لیزر در پزشکی 1402/ دوره بیستم / شماره (3-4) / صفحات 78-70.

مقاله مروری

استفاده از روش اپتوژنتیک برای تشخیص و درمان بیماری

منا اسماعیلی[1]
حسینعلی رفیعی‌پور[2]
هدا کشمیری نقاب*[3]
محمدحسن سهیلی‌فر[4]

1. دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی، گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده شیمی، دانشگاه کاشان، ایران
2. دانشیار بیوفیزیک، گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده شیمی، دانشگاه کاشان، ایران
3. استادیار بیوفیزیک، گروه پژوهشی لیزر پزشکی، مرکز تحقیقات لیزر در پزشکی، پژوهشکدهٔ یارا، سازمان جهاد دانشگاهی علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
4. استادیار پزشکی مولکولی، گروه پژوهشی لیزرپزشکی، مرکز تحقیقات لیزر در پزشکی، پژوهشکدهٔ یارا، سازمان جهاد دانشگاهی علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

نویسنده مسئول: هدی کشمیری نقاب

پست الکترونیک:

hodakeshmiri@ut.ac.ir

شماره تماس:

09365791655

چکیده

اهداف: اپتوژنتیک، روشی نوین در تحقیقات بیولوژی و پزشکی است و با ورود به صحنه علم، فصل جدیدی از اکتشافات علمی را آغاز نمود. این روش امکان کنترل دقیق فعالیت سلول‌های بیولوژیکی را با استفاده از فوتون‌هایی با فرکانس‌های متفاوت را فراهم می‌کند. با انتقال ژن‌های پروتئین‌های حساس به نور به سلول‌های هدف و استفاده از امواج نوری با طول موج مشخص می‌توان بیان پروتئین‌ها را تحت کنترل قرار داد، که این امر می‌تواند در احیای بینایی در بیمارانی با آسیب شبکیه، حتی در مراحل پیشرفته بیماری، مورد استفاده قرار گیرد. علاوه‌براین از این روش می‌توان برای تنظیم فعالیت سلول‌های عصبی استفاده نمود که می‌تواند در درمان بیماری‌های نورودژنراتیو و کنترل ارتباطات استروسیت‌ها و نورون‌ها موثر باشد.

نتیجه‌گیری: اپتوژنتیک به‌عنوان یک ابزار نوین در علوم پزشکی، امکانات گسترده‌ای برای درمان و تشخیص بیماری‌ها ارائه می‌دهد. این فناوری به دانشمندان و پزشکان اجازه می‌دهد تا با دقت بیشتری عملکرد سلول‌های خاصی را مطالعه و کنترل کنند، که می‌تواند به بهبود درمان بیماری‌های پیچیده و مزمن کمک کند. هرچند هنوز تحقیقات بیشتری برای بهینه‌سازی و استفاده بالینی گسترده از این فناوری لازم است، اما نتایج اولیه بسیار امیدوارکننده است و نشان‌دهنده پتانسیل عظیم اپتوژنتیک در بهبود سلامت و درمان بیماری‌ها است.

این مقالهٔ مروری ضمن معرفی مفاهیم اولیهٔ اپتوژنتیک، به بررسی دقیق روش‌ها اجرای ان و درنهایت کاربردهای بالینی آن می‌پردازد.

کلمات کلیدی: اپتوژنتیک، پروتئین های حساس به نور، سلول های گیرنده ی نوری، کاربرد اپتوژنتیک

مقدمه

در سال 2005، اپتوژنتیک[1] به‌عنوان یک روش نوین در زمینه پژوهش‌های زیستی معرفی و با ورود به دنیای علم، فصل جدیدی از پژوهش‌ها و اکتشافات علمی آغاز شد. در این روش ژن کدکننده پروتئین‌های حساس به نور از طریق وکتور مورد نظر به سلول‌های هدف انتقال داده می‌شود تا با استفاده از فوتون‌های دارای فرکانس‌های متفاوت و متناسب با نیازهای پژوهشی، فعالیت این سلول‌ها تحت کنترل قرار گیرند. این روش نه تنها در زمینه پژوهش‌های بنیادی بلکه در حوزه‌های پزشکی نیز کاربرد دارد. توانایی کنترل دقیق و تنظیم شده‌ی فعالیت پروتئین‌ها براساس فرکانس نور، این امکان را به پژوهشگران می‌دهد که به‌صورت خاص و متناسب با نیازهای پژوهشی، در فرآیندهای زیستی درون سلول‌ها دخالت و آنها را کنترل نمایند. این نوآوری به‌عنوان یک ابزار کارآمد برای تجزیه و تحلیل فرآیندهای زیستی در سلول‌ها، گام مهمی در مسیر مطالعات زیستی و پزشکی محسوب می‌شود [1 و 2].

