هم قابل اجرا باشد. این روش برپایهٔ این مشاهده است که سلول‌های طبیعی عصبی را می‌توان با حرارتی که در اثر تابش نور مادون قرمز ایجاد می‌شود، تحریک نمود. حال برای اینکه اشعهٔ مادون قرمز فقط سلول‌های خاصی را تحت تأثیر قرار دهد، از نانوذرات طلا استفاده می‌شود. آن‌ها این ذرات را به درون سلول‌های هدف می فرستند و سپس با تاباندن نوعی لیزر سبز این ذرات را تحریک می‌کنند. حرارت ایجادشده در این تابش موجب تحریک سلول عصبی می‌شود.

محدودیت‌ها و چالش‌ها

روش‌های ترنسفکشن برپایهٔ ساختن وکتورها و پروموتورهای ویروسی برای بیان خاصی در سلول هدف استوار است. روش وکتورهای ویروسی سریع و بهره‌ور است درحالی‌که استفاده از حیوانات ترنس‌ژنیک سخت، هزینه و زمان‌بر می‌باشد. چالش دانشمندان در این مورد طراحی انواعی از ویروس است که فقط به سلول مورد نظر دانشمندان در مغز حمله می کند. برخلاف ذات اصلی ویروس‌ها مبنی بر ویران کردن سلول و جایگزین کردن DNA خود برای تکثیر، این ویروس فقط قسمتی از یک DNA را با خود حمل می‌کند و بدون تخریب سلول به بخش اصلی DNA انتقال می‌دهد و سپس خودکشی می‌کند. این DNA تزریق‌شده به سلول این قابلیت را می‌دهد که در مقابل تابش نورهای خاص عکس‌العمل نشان دهد. این عملکرد مانند سلول‌های شبکیهٔ چشم است که قادر هستند نور را تشخیص و تصاویر را شکل دهند.

چالش دیگر در اپتوژنتیک عدم امکان انجام این آزمایش‌های اپتوژنتیکی برروی انسان است زیرا دسترسی بدون دخالت به بافت و سلول‌ها ممکن نیست. درمورد بافت مغز استخوان سخت جمجمه مانعی جدی برای نفوذ مناسب نور به بافت می‌باشد. برای انجام آزمایش‌ها لازم است تا کابل‌های فیبر نوری وارد مغز شوند. برای همین دانشمندان در حال تفکر برروی راه‌های غیرتهاجمی برای ورود این کابل‌ها به داخل محیط مغز هستند. یکی از بهترین راه‌های ورود کابل از طریق بینی است که هم غیرتهاجمی است و هم به اسکلت جمجمه آسیب نمی‌زند. راه‌های دیگری نیز در دست بررسی و تحلیل و تکمیل شدن است .اما، کاملاً واضح و مشخص است که پیشرفت‌ها متوقف نمی‌شوند و در آینده‌ای نزدیک تمامی ناشدنی‌ها شدنی می‌شوند. همچنین توسعهٔ چشمه‌های نوری مناسب برای افزایش بهره‌وری رساندن نور به عمق بافت بر حسب خصوصیات آناتومیکی بافت هدف باید مدنظر قرار داشته باشد.



شکل۶: منبع نوری کوپل‌شده با پروب فیبر نوری

References:

1. Kriss TC, Kriss VM. History of the operating microscope: from magnifying glass to microneurosurgery. Neurosurgery 1998; 42: 899–907.

2. Moore GE. Fluorescein as an agent in the differentiation of normal and malignant tissues. Science 1947; 106: 130–1.

3. Stummer W, Stocker S, Wagner S, Stepp H, Fritsch C, Goetz C. Intraoperative detection of malignant gliomas by 5-aminolevulinic acid-induced porphyrin fluorescence. Neurosurgery 1998; 42: 518–25.

4. Giuliano AE, Kirgan DM, Guenther JM, Morton DL. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. Ann Surg 1994; 220: 391–8.

5. Skripenova S, Layfield LJ. Initial margin status for invasive ductal carcinoma of the breast and subsequent identification of carcinoma in reexcision specimens. Archives of pathology & laboratory medicine. 2010; 134(1): 109-14.

