



خلاصه بشنوید

نهمین شماره ی دوفصلنامه ی دانشجویی انجمن علمی دامپزشکی دانشگاه شیراز (وهمین) با صدای و ت آوا



- ارتشی با تسلیحات جدید
- خرس ها هنوز اینجا پرسه میزنند
- دوروی یک سکه
- سگ ها و بیماری های مشترک



دوفصلنامه علمی دانشجویی وهومن / سال هفتم، شماره نهم / پاییز و زمستان ۱۴۰۳

مدیر مسئول و سردبیر: یاسمین خزان

استاد مشاور انجمن علمی: فاطمه نمازی

ویراستار: رئوف مروی، علی سمیعی لاری

طراح جلد و صفحه‌آرا: سنا جنگجو

هیئت تحریریه:

ریحانه نفیسی، محمدرضا اکبری، سیدعلی سیدابراهیمی،
سیدشهاب موسوی کرمانشاهی، علیرضا صادق، آرین
کریمی پور فرد، تینا یعقوب پور، محمد حسین پورغفاری،
بهار اسفندیاری، ایلیا حاتمی، فاطمه سنا احمدی دلیوند،
یاسمین خزان، رحیم ایرانپوری، محمدحسین اکبرنژاد

مشاوران علمی:

دکتر مریم انصاری لاری، دکتر پوریا الماسی، دکتر حسن
شریفی یزدی، دکتر سید مصطفی رضوی دینانی، دکتر تینا
یعقوب پور

با سپاس فراوان از:

جناب آقای دکتر فارسی (مدیرکل مرکز حمایت از فعالیت های علمی دانشجویان دانشگاه

شیراز)، جناب آقای زارعیان (کارشناس مسئول خانه نشریات دانشگاه شیراز)، جناب

آقای دکتر رخشنده‌رو (معاون فرهنگی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز)

وت‌آوا

پادکست:



آغوشی که هر روز بزرگ‌تر می‌شود

هر روز ۶ کودک مبتلا به سرطان تحت حمایت محک قرار می‌گیرند.

در سالی که گذشت با همراهی شما بیش از ۲۰۰۰ کودک جدید تحت حمایت محک قرار گرفتند؛ تنها با تداوم این همراهی است که آغوش محک می‌تواند به روی همه کودکان مبتلا به سرطان گشوده بماند.



روش‌های حمایت از کودکان محک:

شماره کارت: ۶۰۳۷-۹۹۱۱-۹۹۵۰-۰۵۹۰

تلفن بازدید از محک: ۰۲۱-۲۳۵۴۰ * ۷۳۳ * ۲۳۵۴۰ #

تلفن بازدید از محک: ۰۲۱-۲۳۵۰۱۲۱۰
از اینکه به پیام ما توجه می‌کنید، سپاسگزاریم.



mahak-charity.org

آپچه در این شماره میخوانید

- ۸ کاربرد روش‌های تشخیصی مولکولی در درمان دامپزشکی
- ۱۸ ارتشی با تسلیحات جدید
- ۲۴ تکنولوژی‌های نوین در زمینه دامپزشکی
- ۳۰ خرس‌ها اینجا، هنوز پرسه میزنند
- ۳۲ انقراض دوباره دایناسورها؟
- ۳۴ مرور و بررسی کارایی مهمترین روش‌های مولکولی به منظور تشخیص سرطان در دامپزشکی
- ۴۲ استفاده از روش‌های مولکولی برای تشخیص لیشمانیا در دامپزشکی
- ۴۶ ماهی طلایی به جای سیب سرخ!
- ۵۰ نوروز؛ جشن تکرار زندگی و پیوند فرهنگ‌ها
- ۵۲ دوروی یک سکه
- ۵۸ فناوری توالی‌یابی نانوپور
- ۶۲ سگ‌ها و بیماری‌های مشترک



سخن سردبیر

دنیای دامپزشکی، امروز دیگر تنها محدود به معاینه‌ی بالینی یا درمان‌های کلاسیک نیست. ما وارد عصری شده‌ایم که هر ژن، هر مارکر مولکولی و هر توالی DNA می‌تواند ما را به درک عمیق‌تری از بیماری‌ها برساند. در این میان، علوم مولکولی نه تنها ابزار دست محققان، بلکه زبان تازه‌ای برای گفت‌وگو با جهان زنده شده است.

در این شماره، به دنیای پنهان سلول‌ها و مولکول‌ها سفر کرده‌ایم؛ از تکنیک‌های تشخیصی دقیق مانند PCR و الیزا گرفته تا افق‌های نوینی چون ویرایش ژن و واکسن‌های مبتنی بر DNA. باور داریم که آینده‌ی دامپزشکی از دل همین ساختارهای ریز اما پر قدرت ساخته خواهد شد.

اگر شما هم از آن دسته‌اید که با شوق در آزمایشگاه به دنبال نتایج می‌دوید، یا ساعت‌ها وقت‌تان را صرف خواندن مقالات و طراحی آزمایش می‌کنید، این شماره برای شماست؛ برای تمام آن‌هایی که باور دارند تغییر، از شناخت دقیق آغاز می‌شود.

با آرزوی روشنی راه برای همه‌ی جویندگان علم

وُهوَمَن ۳

معرفی شورای مرکزی انجمن علمی



دبیر **تینا یعقوب‌پور**

مسئول کارگروه فعالیت‌های علمی

وُهوَمَن را بهانه‌ای می‌کنیم برای قدم گذاشتن در مسیر علاقه‌مندی‌ها...



نایب دبیر **یاسمین خزان**

مسئول کارگروه نشریه وُهوَمَن

انجمن علمی، خانه دانشجویان است برای رشد در حیطه‌های متفاوت.



کاربرد روش‌های تشخیصی مولکولی در درمان دامپزشکی

ریحانه نفیسی

دانشجوی دکترای عمومی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز



محمد رضا اکبری

دانشجوی دکترای عمومی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز



مقدمه

روش‌های تشخیصی مولکولی از دهه ۱۹۸۰ آغاز شده و به تدریج توسعه یافته‌اند. یکی از اولین و مهم‌ترین پیشرفت‌ها در این زمینه، ابداع واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) توسط کری مولیس در سال ۱۹۸۳ بود. این تکنیک تأثیر شگرفی در تشخیص مولکولی داشت و به سرعت در تحقیقات و تشخیص بیماری‌ها به کار گرفته شد. در ابتدا، این روش برای تشخیص بیماری‌های ژنتیکی نادر مانند تالاسمی استفاده می‌شد. اما با گذر زمان و پیشرفت فناوری، به حوزه‌ای مستقل در پزشکی و دامپزشکی تبدیل شد.

در حوزه سلامت حیوانات، روش‌های تشخیصی مولکولی از اوایل دهه ۲۰۰۰ به‌طور جدی مورد استفاده قرار گرفتند. این روش‌ها امکان تشخیص سریع و دقیق بیماری‌های عفونی و غیرعفونی را فراهم می‌کنند و نقش مهمی در بهبود سلامت حیوانات و کنترل بیماری‌ها دارند. علاوه بر تشخیص بیماری‌ها، این فناوری‌ها در توسعه واکسن‌های جدید و نظارت بر بیماری‌ها نیز مؤثر هستند. روش‌های تشخیصی مولکولی و تکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)

تشخیص سریع و دقیق: شناسایی سریع عوامل

بیماری‌زا

حساسیت و ویژگی بالا: تشخیص مقادیر کم یا

پاتوژن‌ها

مدیریت آنتی‌بیوتیک: کمک به شناسایی مقاومت آنتی‌بیوتیکی.

توالی‌یابی نسل بعدی (NGS)

تشخیص بیماری‌های ژنتیکی: شناسایی

جهش‌های ارثی

انکولوژی: بررسی جهش‌های ژنتیکی سرطان در

حیوانات

اپیدمیولوژی: ردیابی گسترش بیماری‌های عفونی

توالی‌یابی کل ژنوم (WGS)

شناسایی ویروس‌ها و باکتری‌ها: ارائه اطلاعات

ژنتیکی دقیق

مقاومت ضد میکروبی: شناسایی ژن‌های مرتبط با مقاومت دارویی

بیوانفورماتیک و ژنومیک محاسباتی تجزیه

و تحلیل داده‌های مولکولی: کمک به کنترل

بیماری‌ها مدیریت بهداشت گله: ارزیابی وضعیت

سلامت گله‌ها توسعه واکسن

واکسن‌شناسی معکوس: شناسایی اهداف واکسن با تجزیه و تحلیل ژنتیکی پاتوژن

الگوریتم‌های یادگیری ماشینی: تسریع شناسایی

کاندیداهای مؤثر واکسن

مزایای استفاده از روش‌های تشخیصی مولکولی در دامپزشکی تشخیص سریع و کاهش هزینه‌ها بهبود مدیریت بیماری‌ها و اقدامات پیشگیرانه افزایش دقت در تشخیص بیماری‌های ژنتیکی پیشرفت در اصلاح نژاد

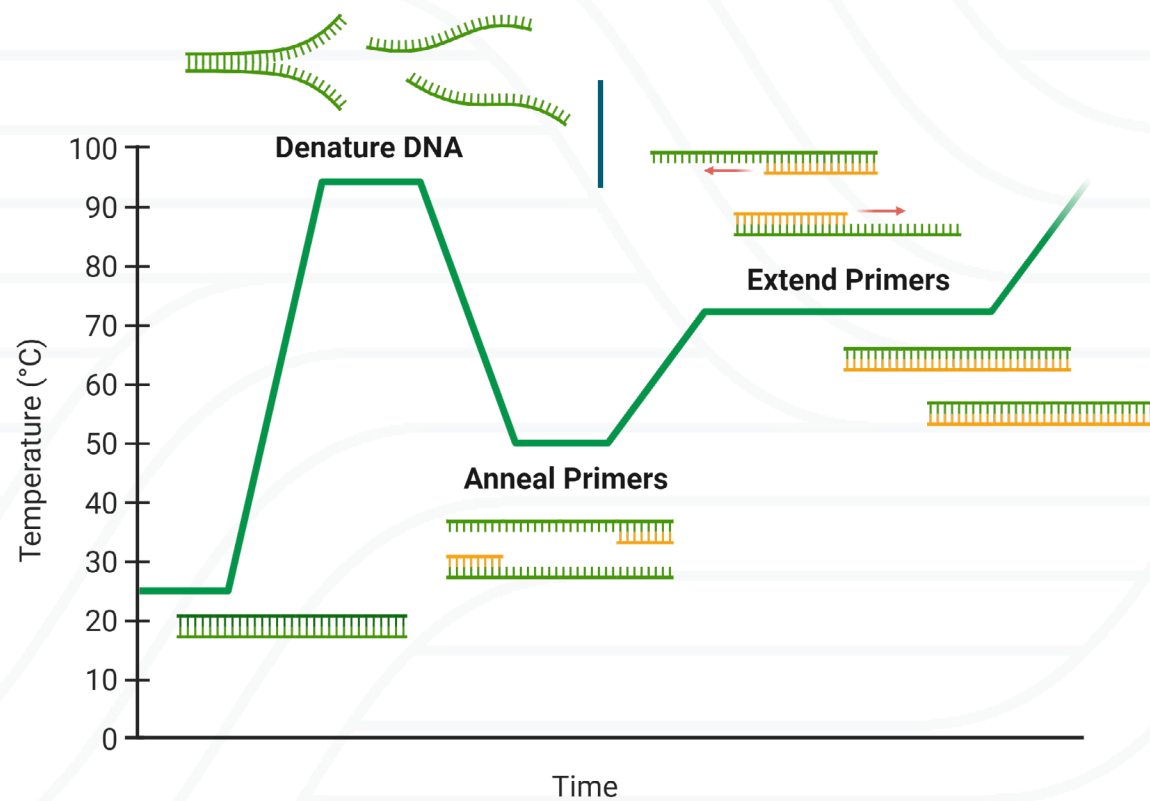
انواع PCR

معمولی یا استاندارد PCR یا 1. Conventional PCR

جهت مطالعه مولکول DNA نیاز به مقادیر کافی از این مولکول است. تکثیر (Amplification) مولکول DNA می‌تواند مقادیر کافی از DNA را فراهم کند. در گذشته جهت تکثیر DNA از روش کلونینگ (cloning) استفاده می‌کردند. واکنش زنجیره ای پلیمرازی یا پی سی آر (PCR) یک روش تکثیر DNA در لوله آزمایش (In vitro) است. در این روش تمامی مواد لازم جهت تکثیر DNA هدف شامل آنزیم پلیمراز مقاوم به حرارت (مثل Taq polymerase)، بافر آنزیم (حاوی یون‌هایی مثل منیزیم)، مخلوط dNTPs و پرایمرها به همراه DNA ژنومی استخراج شده (و یا cDNA) درون یک میکروتیوب اضافه می‌شوند و میکروتیوب درون یک دستگاه PCR یا ترموسایکلر قرار داده می‌شود. به منظور باز شدن دو رشته DNA هدف (الگو) از یکدیگر ابتدا دما به ۹۵ درجه سانتیگراد می‌رسد. سپس جهت اتصال پرایمرها DNA الگو دما پایین می‌آید (بین ۴۵ تا ۶۵ درجه سانتیگراد). سپس دما به ۷۲ درجه سانتیگراد می‌رسد تا آنزیم پلیمراز بعد از اتصال به پرایمر فعالیت بهینه داشته باشد و انواع dNTPs را بر اساس رشته مقابل به یکدیگر می‌چسباند (پلیمریزاسیون) در نتیجه از هر مولکول DNA الگو، یک مولکول DNA دیگر حاصل می‌شود. به این سه مرحله دمایی یک سیکل گفته می‌شود. جهت تکثیر مقادیر بسیار زیاد از مولکول DNA هدف، سیکل‌های PCR تا ۳۰ الی ۴۰ بار تکرار می‌شوند. محصول PCR را می‌توان بعد از ژل الکتروفورز و رنگ آمیزی با یک رنگ فلوروسنت (مثل اتیدیوم بروماید یا انواع سیف استین‌ها) با استفاده از دستگاه ژل داک مشاهده و بررسی نمود. با توجه اینکه محصول نهایی بعد از انجام پی سی آر رنگ آمیزی و مشاهده می‌شود (Visualization) به این نوع پی سی آر، Endpoint PCR گفته می‌شود.

یکی از کاربردهای تکنیک PCR، تشخیص مولکولی بیماری‌های مختلف از جمله بیماری‌های عفونی

کشت دارای محدودیت‌هایی هستند که PCR این محدودیت‌ها را ندارد و با حساسیت بالا و زمان پایین نتایج را مشخص می‌کند.



اسیدهای نوکلئیک هدف یک نمونه بالینی به کار می‌رود که در نهایت به واسطه آن برای تشخیص بیماری‌ها، بررسی بیان ژن، و مطالعات ژنتیکی و تعیین بار ویروسی آنها استفاده می‌شود.

کاربردهای Real-time PCR

تشخیص پزشکی: برای تشخیص بیماری‌های

عفونی مانند COVID-۱۹ و دیگر ویروس‌ها.

تحقیقات ژنتیکی: مطالعه تغییرات بیان ژن در

پاسخ به شرایط مختلف.

کنترل کیفیت: بررسی وجود آلودگی یا تایید کیفیت محصولات بیوتکنولوژی.

3. RT-PCR (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction)

از نظر تئوری، Real-time PCR تنها می‌تواند برای تقویت الگوها در قالب مولکول‌های DNA اعمال شود. پس چگونه می‌توان یک نمونه RNA را تشخیص داد و کمیت آن را سنجید؟

RT-PCR روشی از PCR است که در آن آنزیم reverse transcriptase synthesizes transcript را به نام رونویسی

است. PCR به طور گسترده در تشخیص ویروس‌ها، باکتری‌ها، انگل‌ها و قارچ‌ها استفاده می‌شود. روش‌های تشخیصی بر اساس سرولوژی و یا

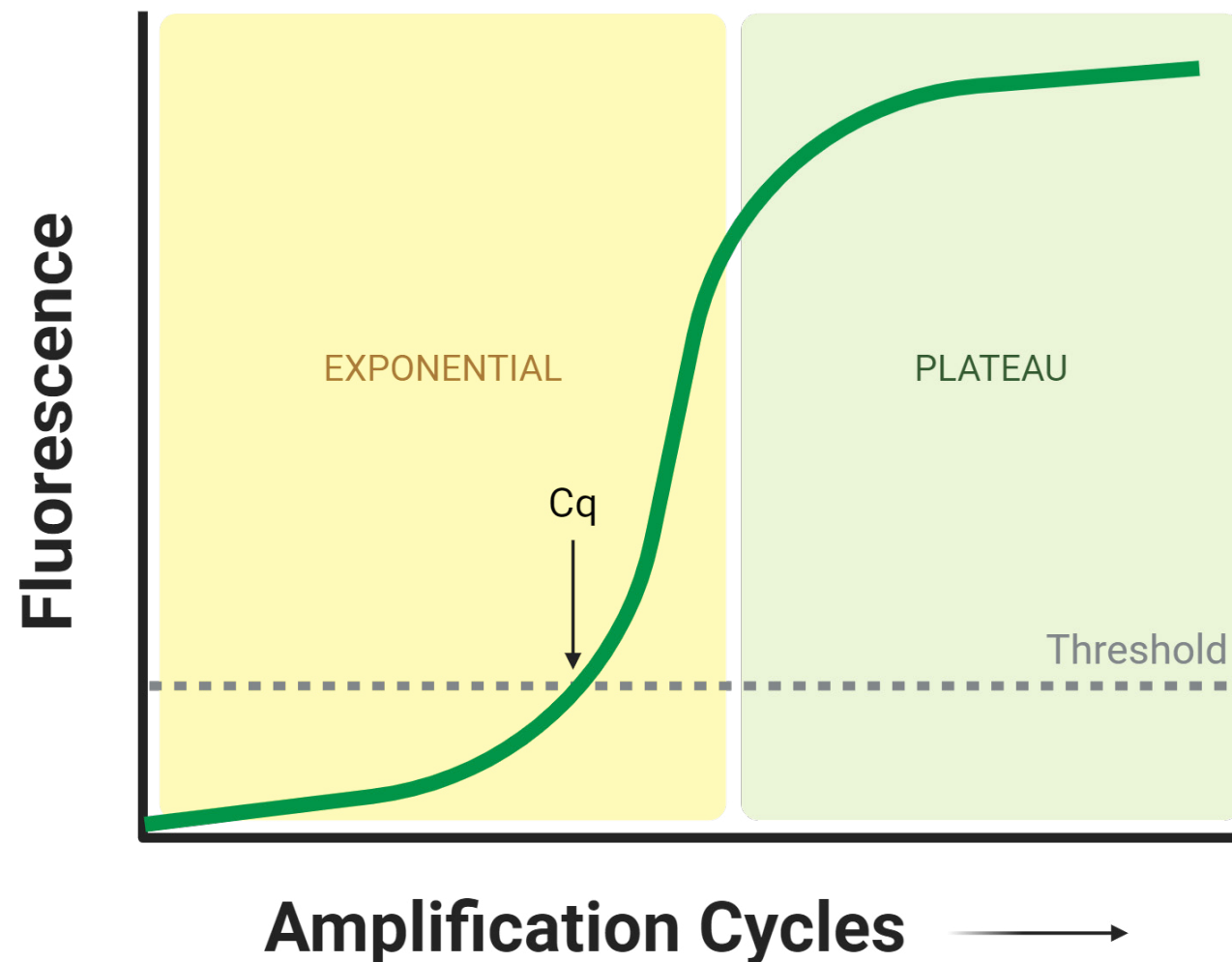
2. Real-time PCR یا PCR واقعی در زمان

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در زمان واقعی (Real-time PCR)، همچنین به عنوان PCR کمی (qPCR) شناخته می‌شود. این روش در مقابل PCR معمولی قرار دارد زیرا محصول آن بعد از شروع PCR در انتهای هر سیکل توسط دستگاه Real-time PCR خوانش می‌شود. و به ما امکان می‌دهد به طور همزمان بر تکثیر و پیشرفت PCR و سنجش DNA نظارت کنیم. بهبود دقت، حساسیت و سرعت نیز از مزایای اصلی Real-Time PCR نسبت به PCR پایه است. همچنین، در این روش نیازی به فرایندهای پس از PCR مانند الکتروفورز نیست، بنابراین احتمال آلودگی متقاطع ناشی از آمپلیکون‌های قبلی به حداقل می‌رسد. بنابراین این تکنیک انقلابی در تشخیص و تعیین کمیت اسیدهای نوکلئیک هدف ایجاد کرده و طیف وسیعی از کاربردها را به دست آورده است

Real-time PCR در تحقیقات بیولوژیکی و پزشکی برای تعیین کمیت دقیق DNA، RNA، mRNA و

معکوس را رقم می زند. رد طی این فرایند، مولکول RNA به DNA مکمل خودش (cDNA) تبدیل می شود که تک رشته ای است. سپس cDNA تک رشته‌ای تولید شده به DNA دو رشته‌ای تبدیل می شود و در نهایت این DNA دو رشته‌ای با استفاده از PCR استاندارد، تکثیر می‌شود. بنابراین RT-PCR به طور خاص برای تجزیه و تحلیل مولکول های RNA استفاده می شود. در بسیاری از فرآیندهای بیولوژیکی RNAها نقش اساسی و مهمی دارند، مانند بیان ژن و تکثیر ویروس. علت استفاده محققان از DNA مکمل برای تجزیه و تحلیل بیشتر نمونه، نیمه عمر طولانی آن است مطالعات را آسان تر میکند.