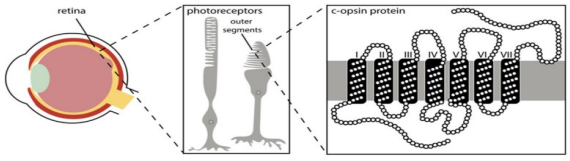
اپتوژنتیک، به‌عنوان یک ابزار کلیدی در علوم اعصاب، توسط پژوهشگران به‌طور گسترده مورد استفاده قرار گرفته است. محققان نخستین بار با انتقال ژن کدکننده گیرنده نوری در مگس سرکه به سلول‌های عصبی در پستانداران، با هدف القای حساسیت به نور در آنها، توانستند فعالیت سلول‌های عصبی مورد نظر را تحت کنترل قرار دهند. این روش نقش بسزایی در زمینه علوم اعصاب ایفا نموده است[3]. کانال رودوپسین[2] نوع دو به‌عنوان نخستین اپسینی[3] است که توسط محققان شناسایی و در روش اپتوژنتیک بکار گرفته شد. محققان با استفاده از وکتور AAV مناسب، ژن کدکننده کانال رودوپسین نوع دو را به بقایای سلول‌های گیرنده نوری در مدل موشی که مبتلا به بیماری ژنتیکی اسیب شبکیه بود، منتقل‌کرده و درنهایت با تاباندن نورابی با طول موج 470 نانومتر به سلول‌های گیرنده نوری، بیان این نوع از کانال‌ها را در این سلول‌ها القا نمودند[2]. برای استفاده از روش اپتوژنتیک به‌منظور ژن‌درمانی، باید به سه عامل شناسایی پروتئین‌های حساس به نور، استفاده از ابزار مناسب برای انتقال ژن و بهره‌گیری از سلول هدف مناسب برای ژن درمانی توجه نمود [3].

بخش اول: پروتئین‌های فعال‌شده توسط نور (اپسین‌ها)

اپسین‌ها گروهی از پروتئین‌های حساس به نور هستند. هر مولکول اپسین نور با طول موج مشخصی را جذب می‌کند و به آن پاسخ می‌دهد. از پروتئین‌های حساس به نور می‌توان به رودوپسین‌ها[4] اشاره نمود که همگی آنها ساختار مشترکی دارند.

بخش بزرگی از ساختار آنها از توالی‌های آمینو اسیدی تشکیل شده است؛ به‌گونه‌ای که مارپیچ‌های آلفا هفت بار از عرض غشاء عبور می‌کنند. همچنین در ساختار این پروتئین‌ها، کروموفور رتینال[5] (رنگدانه جاذب نور) دیده می‌شود که با پیوند کووالانسی، ازطریق پیوند باز شیف، به گروه آمینو اسید لیزین موجود روی هفتمین مارپیچ آلفا متصل است. به‌طورکلی پروتئین‌های حساس به نور را در دو گروه جداگانه اپسین‌های جانوری و اپسین‌های میکروبی طبقه‌بندی می‌کنند[4].

اپسین‌های جانوری در مهره‌دارانی مانند انسان دیده می‌شوند. در واقع این نوع از اپسین‌ها گیرنده‌های جفت‌شده با G پروتئین‌هایی هستند که در سطح غشاء سلولی قرار گرفته‌اند و در انتقال پیام‌ها از داخل به خارج سلول نقش دارند. این کانال‌های غشایی، کاتیون‌هایی مانند سدیم و کلسیم را به داخل سلول هدایت می‌کنند. با جذب نور، کانال کاتیونی بسته می‌شود و پتانسیل الکتریکی سلول تغییر می‌کند. تغییر در پتانسیل الکتریکی سلول، سبب انتقال پیام‌های بینایی به مغز و تفسیر آنها در مغز می‌شود (شکل 1) [5].



1. Optogenetic
2. Channelrhodopsin
3. Opsin
4. Rhodopsin
5. Retinal

شکل1: پروتئین‌های C اپسین در بخش‌های بیرونی سلول‌های گیرنده نوری در شبکیه قرار دارند. این پروتئین‌ها از چندین دومین گذرنده از غشاء که با حروف لاتین در شکل نمایش داده شده‌اند تشکیل شده است [11].

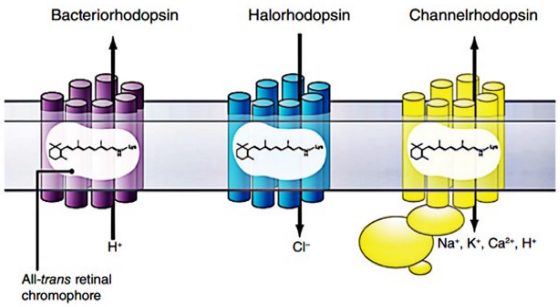
در اواخر دهه 1960 دانشمندانی به نام‌های اوسترهلت[1] و استوئکنیوس[2]، به وجود اپسین‌های میکروبی پی بردند. این اپسین‌ها در چهار دسته کانال رودوپسین‌ها[3]، باکتیرورودوپسین‌ها[4]، هالورودوپسین‌ها[5] و پروتئورودوپسین‌ها[6] طبقه‌بندی می‌شوند [6].

کانال رودوپسین‌ها به گروه خاصی از کانال‌های یونی تعلق دارند که توسط نور تنظیم می‌شوند. این گروه از پروتئین‌ها، نخستین بار در جلبک سبز Chlamydomonas reinhardtii مشاهده شدند. کانال رودوپسین‌ها باعث عمل فتوتاکسی[7] در جلبک‌های سبز می‌شوند. در ساختار مشترک این پروتئین‌ها، مارپیچ‌های آلفا وجود دارند که هفت بار از عرض غشاء عبور می‌کنند. در ساختار کانال رودوپسین‌ها، کروموفور رتینال ازطریق پیوند باز شیف به جایگاه فعال پروتئین متصل است. این پیوند شیمیایی با انتقال پروتون از باقیمانده آمینواسیدی لیزین به کروموفور رتینال تشکیل می‌شود. با جذب نور و فتوایزومریزاسیون کروموفور رتینال، انتقال یونی صورت می‌گیرد. در تاریکی رتینال در حالت ترانس به یک باقیمانده آمینو اسیدی لیزین، در هلیکس هفتم داخل غشایی متصل است. با جذب نور، رتینال از حالت ترانس به سیس تبدیل و موجب انتقال یون از عرض غشاء می‌گردد. کانال رودوپسین نوع II، با جذب نور دارای طول موج کمتر از 540 نانومتر (نور آبی)، در مدت زمان کمتر از 50 میکروثانیه تحریک شده و به نور پاسخ می‌دهد [7 و 8].