6. Möller MG, Pappas-Politis E, Zager JS, Santiago LA, Yu D, Prakash A, Kinal A, Clark GS, Zhu W, Puleo CA, Glass LF. Surgical management of melanoma-in-situ using a staged marginal and central excision technique. Annals of surgical oncology. 2009; 16(6): 1526-36.

7. Kunishige JH, Brodland DG, Zitelli JA. Surgical margins for melanoma in situ. Journal of the American Academy of Dermatology. 2012; 66(3): 438-44.

8. Jolesz FA, McDannold NJ. MRI-guided focused ultrasound. In Intraoperative Imaging and Image-Guided Therapy 2014 (pp. 403-412). Springer, New York, NY.

9. Agarwal-Antal N, Bowen GM, Gerwels JW. Histologic evaluation of lentigo maligna with permanent sections: implications regarding current guidelines. Journal of the American Academy of Dermatology. 2002; 47(5): 743-8.

10.Crane LM, Themelis G, Arts HJ, Buddingh KT, Brouwers AH, Ntziachristos V. Intraoperative nearinfrared fluorescence imaging for sentinel lymph node detection in vulvar cancer: first clinical results. Gynecol Oncol 2011; 120: 291–5.

11.Holm C, Mayr M, Hofter E, Becker A, Pfeiffer UJ, Muhlbauer W. Intraoperative evaluation of skin-flap viability using laser-induced fluorescence of indocyanine green. Br J Plast Surg 2002; 55: 635–44.

12.Spinoglio G, Priora F, Bianchi PP, Lucido FS, Licciardello A, Maglione V. Real-time near-infrared (NIR) fluorescent cholangiography in single-site robotic cholecystectomy (SSRC): a single-institutional prospective study. Surg Endosc 2013; 27: 2156–62.

13.Van der Vorst JR, Schaafsma BE, Hutteman M, Verbeek FP,Liefers GJ, Hartgrink HH. Near-infrared fluorescence-guided resection of colorectal liver metastases. Cancer 2013; 119: 3411–8.

14.Hendabadi M, Hejazi M, Mohammad Nejad Daryani S, Kamyab Hesari K, Ebrahimi M. Implementation and Evaluation of Intraoperative Fluorescence Polarization Imaging for a Tumor Margin Delineation in: ex-vivo Experiences with GFP+ Expressing Cells. Lasers In Medicine. 2018; 15(2): 8-17.

15.Frangioni JV. New technologies for human cancer imaging. J Clin Oncol 2008; 26: 4012–22.

16.Krekel NM, Haloua MH, Lopes Cardozo AM, de Wit RH, Bosch AM, de Widt-Levert LM et al. Intraoperative ultrasound guidance for palpable breast cancer excision (COBALT trial): a multicentre, randomized controlled trial. Lancet Oncol 2013; 14: 48–54.

17.Ntziachristos V. Fluorescence molecular imaging. Annu Rev Biomed Eng 2006; 8: 1–33.

18.Weissleder R, Ntziachristos V. Shedding light onto live molecular targets. Nat Med 2003; 9: 123–8.

19.Vinegoni C, Razansky D, Figueiredo JL, Nahrendorf M, Ntziachristos V, Weissleder R. Normalized Born ratio for fluorescence optical projection tomography. Opt Lett 2009; 34: 319–21.

20.Themelis G, Harlaar NJ, Kelder W, Bart J, Sarantopoulos A, van Dam GM. Enhancing surgical vision by using real-time imaging of αvβ3-integrin targeted near-infrared fluorescent agent. Ann Surg Oncol 2011; 18: 3506–13.

21.Kelder W, Nimura H, Takahashi N, Mitsumori N, van Dam GM, Yanaga K. Sentinel node mapping

with indocyanine green (ICG) and infrared ray detection in early gastric cancer: an accurate method that enables a limited lymphadenectomy. Eur J Surg Oncol 2010; 36: 552–8.

22.Liu DZ, Mathes DW, Zenn MR, Neligan PC. The application of indocyanine green fluorescence angiography in plastic surgery. J Reconstr Microsurg 2011; 27: 355–64.