نتیجه نهایی RT-PCR، تولید مقداری cDNA تقویت شده از نمونه RNA اصلی است که به محققان امکان می دهد سطوح بیان ژن را بررسی کنند، عفونت های ویروسی را شناسایی کنند (مانند تشخیص COVID-19)، توالی های RNA را تجزیه و تحلیل کنند. همچنین با تقویت توالی های خاصی از دنا مکمل، این روش کاربرد گسترده ای در تحقیقات زیست شناسی مولکولی مدرن و کاوش در عملکرد ژن و تنظیم را ممکن می سازد. برای تشخیص سرطان به کمک این روش در این روش، برای هر موتاسیون پرایمر و پروب اختصاصی طراحی می شود که در صورت وجود جهش موردنظر آن را گزارش می کند.



4. Multiplex-PCR

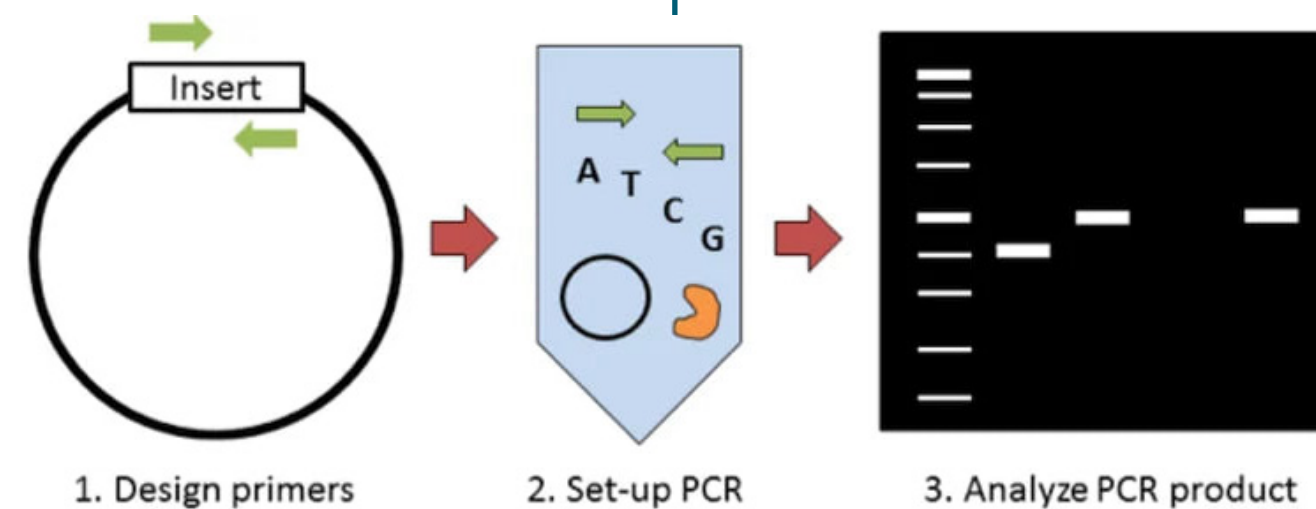
فرض کنید فردی بیمار و مشکوک به ابتلا به چند نوع ویروس متنوع است. شما قصد دارید در نمونه دریافتی ۵ ژن را تکثیر کنید. حالا ترجیح میدهید که ۵ تیوب مختلف برای تکثیر هر ژن آماده کنید یا در یک تیوب ۵ ژن را تکثیر کنید؟؟ شاید آماده کردن ۵ تیوب آسان باشد

اما در مواجهه با ۱۰۰ نمونه و ۵۰۰ تیوب چطور؟؟ Multiplex PCR، یک تکنیک پرکاربرد به منظور تکثیر چند ژن هدف در یک واکنش PCR است. در PCR کلاسیک به طور معمول ما یک جفت پرایمر Forward و Reverse داریم. در نتیجه تنها یک ژن طی پروسه آزمایش تکثیر خواهد شد. اما در Multiplex PCR به ازای تعداد ژن های هدف، جفت

مواد غذایی و... اشاره کرد.

۵. Colony PCR

Colony PCR یک روش آزمایشگاهی بسیار موثر و کارآمد برای تشخیص سریع وجود یا عدم وجود DNA insert در ساختارهای پلاسمیدی باکتریایی است. این تکنیک مشابه PCR کلاسیک می باشد با این تفاوت که به جای DNA الگو، از کلونی های باکتریایی و پلاسمید آنها به عنوان الگوی PCR استفاده میشود. مزیت این روش استفاده مستقیم از نمونه های کلونی از باکتری ها یا مخمرها به طور مستقیم به عنوان الگو می باشد و نیازی به استخراج DNA آنها نیست. این تکنیک زمان و منابع آزمایشگاهی را به شدت کاهش می دهد و اجازه می دهد تا به سرعت مشخص شود که آیا DNA مورد نظر درون پلاسمید قرار گرفته است یا خیر. پرایمرهای طراحی شده در این روش می توانند علاوه بر تشخیص وجود insert در پلاسمید نمونه، طول insert و جهت آن را نیز تعیین کنند. کاربرد اصلی Colony PCR در شناسایی اتصال و درج صحیح DNA وارد شده به پلاسمید باکتری و پلاسمید مخمر و همچنین مطالعات ژنوم باکتریایی است.



انجام می شود. اهداف این روش، جلوگیری از تقویت محصولات غیر اختصاصی و افزایش تقویت توالی هدف مورد نظر است. این امر به ویژه هنگام کار با الگوهای پیچیده DNA یا هنگام کار با نمونه هایی که حاوی مقادیر کمی از DNA هدف هستند بسیار ارزشمند است. از مزایای Hot-Start PCR می توان به افزایش ویژگی، افزایش حساسیت و کاهش بهینه سازی اشاره کرد.

پرایمر خواهیم داشت. در نتیجه قطعات DNA در اندازه های مختلفی تولید می شوند که اختصاصی توالی های مخصوص به خود هستند. با هدف قرار دادن چندین توالی در یک آزمایش، می توان تمام فرایندهای انجام گرفته در چندین تست را در یک تست خلاصه کرد.

به کمک این روش میتوان در زمان و هزینه ها، مصرف پلیمرز و DNA الگو صرفه جویی کرد بدون آن که از کارایی آزمایش کاسته شود. البته هرکدام از این پرایمرها باید اختصاصی عمل کرده و در کار یکدیگر تداخل نداشته باشند. بنابراین چالش اصلی در Multiplex PCR، طراحی پرایمرهای اختصاصی با دمای annealing تقریباً یکسان و عدم تشکیل دایمر توسط آنها است. Multiplex PCR میتواند چند نقطه هدف روی یک الگو را تکثیر کند (Single Template PCR Reaction) و یا اینکه رشته چند الگو داشته باشیم که از روی هرکدام ژن هدفمان تکثیر شود (Multiple Template PCR Reaction). از جمله کاربردهای این تکنیک می توان به شناسایی سریع عفونت های مختلط در تشخیص بالینی، بررسی چندین آگزون از یک ژن و تشخیص جهش های آنها و gene deletion، SNP و genotyping با توان عملیاتی بالا، تجزیه و تحلیل

۶. Hot Start PCR

Hot Start PCR یک نسخه اصلاح شده از روش سنتی واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) است که برای افزایش ویژگی و کارایی تقویت DNA طراحی شده است. این روش به یک مشکل رایج در PCR معمولی می پردازد. در Hot-Start PCR، اقداماتی برای جلوگیری از فعال بودن DNA پلیمرز در دماهای پایین، مانند مراحل اولیه و مراحل گرمایش اولیه فرآیند PCR

منابع

- [illegible]

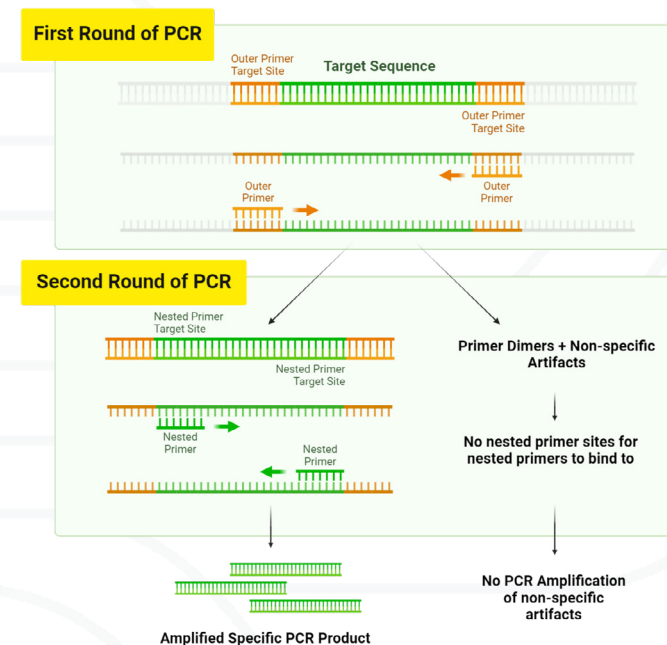
به درستی به توالی هدف متصل شود برای ما میسر نباشد برای افزایش حساسیت و اختصاصیت واکنش می توان از Nested PCR استفاده کرد. حتی در مواقعی که کیفیت DNA ما مناسب نیست و مقدار آن در نمونه بسیار کم است، استفاده از این تکنیک می تواند باعث افزایش تولید محصول هدف تا چندین برابر محصول تولید شده در PCR معمولی شود. در نتیجه تکنیک Nested PCR نوعی PCR است که حساسیت و اختصاصیت بالایی دارد و به منظور کاهش اتصالات غیر اختصاصی در محصولات مورد استفاده قرار می گیرد.

10. Loop- Mediated Isothermal Amplification of DNA (LAMP PCR)

LAMP یک روش نسبتاً جدید برای تکثیر DNA با اختصاصیت، سرعت و حساسیت بالا است که در شرایط هم دما انجام میگیرد و نیازی به ایجاد چرخه های دمایی متوالی مشابه PCR ندارد زیرا فرایند تکثیر اسیدهای نوکلئیک به صورت تک دمایی و در مای ۶۰ الی ۶۵ درجه انجام می شود. به همین علت نیازی به تجهیزاتی مانند ترموسایکلر و الکتروفورز نمی باشد و این فرایند با هزینه و تجهیزات کمتری نسبت به PCR معمولی انجام میشود. در این روش از آنزیم Bst DNA Polymerase استفاده میشود که معمولاً از باکتری باسیلوس استرئوترموفیلوس استخراج میشود. این آنزیم دارای خاصیت strand displacement می باشد و در شرایط هم دما منجر به تکثیر دناى هدف میشود. با وجود اینکه این روش در سال ۲۰۰۰ به عنوان جایگزینی برای PCR معرفی شد ولی در سال های اخیر مورد توجه دانشمندان قرار گرفته است. زیرا به کمک LAMP میتوان با کمترین تجهیزات و هزینه در آزمایشگاه های کمتر تجهیز شده، مناطق محروم کشورهای در حال توسعه و یا شرایط بحرانی مانند سیل و زلزله طیف وسیعی از عوامل بیماریزا را شناسایی کرد. خصوصاً در مناطقی که بیماریهای عفونی بومی زیاد است و تشخیص زودهنگام آنها میتواند مرگ و میر افراد را کاهش دهد. این روش به علت درجه حرارت پایین و هم دما بودن، آسیب کمی به باکتری وارد نموده و توانایی بالایی برای تشخیص میکروارگانیسم ها، باکتری های گرم مثبت و منفی، مایکوپلاسما، قارچ و انواع ویروس ها دارد. با توجه به ویژگی های بیان شده، نظر می رسد که روش LAMP در آینده نزدیک بتواند در آزمایشگاه های تشخیص طبی به عنوان یک روش رایج مورد استفاده قرار گیرد.

زنجیره ای پلیمرز بسیار بیشتر از رشته دیگر تکثیر خواهد شد. روند کلی انجام واکنش مشابه PCR کلاسیک است، اما میزان پرایمری که برای رشته هدف طراحی شده و به محیط اضافه میشود، بسیار بیشتر از پرایمر رشته غیرهدف خواهد بود. واکنش زنجیره ای پلیمرز نامتقارن، علی رغم معایب و زمان بر بودن، در بسیاری شرایط با داشتن فضا و امکانات مشابه PCR کلاسیک، می تواند انتخاب مناسبی برای تکثیر یک قطعه توالی تک رشته ای باشد. این روش در مواردی مانند توالی یابی، مطالعات مبتنی بر هیبریداسیون، مطالعات site directed mutagenesis، شناسایی آلل های مختلف کاربرد دارد.

9. Nested PCR. (تودرتو)



3. Figure How Nested PCR is Used to Overcome Low Specificity. Nested PCR ensures that there are no primer dimers or non-specific products after the second round of amplification, as any non-specific PCR products from the first round of amplification will not have the nested primer sites necessary to be amplified during the second round of PCR.

گاهی در PCR عادی پرایمرها به طور نادرست به DNA هدف متصل شده و قطعات غیراختصاصی نسبت به پرایمر تکثیر می شود. به هر میزان که تعداد سیکل های PCR و مدت زمان Extension ثانویه بیشتر باشد احتمال اتصال نادرست افزایش می یابد، در چنین شرایطی اگر طراحی پرایمر بهتری که

Y. AS-PCR (Allele-specific PCR)

PCR اختصاصی آلل نوعی از PCR است که به ما امکان میدهد جهش های نقطه ای موجود در DNA و SNP (Single Nucleotide Polymorphisms) های موجود در ژنوم یا همان پلی مورفیسم های شناخته شده تک نوکلئوتیدی را شناسایی کنیم که در نهایت منجر به تشخیص بیماری هایی همچون کم خونی سلول داسی شکل و تالاسمی و حتی تعیین مستقیم ژنوتیپ های گروه خونی ABO خواهد شد. در این روش به کمک دانش قبلی ما درباره توالی DNA و اختلاف طبیعی بین آلل ها، نقاط جهش یافته مشخص خواهند شد. در این تکنیک، پرایمرها برای هر دو توالی طبیعی (wild type) و جهش یافته (Mutant) طراحی می شوند و در صورتی که فرد توالی SNP مدنظر را داشته باشد، پرایمر متصل شده و تکثیر قطعه با کمک روش PCR انجام خواهد شد. در نهایت پس از اتمام واکنش PCR، جهت بررسی نمونه ها می توان از تکنیک های مختلفی نظیر الکتروفورز، طیف سنجی جرمی (mass spectrometry)، ریزآرایه ها (microarrays)، fluorescence resonance energy transfer (FRET)، پلاریزاسیون فلورسانس (FP) و لومینسانس استفاده کرد که ساده ترین آنها الکتروفورز است.

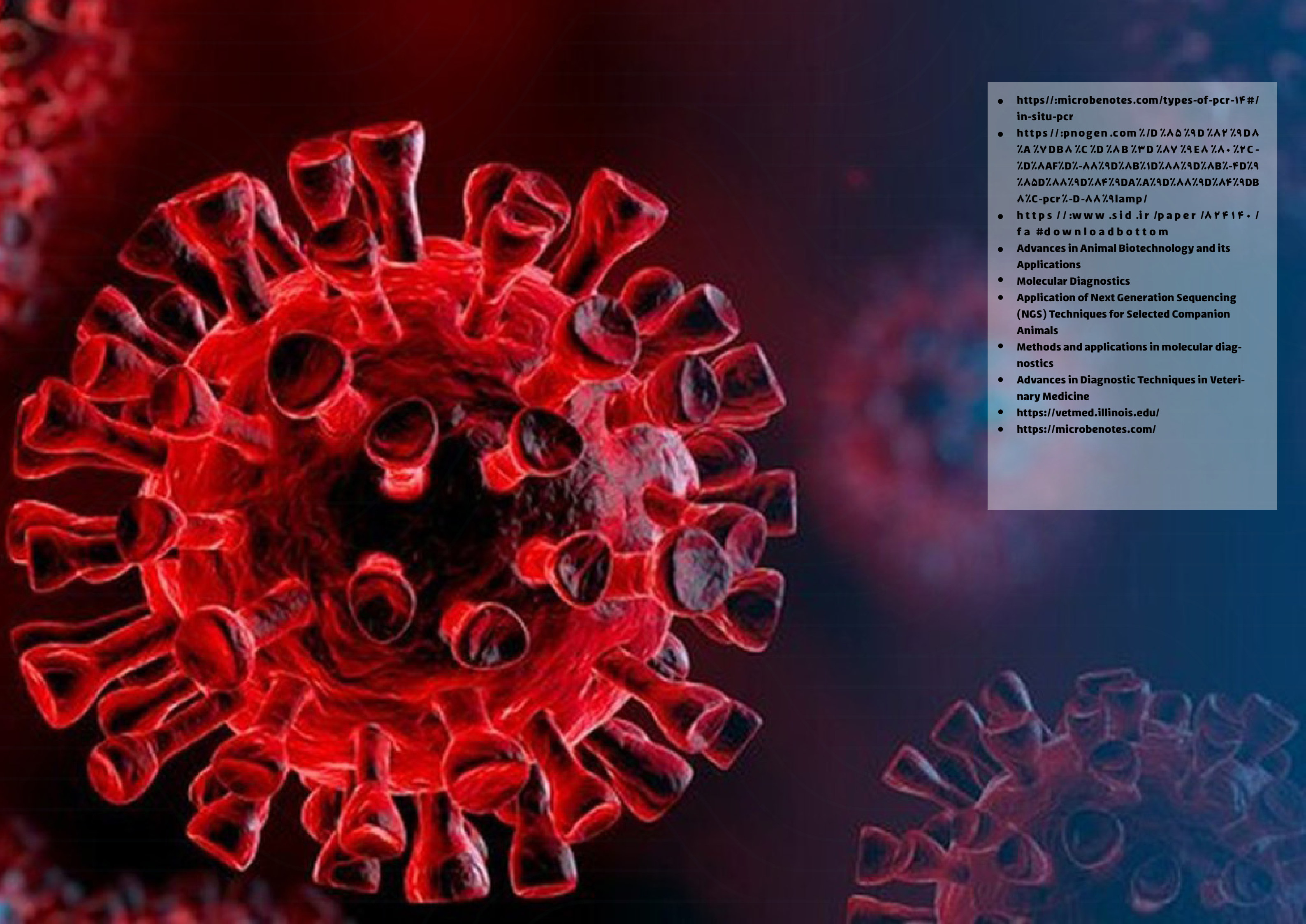
این روش به طور گسترده در فعالیت های تحقیقاتی و تشخیصی مانند فارماکوژنتیک، ژنوتیپ، تشخیص بیماری های ژنتیکی، میکروبیولوژی و غیره استفاده می شود:

- آزمایش ابوت و روابط خویشاوندی با استفاده از مقایسه DNA fingerprint فرزند و پدر و مادر
- تعیین ژنوتیپ و تشخیص بیماری ها از طریق ژنوتایپینگ

- هاپلوتايبینگ کروموزوم ۷ برای مطالعه روند تکاملی انسان از دودمان پدری
- غربالگری ژنتیکی جنین از جمله تعیین جنسیت، بیماری همولیتیک جنین و نوزاد، غیرات ژنتیکی ارثی از پدر مانند فیبروزکیستیک و بتا تالاسمی
- تعیین هویت در پزشکی قانونی شناسایی قربانیان که در آن مارکرهای مختلف (SNPs) مورد بررسی قرار می‌گیرند.

8. Asymmetric PCR

تکنیک PCR نامتقارن یا Asymmetric به منظور تکثیر یکی از رشته های DNA هدف، مورد استفاده قرار می گیرد. به این معنا که به جای تکثیر توالی دو رشته ای متقارن، یکی از رشته ها طی پروسه واکنش



- <https://microbenotes.com/types-of-pcr-1f#/in-situ-pcr>
- <https://pnogen.com/%D%A%D%AD%A%YDBA%C%D%AB%CD%AY%EA%-%C-%D%AF%D%-AA%D%AB%ID%AA%D%AB%-FD%Y%A%D%A%YDA%A%D%AA%D%AF%ADB%A%-pcr%-D-AA%lamp/>
- <https://www.sid.ir/paper/144140/fadownloadbottom>
- Advances in Animal Biotechnology and its Applications
- Molecular Diagnostics
- Application of Next Generation Sequencing (NGS) Techniques for Selected Companion Animals
- Methods and applications in molecular diagnostics
- Advances in Diagnostic Techniques in Veterinary Medicine
- <https://vetmed.illinois.edu/>
- <https://microbenotes.com/>

ارتشی با تسلیحات جدید

درمان با استفاده از سلول‌های تغییر پیدا کرده‌ی ژنی



سید علی سید ابراهیمی

دانشجوی دکترای عمومی دامپزشکی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز



سید شهاب موسوی کرمانشاهی

دانشجوی دکترای عمومی دامپزشکی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز



بخش اول

انسان‌ها از گذشته به دنبال چشمه‌ای بودند که آب زندگانی و جاودانگی داشته باشد. شاید به همین خاطر است که این گونه‌ی حریص به دنبال درمان همه‌ی بیماری‌های جهان است؛ تا شاید بتواند روزی عمر خود را بیشتر از قبل کند.