باکتیرورودوپسین‌ها، پمپ‌های پروتونی حساس به نور هستند و از ساختارهای مارپیچ آلفای هفت بار گذرنده از غشاء تشکیل شده‌اند. در داخل این اپسین‌ها، کروموفور رتینال دیده می‌شود که با جذب امواج نوری با طول موج 520 تا 560 نانومتر (نور سبز)، کروموفور ازحالت سیس به ترانس تبدیل می‌شود. با جذب نور و تبدیل کروموفور از حالت سیس به ترانس، پروتون به درون سلول باکتریایی پمپ می‌شود. با انتقال پروتون به داخل سلول، موتور تاژک فعال می‌گردد و باکتری به سمت نور حرکت می‌کند. هنگامی که نور در محیط وجود نداشته باشد، با تبدیل کروموفور از حالت ترانس به سیس و غیرفعال‌شدن آن، پروتون به خارج از سلول انتقال می‌یابد و ATPتولید می‌شود [9].

هالورودوپسین‌ها، گروه دیگری از اپسین‌های میکروبی هستند که به‌عنوان پمپ‌های کلریدی حساس به نور شناخته می‌شوند. این اپسین‌ها در موجودات زنده مانند باکتری‌های از شاخه‌های Flavobacteria وCyanobactria و همچنین گونه‌های Halobacterium Salinarium و Natronomonas pharaonis بیان می‌شوند. هالورودوپسین‌ها با انتقال یون‌های کلر از فضای خارج سلولی به داخل سلول و درنتیجه منفی‌ترشدن داخل سلول نسبت به محیط اطراف، منجربه هایپرپلاریزاسیون غشاء سلول می‌شوند. این عمل منجربه فرایند فتوتاکسی در ارکی‌باکتری‌ها[8] می‌شود. هالورودوپسینی که در مطالعات علوم اعصاب کاربرد گسترده‌ای دارد، Natronomonas pharaonis است. این هالورودوپسین در مطالعات علوم اعصاب کاربرد گسترده‌ای دارد. هنگامی که این نوع از هالورودوپسین، با طول موج مشخصی از نور فعال می‌شود، یون‌های کلر به داخل سلول عصبی نشت می‌کنند. این امر سبب می‌گردد تا سلول عصبی هایپرپلاریزه و غیرفعال شود. پژوهشگران در روش اپتوژنتیک، با استفاده از نور با طول موج مشخص، می‌توانند فعالیت سلول‌های عصبی را به‌طور انتخابی مهار کنند و از این طریق به عملکرد یک نورون خاص پی ببرند (شکل 2) [10].

1. Oesterhelt
2. Stoeckenius
3. Channelrhodopsins
4. Bacteriorhodopsins
5. Halorhodopsins
6. Proteorhodopsins
7. Phototaxis
8. Archaebacteria



شکل2: پروتئین‌های میکروبی فعال‌شده توسط نور[2]

بخش دوم: استفاده از ابزار و سلول هدف مناسب

از ابزارهای مورد استفاده در روش اپتوژنتیک می‌توان به ویروس‌هایی مانند آدنو ویروس‌های همراه[1] (AAV) اشاره کرد. پژوهشگران نخستین بار در سال 1960 به وجود این ویروس‌ها پی بردند و آنها را به‌عنوان عوامل غیربیماری‌زا معرفی کردند و با گذشت زمان از آنها برای اهداف درمانی و تشخیصی استفاده نمودند. ویروس‌های AAV، ویروس‌هایی کوچک و بدون پوشش هستند که به خانواده پارووویروس‌ها[2] تعلق دارند. از این ویروس‌ها برای میزبان بیماری‌زا نیستند، می‌توان آنها را از سایر اعضای خانواده متمایز نمود. ویروس‌های AAV، تک‌رشته و قادر به حمل مولکول DNA به طول 4/7 کیلو باز هستند [11].

ویروس‌های AAV به چند دلیل مورد استفاده قرار می‌گیرند:

- این ویروس‌ها می‌توانند طیف وسیعی از سلول‌ها را مورد هدف قرار دهند.

- در صورت ورود به بدن میزبان، میزان پاسخ ایمنی که ایجاد می‌کنند، بسیار محدود است.

- این ویروس‌ها DNA خود را در ناحیه مشخصی از کروموزوم 19 وارد می‌کنند[3] و در ایجاد بیان بلند مدت ژن در سلول نقش دارند [11].

از رده‌های سلولی که به طور متداول در پژوهش‌های مولکولی و بالینی مورد استفاده قرار می‌گیرد، می‌توان به سلول‌های HEK293T اشاره کرد. این سلول ها نخستین بار در سال 1970 از سلول‌های جنینی کلیه استخراج شدند. رده سلولی HEK به‌دلیل حمایت از تکثیر وکتورهای ویروسی و همچنین در ایجاد ترنسداکشن[4] مؤثر توسط ویروس‌ها، در پژوهش‌های زیستی، برای ساخت ویروس‌های نوترکیب جدید، مورد استفاده قرار می‌گیرند [11].