23.Schaafsma BE, Mieog JS, Hutteman M, van der Vorst JR, Kuppen PJ, Lowik CW. The clinical use of indocyanine green as a near-infrared fluorescent contrast agent for image-guided oncologic surgery. J Surg Oncol 2011; 104: 323–32.

24.Ishizawa T, Fukushima N, Shibahara J, Masuda K, Tamura S, Aoki T. Real-time identification of liver cancers by using indocyanine green fluorescent imaging. Cancer 2009; 115: 2491–504.

25.Weissleder R, Pittet MJ. Imaging in the era of molecular oncology. Nature. 2008; 452(7187): 580.

26.Vahrmeijer AL, Hutteman M, Van Der Vorst JR, Van De Velde CJ, Frangioni JV. Image-guided cancer surgery using near-infrared fluorescence. Nature reviews Clinical oncology. 2013; 10(9): 507.

27.Demicheli R, Valagussa P, Bonadonna G. Does surgery modify growth kinetics of breast cancer micrometastases ? . British journal of cancer. 2001; 85(4): 490.

28.Arii S, Tanaka S, Mitsunori Y, Nakamura N, Kudo A, Noguchi N, Irie T. Surgical strategies for hepatocellular carcinoma with special reference to anatomical hepatic resection and intraoperative contrast-enhanced ultrasonography. Oncology. 2010; 78(Suppl. 1): 125-30.

29.Van Vledder MG, Torbenson MS, Pawlik TM, Boctor EM, Hamper UM, Olino K, Choti MA. The effect of steatosis on echogenicity of colorectal liver metastases on intraoperative ultrasonography. Archives of Surgery. 2010; 145(7): 661-7.

30.Ukimura O, Okihara K, Kamoi K, Naya Y, Ochiai A, Miki T. Intraoperative ultrasonography in an era of minimally invasive urology. International journal of urology. 2008; 15(8): 673-80.

31.Sahani DV, Kalva SP, Tanabe KK, Hayat SM, O'Neill MJ, Halpern EF, Saini S, Mueller PR. Intraoperative US in patients undergoing surgery for liver neoplasms: comparison with MR imaging. Radiology. 2004; 232(3): 810-4.

32.Kubben PL, ter Meulen KJ, Schijns OE, ter Laak-Poort MP, van Overbeeke JJ, van Santbrink H. Intraoperative MRI-guided resection of glioblastoma multiforme: a systematic review. The lancet oncology. 2011; 12(11): 1062-70.

33.Mondal SB, Gao S, Zhu N, Liang R, Gruev V, Achilefu S. Real-time fluorescence image-guided oncologic surgery. InAdvances in cancer research 2014; 124: 171-211. Academic Press.

34.Kim T, O'Brien C, Choi HS, Jeong MY. Fluorescence molecular imaging systems for intraoperative image-guided surgery. Applied Spectroscopy Reviews. 2018; 53(2-4): 349-59.

35.Hosseini A, Baker JL, Tokin CA, Qin Z, Hall DJ, Stupak DG, Hayashi T, Wallace AM, Vera DR. Fluorescent-tilmanocept for tumor margin analysis in the mouse model. journal of surgical research. 2014; 190(2): 528-34.

36.Park JY, Murakami T, Lee JY, Zhang Y, Hoffman RM, Bouvet M. Fluorescent-antibody targeting of insulin-like growth factor-1 receptor visualizes metastatic human colon cancer in orthotopic mouse models. PloS one. 2011; 11(1): e0146504.

37.Schols RM, Connell NJ, Stassen LP. Near-infrared fluorescence imaging for real-time intraoperative anatomical guidance in minimally invasive surgery: a systematic review of the literature. World journal of surgery. 2015; 39(5): 1069-79.

38.Mieog JS, Hutteman M, van der Vorst JR, Kuppen PJ, Que I, Dijkstra J, Kaijzel EL, Prins F, Löwik CW, Smit VT, van de Velde CJ. Image-guided tumor resection using real-time near-infrared fluorescence in a syngeneic rat model of primary breast cancer. Breast cancer research and treatment. 2011; 128(3): 679-89