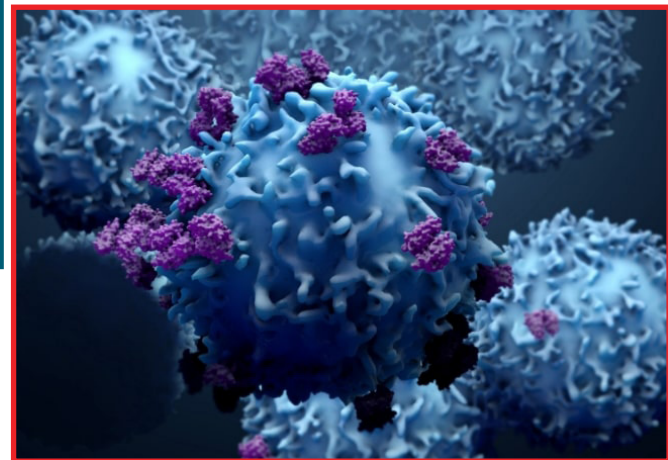
در جهان امروز، شایع‌ترین بیماری‌ها، بیماری‌های غیرعفونی مانند سرطان هستند که درد بسیاری دارند و درمان آن‌ها بسیار سخت و دشوار است. بنابراین، محققین به این فکر افتادند که به سلول‌ها ویژگی‌هایی داده شود تا در مقابل چنین بیماری‌هایی مقاومت بیشتری داشته باشند و به این صورت جرقه‌ی تولید سلول‌های ایمنی تغییر یافته، زده شد.

به‌طور کلی، ژن درمانی به انتقال ماده ژنتیکی به سلول‌های فرد به منظور اهداف درمانی گفته می‌شود. در بیمارانی که دارای بیماری‌های ژنتیکی هستند، این روش می‌تواند به بیان پروتئین‌های از دست‌رفته منجر شده و نقص ژنتیکی آن‌ها را درمان کند یا حداقل وضعیت بالینی آن‌ها را بهبود بخشد. این استراتژی همچنین می‌تواند برای پیشگیری از بیماری با تغییر الگوی بیان ژن در سلول‌های میزبان به کار گرفته شود[۱].

بخش دوم

خلاصه‌ای از چگونگی

به‌طور خلاصه، ابتدا باید سلول‌ها از بدن میزبان درگیر بیماری گرفته شوند، سپس سلول باید از نظر ژنتیکی که با استفاده از ناقل‌های ژنی صورت می‌گیرد، تغییر پیدا کند. بعد سلول را وارد بدن میزبان کرده تا سلول‌های تغییر یافته بتوانند عمل کنند.[۲]



پیوند به اجزای غشا سلول CAR Tcell (Chimeric antigen receptor T cells)

در این روش متخصصین با تولید گیرنده آنتی‌ژن و اتصال آن‌ها به غشاهای سلولی، به مبارزه بهتر با سلول‌های سرطانی می‌پردازند. همچنین با دخالت‌های ژنی در سطح سلول‌های ایمنی، باعث توانایی سلول در تولید گیرنده می‌شوند.

بخشی از گیرنده در خارج از سلول قرار دارد و بخشی از آن، داخل سلول که نقش بخش خارجی شناسایی و نقش بخش داخلی، تقویت سیگنال‌های بخش خارجی است.

این روش ابتدا برای درمان لوسمی لنفوسیتی حاد در کودکان طراحی شد؛ چراکه در این بیماری سلول‌های B درگیر سرطان می‌شوند و شیمی‌درمانی شدید و پرعوارضی دارد. بعد از مدتی این روش توسط سازمان غذا و داروی ایالات متحده آمریکا تایید شد و امروزه نیز استفاده می‌شود و نزدیک به هشتاد درصد پاسخ داده است.

امروزه تحقیقات برای استفاده از این روش برای سایر سرطان‌ها در حال انجام است؛ اما استفاده از این روش برای تومورهای جامد مثل تومور مغز، اغلب بی‌نتیجه بوده است؛ چراکه هم از نظر فیزیکی دسترسی سلول‌ها به آن‌ها سخت بوده و هم فاکتورهایی که تومورها ترشح می‌کنند منجر به جلوگیری از فعالیت سلول‌های فاگوسیتی می‌شود. مشکل بعدی در استفاده از این روش برای تومورهای جامد، این است که تومورهای جامد می‌توانند از نظر مولکولی از بیمار به بیمار دیگر و حتی در داخل یک بیمار خاص کاملاً متفاوت باشند. به‌عنوان مثال، ممکن است هیچ آنتی‌ژن قابل هدفی روی برخی از سلول‌های تومور وجود نداشته باشد، یا اگر موجود باشد برای عملکرد صحیح سلول‌های CAR T به اندازه کافی نباشند. اما تحقیقات همچنان ادامه دارد.[۳]

اصلاح رفتار سلول‌های ایمنی (Tcell receptor cell therapy)

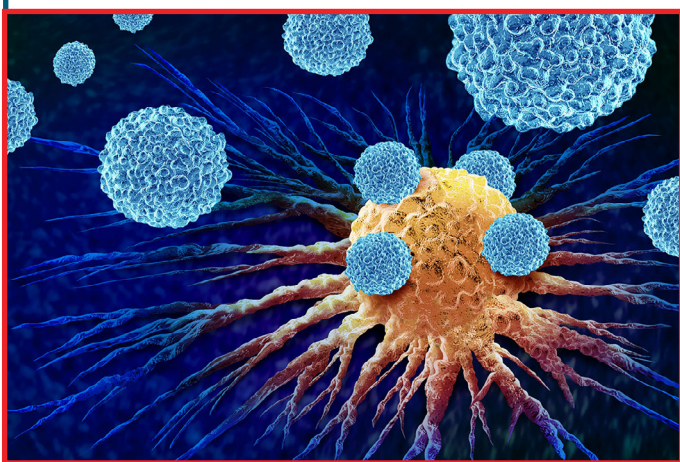
این روش منحصربه‌فرد است زیرا می‌تواند انواع مختلفی از سرطان‌ها را که دارای بیان بیش از حد یک آنتی‌ژن خاص درون سلول هستند، شناسایی کند. اگر این آنتی‌ژن از طریق یک آنتی‌ژن لکوسیت انسانی خاص (HLA) ارائه شود، می‌تواند روی سطح سلول‌های تومور به شیوه‌ای مشابه با یک سلول ارائه‌دهنده آنتی‌ژن یافت شود؛ زیرا که آنتی‌ژن‌های سطحی سلول‌های تومور جامد به بافت‌های طبیعی شباهت زیادی دارند. در مطالعات، درمان TCR به‌طور مؤثری سلول‌های سرطانی خون، ریه، سینه، پروستات، روده، استخوان، پوست، کلیه،

تخمدان و گردن رحم را از بین برده و بر سلول‌های سالم اثری نداشته است.

سلول‌های T ای که یک گیرنده سلول T مهندسی‌شده (TCR-T) را بیان می‌کنند، جایگزین درمانی امیدوارکننده‌ای هستند. دامنه هدف، محدود به پروتئین‌های غشایی نیست و ویژگی‌های ذاتی TCRها مانند حساسیت بالا به آنتی‌ژن و سیگنال‌دهی نزدیک به فیزیولوژیک ممکن است تشخیص و کشتن سلول‌های توموری را بهبود بخشند و در عین حال، پایداری سلول‌های T را افزایش دهند.

TCR یک هترو دایمر متشکل از زنجیرهای آلفا و بتا است که آنتی‌ژن هدف را با بازوهای متغیر خود شناسایی می‌کند. نواحی ثابت با زنجیرهای CD۳ (γ, δ, ε, ζ) ترکیب می‌شوند تا مجموعه کارکردی TCR را تشکیل دهند.

این سلول‌ها به‌صورت طبیعی در بدن تشکیل می‌شوند ولی تمایل زیادی به برای سلول‌های سرطانی ندارند. محققین برای حل این مشکل دست به گریبان مهندسی ژنتیک شدند تا بتوانند تمایل این سلول‌ها را به سلول‌های سرطانی بیشتر کنند. البته همین تمایل بالا می‌تواند برای سلول‌های میزبان خطرآفرین باشد چراکه در شرایط آزمایشگاهی، سه‌چهارم سلول‌های تولیدشده خاصیت مسمومیت‌زایی بالایی داشته‌اند و کشته شدند.[۴]



جاسوسان نفوذی

(tumor infiltrating lamphocyte)

سلول‌های T از تومور بیمار جمع‌آوری می‌شوند و قبلاً ثابت کرده‌اند که می‌توانند تومورها را شناسایی و به سمت آن‌ها هدایت شوند، مانند دزدی که پنهانی وارد بانک می‌شود اما ابزار لازم برای بازکردن

گاو صندوق را ندارد، TILهای جمع‌آوری‌شده فاقد توانایی یا پشتیبانی لازم برای انجام کار هستند. آنچه TILها به آن نیاز دارند، تقویت‌کننده‌ها و کمی تشویق است، پس به آن‌ها کمک می‌شود به میلیاردها سلول با قابلیت تشخیص تبدیل شوند.

براساس تحقیقاتی که در کشور ایالات متحده آمریکا روی ۱۵۳ نفر مبتلا به ملانوما انجام شده است، این مبتلایان تا پنج سال پس از درمان، مجدد دچار ملانوما نشده‌اند. این نتیجه نشان‌دهنده بلندمدت بودن این روش درمان می‌باشد. البته یافته‌ها نشان می‌دهند که این سلول‌ها اگر قبل از گسترش سرطان به بسیاری از نقاط دیگر بدن یا بزرگ شدن تومورها ارائه شوند، ممکن است تأثیر بیشتری داشته باشند. به‌طور خلاصه، این روش نباید در مراحل پایانی سرطان استفاده کرد. عوارض شایع‌تر شامل کم‌خونی، تب‌های بالا و کاهش قابل توجه در سطح پلاکت‌ها و برخی از گلبول‌های سفید بوده که البته بیشتر به خاطر شیمی‌درمانی پیش از استفاده از این سلول‌ها بوده است.

البته این تحقیقات امروزه روی تومورهای ملانوما قابل انجام است و محققین در تلاش هستند تا از همین روش برای درمان سایر تومورهای کشنده بافتی استفاده کنند.[۵]

سلول‌هایی غیرنظامی، ولی حلال مشکل قلب

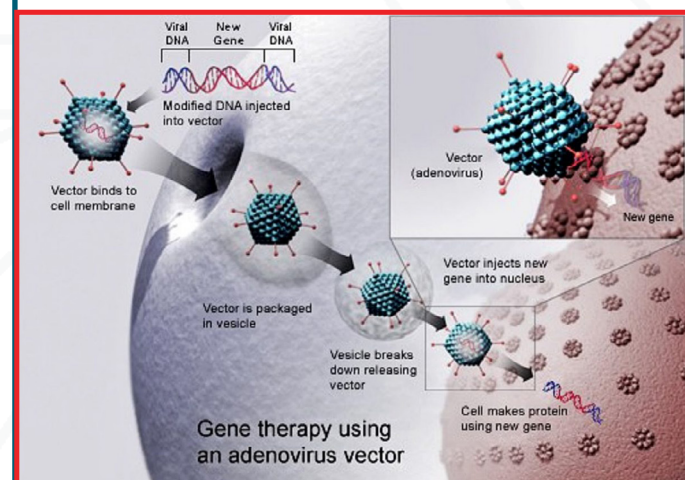
استفاده از سلول‌ها در درمان بیماری‌های قلبی از جمله سکته قلبی و کاردیومیوپاتی‌های ایسکمیک و غیر ایسکمیک یک روش بالقوه تحول‌آفرین است که می‌تواند به ترمیم بافت قلب کمک کند.[۶،۷] در این زمینه، گروه‌های تحقیقاتی در ابتدا با یک سلول داوطلب کار را آغاز کرده که آن سلول معمولاً سلول بنیادی مزانشیمی یا یک سلول بنیادی قلبی است. در ادامه، این سلول با استفاده از اصلاحات ژنتیکی یا

انکوباسیون با عوامل یا سایتوکین‌هایی که توانایی سلول در پیوند، بقا، و یا تمایز را بهینه می‌کنند، ارتقا داده می‌شود. تعداد سلول‌هایی که استفاده می‌شود متفاوت است؛ اما یک فرد برای درمان ممکن است تا ۱۰^۸ سلول بنیادی مزانشیمی لازم داشته باشد.[۹]

پیشرفت‌های مهمی را در زمینه پیوند و تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی و همچنین ارتباط بین نتایج فنوتیپی مختلف سلول با بقای کلی حیوان و حتی بهبود عملکرد بطن چپ و تأثیر

ترشح فاکتور رشد بر آن را روشن شده. [۱۰]
این مطالعات به طور اختصاصی نشان داد که تأثیر ترشح فاکتور رشد می تواند باعث تشکیل رگ های خونی جدید در طی این فرایند درمان سلولی شود و علاوه بر آن، سکتة قلبی را نیز کاهش دهد. این مشاهده با بافت های مدل های حیوانی بزرگ هماهنگ بود که اصل و پایه این اتفاق هم تشکیل رگ های خونی جدید بود. [۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳]

لازم به ذکر است که سلول های بنیادی مزانشیمی که در فرایند درمان سلولی استفاده می شوند امکان متاستاز و ترویج سرطان و معکوس کردن روند درمان را هم دارند.



استفاده دیگر سلول های اصلاح شده

درمان مبتنی بر سلول، علاوه بر این که برای بیماری های قلبی استفاده می شود می تواند در زمینه های پراهمیت دیگری هم به شکل ژن درمانی برای از بین بردن عفونت های ویروسی و اختلالات ارثی نیز به کار رود.

این تکنیک شامل معرفی پلیمرهای اسید نوکلئیک به سلول های بیمار به عنوان یک دارو برای درمان بیماری است. این پلیمرها می توانند به پروتئین ها ترجمه شوند، بیان ژن هدف را تحت تأثیر قرار دهند یا ژن های معیوب را اصلاح کنند. ژن درمانی را می توان به دو دسته تقسیم کرد:

ژن درمانی در خط جنسی؟؟؟ برای بهبود ویژگی ها (نظر محققان بر این که چون رهیابی این ژن ها در کروموزوم های جنسی راحت تر است پس می تواند سریع تر به نتیجه برسد و گروهی از ویژگی های مغلوب را از بین ببرد)

ژن درمانی در خط جنسی برای درمان بیماری ها

تولید فرانس ها:

مهندسی خط جنسی این امکان را فراهم می کند که کودکان بدون داشتن ژن های مغلوب حامل متولد شوند. در نتیجه، چنین کودکانی نگران چالش های تولید مثل ناشی از والدین خود نخواهند بود. این فرایند می تواند کمک کند که بیماری های ژنتیکی ریشه کن شوند و دیگر در این کره خاکی توانایی جولان نداشته باشند. [۱۴، ۱۵]

درمان در نطفه:

این نوع درمان هم مبتنی بر سلول است و بیان می کند که پیش از لقاح، سلول های اسپرم یا تخمک و یا هردو، مهندسی ژنتیک شوند تا ژن های بیماری های ارثی ریشه کن شوند و دیگر از والدین منتقل نشوند. [۱۴، ۱۵]

با این حال، مخالفانی برای ژن درمانی وجود دارند که نگران بخش طبیعی زندگی فرد هستند و بیان می کنند بهترین راه برای مقابله با آن بیماری ها و اختلالات، مشاوره است. آن ها بر این باورند که نگرانی ها نباید توجیهی برای استفاده از ژن درمانی باشند و آن را عملی غیرمسئولانه می دانند. همچنین اگر ژن های معیوب که مسئول ویژگی های بد انسان ها هستند از آن ها گرفته شود پس دیگر مفهومی برای «همه ی گل ها خاری دارند» وجود نخواهد داشت. [۱۶]

مهندسی غیر ژنتیکی سلول ها

در مواردی مانند انتقال درمان ها به بافت ها، هدایت سلول ها به مغز استخوان یا بافت های التهابی، تصویربرداری از سرطان، ایمنی درمانی و کنترل از راه دور عملکردهای سلولی می توان از این روش استفاده کرد. این استراتژی جدید مزایای منحصربه فردی در درمان بیماری ها دارد و مکمل روش های موجود مهندسی سلولی مبتنی بر ژن محسوب می شود.

درک بهتر سیستم های سلولی و روش های مختلف مهندسی به ما این امکان را می دهد که سلول های مهندسی شده را بهتر در پزشکی زیستی به کار بگیریم.

غشای سلولی از لیپیدها، پروتئین ها و پلی ساکاریدهای سازمان یافته تشکیل شده است و نقش حیاتی در ارتباط سلول با محیط های اطراف خود ایفا می کند. از آن جایی که غشای سلولی در بسیاری از فعالیت های سلولی مانند چسبندگی سلولی، مهاجرت، هدایت به بافت هدف و تعاملات سلول با سلول دخیل است، کنترل عملکردهای سلولی یا استفاده از سلول ها به عنوان وسیله ای

برای انتقال مواد از طریق مهندسی غشای سلولی، بسیار امیدبخش است.

مهندسی غشای سلولی فرآیندی است که طی آن، غشاهای سلولی از طریق روش های زیستی، شیمیایی یا فیزیکی اصلاح می شوند و این امکان را فراهم می کنند که سلول ها به عنوان ابزارهایی برای کنترل یا تحویل مواد درمانی استفاده شوند. [۱۷]

منابع

- <https://healinggenes.org/gene-modified-cell-therapy/>
- <https://www.dana-farber.org/cancer-care/treatment/cellular-therapies-#:~:text=Genetically%20modified%20therapies%2C%20such%20as,modifications%20to%20a%20patient%20cells.>
- <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/research/car-t-cells>
- TCR gene-engineered cell therapy for solid tumors
- <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1521692621000505>
- <https://www.cancer.gov/news-events/cancer-currents-blog/2024/fda-amtagvi-til-therapy-melanoma>
- Heldman AW, Zambrano JP, Hare JM. Cardiac stem cell therapy: where are we in ۲۰۱۱? J Am Coll Cardio. ۴۶۸-۵۷:۴۶۶;۲۰۱۱.
- Mazhari R, Hare JM. Mechanisms of action of mesenchymal stem cells in cardiac repair: potential influences on the cardiac stem cell niche. Nat Clin Pract Cardiovasc Med. ۴;۲۰۰۷(Suppl 1): 5۲۱- 5۲۶.
- Fischer KM, Cottage CT, Wu W, Din S, Gude NA, Avitabile D, Quijada P, Collins BL, Fransioli J, Sussman MA. Enhancement of myocardial regeneration through genetic engineering of cardiac progenitor cells expressing Pim1-kinase. Circulation. ۲۰۸۷-۱۲۰:۲۰۷۷;۲۰۰۹.
- Behfar A, Yamada S, Crespo-Diaz R, Nesbitt JJ, Rowe LA, Perez-Terzic C, Gaussin V, Homsy C, Bartunek J, Terzic A. Guided cardiopoiesis enhances therapeutic benefit of bone marrow human mesenchymal stem cells in chronic myocardial infarction. J Am Coll Cardiol.

۷۳۴-۵۶:۷۲۱;۲۰۱۰.