بخش سوم: اپتیک

روش‌های اصلی وارد کردن نور به بافت عبارتند از منابع نوری که نور از فاصله دوراز طریق یک فیبر نوری به بافت نفوذ می کند و یا منابع نوری (برای مثال LED ها) که می توانند در محل مورد نظر کاشته شوند و یا مستقیما سطح قشر مغز را مورد هدف قرار دهند. LED ها و لیزرها به دلیل سادگی، کارایی و هزینه مناسب به طور گسترده ای استفاده می شوند. ازمعایب آن‌ها داشتن پهنای باند طیفی باریک است که نیاز به دو دستگاه مختلف برای فعال‌سازی دو اوپسین با طیف‌های متفاوت، به صورت مستقل دارد. فیبرهای نوری می‌توانند به هر منبع نوری متصل شوند به شرط ان که توان آن‌ها کنترل شود. این کنترل ضروری است تا بافت به حداقل نور ممکن برای کاهش گرما و آسیب نوری، و همچنین نور کافی برای فعال‌سازی اوپسین‌ها، مواجه شود[1].

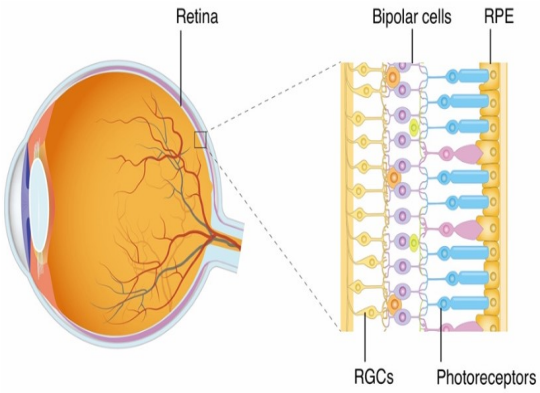
بخش چهارم : درمان و تشخیص بیماری

اپتوژنتیک روشی است که با استفاده از نور با طول موج مناسب می‌توان بیان پروتئین مورد نظر را در سلول هدف تحریک نمود و از این طریق فعالیت سلول را تحت کنترل قرار داد. از این روش می‌توان

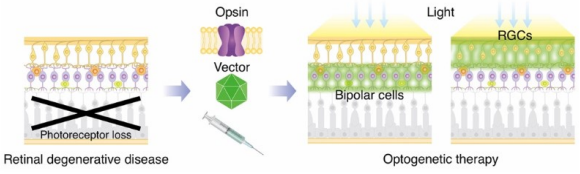
[1]. Adeno-associated virus (AAV)
[2]. Parvoviridae

[3]. Insertion
[4]. Transduction

برای احیاء و بازگرداندن بینایی در بیمارانی که شبکیه چشم آنها آسیب دیده است، حتی با منشاء ژنتیکی و همچنین در مراحل حاد بیماری استفاده نمود. در بیمارانی که دچار آسیب شدید شبکیه هستند، سلول‌های گیرنده نوری ازبین‌رفته و تنها برخی از سلول‌های گانگلیونی[1] و دوقطبی[2] ممکن است حضور داشته باشند، با توجه به آن که سلول‌های باقیمانده نسبت به نور غیرحساس هستند، پژوهشگران ژن کدکننده *Chrimson* را به‌وسیله وکتورهای وابسته به ادنو به سلول‌ها انتقال‌داده و با تاباندن نور با طول موج مناسب بیان پروتئین‌ها را در این سلول‌ها القاءکرده که این فرایند در بازیابی بینایی بیماران حتی در مراحل پیشرفته نقش بسزایی داشته است. (شکل3 و4) [2].



شکل 3: شبکیه یک ساختار لایه است که در داخل چشم قرار دارد. سلول‌های عصبی موجود در شبکیه شامل گیرنده‌های نوری، سلول‌های دوقطبی و سلول‌های گانگلیونی است. رنگدانه اپیتلیومی شبکیه، در حفظ عملکرد شبکیه نقش دارد[2].



شکل 4: در روش درمانی اپتوژنتیک، در بیماران مبتلا به آسیب شبکیه که سلول‌های گیرنده ی نوری خود را از دست داده‌اند، می‌توان با استفاده از انتقال ژن گیرنده نوری به سلول‌های باقی‌مانده در شبکیه برای مثال سلول‌های دوقطبی یا گانگلیونی، این سلول‌ها را به سلول‌های گیرنده نوری مصنوعی تبدیل کرد [2].

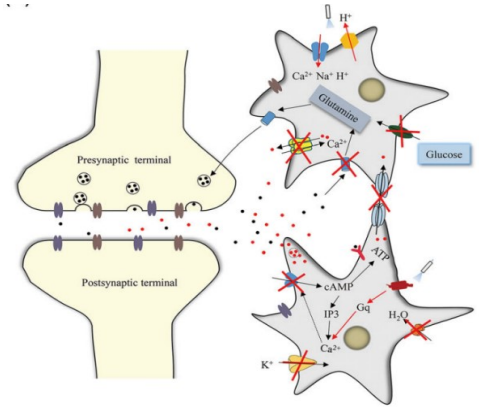
هالورودوپسینی که در مطالعات علوم اعصاب کاربرد گسترده‌ای دارد ناترونوموناس فاراونیس است. هنگامی که این نوع از هالورودوپسین، با طول موج مشخصی از نور فعال می‌شود، یون‌های کلر به داخل سلول عصبی نشت پیداکرده و سلول‌هایپرپلاریزه می‌شود. هایپرپلاریزاسیون منجربه غیرفعال‌شدن سلول عصبی می‌شود[10]. محققان در روش اپتوژنتیک، با استفاده از نور با طول موج مشخص، می‌توانند فعالیت سلول‌های عصبی را به‌طور انتخابی مهار کنند و از این طریق به عملکرد یک نورون خاص پی ببرند[10]. نقش دیگر روش اپتوژنتیک در درمان بیماران مبتلا به نورودجنراتیو(ND)[3] است. در بیماری نورودجنراتیو عملکرد استروسیت‌ها دچار اختلال شده و باعث بیماری‌هایی همچون اسکلروز جانبی امیوتروپیک (ALS)[4] و بیماری الزایمر (AD)[5] می‌شود. استروسیت‌ها[6] نقش کلیدی در تنظیم ارتباطات و برهم‌کنش‌های سیناپسی بین نورون‌ها در شبکه نورونی ایفا می‌کنند. با توجه به آن که در روش اپتوژنتیک، از نور با طول موج مشخصی استفاده می‌شود، می‌توان به‌طور اختصاصی بیان پروتئین‌های خاصی را در سلول هدف تحریک نمود. محققان با استفاده از این روش می‌توانند ارتباط استروسیت‌ها و نورون‌ها و همچنین ارتباطات سیناپسی را در شبکه نورونی شناسایی‌کرده و فعالیت سیناپسی نورون‌ها را با رهاشدن گلیوترانسمیترها[7] از استروسیت‌ها، تحت کنترل قرار دهند [12].

گلیوترانسمیترها، مولکول‌های ارتباطی هستند که توسط سلول‌های گلیال[8] به ویژه استروسیت‌ها رهاشده تا فعالیت سیناپسی و عملکرد نورونی را تنظیم نمایند. این مولکول‌ها شامل نوروترانسمیترهایی همچون گلوتامات، سرین، ادنوزین تری‌فسفات‌هایی هستند که به

1. Ganglion cells
2. Bipolar cells

3. Neurodegenerative
4. Amyotrophic lateral sclerosis
5. Alzheimer disease
6. Astrocytes
7. Gliotransmitter
8. Glial cells

سرعت به ادنوزین تبدیل می‌شوند. گلیوترانسمیترها در فرایندهای مختلفی نظیر تنظیم ریتم خواب، اگاهی، یادگیری و حافظه نقش موثری ایفا می‌کنند. اختلال در آزادشدن این نوع نوروترانسمیترها، با بیماری‌های عصبی و نورودجنراتیو در ارتباط است و از این رو آنها را به یک محور تحقیقاتی برای مداخلات درمانی تبدیل کرده است. محققان در این روش با تاباندن نور با طول موج مشخص، بیان کانال‌های پروتئینی خاصی را در سلول‌های استروسیتی آسیب‌دیده تحریک نموده و رهاشدن گلیوترانسمیترها را تنظیم می‌نمایند. با استفاده از این روش می‌توان، عملکرد استروسیت‌ها را در حالت طبیعی و آسیب شناسایی‌کرده و روش موثری را برای درمان این بیماری‌ها بکار گرفت (شکل 5) [12].



شکل 5: این شکل نشان‌دهنده تعامل بین استروسیت‌ها و نورون‌ها، در حالت آسیب نورودجنراتیو است. کاهش فعالیت GLT1 در استروسیت‌ها، باعث فعال‌شدن بیش‌ازحد گیرنده‌های یونی تروپیک گلوتامات‌شده، که منجربه ورود مقدار بالایی از یون‌های کلسیم و اختلال در جذب گلوتامات‌شده، که درنهایت نوروتوکسیتی ایجاد می‌شود. نقص در کانال Kir4.1 منجربه اختلال در هموستاز گلوتامات و بیماری نورودجنراتیو می‌شود. اختلال در عملکرد AQP4 منجربه نقص در هموستاز سلولی می‌شود. نقص در ورود و خروج یون کلسیم منجربه اختلال در عملکرد سیناپسی و همچنین عدم تنظیم گلوتامات و درنتیجه بیماری آسیب عصبی می‌شود. با استفاده از تکنیک اپتوژنتیک می‌توان بیان کانال‌های پروتئینی خاصی را مثل ChR2, Arch, optoβ2AR را القا کرد، که با بیان این پروتئین‌ها در سلول می‌توان ارتباطات مختل‌شده را به حالت اول بازگرداند[12].

کاربرد دیگر اپتوژنتیک برای درمان و تشخیص زودهنگام بیماری الزایمر است. بیماری الزایمر با مشاهده پلاک‌های امیلوئید بتا و همچنین تجمع غیرطبیعی پروتئین‌هایی به نام تائو در نواحی مختلف مغز و در سلول‌های عصبی تعیین می‌شود. اپتوژنتیک عمدتاً در تحقیقات، برای درک پاتوژنز AD و کشف مداخلات درمانی مورد استفاده قرار گرفته است. بااین‌حال، تکنیک‌های اپتوژنتیک برای تشریح مسیرهای حافظه هیپوکامپ و مطالعه مدارهای عصبی درگیر در اختلال حافظه استفاده شده است که به طور بالقوه می‌تواند به درک بهتر پیشرفت بیماری و تأثیر آن بر عملکرد شناختی کمک کند. از روش اپتوژنتیک می‌توان برای القای رسوب پلاک مصنوعی استفاده کرد که این امر به محققان این امکان را می‌دهد تا اثرات بیماری‌زایی رسوب پلاک‌های پروتئینی را در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار دادند. تکنیک اپتوژنتیک برای مطالعه اختلال حافظه در مراحل اولیه AD، به‌ویژه با تمرکز بر نقش هیپوکامپ در حافظه، به‌کار گرفته شده است. همچنین با استفاده از این روش می‌توان عملکرد داروهایی هم چون ممانتین و کافئین را در بیماران مبتلا به الزایمر در مورد اثرات آنها برانتقال عصبی سیناپسی و عملکرد حافظه شناسایی کرده و مورد مطالعه قرار داد[1].