- Cho J, Zhai P, Maejima Y, Sadoshima J. Myocardial injection with GSK۳-β-overexpressing bone marrow-derived mesenchymal stem cells attenuates cardiac dysfunction after myocardial infarction. Circ Res. ۴۸۹-۱۰۸:۴۷۸;۲۰۱۱.
- Amado LC, Saliaris AP, Schuleri KH, St JM, Xie JS, Cattaneo S, Durand DJ, Fitton T, Kuang JQ, Stewart G, Lehrke S, Baumgartner WW, Martin BJ, Heldman AW, Hare JM. Cardiac repair with intramyocardial injection of allogeneic mesenchymal stem cells after myocardial infarction. Proc Natl Acad Sci U S A. ۱۱۴۷۹-۱۰۲:۱۱۴۷۴;۲۰۰۵.
- Schuleri KH, Amado LC, Boyle AJ, Centola M, Saliaris AP, Gutman MR, Hatzistergos KE, Oskouei BN, Zimmet JM, Young RG, Heldman AW, Lardo AC, Hare JM. Early improvement in cardiac tissue perfusion due to mesenchymal stem cells. Am J Physiol Heart Circ Physiol. ۲۹۴;۲۰۰۸:H۲۰۰۲-H۲۰۱۱.
- Hare JM. Translational development of mesenchymal stem cell therapy for cardiovascular diseases. Tex Heart Inst J. ۱۴۷-۳۶:۱۴۵;۲۰۰۹.
- Maeder, M. L., & Gersbach, C. A. (۲۰۱۶). Genome-editing technologies for gene and cell therapy. Molecular Therapy, ۴۴۶-۴۳۰, (۳)۲۴.
- Ramamoorth, M., & Narvekar, A. (۲۰۱۵). Non-viral vectors in gene therapy-an overview. Journal of clinical and diagnostic research: JC DR, (۱)۹, GE۰۱. Ross, L. F., Saal, H. M., David, K. L., Anderson, R. R., & American Academy of Pediatrics. (۲۰۱۳). Technical report: ethical and policy issues in genetic testing and screening of children. Genetics in Medicine, ۲۴۵-۲۳۴, (۳)۱۵.
- SOCIAL, G., & Committee on Bioethics. (۲۰۱۳). Ethical and policy issues in genetic testing and screening of children. Pediatrics, peds۲۰۱۲-.



علیرضا صادق

دانشجوی دکترای عمومی دامپزشکی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز

تکنولوژی‌های نوین در زمینه دامپزشکی: تحولی در مراقبت و درمان حیوانات

در دنیای امروز، دامپزشکی به یکی از علوم پیشرفته تبدیل شده است که به طور مستقیم بر سلامت عمومی، رفاه حیوانات و بهره‌وری در صنعت دام و کشاورزی تأثیر می‌گذارد. این حوزه که روزبه‌روز در حال گسترش است، با ورود فناوری‌های نوین، دچار تحولی شگرف شده است. استفاده از فناوری‌هایی همچون ویرایش ژن، پرینت سه‌بعدی، اینترنت اشیا (IoT) و واکسن‌های RNA سریعاً در حال تحول بخشیدن به شیوه‌های تشخیص، درمان و مدیریت بیماری‌ها در حیوانات است. این پیشرفت‌ها نه تنها راه‌های جدیدی برای درمان بیماری‌های ژنتیکی و نادر در حیوانات باز کرده‌اند، بلکه به حل چالش‌های مربوط به بیماری‌های مشترک انسان و حیوان، بهبود کارایی در مدیریت منابع دامی، و ارتقاء رفاه حیوانات کمک شایانی کرده‌اند. علاوه بر این، فناوری‌های نوین به محققان و دامپزشکان این امکان را داده‌اند که به طور دقیق‌تر و سریع‌تر تشخیص‌های خود را انجام دهند و برنامه‌های درمانی شخصی‌سازی‌شده‌تری برای حیوانات ایجاد کنند؛ به‌ویژه با توجه به شیوع بیماری‌ها و پاندمی‌های اخیر، فناوری‌های نوین از جمله واکسن‌های RNA و سیستم‌های مبتنی بر IoT در پیشگیری و مدیریت بیماری‌ها اهمیت زیادی پیدا کرده‌اند. این تحولات علمی نه تنها موجب افزایش بهره‌وری در دامپروری می‌شوند، بلکه به حفظ سلامت عمومی و کنترل بیماری‌ها در سطح وسیع‌تری نیز کمک می‌کنند.

۱) هوش مصنوعی (AI) و یادگیری ماشین (ML)
هوش مصنوعی و یادگیری ماشین به عنوان ابزارهایی برای تحلیل داده‌های پیچیده و بزرگ، نقش مهمی در دامپزشکی ایفا می‌کنند. ارزیابی تصاویر پزشکی بسیار ذهنی و پیچیده است؛ بنابراین استفاده از روش‌های هوش مصنوعی و یادگیری عمیق (learning methods) برای خودکارسازی فرآیند تجزیه و تحلیل بسیار مفید خواهند بود. بسیاری از محققان از این روش‌ها برای تشخیص، تجزیه و تحلیل تصویر استفاده کرده‌اند و نرم‌افزارهایی را توسعه داده‌اند که قادر به کمک به دامپزشکان یا رادیولوژیست‌ها در عمل روزانه خود است. از الگوریتم‌های AI می‌توان برای روش‌های مختلف تصویربرداری مانند رادیولوژی، سونوگرافی، توموگرافی کامپیوتری (computed tomography) و تصویربرداری رزونانس مغناطیسی

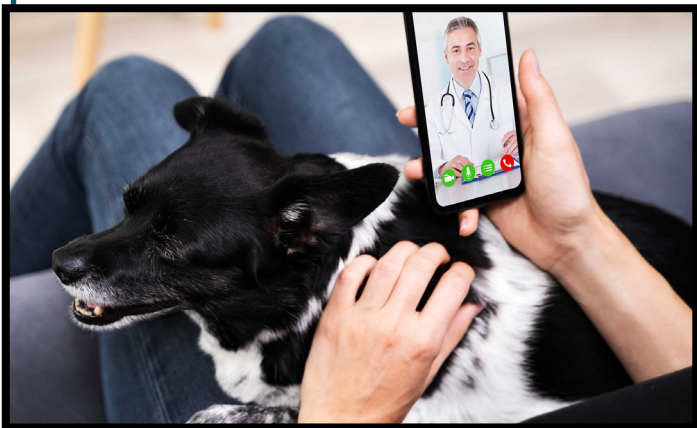
(magnetic resonance) استفاده کرد. چالش‌های اصلی در این حوزه شامل جمع‌آوری و پاکسازی داده‌های تصویری کافی، انتخاب لیبل‌های مرجع (ground truth) با کیفیت بالا، ایجاد ارتباطات مؤثر بین متخصصان دامپزشکی و یادگیری ماشین (machine learning) و کاهش فاصله میان کاربردهای آکادمیک هوش مصنوعی و محصولات تجاری موجود است. توسعه بیشتر هوش مصنوعی پتانسیل آن را دارد که با ارائه کاربردهایی در مدیریت جریان کاری، کنترل کیفیت و تفسیر تصاویر، به رفع نیاز فزاینده به خدمات رادیولوژی برای دامپزشکان عمومی و رادیولوژیست‌ها کمک کند.

هوش مصنوعی (AI) در زمینه دامپزشکی بالینی به اندازه کاربردهای آن در تصویربرداری تشخیصی توسعه نیافته است. درحالی‌که تکنیک‌هایی مانند شبکه‌های عصبی پیچشی (CNNs) برای تحلیل تصاویر پزشکی از جمله اشعه ایکس و اسکن‌های CT پیشرفت‌های قابل توجهی داشته‌اند، کاربردهای هوش مصنوعی در دامپزشکی بالینی هنوز در مراحل ابتدایی خود قرار دارند. چالش‌های اصلی شامل جمع‌آوری داده‌های بالینی باکیفیت، تطبیق مدل‌های هوش مصنوعی با داده‌های دامپزشکی و توسعه ابزارهای تجاری مرتبط است. با این حال، برخی از پیشرفت‌ها در پردازش زبان طبیعی یا (Natural Language Processing) (NLP) برای تحلیل سوابق پزشکی و مدل‌های یادگیری ماشین برای پیش‌بینی مقاومت دارویی در حال ظهور هستند. بنابراین، درحالی‌که پتانسیل هوش مصنوعی در زمینه‌های بالینی وجود دارد، نیاز به تحقیق و توسعه بیشتر برای بهبود کاربردهای عملی آن در این حوزه احساس می‌شود.



۱. NLP شاخه‌ای از هوش مصنوعی است که به تعامل بین کامپیوتر و زبان انسانی می‌پردازد. هدف آن این است که ماشین‌ها بتوانند زبان انسان را درک، پردازش و تولید کنند.

۲) پزشکی از راه دور (Telemedicine)
پزشکی از راه دور با استفاده از اینترنت و ابزارهای دیجیتال، امکان ارائه خدمات دامپزشکی از راه دور را فراهم کرده است. این فناوری به دامپزشکان اجازه می‌دهد تا از طریق ویدئوکنفرانس یا اپلیکیشن‌های خاص، وضعیت حیوانات را ارزیابی کرده و توصیه‌های درمانی ارائه دهند. این روش به‌ویژه در مناطق دورافتاده که دسترسی به دامپزشکان محدود است، بسیار مفید است. پرکاربردترین کاربردهای دامپزشکی از راه دور عبارتند از: tele-radiology، tele-sonography، tele-dentistry، tele-cardiology، tele-rehabilitation، anesthesia، tele-palliative care، tele-hospice، tele-consultation، tele-cytology، tele-endoscopy، tele-dermatology، tele-behavior therapy، tele-opthalmology و آموزش دامپزشکی و آموزش همگانی. دامپزشکی از راه دور، آینده نزدیک روشنی دارد و به دلیل مزایای بی‌شماری که دارد، بر دامپزشکی و رفاه حیوانات تأثیر به‌سزایی خواهد گذاشت. این مزایا شامل کاهش استرس صاحبان حیوانات و حیوانات (به خصوص گربه‌ها)، هزینه کم آن، در دسترس بودن، اثربخشی در بسیاری از موقعیت‌های بالینی مانند پیگیری پس از معاینه حضوری، بازرسی از محل‌های جراحی یا تحرک است؛ اما با این حال، معایبی نظیر عدم معاینه بالینی و خطر تشخیص نادرست را دارا می‌باشد. با این وجود، دامپزشکی از راه دور باید مورد توجه بیشتر نهادهای نظارتی حرفه‌ای دامپزشکی (مطابق بر نظر ۲۴۲ متخصص دامپزشکی و ۹۸ صاحب تجربه پزشکی) قرار گیرد. علاوه بر این، انجام مطالعات بیشتری برای ارزیابی چگونگی شروع سلامت از راه دور برای بهبود مراقبت‌های دامپزشکی، به‌ویژه برای مناطق محروم ضروری است.



۳) چاپ سه‌بعدی (3D Printing)
پرینت سه‌بعدی در دامپزشکی به عنوان ابزاری پیشرفته برای بهبود تشخیص، برنامه‌ریزی جراحی و آموزش مورد استفاده قرار می‌گیرد. این فناوری امکان ساخت مدل‌های سه‌بعدی دقیق از ساختارهای آناتومیک را فراهم می‌کند که می‌توانند برای تمرین جراحی، آموزش دانشجویان دامپزشکی و بهبود درک از ساختارهای پیچیده، مانند پای اسب یا سیستم قلبی-عروقی حیوانات، استفاده شوند.

مانند:

الف) مدل‌های پرینت‌شده از داده‌های تصویربرداری پزشکی می‌توانند برای شبیه‌سازی و تمرین جراحی‌های پیچیده به کار روند. این کار زمان جراحی و بهبودی را کاهش داده و دقت را افزایش می‌دهد. ب) تولید ایمپلنت‌های سفارشی برای ترمیم شکستگی‌های پیچیده یا تغییر شکل‌های اسکلتی، به‌ویژه در مناطقی مانند جمجمه و ستون فقرات.

ج) تولید ابزارهای هدایت‌گر برای برش یا حفاری دقیق‌تر در طی جراحی‌های پیچیده و...



۴) ژن‌درمانی و ویرایش ژنوم به صورت Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPR)
فناوری CRISPR نقش بسیار مهمی در دامپزشکی نوین ایفا می‌کند و امکان ویرایش دقیق ژن‌ها را در حیوانات فراهم کرده است. این امر کاربردهای زیادی در زمینه‌های مختلف از جمله پیشگیری از بیماری‌ها، پرورش دام و بهبود سلامت حیوانات دارد. CRISPR در دامپزشکی نقش‌های فراوانی دارد مانند: پیشگیری و درمان بیماری‌های ژنتیکی، بهبود پرورش دام، مدل‌سازی بیماری‌ها، بهبود سلامت

حیوانات، تلاش‌های حفاظتی و...

۵) اینترنت اشیا یا Internet of Things (IoT) و سنسورهای هوشمند

سنسورها و دستگاه‌های IoT برای نظارت بر سلامت حیوانات در مزارع و خانه‌ها به کار می‌روند. این دستگاه‌ها می‌توانند داده‌هایی مانند ضربان قلب، دمای بدن، فعالیت‌های روزانه، شرایط محیطی و تغذیه‌ای حیوانات را ثبت و سریعاً به دامپزشکان ارسال کنند، چنین اطلاعاتی برای پیشگیری از بیماری‌ها و مدیریت بهتر مزارع دامپروری بسیار ارزشمند است.

۶) واکسن‌های مبتنی بر RNA و بیوتکنولوژی

در پیشگیری و درمان بیماری‌های عفونی، واکسن‌های mRNA به دلیل خطر جهش‌زایی کم، قدرت بالا، چرخه‌های سریع توسعه و پتانسیل تولید کم‌هزینه، کارآمد هستند. در سال‌های گذشته، چندین واکسن mRNA وارد آزمایشات بالینی شده‌اند و نویدبخش ارائه راه‌حلی برای مبارزه با بیماری‌های عفونی نوظهور و دوباره در حال ظهور مانند هاری، زیکا و آنفولانزا بوده‌اند.

اخیراً، استفاده موفقیت‌آمیز واکسن‌های mRNA علیه کووید-۱۹ این پلتفرم را بیشتر تأیید کرده و راه را به روی پتانسیل واکسن mRNA در پیشگیری از بیماری‌های عفونی، به‌ویژه در زمینه دامپزشکی باز کرده است.

نتیجه

تکنولوژی‌های نوین در دامپزشکی نه تنها کیفیت زندگی حیوانات را بهبود بخشیده‌اند، بلکه در کاهش هزینه‌های درمان و مدیریت بیماری‌ها نیز نقش اساسی داشته‌اند. استفاده از این فناوری‌ها با تقویت ارتباط میان دانشمندان، دامپزشکان و صاحبان حیوانات، آینده‌ای روشن برای حوزه دامپزشکی رقم می‌زند. سرمایه‌گذاری در تحقیق و توسعه در این زمینه می‌تواند منجر به پیشرفت‌های بیشتری شود که به نفع سلامت حیوانات و انسان‌ها خواهد بود. با توجه به پیشرفت‌های چشم‌گیر در فناوری‌های نوین، دامپزشکی وارد مرحله‌ای جدید از درمان و مدیریت بهداشت حیوانات شده است. تکنولوژی‌هایی مانند ویرایش ژن، پرینت سه‌بعدی و واکسن‌های RNA قادرند به‌طور مؤثری مشکلات بیماری حیوانات را حل کرده و به توسعه روش‌های درمانی جدید منجر شوند؛ همچنین این پیشرفت‌ها به بهره‌وری بالاتر در صنعت دام و دامپروری کمک می‌کنند. بدون شک آینده

دامپزشکی با ادامه تحقیقات و نوآوری‌های علمی، شاهد تحولی شگرف خواهد بود که تأثیرات آن فراتر از مرزهای حوزه سلامت حیوانات خواهد رفت.

منابع

- Smith, J., & Brown, P. (۲۰۲۲). **Advances in Veterinary Medicine: AI and Genomics.** Veterinary Journal.
- Zhang, L. et al. (۲۰۲۱). **Applications of IoT in Animal Health Management.** Journal of Agricultural Science.
- World Organisation for Animal Health (OIE). (۲۰۲۳). **Emerging Technologies in Veterinary Medicine. Artificial intelligence in veterinary diagnostic imaging: Perspectives and limitations - PubMed**
- **Artificial intelligence in veterinary diagnostic imaging: A literature review - PubMed**
- **Artificial Intelligence in Veterinary Imaging: An Overview - PubMed**
- **Veterinary telemedicine :A new era for animal welfare - PubMed**
- **Veterinary surgeons ,veterinary nurses (and owners)experiences of feline telemedicine consultations during the ۲۰۲۰ COVID۱۹- pandemic**
- **mRNA Vaccine Development for Emerging Animal and Zoonotic Diseases - PubMed**
- **Veterinarska-stanica- journal: <https://veterinarska-stanica-journal.hr/article/۳d-printer-uses-in-veterinary-medicine-a-review/>**



تاخیر در خواب زمستانی خرس ها اینجا، هنوز پرسه میزنند

بهار اسفندیاری، ایلیا حاتمی

دانشجوی دکترای عمومی دامپزشکی دانشگاه شیراز

اقلیمی میتواند موجب بیداری زودرس خرس ها از خواب شود. خرس های گرسنه و ضعیف که از خواب بیدار شده اند از همیشه خطرناک تر و جستجوگرتر هستند. به همین دلیل میتوانند خسارات زیادی بر جای بگذارند. علاوه بر این خرس ها به محض بیداری جفتگیری میکنند و فرزندان آنها با والدینی مواجه می شوند که ضعیف هستند و توانایی یافتن غذا در زیستگاه اندکی که برایشان باقی مانده را ندارند.

تخریب زیستگاه ها و تغییرات اقلیمی در نهایت میتواند نتنها فقط به خرس ها، بلکه به همه موجودات اقلیم ایران و جهان آسیب بزند. فعالیت های خارج از اخلاق زیستی که این روز ها به طور فزاینده ای توسط انسان در حال افزایش است، موجب شده تا این حیوانات خانه و غذای خود را از دست داده و حالا در آستانه خواب زمستانی، سرگردان به دنبال منابع غذایی هستند. به همین دلیل ضرورت حفاظت از محیط زیست اینبار بیشتر از همیشه یادآوری می شود. چرا که حالا خرس ها با ورود به خانه ها و سکونتگاه های هموطنانمان برایشان خطر هایی ایجاد میکنند. به هر سو، اگر در این فصل از سال و یا هر زمانی از فصول سرما و زمستان با خرس ها مواجهه داشتید، بهتر است فوراً با مسئولان محیط بان و محیط زیست منطقه خود تماس بگیرید و از هر گونه مواجهه و یا حمله به این حیوانات خودداری نمایید. همچنین سازمان های محیط زیست باید برای جلوگیری از آسیب به دام های روستاییان و گله های محلی، همواره آماده به اقدام باشد. وضعیت کنونی طوری است که هم برای انسان ها و هم برای خرس ها خطرناک است.

خرس ها، یکی از موجودات بزرگ قابل مشاهده در اقلیم های کشور ایران است. ساکنین بسیاری از روستا ها و شهر های کوچک ایران با خرس های مواجهه دارند. اما این مواجهه معمولاً تنها در فصل های گرم سال رخ می دهد. امسال اما، در فاصله یک هفته ای تا شروع زمستان، تصاویر موجود در شبکه های اجتماعی از حضور خرس ها در روستا ها و اجتماع های انسانی خبر می دهد. این در حالیست که میدانیم، خرس ها در این فصل از سال برای خواب زمستانی به پناهگاه های خود میروند و تا اتمام فصل سرما در آنجا می خوابند. بنابراین مشاهده آنها در این زمان از سال نشانه مناسبی نیست.

خرس ها برای ورود به خواب زمستانی نیاز به ذخیره غذایی به اندازه کافی دارند. به همین سبب تا زمانی که مقدار کافی از ذخایر را تامین نکنند به خواب زمستانی نمیروند. اما این روز ها بدلیل تخریب زیستگاه هایشان توسط انسان ها، به منابع کافی دسترسی ندارند. به همین دلیل برای یافتن ذخایر غذایی مورد نیاز خود به قلمرو انسان ها وارد میشوند. مشاهده خرس هایی که در این فصل از سال تنها به دنبال غذا هستند، نمیتواند نشانه خوبی باشد. چرا که این موجودات گرسنه به خودرو ها، خانه ها یا حتی گله های حیوانات اهلی حمله میکنند. نتیجه این حمله ها ممکن است برخورد های جدی بین انسان و خرس باشد که در نهایت به جراحت انسان و یا مرگ خرس بیانجامد. به طور مثال چندی پیش مشاهده شد که در حاشیه جاده چالوس ایران (واقع در استان مازندران) ، یک قلاده خرس با حمله به یک خودرو شخصی آسیب هایی به آن وارد کرد.

مشکل تنها به اینجا ختم نمیشود. تغییرات

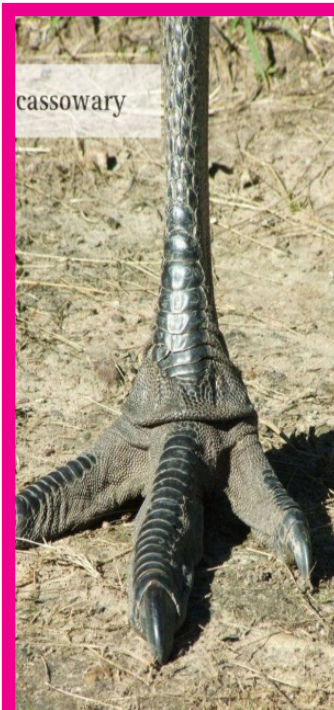


کاسوواری‌ها پرندگانی فاقد توانایی پرواز و منشعب شده از راسته دایناسور ها هستند؛ کاسوواری‌ها پرندگانی درشت پیکر با پره‌های مشکی بوده که در ناحیه‌ی گردن آبی روشنی به خود گرفته و اندام رشته مانند گوشتی و قرمز رنگ نیز از گردن این پرندگان آویخته شده است.