استفاده از پروتئین‌های اپسین در اپتوژنتیک، زمینه‌های مختلف تحقیقات زیست پزشکی، به‌ویژه علوم عصبی را تغییر داده است.

ویروس‌های مرتبط با ادنو با تغییرات ژنتیکی خاص، یک روش قدرتمند برای ارائه اپسین‌ها ، به انواع خاص سلول‌های مغز، در شرایط invivo را ارائه می‌دهند. این رویکرد نوآورانه به محققان اجازه می‌دهد تا نقش‌های انواع سلول‌های خاص را بررسی‌کرده و در رفتار، فیزیولوژی و بیماری در حیوانات، آگاهی حاصل کنند .

مطالعه اپتوژنتیک اولین بار در سال ۲۰۰۷ انجام شد و نقش نورون‌های اورکسین در گذارهای خواب و بیداری را بررسی کرد. این نورون‌ها در هیپوتالاموس قرار دارند و ارتباط آنها با بیداری مشخص نبود، اما ازطریق اپتوژنتیک، توانستند با استفاده از نور آبی،

نورون‌های اورکسین را فعال‌کرده و بیداری را ایجاد کنند. تحقیقات بعدی بر روی نورون‌های مختلف، مانند نورون‌هایPV ، برای درک ارتعاش‌های گاما و اختلالاتی مانند اسکیزوفرنی تمرکز دارند، که می‌توانند بهبود درمانی در برخی از مشکلات عصبی را به‌دنبال داشته باشند. اپتوژنتیک یک روش پژوهشی است که در زمینه روانپزشکی مورد استفاده قرار گرفته و نشان داده است که استفاده از نور می‌تواند بر بیماری‌های روحی مانند افسردگی، اضطراب، انگیزه در حیوانات آزمایشگاهی تأثیر بگذارد. همچنین، مداخله اپتوژنتیک در تنظیم تعادل سلول‌های مغزی نقش مؤثری در فهم اختلالات طیف اوتیسم داشته و نشان داده است که تغییرات در این تعادل می‌تواند در رفتارهای اوتیستیک موثر باشد. اپتوژنتیک یک روش جدید برای درمان بیماری‌های روانی است. این روش در تحقیقات مختلف مؤثر بوده است. به‌عنوان مثال، در موش‌های مبتلا به صرع، با استفاده از نور می‌توان صرع را کنترل کرد[13].

فناوری اپتوژنتیک کنترل دقیق بر روی سیمای مدارهای عصبی را فراهم می‌کند که به‌خوبی با طبیعت پیچیده اختلالات روانپزشکی هماهنگ است. این تلاقی پیشرفت‌های سریعی در تحقیقات نوروسایکایتری را ارتقاداده و بینش‌های ارزشمندی در مورد شرایطی مانند نارکولپسی، اسکیزوفرنی، اوتیسم و افسردگی فراهم می‌کند. تکنیک‌های اپتوژنتیک به‌عنوان ابزارهای قوی برای مطالعه و احتمالاً درمان بیماری‌های روانپزشکی ظاهر می‌شوند و راه را برای پیشرفت‌های آینده در این زمینه می‌سازند[14].

اپتوژنتیک شامل تغییر ژنتیکی سلول‌ها با پروتئین‌های حساس به نور است که امکان کنترل دقیق و انتخابی عملکرد سلول‌ها را ازطریق تحریک یا سرکوب نور فراهم می‌کند. این روش، که در علوم اعصاب مورد استفاده قرار می‌گیرد، درحال‌حاضر در تحقیقات قلبی نیز به‌کار گرفته می‌شود. در زمینه تحقیقات قلبی، اپتوژنتیک برای مدیریت فعالیت قلبی در محیط‌های کنترل‌شده آزمایشگاهی و درin vivo استفاده شده است. این تکنیک قادر به اختلال در ریتم‌های قلبی و ایجاد آریتمی‌ها با استفاده از نور است. در کل، اپتوژنتیک به‌عنوان یک روش پیشرفته می‌تواند درک از الکتروفیزیولوژی قلب، آریتمی‌ها و کشف داروها را بهبود بخشد .کانالورودوپسین نوع دو به‌عنوان یک اپسین تحریکی، جریان ورودی را در پاسخ به پالس‌های نوری که در داخل کاردیومیوسایت‌ها بیان می‌شود، ایجاد می‌کند. این جریان ورودی موجب فعال شدن پتانسیل‌های عمل می‌شود که برای انقباض سلول‌های عضلانی قلب ضروری هستند. تکنیک پچ کلمپ پتانسیل عمل نوری به محققان این امکان را می دهد تا به مطالعه دقیق و درک نقش کانالورودوپسین نوع دو در ایجاد تغییرات ولتاژ غشاء در سلول‌های کاردیومیوسیت پی ببرند. استراتژی TCU به همراه فیبروبلاست‌های قلبی حساس به نور، به ارزیابی کمی از اتصال الکتریکی بین فیبروبلاست‌ها و کاردیومیوسایت‌ها امکان می‌دهد، که یک رابطه معکوس بین انرژی تحریک و قدرت اتصال را نشان دهد. این رویکرد مبتنی بر اپتوژنتیک، ارزیابی اتصالات درون سینسیتیای قلبی و بافت‌های کلی را ممکن می‌سازد و احتمالاً نورافکندگی تغییرات در اتصالات پس از انفارکتوس میوکارد را بررسی می‌کند. همچنین، نگرشی به تحویل سلول و ادغام پیوند بافتی درحین روش‌های تعمیر قلبی ارائه می‌دهد، که ارزیابی خاص سلولی ازطریق فعال سازی نوری را فراهم می‌کند[15].

سلول‌های بنیادی عصبی (NSCs) در فرایند نوروژنز و برای درمان اختلالات سیستم عصبی مرکزی نقش اساسی ایفا می‌کنند. اپتوژنتیک، با استفاده از نور برای کنترل دقیق فعالیت سلولی، روشی برای مدیریت مصنوعی NSCs فراهم می‌آورد. مطالعات نشان داده‌اند که دستکاری اپتوژنتیک NSCs می‌تواند التهاب را تنظیم‌کرده و در بازیابی عملکرد دربیماران مبتلا به سکته مغزی به‌کار آید. اپتوژنتیک در کنترل سلول‌های بنیادی عصبی، برای کاربردهای درمانی در اختلالات سیستم عصبی مرکزی کاربرد دارد. سلول‌های بنیادی عصبی برای درک نوروژنز حیاتی هستند و اپتوژنتیک یک روش دقیق برای کنترل فعالیت آنها با استفاده از نور ارائه می‌دهد. تحقیقات قبلی نشان می‌دهد که مداخله اپتوژنتیک در سلول‌های بنیادی عصبی می‌تواند بر التهابات تأثیر بگذارد و در بازیابی از سکته مغزی کمک کند، اما اثر آن بر تمایز NSC ها هنوز واضح نیست. با وجود چالش‌هایی مانند نیازهای انرژی و پیچیدگی راه‌اندازی، پژوهشگران

نوع حساسی از کانال‌رودوپسین‌ها، یعنی ChRFR(C167A) برای سلول‌های بنیادی عصبی از طریق تحویل ژن غیرویروسی توسعه داده‌اند. با استفاده از نور با شدت پایین، آنها تمایز سلول‌های عصبی را در NSCs مشاهده کرده که این روش نوروژنز را با تغییر فعالیت سلولی و بهبود محیط سلولی ارتقا می‌دهد. علاوه‌براین، NSCs می‌توانند در وضعیت تمایز نیافته نگه داشته شوند یا با تنظیم عوامل رشد و شرایط کشت به تمایز وارد شوند [16].

بیش از پنج میلیون بیمار در ایالات متحده مبتلا به اختلالات نورونی هستند. اختلال در نورون‌های حرکتی فوقانی منجربه بیماری‌های مربوط به مغز و اعصاب‌شده و اختلال در نورون‌های حرکتی تحتانی در ایجاد بیماری‌هایی مانند ALS، آتروفی عضلات نخاعی و نوروپاتی‌های چندگانه می‌شود. با استفاده از روش اپتوژنتیک به‌عنوان رویکردی نوین، می‌توان عملکرد عضلات اسکلتی به طور مستقیم یا غیرمستقیم، به‌عنوان روشی جایگزین و به‌جای استفاده از روش‌های سنتی مانند تحریک الکتریکی عملکردی (FES) استفاده نمود.

تکنیک‌های اپتوژنتیک از تغییرات ژنتیکی برای فرایندهای سلولی کنترل‌شده توسط نور از طریق پروتئین‌های حساس به نور استفاده می‌کنند، که کنترل دقیق مکانی و زمانی را ارائه می‌دهند و برای درک عملکرد مغز حیاتی است. کانالرودوپسین۲(ChR2)، اولین پروتئین استفاده‌شده، توانایی انقباض عضلات تحت نور را فراهم می‌کند، و نسخه‌های مختلف آن ویژگی‌های فیزیکی متنوعی را فراهم می‌کنند. رویکردهای درمانی اپتوژنتیک، با آزمایشات بالینی در حال انجام برای بازسازی بینایی و کاربردهای بالقوه در بیماری پارکینسون، صرع، و نارسایی‌های قلبی، امیدوارکننده است. دو رویکرد برای بازسازی عملکرد عضلات اسکلتی شامل تحریک غیرمستقیم اپتوژنتیک ازطریق اعصاب تأمین‌کننده یا تحریک مستقیم عضلات اسکلتی حاوی ChR2 می‌باشد. اپتوژنتیک در عضلات اسکلتی با تحریک نورون‌های حاوی ChR2 آغاز شد که حرکات را ایجاد می‌کند. تحریک غیرمستقیم اپتوژنتیک اعصاب محیطی، اجازه فعال‌سازی انتخابی عضلات را می‌دهد این روش نسبت به FES، علائم خستگی را به میزان کمتری کاهش می‌دهد. تحریک اپتوژنتیک مستقیم عضلات اسکلتی، که در هر دو کینورهادیتیس الگانس و پستانداران نشان داده شده است، توانایی کنترل انقباضات عضلات از طریق میوبلاست‌های حاوی ChR2 را فراهم می‌کند. مطالعات در سال ۲۰۱۵ کنترل دقیق بر روی دامنه انقباضات تکانشی و کاهش آتروفی عضلات را نشان داد، اما تحقیقات بیشتری برای ارزیابی کارایی تحریکات و توسعه خستگی، به ویژه در فیبرهای عضلات سریع، لازم است[17].