چندی پیش برای نخستین بار کاسوواری‌ها در جنگل‌های بارانی استرالیا یافت شدند، از شواهد انشعاب این گونه از جدی به نام دایناسورها میتوان به ساختار پاهای آنها، کلاه خود بالای سرشان و همچنین ساختار تنفسی مشابه با دایناسورها اشاره کرد؛ در مطابقت دادن ردپای این پرندگان و ردپای دایناسورها، تنها تمایز اندازه انگشتان این دو بوده است و ساختار نوک تیز انگشتان داخلی پاهای آنها از شباهتی انکارناپذیر سخن میگوید؛ همچنین کلاه خود بالای سر آنها، که اندامی تاج مانند و توخالی می‌باشد، پس از دوران بلوغ ظاهر شده و درحالی‌که عملکرد اصلی این اندام درغباری از ابهام قرار گرفته است اما می‌تواند گواهی بر این ادعا باشد که این پرندگان غول پیکر، از دایناسورها مشتق شده باشند.

علاوه بر ساختارهای ذکر شده، با دنبال کردن نشانه‌های رفتاری این پرندگان نیز میتوانیم ارتباط نزدیک‌تری با جد آنها پیدا کنیم؛ در رابطه با رفتار پرورش و مراقبت از فرزندان، دایناسور های ماده پس از طی کردن دوره ی مراقبت از تخم‌ها و باز شدن تخم‌ها وظیفه‌ی پرورش و مراقبت از فرزند را به والد نر محوّل می‌کند، جالب است بدانید پرندگان کاسوواری نیز با رها کردن فرزندان، مسئولیت نگهداری را به عهده ی والد نر واگذار می‌کنند.

از آنجا که کاسوواری‌ها در مناطق محلی جنگل‌های استرالیا زیست میکنند، از علل افزایش احتمال فروریزی جمعیت این پرندگان تصادف با ماشین و حمله ی سگ ها می‌باشد، اگر بخواهیم کمی عمیق‌تر به عوامل تاثیر گذار این رویداد دامن بزنیم باید به از دست رفتن زیستگاه‌های طبیعی این موجودات اشاره کنیم که باز هم محصول فعالیت‌های مخرب انسانی از جمله جنگل زدایی و استخراج منابع می‌باشد به سبب نقش حیاتی و قابل توجه کاسوواری ها این پرندگان مادران جنگل های بارانی استرالیا هستند، زیرا پس از خوردن میوه های جنگلی، با بیرون انداختن دانه های آنها موجب پراکنش دانه ها و بقای درختان میشوند؛ در نبود کاسوواری ها پوشش گیاهی دچار فقر خواهد شد و جان این جنگل ها به خطر خواهد افتاد.



انقراضی دوباره دایناسورها؟
 بهار استثنای لیلیا حاتمی
 دانشجوی دکترای عمومی دامپزشکی دانشگاه شیراز

کاسوواری ها

مرور و بررسی کارایی مهمترین روش های مولکولی به منظور تشخیص سرطان در دامپزشکی

آرین کریمی پورفرد

دانشجوی دکترای عمومی دامپزشکی دانشگاه شیراز



۱- معرفی تکنیک های امیکس:

امروزه با گامهای بلندی که در زمینه تعیین توالی DNA، RNA، ارزیابی بیان ژنها و حتی رصد تولید متابولیت های حاصل از بیان ژن برداشته شده است، می توان با انجام یک تجربه حجم بالایی از دیتا را همزمان درمورد یک سلول و یا ارگانیسم به دست آورد. اطلاعات حاصل از این روشها امیکس (Omics) نامیده میشود که براساس اینکه کدام قسمت سلول مورد بررسی قرار گرفته باشد، عناوین مختلفی به خود میگیرد. به عنوان مثال اطلاعات حاصل از بررسی همزمان تعداد زیادی ژن، رونوشت (mRNA)، پروتئین و متابولیت را به ترتیب ژنومیکس (Genomics)، ترانسکریپتومیکس، پروتئومیکس و متابولومیکس مینامند.

۱-۱ ژنومیکس چیست؟

ژنومیکس مطالعه کل ژنوم یک ارگانیسم به صورت همزمان است. در این روش با کمک تکنولوژی تعیین توالی DNA، عملکرد و ساختار کل ژنوم مورد ارزیابی قرار میگیرد که این کار به وسیله نرم افزارهای

تشخیص سرطان به دلیل ارائه ی داده های جامع، اختصاصی و دقیق تر درباره ی تومورها، مورد توجه ویژه ای در پزشکی و دامپزشکی واقع شده اند. در این مقاله به اختصار به معرفی ۲ دسته از روشهای مولکولی پرکاربرد اعم از تکنیک امیکس (ژنومیکس، ترانسکریپتومیکس و پروتئومیکس) و تصویربرداری مولکولی با استفاده از بیومارکرها (تصویربرداری هستهای، تصویربرداری نوری، تصویربرداری تشدید مغناطیسی) پرداخته شده است.

روش های مولکولی پرکاربرد در تشخیص سرطان، چه روش هایی هستند؟

۱- تکنیک امیکس (Omics)

۱-۱ ژنومیکس

۲-۱ ترانسکریپتومیکس

۳-۱ پروتئومیکس

۲- تصویربرداری مولکولی

۱-۲ تصویربرداری هستهای

۲-۲ تصویربرداری نوری

۳-۲ تصویربرداری تشدید مغناطیسی (MRI)

شده است. درگذشته هرچند تکنیک های مختلف پاتولوژی، هیستوپاتولوژی و برخی روشهای مولکولی در تشخیص سرطان و تعیین پیش آگهی آن به کار برده میشد؛ اما این روشها دارای نقایصی هستند که سبب محدود کردن توان پاتولوژیست ها، انکولوژیست ها و سایر متخصصین مربوطه در تشخیص و درمان سرطان ها میشوند. به عنوان مثال داده های به دست آمده از روش های مرسوم مانند پاتولوژی و هیستوپاتولوژی، محدود به تعیین تحت تیپهای تومور، پیش آگهی و زمان بقای بیمار بود؛ اما به دلیل محدودیت در تعیین تحت تیپهای سرطانها در بسیاری از بیماران، هیستوپاتولوژیست ها در مشخص کردن روش مناسب درمان، نوع پیش آگهی و میزان بقای بیمار دچار سردرگمی میشدند. به همین دلیل است که سیستم های مختلفی براساس معیارهای متفاوت شان برای دستهبندی تومورها از نظر پاتولوژیک وجود دارند که از حوصله ی این مقاله خارج است. امروزه استفاده از روشهای مولکولی در

با گسترش فناوری های نوین، روش های مولکولی متعددی اعم از تکنیک های Omics، تصویربرداری مولکولی، طیف سنجی رامان و روش های ایمونوهیستوشیمیایی (IHC)، به دلیل خروجی های بیشتر و دقیق تر در تشخیص سرطان، به عنوان جایگزین های مناسبی برای روشهای پاتولوژی و هیستوپاتولوژی که درگذشته مرسوم بودند، مورد استفاده قرار میگیرند. با استفاده از روشهای مولکولی می توان تومورها را از جنبه های بسیاری مانند تهاجمی بودن یا نبودن، تعیین تحت تیپ، نوع پیش آگهی، متابولیسم، پاسخ به درمان، ژن یا متابولیت های دخیل در توموری شدن بافت، محدوده ی بافت تومور و استخراج آن و... مورد ارزیابی قرارداد. با این وجود، روشهای مولکولی نیز هرکدام دارای محدودیت، مکانیسم و کاربردهای متفاوتی هستند که از این جهت مطالعه و بررسی این روشها، حائز اهمیت است.

با گسترش فناوری های نوین، گامی بلند در جهت تشخیص، درمان و پیشگیری سرطان برداشته

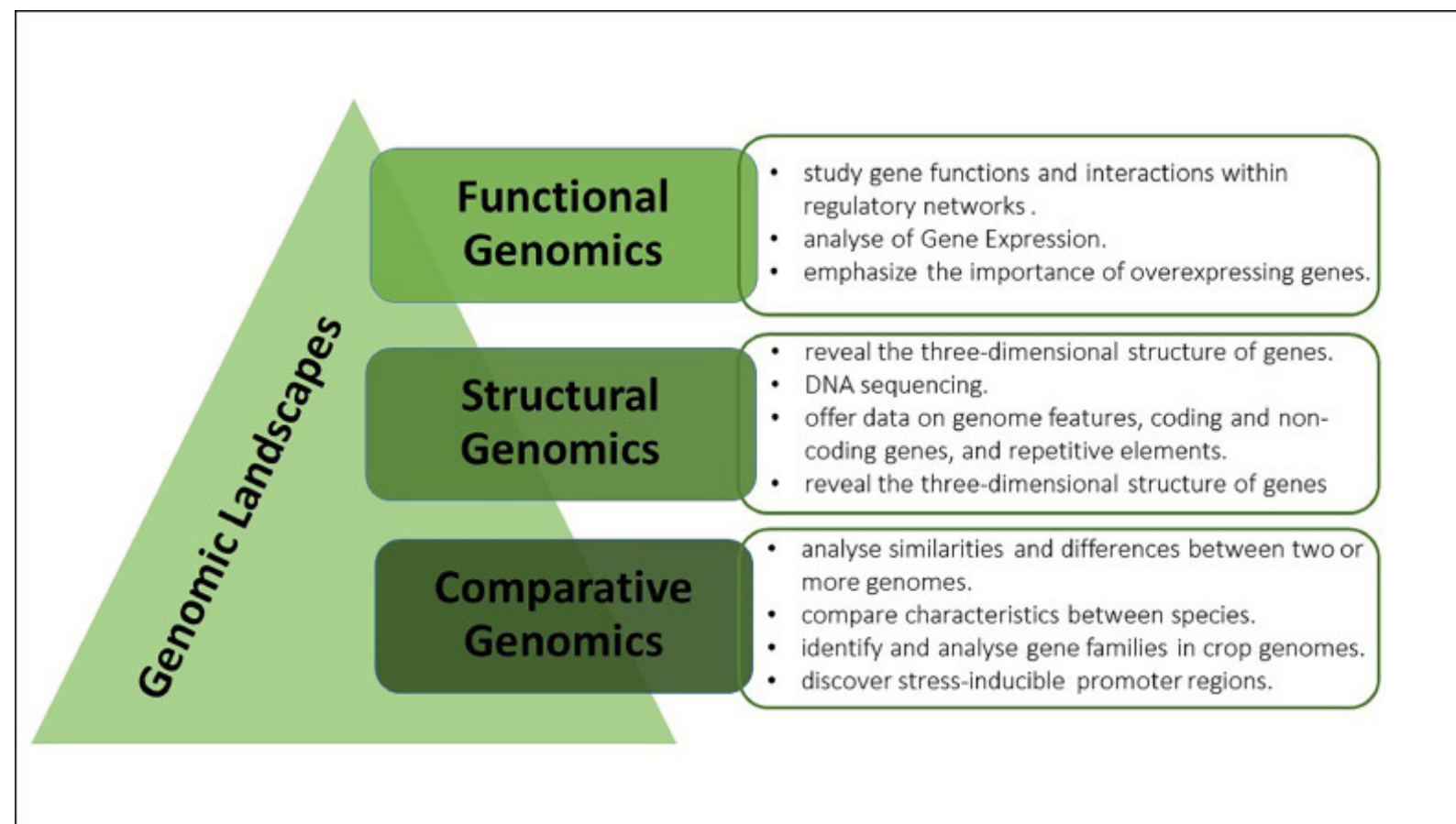
پیشرفته بیوانفورماتیک انجام می‌شود (۱۰). اولین نسخه دیجیتالی ژنوم کامل سگ در سال ۲۰۰۵ به کمک تکنیک‌هایی نظیر Shutgun و Illumina منتشر شد که خود، تحولی بزرگ در شناسایی بیولوژی بیماری‌های سگ و به‌ویژه سرطان بوده و هست.

مهم‌ترین تکنیک‌های مبتنی بر ژنومیکس برای تشخیص و تفریق سرطان‌ها چه هستند؟

۱. Comparative genomic hybridization array: در این روش پروب‌هایی در اندازه‌های مختلف به ژنوم باند شده و در ادامه میزان تغییر در تعداد کپی ژنها (Copy alteration number) تعیین می‌گردد. Matthew Breen و همکارانش در سال ۲۰۱۵ نشان دادند که تغییرات CNAها به خوبی می‌تواند لوسمی

میلوئیدی را از لوسمی لنفوسیتی تفریق سازد. همچنین آنها با کمک همین روش در سال ۲۰۱۱، ژن اختصاصی پیشگویی و همچنین سرکوب سرطان استئوسارکوما در سگ را کشف کردند.

۲. **whole exome sequencing**: آگزونها توالی‌های قابل بیان ژنوم ارگانیسم هستند. نتایج حاصل از تعیین توالی آگزونها و رصدکردن تغییر ترکیب بازهای آلی آنها، توانسته علت بسیاری از سرطان‌ها را توضیح دهد. به‌عنوان مثال، Dobson و همکارانش در سال ۲۰۰۲ توانستند ژنهای جهش‌یافته مسبب بروز لمفوم B در سگ‌های نژاد گلدن‌رتریور و کوکراسپانیل و همچنین لمفوم T در نژاد باکسیرا نشان دهند.



میکرو آری (Micro array):

آنالیز حاصل از داده‌های میکرو آری، تحت عنوان Gene Expression Profile (GEP) شناخته می‌شود (۱۶). مهمترین اطلاعات به‌دست‌آمده ژن‌ها با این روش، شامل موارد زیر است:

۱. کاهش یا افزایش بیان ژن
۲. نقش محتمل ژن (انکوژن، سرکوبگر سرطان، تنظیم بیان و...)
۳. اهمیت یا عدم اهمیت آن به‌عنوان عامل پیش‌آگهی دهند

جمله سرطان، آنالیز ترکیب پروتئینی سلول لازم است. این روش برخلاف ژنومیکس، حالت پویا و فعال دارد؛ لذا جهت توضیح فرایندهای داخل سلول، آنالیز مخلوط تعداد زیادی از پروتئین‌ها باید انجام شود.

جداسازی پروتئین‌ها چگونه صورت می‌گیرد؟

بدین منظور از روش SDS-PAGE یا الکتروفورز دوبعدی بر روی ژل پلی‌آکریل آمید استفاده می‌شود. در مرحله‌ی اول پروتئین‌ها براساس PH ایزوالکتریک در یک جهت، و در مرحله‌ی بعد براساس وزن مولکولیشان در جهت عمود بر جهت قبلی بر روی ژل حرکت می‌کنند. سپس نقاط جداسازی شده توسط رنگ‌هایی مانند کوماسی (پرکاربردترین)، نیترات نقره و یا فلورسان رنگ‌آمیزی می‌شوند. در نهایت آن نقاط پروتئینی توسط تکنیک Mass spectrometry مورد شناسایی قرار گرفته و توسط نرم‌افزارهای مخصوص مورد تجزیه و تحلیل قرار می‌گیرند.

برخی از یافته‌های مبتنی بر روش پروتئومیکس:

پژوهشگران در سال ۲۰۱۰ با کمک روش الکتروفورز دوبعدی، توانستند بیان معنی‌دار ۲۱ ژن دخیل در سرطان پستان در سگ را شناسایی کنند. همچنین برخی از این ژنها به‌عنوان ژنهای دخیل در سرطان پستان نوع متاستازدهنده شناسایی شدند. در ایران نیز Zamani-Ahmadmahmudi و همکاران، با الکتروفورز دوبعدی سرم سگ‌های مبتلا به لنفوم، توانستند آتوانتی‌بادی و آنتی‌ژنهای دخیل در سرطان پستان در سگ را شناسایی کنند.

۲- تصویربرداری مولکولی:

اساس تصویربرداری مولکولی چیست؟

در تصویربرداری مولکولی از بیومارکرها استفاده می‌شود. یک لیگاند اختصاصی را برای اتصال به گیرنده یا مارکر در سطح سلول نشان‌دار کرده و تصویربرداری مولکولی را انجام می‌دهند. تشخیص بر مبنای تصویربرداری مولکولی، مزایای بسیاری از جمله تهاجمی یا غیرتهاجمی بودن، تعیین مرحله‌ی سرطان، دسترسی به تغییرات زیستی مخرب یا غیرمخرب، امکان بررسی پاسخ تومور به درمان و... دارد. همچنین ارائه‌ی مرز دقیق برداشت تومور برای پیشگیری از متاستاز ثانویه یا رشد دوباره‌ی تومور به کمک این روش امکانپذیر است.

۲-۱- تصویربرداری هسته‌ای:

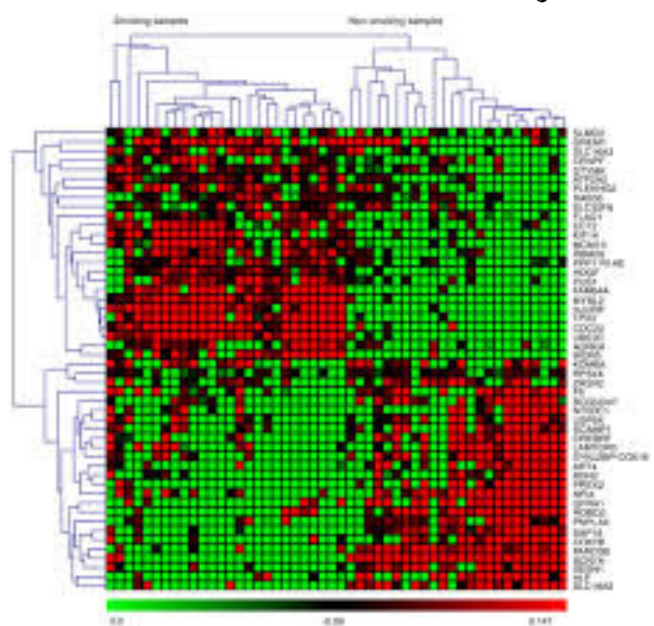
این روش نقش مهمی در مرحله‌بندی سرطان، بررسی پاسخ تومور به درمان و همچنین ژن درمانی سرطان بازی می‌کند. در این روش به‌طورکلی پس از تزریق یک رادیودار مناسب به بافت هدف، با ساطع کردن پوزیترون‌های مختلف، رادیوایزوتوپ‌های

با مقایسه‌ی تغییر بیان ژنها در تعدادی از نمونه‌های سرطانی، می‌توان ژن‌هایی که تنها در تعداد کمی از حیوانات تغییر بیان معنیداری داشته را حذف کرد و در مقابل، آنهایی را که در سهم زیادی از تعداد نمونه‌های سرطانی دارای بیان معنیداری هستند را به‌عنوان ژنهای دخیل در ایجاد سرطان معرفی کرد. پژوهشگران با بررسی پروفایل ژنی سرطان لمفوم در سگ با کمک روش میکرو آری، توانستند لنفوم سگ را به سه زیرگروه مولکولی تقسیم کنند که شامل موارد زیر است:

۱. لمفوم سلول‌های T با گرید بالا شامل لمفوم سلول‌های T لمفوبالستیک و لمفوم سلول‌های T محیطی

۲. لمفوم سلول‌های T با گرید پایین شامل لنفوم ناحیه‌ی T

۳. لمفوم سلول‌های B شامل لمفوم سلول‌های B حاشیه‌ای، لمفوم بورکیت و لمفوم سلول‌های بزرگ B منتشر



بدیهی است که با توجه به این طبقه‌بندی مولکولی، امکان تعیین نوع پیش‌آگهی لنفوم سگ توسط Real-Time-PCR نیز وجود دارد. همچنین پژوهشگران در آزمون‌های دیگری مبتنی بر Micro array نشان دادند که ژن CCND1 به‌عنوان یک فاکتور پروگنوستیک مهم در سرطان لمفوم می‌باشد، به‌طوری‌که میزان زمان بقا در سگ‌های مبتلا به لمفوم B که دچار افزایش بیان این ژن هستند، به‌صورت معنی‌داری بیش از سگ‌های دارای کاهش بیان آن می‌باشد.

۱-۳- پروتئومیکس چیست؟

برای آنالیز پاتوفیزیولوژی بسیاری از بیماری‌ها از

تزریق شده دچار واپاشی میشوند و یک یا چند پرتوی گاما در چندین جهت آزاد میکنند. سپس دستگاه آشکارساز با دریافت و پردازش پرتوهای بازتابی یک تصویر خروجی از توزیع استاتیک و داینامیک پروب ایجاد میکند که اطلاعاتی از قبیل جریان خون، متابولیسم تکثیر سلولی، رگزایی تومور و بیان ژن فراهم میآورد. با این وجود تصویربرداری هسته‌ای در دامپزشکی کاربرد چندانی ندارد.