در سال‌های اخیر، جعبه‌ابزار اپتوژنتیک به‌طور قابل توجهی گسترش‌یافته و امکان کنترل دقیق فرآیندهای بیوشیمیایی و مسیرهای انتقال سیگنال که در توسعه سرطان حیاتی هستند را فراهم کرده است. این روش برای بررسی دینامیک سیگنال‌دهی سلولی و تأثیر آن بر رفتار سلول‌های سرطانی استفاده می‌شود و به توسعه استراتژی‌های درمانی جدید و کشف داروهای ضدسرطان کمک می‌کند. ابزارهای اپتوژنتیک که پروتئین‌های حساس به نور را با دامنه‌های اثرگذار انسانی ترکیب می‌کنند، می‌توانند پتانسیل غشای سلولی را تنظیم کنند، تکثیر سلول‌ها را کنترل کنند و آپوپتوز را القا کنند. این ابزارها همچنین برای مطالعه سیگنال‌دهی واسطه‌شده توسط GPCR، کینازهای تیروزین گیرنده و مسیرهای PI3K استفاده می‌شوند و بینش‌هایی در مورد زیست‌شناسی تومور ارائه می‌دهند. علاوه‌براین، اپتوژنتیک با کنترل فعالیت سلول‌های T و بیان سایتوکاین‌ها، ایمنی درمانی سرطان را بهبود بخشیده است[18].

References:

1. Mirzayi, P., Shobeiri, P., Kalantari, A., Perry, G., & Rezaei, N. (2022). Optogenetics: Implications for Alzheimer's disease research and therapy. Molecular Brain, 15(1), 1-14.
2. McClements, M. E., Staurenghi, F., MacLaren, R. E., & Cehajic-Kapetanovic, J. (2020). Optogenetic gene therapy for the degenerate retina: recent advances. Frontiers in Neuroscience, 14, 570909.
3. De Silva, S. R., & Moore, A. T. (2022). Optogenetic approaches to therapy for inherited retinal degenerations. The Journal of Physiology, 600(21), 4623-4632.
4. Sakai, D., Tomita, H., & Maeda, A. (2022). Optogenetic therapy for visual restoration. International Journal of Molecular Sciences, 23(23), 15041.
5. Hagen, J. F., Roberts, N. S., & Johnston Jr, R. J. (2023). The evolutionary history and spectral tuning of vertebrate visual opsins. Developmental Biology, 493, 40-66.
6. Friedman, J. M. (2021). How the discovery of microbial opsins led to the development of optogenetics. Cell, 184(21), 5266-5270.
7. Van Stokkum, I. H., Hontani, Y., Vierock, J., Krause, B. S., Hegemann, P., & Kennis, J. T. (2023). Reaction dynamics in the chrimson channelrhodopsin: Observation of product-state evolution and slow diffusive protein motions. The Journal of Physical Chemistry Letters, 14(6), 1485-1493.
8. Oda, K., Vierock, J., Oishi, S., Rodriguez-Rozada, S., Taniguchi, R., Yamashita, K., Wiegert, S., Nishizawa, T., Hegemann, P., & Nureki, O. (2018). Crystal structure of the red light-activated channelrhodopsin chrimson. Nature Communications, 9(1), 3949.
9. Deisseroth, K. (2015). Optogenetics: 10 years of microbial opsins in neuroscience. Nature Neuroscience, 18(9), 1213-1225.
10. Engelhard, C., Chizhov, I., Siebert, F., & Engelhard, M. (2018). Microbial halorhodopsins: light-driven chloride pumps. Chemical Reviews, 118(21), 10629-10645.
11. Lugin, M. L., Lee, R. T., & Kwon, Y. J. (2020). Synthetically engineered adeno-associated virus for efficient, safe, and versatile gene therapy applications. ACS Nano, 14(11), 14262-14283.
12. Xie, Z., Yang, Q., Song, D., Quan, Z., & Qing, H. (2020). Optogenetic manipulation of astrocytes from synapses to neuronal networks: A potential therapeutic strategy for neurodegenerative diseases. Glia, 68(2), 215-226.
13. Shirai, F., & Hayashi-Takagi, A. (2017). Optogenetics: Applications in psychiatric research. Psychiatry and clinical neurosciences, 71(6), 363-372.
14. Deisseroth, K. (2012). Optogenetics and psychiatry: applications, challenges, and opportunities. Biological psychiatry, 71(12), 1030-1032.
15. Ambrosi, C. M., Klimas, A., Yu, J., & Entcheva, E. (2014). Cardiac applications of optogenetics. Progress in biophysics and molecular biology, 115(2-3), 294-304.
16. Teh, D. B. L., Prasad, A., Jiang, W., Zhang, N., Wu, Y., Yang, H., ... & All, A. (2020). Driving neurogenesis in neural stem cells with high sensitivity optogenetics. Neuromolecular medicine, 22, 139-149.
17. Gundelach, L. A., Hüser, M. A., Beutner, D., Ruther, P., & Bruegmann, T. (2020). Towards the clinical translation of optogenetic skeletal muscle stimulation. Pflügers Archiv-European Journal of Physiology, 472, 527-545.
18. Keshmiri Neghab, H., Soheilifar, M. H., Grusch, M., Ortega, M. M., Esmaeeli Djavid, G., Saboury, A. A., & Goliaei, B. (2022). The state of the art of biomedical applications of optogenetics. Lasers in Surgery and Medicine, 54(2), 202-216.