۲-۲- تصویربرداری نوری:

در برنامه‌های کاربردی تصویربرداری نوری، با تابش طیف وسیعی از فرکانسهای نور (فرابنفش تا مادون قرمز)، از برهم‌کنش‌های میان فوتون‌ها و اجزای سلولی اطلاعات بسیاری به دست می‌آید. از آنجایی که این فوتون‌ها بین ۳۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر انرژی دارند، قادر به برهم‌کنش با تک‌تک مولکولهای بافت هستند. نوری که از یک منبع نوری ساطع میشود، می‌تواند از طریق عبور از این اجزا بازتاب، شکسته، پراکنده یا جذب شود. تکنیک‌های مختلفی مبتنی بر تصویربرداری نوری اعم از تصویربرداری فلورسانس، طیف‌سنجی رامان و تصویربرداری بیولومینسانس وجود دارند که دو مورد اول بیشتر در پزشکی حائز اهمیت هستند؛ لذا با توجه به کاربرد بیشتر تصویربرداری بیولومینسانس در دامپزشکی، اختصاصاً این روش را شرح میدهم. تصویربرداری بیولومینسانس (BLI) چیست؟

روش BLI به‌عنوان یک روش تشخیص سودمند در حیوانات کوچک پدیدآمده است. در این روش از انتشار فوتونهایی که در اثر واکنشهای وابسته به انرژی آزاد میشوند، تصویربرداری به‌عمل می‌آید. کاتالیزچنین واکنش‌هایی توسط لوسیفرازها انجام میشود. لوسیفرازها خانواده‌ای از فتوپروتئینها هستند که در اثر متابولیسم پیش‌سازهایی مانند لوسیفیرین به اکسی لوسیفیرین، فوتون‌هایی قابل تشخیص که اغلب بیش از ۶۰۰ نانومتر طول موج دارند ساطع میکنند. مطالعات نشان میدهد که BLI میتواند یک روش دقیق و حساس برای سنجش فرایند سرطان‌زایی و پیشرفت سرطان در حیوانات زنده فراهم آورد.

۳-۲- تصویربرداری تشدید مغناطیسی (MRI):

میتوان MRI را در خط مقدم روشهای تصویربرداری مولکولی قرار داد که در این روش از انرژی بسامد رادیوی (Frequency Radio) بهره میگیرند که طی آن ابتدا تحت یک میدان مغناطیسی قوی پروتونها آماده‌ی تحریک شده و حالت چرخشی به‌خود میگیرند که این چرخش با انرژی RF واکنش میدهد. سپس با حذف RF، پروتون‌ها به چرخش قبلی

خود باز میگردند و هم‌زمان از خود سیگنال‌هایی ساطع میکنند که توسط MRI شناسایی میشود. در این روش از پرتوهای یونیزان استفاده نمیشود و این موضوع برای افراد حساس به اشعه بسیار حائز اهمیت است. مهمترین منبع پروتون بدن، آب است و با توجه به اینکه سلولهای توموری به دلیل تکثیر و متابولیسم بیشتر، تراکم آبی بسیار بیشتری نسبت به بافتهای سالم اطراف خود دارند، MRI قادر است اطلاعات دقیقی از محدودهی تومور و همچنین پیشرفت سرطان فراهم آورد. نتیجه‌گیری و جمع‌بندی:

در این بررسی مروری، سعی بر آن شد تا علاقه‌مندان به حوضهی سرطان در دامپزشکی، با مهمترین روشهای مبتنی بر تشخیص مولکولی که در حال حاضر برای دستیابی به اطلاعات دقیق و جامع درباره‌ی تومور مورد استفاده قرار میگیرند، آشنایی پیدا کنند. با توجه به تعداد بالای نمونه‌های سرطانی تشخیص‌داده‌شده و اهمیت بیشتر بحث سرطان در پزشکی، بانکهای اطلاعاتی در خصوص بیومارکرهای اختصاصی، انواع تومورها و همچنین روشهای تشخیصی در رشته‌ی پزشکی گسترده‌تر از دامپزشکی بوده و نمونه‌ها و اطلاعات درمورد حیوانات همچنان بسیار اندک و ناقص است. از طرفی به دلیل گسترش روزافزون حیوانات خانگی و آمیختگی زندگی آنها با انسانها، امروزه حیوانات بیشتر از قبل در معرض عوامل سرطانزا که زندگی شهری به آنها تحمیل کرده، قرار دارند. امید است که با مطالعات بیشتر توسط پژوهشگران، بانکهای اطلاعاتی در دامپزشکی نیز روزبه‌روز تقویت شوند تا به‌عنوان منابعی ارزشمند در اختیار پژوهشگران انکولوژی دامپزشکی قرار گیرند.

References:

- Shaughnessy, J.D., Zhan, F., Burington, B.E., Huang, Y., Colla, S., Hanamura, I., Stewart, J.P., Kordsmeier, B., Randolph, C., Williams, D.R., Xiao, Y., Xu, H., Epstein, J., Anaissie, E., Krishna, S.G., Cottler-Fox, M., Hollmig, K., Mohiuddin, A., Pineda-Roman, M., Tricot, G., van Rhee, F., Sawyer, J., Alsayed, Y., Walker, R., Zangari, M., Crowley, J., Barlogie, B. (۲۰۰۷). A validated gene expression model of high-risk multiple myeloma is defined by deregulated expression of genes mapping to chromosome ۱. *Blood*, ۱۰۹, ۲۲۷۶-.

. ۲۲۸۴

- Naderi, A., Teschendorff, A.E., Barbosa-Morais, N.L., Pinder, S.E., Green, A.R., Powe, D.G., Robertson, J.F., Aparicio, S., Ellis, I.O., Brenton, J.D., Caldas, C. (۲۰۰۷). A gene-expression signature to predict survival in breast cancer across independent data sets. *Oncogene*, ۲۶, ۱۵۰۷-۱۵۱۶
- Wilkins, M.R., Sanchez, J.C., Gooley, A.A., Appel, R.D., Humphery-Smith, I., Hochstrasser, D.F., Williams, K.L. (۱۹۹۶). Progress with proteome projects: why all proteins expressed by a genome should be identified and how to do it. *Biotechnol. Genet Eng Rev*, ۱۳, ۱۹-۵۰.
- Lossos, I.S., Czerwinski, D.K., Alizadeh, A.A., Wechser, M.A., Tibshirani, R., Botstein, D., Levy, R. (۲۰۰۴). Prediction of survival in diffuse large-B-cell lymphoma based on the expression of six genes. *N Engl J Med*, ۱۸۳۷-۱۸۲۸, ۳۵۰.
- Decaux, O., Lodé L., Magrangeas, F., Charbonnel, C., Gouraud, W., Jézéquel, P., Attal, M., Harousseau, J.L., Moreau, P., Bataille, R., Campion, L., Avet-Loiseau, H., Minvielle, S., Intergroupe Francophone du Myélome. (۲۰۰۸). Prediction of survival in multiple myeloma based on gene expression profiles reveals cell cycle and chromosomal instability signatures in high-risk patients and hyperdiploid signatures in low-risk patients: a study of the Intergroupe Francophone du Myélome. *J Clin Oncol*, ۲۶, ۴۷۹۸-۴۸۰۵.
- Rosenwald, A., Wright, G., Chan, W.C., et al. (۲۰۰۲). The use of molecular profiling to predict survival after chemotherapy for diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med*, ۱۹۳۷-۱۹۴۷, ۳۴۶.
- Xu, Y., Cui, J., Puett, D. (۲۰۱۴) *Cancer Bioinformatics*, 1st ed., Springer, New York
- Trevino, V., Falciani, F., Barrera-Saldaña, H.A. (۲۰۰۷). DNA microarrays: a powerful genomic tool for biomedical and clinical research. *Mol Med*, ۱۳, ۵۲۷-۵۴۱.
- Soon, W.W., Hariharan, M., Snyder, M.P. (۲۰۱۳). High-throughput sequencing for biology and medicine. *Mol Syst Biol*, ۹, ۶۴۰.
- Zamani-Ahmadmahmudi, M., & Azizi, S. (۲۰۱۹). Application of Omics Technology in Diagnosis of

the Canine Cancers. *J Vet Res*, ۳۰۳-۲۹۶, (۳)۷۴. doi:1۰,۲۲۰۵۹/jvr.۲۰۱۸,۲۴۰۷۶۷,۲۶۹۲

- Lindblad-Toh, K., Wade, C.M., Mikkelsen, T.S., et al. (۲۰۰۵). Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog. *Nature*, ۸۱۹-۸۰۳, ۴۳۸.
- Frantz, A.M., Sarver, A.L., Ito, D., Phang, T.L., Karimpour-Fard, A., Scott, M.C., Valli, V.E., Lindblad-Toh, K., Burgess, K.E., Husbands, B.D., Henson, M.S., Borgatti, A., Kisseberth, W.C., Hunter, L.E., Breen, M., O'Brien, T.D., Modiano, J.F. (۲۰۱۳) Molecular profiling reveals prognostically significant subtypes of canine lymphoma. *Vet Pathol*, ۷۰۳-۶۹۳, ۵۰.
- Roode, S.C., Rotroff D., Avery, A.C., Suter, S.E., Bienzle, D., Schiffman, J.D., Motsinger-Reif, A., Breen, M. (۲۰۱۵). Genomewide assessment of recurrent genomic imbalances in canine leukemia identifies evolutionarily conserved regions for subtype differentiation. *Chromosome Res*, ۷۰۸-۶۸۱, ۲۳.
- Angstadt, A.Y., Motsinger-Reif, A., Thomas, R., Kisseberth, W.C., Guillermo, Couto, C., Duval, D.L., Nielsen, D.M., Modiano, J.F., Breen, M. (۲۰۱۱). Characterization of canine osteosarcoma by array comparative genomic hybridization and RT-qPCR: signatures of genomic imbalance in canine osteosarcoma parallel the human counterpart. *Genes Chromosomes Cancer*, ۵۰, ۸۷۴-۸۵۹.
- Dobson, J.M., Samuel, S., Milstein, H., Rogers, K., Wood, J.L. (۲۰۰۲). Canine neoplasia in the UK: estimates of incidence rates from a population of insured dogs. *J Small Anim Pract*, ۲۴۰, (۶)۴۳, ۲۴۶.
- Duggan, D.J., Bittner, M., Chen, Y., Meltzer, P., Trent, J.M. (۱۹۹۹) Expression profiling using cDNA microarrays. *Nat Genet*, ۱۴, ۱۰-۲۱.
- Kim, J., Orkin, S.H. (۲۰۱۱), Embryonic stem cell-specific signatures in cancer: insights into genomic regulatory networks and implications for medicine. *Genome Med*, ۷۵, ۳.
- Ben-Porath, I., Thomson, M.W., Carey, V.J., Ge, R., Bell, G.W., Regev, A., Weinberg, R.A. (۲۰۰۸). An embryonic stem cell-like gene expression signature in poorly differentiated aggressive

Yazdani,B.(۲۰۱۳).Isolationandcharacterization of a canine mammary cell line prepared for proteomics analysis. Tissue Cell, ۱۹۰-۱۸۳ ,۴۵ .

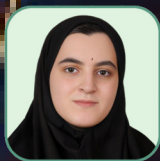
- Fass L. Imaging and cancer: a review. Molecular Oncology ۵۲-۲:۱۱۵;۲۰۰۸. doi:۱۰,۱۰۱۶/j. molonc.. ۲۰۰۸,۰۴,۰۰۱
- Cook G. Oncological molecular imaging: nuclear medicine techniques. BJR ۷۶;۲۰۰۳:S-۱۵۲S۸. doi: ۱۰,۱۲۵۹/bjr/.۱۶۰۹۸۰۶۱
- Cook G. Oncological molecular imaging: nuclear medicine techniques. BJR ۷۶;۲۰۰۳:S-۱۵۲S۸. doi: ۱۰,۱۲۵۹/bjr/.۱۶۰۹۸۰۶۱
- Fernandes RS, de Aguiar Ferreira C, Soares DCF, Maffione AM, Townsend DM, Rubello D, et al. The role of radionuclide probes for monitoring anti-tumor drugs efficacy: a brief review. Biomed Pharmacother ۷۶-۹۵:۴۶۹;۲۰۱۷.
- Contag CH, Ross BD. It’s not just about anatomy: in vivo bioluminescence imaging as an eyepiece into biology. JMRI ۸۷-۱۶:۳۷۸;۲۰۰۲.
- Shah K, Weissleder R. Molecular optical imaging: applications leading to the development of present day therapeutics. NeuroRx -۲:۲۱۵;۲۰۰۵ ۲۵.
- Damadian R. Tumor detection by nuclear magnetic resonance. Science ۳-۱۷۱:۱۱۵۱;۱۹۷۱.
- Sorensen AG. Magnetic resonance as a cancer imaging biomarker. J Clin Oncol -۲۴:۳۲۷۴;۲۰۰۶ ۸۱.

human tumors. Nat Genet, ۵۰۷-۴۹۹ ,۴۰ .

- Zamani-Ahmadmahmudi, M., Najafi A., Nassiri, S.M.(۲۰۱۶).Detectionofcriticalgenesassociated with overall survival (os) and progression-free survival (pfs) in reconstructed canine B-cell lymphoma gene regulatory network (GRN). Cancer Invest, ۷۹ -۷۰ ,۳۴.
- Kellner, R. (۲۰۰۰). Proteomics. Concepts and perspectives. Fresenius J Anal Chem, -۵۱۷ ,۳۶۶ ۵۲۴
- Klose, P., Weise, C., Bondzio, A., Multhaupt, G., Einspanier, R., Gruber, A.D., Klopfleisch, R.(۲۰۱۱). Is there a malignant progression associated with a linear change in protein expression levels from normal canine mammary gland to metastatic mammary tumors? J, Proteome Res, -۴۴۰۵ ,۱۰ ۴۴۱۵ .
- Klopfleisch, R., Klose, P., Weise, C., Bondzio, A., Multhaupt, G., Einspanier, R., Gruber, A.D. (۲۰۱۰). Proteome of metastatic canine mammary carcinomas: similarities to and differences from human breast cancer. J Proteome Res -۶۳۸۰ ۹ ۶۳۹۱
- Zamani-Ahmadmahmudi, M., Nassiri, S.M., Rahbarghazi, R. (۲۰۱۴). Serological proteome analysis of dogs with breast cancer unveils common serum biomarkers with human counterparts. Electrophoresis, ۹۱۰-۹۰۱ ,۳۵ .
- Zamani-Ahmadmahmudi, M., Nassiri, S.M., Jahanzad, I., Shirani, D., Rahbarghazi, R.,

استفاده از روش‌های مولکولی برای تشخیص لیشمانیاز در دامپزشکی

تینا یعقوب پور
گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران



cPCR دارد و برای تشخیص دقیق‌تر استفاده می‌شود.

(qPCR): امکان کمی‌سازی بار انگل را فراهم می‌کند و کمتر به آلودگی حساس است. همچنین می‌تواند به شناسایی گونه‌های خاص Leishmania بدون نیاز به توالی‌یابی کمک کند.

روش RFLP-PCR (Restriction Fragment Length Polymorphism-Polymerase Chain Reaction) برای تشخیص لیشمانیوز سگ‌ها، یک ابزار دقیق و حساس است که برای شناسایی و تمایز گونه‌های مختلف لیشمانیاز مورد استفاده قرار می‌گیرد. این

می‌رود و به دامپزشکان و محققان امکان می‌دهد تا با اطمینان بیشتری این بیماری را تشخیص داده و مدیریت کنند.

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR)

به عنوان یک روش مولکولی حساس و دقیق برای تشخیص عفونت Leishmania در سگ‌ها شناخته می‌شود. این روش شامل چندین نوع مختلف است:

PCR متعارف (cPCR): برای تکثیر DNA انگل از نمونه‌های بالینی استفاده می‌شود.
PCR (nested PCR): حساسیت بالاتری نسبت به

باشند. تشخیص دقیق و سریع این بیماری، برای درمان مؤثر و جلوگیری از گسترش آن ضروری است. روش‌های سنتی تشخیص لیشمانیوز شامل میکروسکوپی، کشت انگل و تست‌های سرولوژیک هستند؛ اما این روش‌ها ممکن است دقت و حساسیت کافی را نداشته باشند. به همین دلیل، استفاده از روش‌های مولکولی مدرن به عنوان ابزارهای قدرتمندی در تشخیص لیشمانیوز مطرح شده‌اند. استفاده از این روش‌های مولکولی به دلیل دقت و حساسیت بالای آن‌ها، به طور گسترده‌ای در تشخیص و مطالعه لیشمانیوز در سگ‌ها به کار

لیشمانیوز سگ‌ها یک بیماری انگلی مهم و جدی است که توسط انگل‌های تک‌سلولی از جنس لیشمانیا ایجاد می‌شود. این بیماری عمدتاً از طریق نیش پشه‌های خاکی منتقل می‌شود و می‌تواند به مشکلات متعددی از جمله علائم پوستی، کاهش وزن، کم‌خونی و در موارد شدید، به نارسایی کلیه منجر شود. لیشمانیوز در سگ‌ها می‌تواند به دو شکل اصلی ظاهر شود: لیشمانیوز پوستی و لیشمانیوز احشایی. هردوی این اشکال می‌توانند کیفیت زندگی سگ‌ها را شدیداً تحت تأثیر قرار دهند و در صورت عدم درمان، ممکن است مرگبار

روش شامل چند مرحله اصلی است: استخراج DNA: ابتدا DNA از نمونه خون، بافت، یا نمونه دیگر سگ مبتلا استخراج می‌شود. PCR: سپس با استفاده از پرایمرهای اختصاصی، قسمتی از DNA که متعلق به لیشمانیا است، تکثیر می‌شود.

هضم با آنزیم محدودکننده: محصول PCR با استفاده از آنزیم‌های محدودکننده (Restriction Enzymes) که توالی‌های خاصی را تشخیص و برش می‌دهند، هضم می‌شود. الکتروفورز ژل: قطعات DNA هضم‌شده با استفاده از ژل الکتروفورز آگارز جداسازی می‌شوند. الگوی باندهای حاصل روی ژل که براساس اندازه قطعات DNA تشکیل شده‌اند، مقایسه و تحلیل می‌شوند. این روش اجازه می‌دهد تا تفاوت‌های ژنتیکی میان گونه‌ها یا زیرگونه‌های مختلف لیشمانیا مشخص شود و به تشخیص دقیق بیماری کمک می‌کند.

هیبریداسیون درجا رنگ‌سنجی (CISH)

CISH از پروپ‌های نوکلئیک‌اسیدی نشان‌دار با آنتی‌ژن استفاده می‌کند که به توالی‌های مکمل DNA یا RNA انگل متصل می‌شوند. این اتصال از طریق میکروسکوپ نوری و واکنش رنگ‌سنجی قابل مشاهده است. این روش می‌تواند فرم‌های آماستیگوت انگل را در بافت‌های آلوده شناسایی کند و عفونت فعال را تأیید کند.

الکتروفورز چند مکانیزمی (MLEE)

این روش برای شناسایی گونه‌های Leishmania در سطح مولکولی استفاده می‌شود. با تجزیه و تحلیل الگوی آنزیم‌های مختلف، می‌توان گونه‌های مختلف انگل را شناسایی کرد. این روش به‌عنوان روش مرجع برای شناسایی گونه‌ها محسوب می‌شود؛ اما به دلیل نیاز به نمونه‌های تازه و زمان‌بر بودن، در همه شرایط قابل استفاده نیست.

مزایا و معایب روش‌های مولکولی مزایا:

حساسیت بالا: روش‌های مولکولی مانند PCR حساسیت بالایی دارند و می‌توانند مقادیر کم DNA انگل را شناسایی کنند.

تشخیص سریع: این روش‌ها می‌توانند نتایج سریع‌تری نسبت به روش‌های سنتی مانند کشت انگل ارائه دهند.

تشخیص گونه‌های مختلف: امکان تشخیص دقیق گونه‌های مختلف Leishmania وجود دارد که برای مدیریت و کنترل بیماری اهمیت دارد.

معایب:

هزینه بالا: تجهیزات و مواد مورد نیاز برای روش‌های مولکولی ممکن است هزینه‌بر باشند.

نیاز به تخصص: اجرای این روش‌ها نیاز به تخصص و آموزش دارد.

خطر آلودگی: برخی از روش‌های مولکولی مانند cPCR ممکن است به آلودگی حساس باشند که می‌تواند نتایج نادرست ایجاد کند.

استفاده از روش‌های مولکولی برای تشخیص لیشمانیا در دامپزشکی و سگ‌ها:

۲. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR)

الف) PCR متعارف (cPCR):

نمونه‌گیری: جمع‌آوری نمونه‌های خون، مغز استخوان، پوست یا غدد لنفاوی از سگ‌های مشکوک به عفونت.

استخراج DNA: استفاده از کیت‌های تجاری یا روش‌های استاندارد برای استخراج DNA از نمونه‌ها. تکثیر DNA: استفاده از پرایمرهای اختصاصی برای Leishmania و انجام PCR در دستگاه ترموسایکلر.

الکتروفورز ژل: مشاهده محصولات PCR با استفاده از ژل آگارز و رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید.

ب) (Nested PCR):

نمونه‌گیری و استخراج DNA: مشابه conventional PCR.

تکثیر دومرحله‌ای DNA: ابتدا استفاده از پرایمرهای خارجی برای تکثیر اولیه، سپس استفاده از پرایمرهای داخلی برای تکثیر ثانویه.

الکتروفورز ژل: مشاهده محصولات نهایی با استفاده از ژل آگارز.

ج) (qPCR):

نمونه‌گیری و استخراج DNA: مشابه cPCR.

تکثیر و تشخیص DNA: استفاده از پرایمرها و پروپ‌های فلورسنت اختصاصی در دستگاه qPCR. تحلیل داده‌ها: کمی‌سازی بار انگل با تحلیل منحنی فلورسانس و مقایسه با استانداردهای شناخته شده.

۲. هیبریداسیون درجا رنگ‌سنجی (CISH)

نمونه‌گیری: جمع‌آوری نمونه‌های بافتی (مثلاً پوست) و آماده‌سازی و تثبیت با فرمالین و پارافین جاسازی شده (FFPE).

برش و آماده‌سازی: برش‌های نازک از بافت (FFPE Formalin-Fixed Paraffin-Embedded) تهیه و روی اسلایدهای میکروسکوپ قرار می‌گیرند.

پروپ هیبریداسیون: استفاده از پروپ نوکلئیک‌اسیدی نشان‌دار با آنتی‌ژن که به توالی‌های اختصاصی Leishmania متصل می‌شود.

داشته باشد که تشخیص آن‌ها را امکان‌پذیر می‌کند.

نتیجه‌گیری

استفاده از روش‌های مولکولی در تشخیص لیشمانیوز در دامپزشکی می‌تواند به تشخیص سریع‌تر و دقیق‌تر بیماری کمک کند و نقش مهمی در کنترل و پیشگیری از انتشار آن دارد. ترکیب این روش‌ها با روش‌های سنتی می‌تواند به بهبود مدیریت بیماری و کاهش بار آن در جامعه کمک کند.

منابع:

- Maia, C., & Campino, L. (۲۰۱۸). **Methods for diagnosis of canine leishmaniasis and immune response: A review.** Parasite, ۴, ۲۵. Link
- Solano-Gallego, L., Miró, G., Koutinas, A., Cardoso, L., Pennisi, M. G., Ferrer, L., ... & Baneth, G. (۲۰۱۱). **LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis.** Parasites & Vectors, ۴, ۸۶. Link
- de Almeida Ferreira, S., Pereira Avelar, D. M., & Sciacavico Zafalon, L. F. (۲۰۱۲). **Comparison of serological assays for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis in Brazil.** Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, ۲۴(۶), ۹۸۲-۹۷۷. Link
- Reis, A. B., Martins-Filho, O. A., Teixeira-Carvalho, A., Carvalho, M. G., Mayrink, W., Franca-Silva, J. C., ... & Correa-Oliveira, R. (۲۰۰۶). **Systemic and compartmentalized immune response in canine visceral leishmaniasis.** Veterinary Immunology and Immunopathology, ۱۱۹(۴-۲), ۱۸۷-۱۹۸. Link
- Almeida, A. B. P. F., Sousa, V. R. F., Gasparetto, N. D., & Lima, V. M. F. (۲۰۱۳). **Comparison between cytology and PCR in diagnosis of canine visceral leishmaniasis from bone marrow aspirates.** Veterinary Parasitology, ۱۹۲(۳-۱), ۴۲-۴۷. Link
- Mary, C., Faraut, F., Lascombe, L., & Dumon, H. (۲۰۰۴). **Quantification of Leishmania infantum DNA by a real-time PCR assay with high sensitivity.** Journal of Clinical Microbiology, ۴۲(۱۱), ۵۲۴۹-۵۲۵۵. Lin

رنگ‌آمیزی: استفاده از آنتی‌بادی‌های متصل به آنزیم و افزودن سوبسترا برای تولید رنگ قابل‌مشاهده تحت میکروسکوپ نوری.

تجزیه و تحلیل: مشاهده و شناسایی فرم‌های آماستیگوت انگل در بافت و تأیید عفونت فعال.

۳. الکتروفورز چند مکانیزمی (MLEE)

نمونه‌گیری: جمع‌آوری نمونه‌های انگل از کشت‌های مثبت یا نمونه‌های بالینی.

آماده‌سازی آنزیم: استخراج آنزیم‌های سلولی از نمونه‌ها.

الکتروفورز: جداسازی آنزیم‌ها با استفاده از ژل‌های پلی‌اکریل‌آمید و بررسی الگوی باندها.

روش Restriction Fragment Length (RFLP-PCR Polymorphism-Polymerase Chain Reaction) برای تشخیص لیشمانیوز در سگ‌ها به شرح زیر است:

۱. استخراج DNA

در اولین مرحله، DNA از نمونه خون، بافت یا سایر نمونه‌های بالینی گرفته شده از سگ استخراج می‌شود. این کار معمولاً با استفاده از کیت‌های تجاری استخراج DNA انجام می‌شود.

۲. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR)

در این مرحله، با استفاده از پرایمرهای اختصاصی، یک بخش خاص از DNA که مربوط به انگل لیشمانیا است تکثیر می‌شود. PCR یک روش حساس و دقیق است که به ما این امکان را می‌دهد که مقدار کمی از DNA را به میزان قابل توجهی تکثیر کنیم تا برای مراحل بعدی کافی باشد.

۳. هضم با آنزیم‌های محدودکننده

پس از تکثیر DNA، محصول PCR با استفاده از آنزیم‌های محدودکننده هضم می‌شود. این آنزیم‌ها توالی‌های خاصی از DNA را تشخیص داده و آنها را در نقاط خاصی برش می‌دهند. نتیجه این مرحله، قطعات DNA با اندازه‌های مختلف است.

۴. الکتروفورز ژل

قطعات DNA هضم شده با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز جداسازی می‌شوند. در این مرحله، قطعات DNA بر اساس اندازه‌شان در ژل آگارز جدا می‌شوند و یک الگوی باندهای ایجاد می‌کنند. این الگوهای باندهای با استفاده از یک دستگاه ژل داکيومنتیشن قابل‌مشاهده و تحلیل هستند.

۵. تحلیل نتایج

الگوی باندهای به‌دست‌آمده از الکتروفورز با الگوهای شناخته‌شده مقایسه می‌شود تا گونه یا زیرگونه لیشمانیا تشخیص داده شود. هرگونه زیرگونه ممکن است الگوی باندهای منحصربه‌فردی



فاطمه سنا احمدی دلیوند
کارشناسی علوم و مهندسی محیط زیست



ماهی طلایی به جای سیب سرخ!

سنت هفت‌سین یکی از معروف‌ترین و ارزشمندترین آیین‌های نوروزی در ایران است. هر سال، با فرارسیدن بهار، خانواده‌های ایرانی برای استقبال از سال نو، سفره‌ای از نمادهای مختلف می‌چینند. این نمادها شامل سبزه، سمنو، سنجید، سیر، سیب، سماق و سرکه است که هرکدام معنای خاص خود را دارند و نشانه‌ای از ویژگی‌های مثبت مانند برکت، سلامت، عشق و صبوری هستند. در کنار این هفت نماد اصلی، ماهی قرمز نیز امروزه به یکی از عناصر این سفره تبدیل شده است. این ماهی که اغلب در ظرفی پر از آب کنار سایر نمادها قرار می‌گیرد، نمادی از زندگی، شادابی و حرکت در سال جدید محسوب می‌شود. اما این سنت، برخلاف باور عمومی، سابقه چندان طولانی در نوروز ایرانیان ندارد و داستان ورود آن به این آیین، ماجرای جالبی است.

ماهی قرمز از کجا به سفره هفت‌سین آمد؟

ماهی قرمز یا fish golden که از نظر علمی با نام auratus Carassius شناخته می‌شود، از خانواده کپورماهیان (Cyprinidae) است و در اصل بومی چین و شرق آسیا محسوب می‌شود. این ماهی در آب‌های شیرین زندگی می‌کند و به دلیل رنگ زیبا و درخشانش، در سراسر جهان به‌عنوان ماهی زینتی در آکواریوم‌ها و استخرهای خانگی نگهداری می‌شود.

ورود ماهی قرمز به ایران احتمالاً به دوران قاجار (اواسط قرن ۱۹ میلادی) بازمی‌گردد. این ماهی که در فرهنگ چین نماد شانس و خوشبختی بود، ابتدا به‌عنوان یک ماهی تزئینی وارد ایران شد و در استخرها و باغ‌های اشرافی نگهداری می‌شد. در آن زمان، ایران روابط تجاری و فرهنگی گسترده‌ای با چین و سایر کشورهای آسیای شرقی داشت و بسیاری از کالاهای سنت‌های آن کشورها به‌تدریج وارد ایران شدند.

اما برخلاف آنچه امروزه تصور می‌شود، ماهی قرمز از ابتدا بخشی از سفره هفت‌سین ایرانیان نبوده است. در واقع، این سنت از اواخر دوران قاجار و اوایل پهلوی شکل گرفت و تحت تأثیر فرهنگ‌های آسیای شرقی، مخصوصاً چین و ژاپن، رواج یافت. در این فرهنگ‌ها، ماهی قرمز نمادی از سرزندگی، حرکت و آغاز سالی پربرکت است. به همین دلیل، به‌تدریج این ماهی در مراسم نوروزی ایرانیان جایگاه ویژه‌ای پیدا کرد و در کنار سایر نمادهای هفت‌سین

قرار گرفت.

چالش‌های نگهداری ماهی قرمز

اگرچه ماهی قرمز به‌عنوان نماد زندگی و تحرک شناخته می‌شود، اما شرایط نگهداری آن اغلب نامناسب است. بسیاری از مردم این ماهی را در ظروف کوچک و بدون اکسیژن کافی نگه می‌دارند که باعث کمبود فضای شنا، استرس شدید و کاهش عمر آن می‌شود. نگهداری نادرست، تغذیه نامناسب و کیفیت پایین آب از جمله عواملی هستند که موجب مرگ زودهنگام

این موجودات می‌شوند.

علاوه بر این، ماهی قرمز ناقل برخی بیماری‌های مشترک با انسان است.

این بیماری‌ها شامل عفونت‌های پوستی،

سل ماهیان و

مشکلات گوارشی

هستند که

می‌توانند از

طریق تماس

با آب آلوده یا

خود ماهی به

انسان منتقل

شوند. به

همین دلیل،

لازم است

پس از تماس

با ماهی،

دست‌ها را با

آب و صابون

شست و شو

داد و از لمس آن

توسط کودکان

جلوگیری کرد.

آسیب‌های زیست‌محیطی ناشی از رهاسازی ماهی قرمز

با وجود آنکه ماهی

قرمز برای بسیاری از مردم

نماد شادابی و زندگی است،

رهاسازی آن در طبیعت می‌تواند تهدیدی جدی برای محیط‌زیست باشد. بسیاری از کسانی که این ماهی را در خانه نگهداری می‌کنند، پس از مدتی از نگهداری آن خسته می‌شوند یا دیگر امکان مراقبت از آن را ندارند. در نتیجه، آن را در رودخانه‌ها، دریاچه‌ها و دیگر منابع آبی طبیعی رها می‌کنند، غافل از اینکه این کار می‌تواند تبعات جبران‌ناپذیری داشته باشد.

ماهی قرمز یک گونه مهاجم است و توانایی بالایی در سازگاری با محیط‌های جدید دارد. این ماهی‌ها می‌توانند در زیستگاه‌های جدید به‌سرعت رشد کنند و با مصرف منابع غذایی موجود، رقابت شدیدی با ماهیان بومی ایجاد کنند. این موضوع می‌تواند باعث کاهش جمعیت ماهیان بومی و در نهایت کاهش تنوع زیستی شود. علاوه بر این، ماهی قرمز کیفیت آب را کاهش می‌دهد. این ماهی‌ها با جابه‌جا کردن رسوبات کف دریاچه‌ها و تغذیه از مواد آلی، باعث تغییر در ترکیب شیمیایی آب می‌شوند. این موضوع منجر به کاهش اکسیژن محلول در آب و در نتیجه مرگ دیگر گونه‌های



آبی شود. در برخی موارد، تکثیر بی‌رویه ماهی قرمز در یک زیستگاه جدید، باعث نابودی پوشش گیاهی آبی و از بین رفتن اکوسیستم‌های حساس می‌شود.

در بسیاری از کشورها، رهاسازی ماهی قرمز در طبیعت به‌عنوان یک اقدام مخرب زیست‌محیطی شناخته شده و ممنوع است. در ایران نیز، کارشناسان محیط‌زیست بارها نسبت به خطرات این اقدام هشدار داده‌اند و توصیه می‌کنند که اگر افراد دیگر تمایلی به نگهداری ماهی قرمز ندارند، آن را به مراکز نگهداری ماهی یا فروشگاه‌های حیوانات اهدا کنند.

چگونه می‌توانیم از آسیب‌های ناشی از ماهی قرمز جلوگیری کنیم؟

برای حفظ سلامت ماهی قرمز و جلوگیری از مشکلات زیست‌محیطی، رعایت چند نکته ضروری است:

- از خرید ماهی قرمز صرف‌نظر کنیم و به‌جای آن، از سیب سرخ در تُنگ آب به‌عنوان نمادی قدیمی‌تر و ایرانی‌تر در سفره هفت‌سین استفاده کنیم.
- اگر تصمیم به نگهداری ماهی قرمز داریم، باید آن را در آکواریومی با اندازه مناسب و آب تصفیه‌شده نگهداری کنیم.
- در صورت عدم توانایی در نگهداری ماهی، آن را در طبیعت رها نکنیم و به مراکز مخصوص اهدا کنیم.
- فرهنگ‌سازی در مورد آسیب‌های زیست‌محیطی ناشی از رهاسازی ماهی قرمز را در بین اطرافیان خود گسترش دهیم.

نتیجه‌گیری

ماهی قرمز، اگرچه در دهه‌های اخیر بخشی از سنت هفت‌سین شده است، اما نگهداری نادرست آن باعث رنج این موجودات زنده و مشکلات زیست‌محیطی فراوانی شده است. می‌توانیم با جایگزین کردن نمادهای اصیل ایرانی مانند سیب سرخ، هم به حفظ طبیعت کمک کنیم و هم از نقض حقوق حیوانات جلوگیری کنیم. در نهایت، احترام به محیط‌زیست و حیوانات، یکی از ارزشمندترین سنت‌هایی است که می‌توانیم به نسل‌های آینده منتقل کنیم.

جشن تکرار زندگی و پیوند فرهنگ‌ها

یاسمین خزان



دانشجوی دکترای عمومی دامپزشکی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز



نوروز از منظر طبیعی می‌توان به بسیاری از ابعاد زیست انسان ایرانی در سیر تاریخی آن پی برد؛ چراکه آیین نوروز از گذشته تاکنون تداوم داشته و این تداوم، نوعی معنای طبیعی و اجتماعی را به همراه داشته است که در طول تاریخ زندگی ایرانیان را همراهی کرده است. درعین‌حال، نوروز علاوه بر ایجاد پیوستگی و همبستگی فکری در فرهنگ ایرانی، به دلیل بنیان‌های طبیعی‌اش، قابلیت پذیرش و گسترش را دارد. این ویژگی مانع همزیستی و پذیرش نوروز میان ایرانیان و غیرایرانیان نمی‌شود، بلکه برعکس، به راز ماندگاری و پذیرش جهانی آن تبدیل شده است.

نمادها و مفاهیم نوروز

نوروز ریشه در آیین‌های طبیعت‌محور دارد و بسیاری از نمادهای آن در فرهنگ‌های دیگر نیز دیده می‌شود. از آیین‌های پرستش اوزیریس در مصر باستان تا جشن انقلاب تابستانی در ساردنیای ایتالیا و عید مارونی «عید البرباره» در لبنان، نماد دانه‌ی جوانه‌زده نقش مهمی در بسیاری از آیین‌های جهان دارد. در جشن نوروز نیز جوانه‌های گندم، جو یا عدس بخشی از هفت‌سین هستند. اما چرا این جوانه‌ها در پایان جشن به آب سپرده می‌شوند؟ این عمل نمادی از سپردن آرزوها و امیدهای نو به طبیعت و چرخه‌ی حیات است.

نوروز و گردشگری فرهنگی

با وجود قدمت و گستردگی جشن نوروز، هنوز در بسیاری از نقاط جهان ناشناخته مانده است. درحالی‌که امروزه علاقه به فرهنگ‌های خاص و سنت‌های ملموس و ناملموس رو به افزایش است، نوروز می‌تواند به‌عنوان یک ظرفیت ارزشمند برای توسعه‌ی گردشگری فرهنگی مورد توجه قرار گیرد. ایران و کشورهای همجوار می‌توانند با معرفی این جشن جهانی، گردشگران بین‌المللی را به تجربه‌ی آداب و رسوم نوروزی جذب کنند. این امر نه تنها به رونق اقتصادی کمک می‌کند بلکه زمینه‌ی تعاملات بین‌فرهنگی و شناخت بهتر میراث مشترک جهانی را فراهم می‌آورد.

و اما...

نوروز فراتر از یک جشن ملی است؛ این مراسمی است که تاریخ، طبیعت و فرهنگ را به هم پیوند می‌دهد. از دربار هخامنشیان و ساسانیان گرفته تا جوامع مدرن، این جشن همواره توانسته است جایگاه خود را در میان ملت‌ها حفظ کند. حال، با شناخت عمیق‌تر از ارزش‌های نوروز و بهره‌گیری از ظرفیت‌های آن، می‌توان این میراث گران‌بها را نه تنها در سطح ملی بلکه در سطح بین‌المللی به‌عنوان نمادی از دوستی، صلح و تجدید حیات معرفی کرد.

سخن گفتن از نوروز، این آیین کهن و پررمزوراز، کار ساده‌ای نیست. نوروز جشن ملی ماست، و همه می‌دانند که جشن ملی چیست. هر ساله نوروز از راه می‌رسد و درباره‌اش بسیار گفته و شنیده شده است. پس آیا بازگویی آنچه پیش‌تر گفته شده، ضرورتی دارد؟ پاسخ مثبت است! مگر خود نوروز هر سال تکرار نمی‌شود؟ پس باید به آنچه بارها درباره‌اش گفته شده، نگاهی دوباره داشت.

تاریخچه نوروز

نوروز یکی از کهن‌ترین جشن‌های به‌جامانده از دوران باستان است که ریشه در فرهنگ و تاریخ ایرانیان دارد. قدمت این جشن به بیش از ۳۰۰۰ سال پیش بازمی‌گردد و شواهدی از برگزاری آن در دوران هخامنشیان، اشکانیان و ساسانیان در دست است. کوروش بزرگ، بنیان‌گذار امپراتوری هخامنشی، نوروز را به‌عنوان جشن ملی اعلام کرد و از آن دوران به بعد، این آیین در میان ایرانیان و دیگر مردمان حوزه تمدنی ایران‌زمین گسترش یافت. در دوران ساسانیان، نوروز یکی از مهم‌ترین جشن‌های درباری و مردمی بود و مراسم خاصی در این روز برگزار می‌شد. شاهان ساسانی در این روز تاج‌گذاری می‌کردند و مردم با دادن هدایا، دید و بازدید و برپایی جشن‌های باشکوه، این روز را گرمی می‌داشتند. پس از ورود اسلام به ایران، نوروز همچنان جایگاه خود را حفظ کرد و در دوره‌های مختلف تاریخی، به‌ویژه در دوران صفویان و قاجاریان، با تغییراتی در نحوه‌ی برگزاری، همچنان به‌عنوان یکی از مهم‌ترین آیین‌های ملی ایرانیان باقی ماند.

امروزه نوروز نه تنها در ایران بلکه در بسیاری از کشورهای منطقه از جمله افغانستان، تاجیکستان، ازبکستان، قزاقستان، آذربایجان، ترکیه و بخش‌هایی از خاورمیانه و قفقاز گرمی داشته می‌شود. این گستردگی نشان از اهمیت و تأثیر عمیق فرهنگی این جشن در میان اقوام و ملل مختلف دارد.

نوروز و بنیان‌های طبیعی و اجتماعی

آیین نوروز یکی از آیین‌های سنتی ایرانیان است که بر اساس نظم و بنیان طبیعی استوار شده است. این بنیان طبیعی هم دارای ویژگی‌های طبیعی است و هم از مشخصه‌های اجتماعی برخوردار است. درعین‌حال، بنیان‌های طبیعی نوروز زمینه‌ساز صلح و دوستی در رابطه میان انسان و طبیعت و انسان با انسان است. این بنیان‌ها شامل آغاز، پایان، تنوع، شادی‌بخشی، زندگی، حیات، چرخه‌ی اکوسیستم، همگونی با طبیعت، ارزش (نه بهای) طبیعت و ریتمیک بودن زمان هستند. بنیان‌های طبیعی نوروز به ابعاد اجتماعی زیست بشر، یعنی صلح و دوستی، کمک می‌کنند. با درک



دو روی یک سکه

باکتری‌ها؛ از عوامل بیماری‌زا تا درمانگرهای بالقوه سرطان

رحیم ایرانی‌پوری

دانشجوی دکترای عمومی دامپزشکی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز

مقدمه:

سرطان یکی از بیماری‌های مرگبار و پیچیده‌ای است که به دلیل رشد و تکثیر کنترل‌نشده‌ی سلول‌ها به وجود می‌آید و می‌تواند اندام‌ها و بافت‌های بدن را مختل کند. برآورد شده است که سالانه حداقل ۹ میلیون نفر بر اثر سرطان جان خود را از دست می‌دهند.

درمان سرطان همچنان یکی از بزرگترین چالش‌های دنیای پزشکی به شمار می‌آید. به‌ویژه زمانی که تومورهای ثانویه در مراحل پیشرفته تشخیص داده شوند، درمان دشوارتر و حتی در صورت ترکیب چند روش نیز احتمال بقا پایین است. روش‌های سنتی درمان سرطان، هر کدام با چالش‌های مهمی مواجه‌اند. مثلاً: شیمی‌درمانی به‌دلیل سمّیت داروها علاوه بر سلول‌های سرطانی، بافت‌های سالم را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد و می‌تواند عوارض شدیدی مانند ضعف، تهوع و کاهش ایمنی ایجاد کند؛ پرتودرمانی، گرچه در هدف‌گیری تومور دقت بالایی دارد، اما گاه‌ها بافت‌های سالم اطراف را نیز آسیب می‌زند و حتی می‌تواند منجر به سرطان‌های ثانویه شود؛ و جراحی نیز، اگرچه برای تومورهای محدود موثر است، اما در موارد پیشرفته و متاستاز، به تنهایی کافی نیست و با خطرات عفونت و دوره بهبودی طولانی همراه است. این محدودیت‌ها ضرورت نوآوری در درمان سرطان را پررنگ‌تر می‌کنند تا راهکارهایی با اثربخشی بیشتر و عوارض کمتر برای بیماران فراهم شود.

روش‌های جدید، مانند باکتری‌تراپی، ایمنی‌درمانی و ژن‌درمانی و... می‌توانند تومورها را دقیق‌تر و با حداقل آسیب به بافت‌های سالم هدف قرار دهند، توسعه یابند و به عنوان مکمل یا جایگزین برای روش‌های سنتی مورد استفاده قرار گیرند.

از دشمن به دوست: استفاده از باکتری‌ها به عنوان سلاحی نوین در نبرد با سرطان!

+آیا خود باکتری ها میتوانند منجر به سرطان شوند؟!

درست است که باکتری‌ها بیشتر به عنوان عوامل عفونی شناخته می‌شوند، اما برخی از آن‌ها می‌توانند به طور غیرمستقیم با ایجاد التهاب‌های مزمن و تغییرات در محیط میکروبی بدن، خطر ابتلا به سرطان را افزایش دهند. به عنوان مثال: فاکس و همکاران ثابت کردند که بین التهاب مزمن ناشی از هلیکوباکتر پیلوری و ایجاد سرطان معده ارتباط وجود دارد و نشان دادند که چگونه حضور طولانی‌مدت این باکتری می‌تواند منجر به

آسیب‌های سلولی و در نهایت سرطان معده شود. یا در مطالعه ی دیگری نشان داده شد که سم باکترئیدس فراژیلیس می‌تواند بیان ژن c-Myc، که یک ژن مرتبط با سرطان است، را افزایش دهد و منجر به افزایش تکثیر سلولی شود. این یافته‌ها نقش مهم این سم را در بروز التهاب‌های مزمن و ایجاد شرایط مستعد برای سرطان روده بزرگ تأیید می‌کنند. بنابراین، هرچند باکتری‌ها به طور مستقیم باعث سرطان نمی‌شوند، اما برخی از آن‌ها می‌توانند محیط مناسبی برای بروز سرطان فراهم کنند یا سیستم ایمنی را به نحوی تغییر دهند که باعث افزایش خطر شود.

+معرفی ایده ی باکتری درمانی:

ایده ی استفاده از باکتری‌ها در درمان سرطان به دهه‌ها پیش بازمی‌گردد. در اوایل قرن بیستم، پزشکان متوجه شدند که برخی از عفونت‌های باکتریایی به‌طور تصادفی به کاهش اندازه تومورها و حتی بهبود وضعیت بیماران سرطانی کمک می‌کنند. یکی از نخستین مشاهد‌ها در این زمینه به سال ۱۸۸۴ مربوط می‌شود، زمانی که یک پزشک آمریکایی به نام دکتر فیلیپ شالر متوجه شد که پس از یک عفونت باکتریایی در بیمار مبتلا به سرطان، تومور وی کاهش یافته است. این مشاهده جرقه‌ای برای شروع تحقیقات در زمینه‌ی تأثیر باکتری‌ها بر سلول‌های سرطانی بود. در دهه ۱۹۴۰، استفاده از باکتری‌های خاصی مانند سالمونلا برای درمان سرطان در مدل‌های حیوانی آغاز شد. با گذشت زمان، این روش‌ها به‌طور فزاینده‌ای مورد توجه قرار گرفتند و دانشمندان به کشف مکانیسم‌های پیچیده ی باکتری تراپی پرداختند.

چرا باکتری تراپی؟

ایمنی‌درمانی مبتنی بر باکتری‌ها به دلیل ویژگی‌های منحصر به فردشان به عنوان روشی امیدوارکننده در درمان سرطان مطرح میشود. باکتری‌ها به طور طبیعی تمایل به تجمع و تکثیر در محیط‌های توموری دارند، و الگوهای مولکولی خاص مرتبط با پاتوژن‌ها (PAMPs) سبب می‌شود که سیستم ایمنی به آنها حساسیت نشان دهد و پاسخ‌های ایمنی قوی‌تری را در برابر سلول‌های سرطانی ایجاد کند. برخلاف روش‌های متداول درمانی، باکتری‌ها می‌توانند به‌راحتی بسیاری از سدهای فیزیولوژیکی را پشت سر گذاشته و به عمق بافت‌های توموری نفوذ کنند. باکتری‌ها با تولید سموم و دیگر ترکیبات فعال در محیط تومور، قادر به ایجاد عفونت در سلول‌های سرطانی هستند، که این

امر منجر به تخریب مستقیم سلول‌های بدخیم می‌شود.

به‌ویژه، برخی از انواع باکتری‌ها توانسته‌اند توانایی‌های ضدسرطانی خود را از طریق اجزای مختلف خود از جمله غشا، دیواره سلولی و هاگ‌های خفته به نمایش بگذارند. طراحی و اصلاح ژنتیکی این باکتری‌ها، امکان افزایش ایمنی و اثربخشی این رویکرد را فراهم کرده است. با افزودن ویژگی‌هایی نظیر سم‌زدایی و اختصاصیت بالا، باکتری‌های مهندسی‌شده قادر به حمل ترکیبات درمانی از جمله سیتوکین‌ها، آنتی‌بادی‌ها و نانوذرات تشخیصی-درمانی به محیط تومور خواهند بود. این باکتری‌ها همچنین از مزایایی چون قابلیت اصلاح ژنتیکی ساده و امکان کشت انبوه برخوردارند، که می‌تواند آن‌ها را به حامل‌های مناسبی برای انتقال عوامل دارویی به سلول‌های سرطانی تبدیل کند. در نهایت، ویژگی‌های طبیعی باکتری‌ها مانند چسبندگی و تعامل با محیط، شرایط ایده‌آلی را برای انجام ایمنی‌درمانی هدفمند و کارآمد علیه سرطان فراهم می‌کند.

مکانیسم‌های کلیدی باکتری‌ها در نابودی سرطان: درمان باکتریایی سرطان به مکانیسم‌های پیچیده‌ای تکیه دارد که به‌طور خاص باکتری‌ها را قادر می‌سازد تا تومورها را هدف قرار داده و آن‌ها را از بین ببرد. در ادامه به برخی از این مکانیسم‌ها اشاره خواهیم کرد:

همانندسازی اختصاصی تومور: در این فرآیند، باکتری‌ها به‌طور طبیعی به سمت نواحی هیپوکسی (کم‌اکسیژن) در تومورها جذب می‌شوند. تومورهای جامد اغلب به دلیل سرعت زیاد تقسیم سلولی، نواحی کم‌اکسیژن ایجاد می‌کنند که محیط مناسبی برای رشد باکتری‌های بی‌هوازی فراهم می‌آورد. به عنوان مثال، برخی از باکتری‌ها مانند Clostridium، Salmonella، و Listeria توانایی تشخیص نواحی کم‌اکسیژن تومور را دارند و به طور خاص در این نواحی تکثیر می‌یابند.

وکتورهای ژن درمانی: باکتری‌ها می‌توانند به‌طور کنترل‌شده ژن‌های درمانی را به سلول‌های سرطانی منتقل کنند.. این انتقال می‌تواند موجب فعال‌سازی مسیرهای مرگ سلولی (آپوپتوز) یا جلوگیری از تکثیر غیرقابل کنترل سلول‌های سرطانی شود. در این میان، انتقال پالسمید داخل سلولی یکی از روش‌های پرکاربرد است که در آن باکتری‌ها ژن‌های درمانی را به سلول‌های سرطانی وارد کرده و آن‌ها را به تولید پروتئین‌های درمانی و

سیتوتوکسیک وادار می‌کنند.

توکسین‌های باکتریایی: برخی از باکتری‌ها سموم قوی تولید می‌کنند که می‌توانند به طور خاص سلول‌های سرطانی را هدف قرار داده و نابود کنند. به عنوان مثال، توکسین‌های دیفتری، کزاز و بوتولینیوم که توسط باکتری‌ها تولید می‌شوند، قادرند پروسه‌های سلولی مثل تکثیر، آپوپتوز و تمایز را تحت تأثیر قرار دهند. این سموم می‌توانند باعث لیز سلول‌های سرطانی شوند و به‌طور انتخابی تنها به سلول‌های سرطانی آسیب وارد کنند.

استفاده از اسپوره‌های باکتریایی: بسیاری از باکتری‌ها می‌توانند به صورت اسپور در محیط‌های سخت زندگی کنند و در شرایط مناسب مانند نواحی هیپوکسی یا مرده تومور فعال شوند. این اسپورها می‌توانند در بافت‌های توموری به رشد و تکثیر پرداخته و به نابودی تومور کمک کنند. این روش دارای مزیت‌های خاصی از جمله پایداری و مقاومت در برابر شرایط دشوار است.

تحریک سیستم ایمنی: باکتری‌ها می‌توانند سیستم ایمنی بدن را تحریک کنند تا سلول‌های سرطانی را شناسایی و نابود کنند. این فرآیند به ویژه زمانی مؤثر است که تومور قادر به فرار از پاسخ‌های ایمنی طبیعی بدن باشد. برخی از باکتری‌ها می‌توانند به‌طور مؤثری ایمونوژنسیتهی سلول‌های سرطانی را افزایش دهند و باعث بهبود پاسخ‌های ایمنی شوند.

مطالعات و شواهد علمی:

مطالعات بسیاری در سطح آزمایشگاهی و بالینی نشان داده‌اند که باکتری‌ها می‌توانند رشد تومورها را در مدل‌های حیوانی کاهش دهند و در برخی موارد بقای بیماران را افزایش دهند.. به‌عنوان مثال، در مطالعات انجام‌شده با سالمونلا و لیستریا مونوسیتوژنز نشان داده شده است که این باکتری‌ها قادر به نفوذ به تومورها و مهار رشد آنها هستند. در یکی از این مطالعات، استفاده از سالمونلا در مدل‌های حیوانی منجر به کاهش قابل‌توجه اندازه تومورهای پانکراس شد.

علاوه بر این، استفاده از توکسین‌های باکتریایی نیز نشان داده است که می‌تواند اثرات قابل توجهی در درمان سرطان داشته باشد. به عنوان مثال، توکسین دیفتری که توسط Corynebacterium diphtheriae تولید می‌شود، می‌تواند به سلول‌های سرطانی آسیب برساند و باعث مهار رشد تومور شود.. این سموم معمولاً با اتصال به سطح

toxin B as Biological Tool against cancer. 10th International Breast Cancer Congress, ۲۰۱۵:۱۱۳
۱۵.Yaghoobi H, Bandehpour M, KAZEMI B. Designing and construction of specific vector for Cancer Therapy. ۳rd National Congress on Cellular and Molecular News in Non-Contagious Diseases, ۴۶-۲۰۱۵:۴۵

- ۱۵. Fox, J. G., & Wang, T. C. (۲۰۰۷). Inflammation, atrophy, and gastric cancer. The Journal of clinical investigation, ۶۹-۶۰, (1)۱۱۷.
- ۱۶. Duong, M. T. Q., Qin, Y., You, S. H., & Min, J. J. (۲۰۱۹). Bacteria-cancer interactions: bacteria-based cancer therapy. Experimental & molecular medicine, ۱۵-۱, (۱۲)۵۱
- ۱۷. Cao, Z., & Liu, J. (۲۰۲۰). Bacteria and bacterial derivatives as drug carriers for cancer therapy. Journal of Controlled Release, ۳۲۶, ۴۰۷-۳۹۶

- ۱.Baban B, Tangney M. Bacteria as vectors for gene therapy of cancer. Bioengineered Bugs, ۳۹۴-۲۰۱۰:۳۸۵.
- ۲.Hodgson E, Mailman RB, Chambers JE. Dictionary of toxicology. ۲nd ed. ۱۹۹۸
- ۳.Minchinton AI, Tannock IF. Drug penetration in solid tumours. Nat Rev Cancer, ۵۹۲-۲۰۰۶:۵۸۳.
- ۴.Neil S. Engineering the perfect (bacterial) cancer therapy. Nat Rev Cancer, ۷۹۴-۲۰۱۰:۷۸۵.
- ۵.Patyar S, Joshi R, Prasad Byrav DR, Prakash A, Medhi B, Das BK. Bacterial in cancer therapy: a novel experimental strategy. Journal of Biomedical Science, ۲۰۱۰.
- ۶.Ryan RM, Green J, Lewis CE. Use of bacteria in anticancer therapies. Bioessays, ۹۴-۲۰۰۶:۸۴.
- ۷.Sai L, Xiaoping X, Xin Z, Longjiang L, Qianmimng C, Jing L. Tumortargeting bacterial therapy: A potential treatment for oral cancer (Review)(Oncology Letters, ۲۳۶۶-۲۰۱۴:۲۳۵۹.
- ۸.St Jean AT, Zhang MM, Forbes NS, ۱۹:. Bacterial therapies: completing the cancer treatment toolbox. Current Opinion in Biotechnology, ۵۱۷-۲۰۰۸:۵۱۱.
- ۹.TaherianFard A, Hasan F, Bandehpour M, Mosaffa N, Mashhadi Abbas F, Hameed A, et al. Cloning and expression of C-terminal of Clostridium perfringens type A enterotoxin and its biological activity. African Journal of Microbiology Research, ۱۴۷۴-۱۴۶۹: (۱۴)۴;۲۰۱۰.,
- ۱۰.Tangney M. Gene Therapy for Cancer: Dairy Bacteria as Delivery Vectors. Discovery Medicine, ۲۰۱۰.
- ۱۱.Thiele E, Arison R, Boxer G. Oncolysis by Clostridia IV effect of nonpathogenic Clostridial spores in normal and pathological tissues. Cancer Res, ۲۳۸-۱۹۶۳:۲۳۴.
- ۱۲.Weiss S, Chakraborty T. Transfer of eukaryotic expression plasmids to mammalian host cells by bacterial carriers. Curr Opin Biotechnol, ۴۷۲-۲۰۰۱:۴۶۷.
- ۱۳.Xu J, Liu XS, Zhou SF, Wei MQ. Combination of immunotherapy with anaerobic bacteria for immunogene therapy of solid tumours. Gene Ther Mol Biol ۵۲-۲۰۰۹:۳۶.
- ۱۴.Yaghoobi H, Bandehpour M, KAZEMI B. Designing and Cloning of cytolethal distending

سلول‌های سرطانی و وارد کردن آن‌ها به داخل سلول‌ها، فعالیت‌های سلولی نظیر سنتز پروتئین را مهار کرده و منجر به مرگ سلولی می‌شوند در مطالعه ی دیگری ، استفاده از اسپوره‌ای باکتریایی به‌ویژه در شرایط بی‌هوازی یا هیپوکسی تومورهای جامد مورد بررسی قرار گرفت. اسپوره‌ای Clostridium تغییر یافته ژنتیکی توانستند به‌طور موفقیت‌آمیز در بافت‌های توموری رشد کرده و باکتری‌ها را به‌طور انتخابی به تومور ارسال کنند و آن را نابود سازند.

چالش‌ها و محدودیت‌ها:

باوجود تمام مزایای درمان باکتریایی، این روش با چالش‌ها و محدودیت‌هایی نیز همراه است. یکی از مهم‌ترین مشکلات، ناپایداری ژنتیکی باکتری‌ها و خطرات ناشی از فعالیت‌های سمی آنهاست. باکتری‌ها می‌توانند واکنش‌های ایمنی شدیدی در بدن ایجاد کنند و موجب آسیب به بافت‌های سالم شوند. علاوه بر این، ناپایداری ژنتیکی و اختلالات ممکن در انتقال ژن به سلول‌های سرطانی یکی دیگر از محدودیت‌ها است. همچنین، مشکلاتی نظیر ناتوانی در دسترسی به همه بخش‌های تومور و موفقیت محدود در مقیاس‌های بالینی از دیگر چالش‌ها هستند. برای حل این مسائل، استفاده از باکتری‌های مهندسی شده و بهبود تکنیک‌های انتقال ژن می‌تواند مؤثر باشد.

نتیجه‌گیری و چشم‌انداز آینده:

در حالی که درمان باکتریایی سرطان هنوز در مراحل اولیه خود قرار دارد، شواهد نشان داده‌اند که این روش می‌تواند به‌عنوان یکی از درمان‌های مؤثر و کم‌خطر در آینده مطرح شود. مطالعات اولیه نشان داده‌اند که باکتری‌ها می‌توانند به‌طور مؤثر تومورها را هدف قرار دهند، رشد آن‌ها را مهار کنند و سیستم ایمنی بدن را فعال نمایند. استفاده از باکتری‌ها به عنوان وکتورهای ژنی و تولید سموم ضد سرطانی، یا حتی کاربرد اسپوره‌ای باکتریایی در نواحی هیپوکسی تومور، به نظر می‌رسد که در آینده بتواند یک ابزار مهم در درمان سرطان باشد. با این حال، برای دستیابی به درمان‌های مؤثر و ایمن‌تر، نیاز به مطالعات بیشتر و تحقیقات پیشرفته در این زمینه است تا بتوان مشکلات ایمنی و سمیت را کاهش داد و روش‌های جدیدی برای بهبود دستیابی به تومورها ایجاد کرد. در نهایت امید است که درمان باکتریایی به عنوان یکی از روش‌های مکمل در کنار درمان‌های شیمیایی و رادیوتراپی به کار رود و یک بُعد جدید در درمان سرطان ایجاد کند.



فناوری توالی‌یابی نانوپور:

کاربردها در پژوهش‌ها ویروس‌های انسانی و حیوانی

محمد حسین پورغفاری
دانشجوی دکترای عمومی دامپزشکی دانشگاه آزاد بافت



فناوری توالی‌یابی نانوپور یکی از پیشرفته‌ترین روش‌های ژنومیک است که به‌طور گسترده در پژوهش‌های ویروس‌های انسانی و حیوانی مورد استفاده قرار می‌گیرد. این روش امکان بررسی دقیق ژنوم ویروس‌ها، کشف سویه‌های جدید و پایش شیوع بیماری‌ها را فراهم می‌کند. در ادامه مراحل انجام این روش و کاربردهای آن را به‌صورت گام‌به‌گام توضیح می‌دهیم:

مراحل استفاده از فناوری نانوپور در پژوهش‌های ویروسی

الف) آماده‌سازی نمونه:

استخراج DNA یا RNA ویروسی: نمونه‌ها (مثل خون یا بافت) با استفاده از کیت‌های استخراج DNA یا RNA مانند (QIAamp DNA Micro Kit) آماده می‌شوند. ارزیابی کیفیت نمونه: طول، مقدار و خلوص DNA یا RNA اندازه‌گیری می‌شود تا مطمئن شویم که نمونه برای توالی‌یابی مناسب است.

ب) آماده‌سازی کتابخانه (Library Preparation):

در این مرحله، مولکول‌های DNA یا RNA برای عبور از نانوپور آماده می‌شوند. بسته به هدف پژوهش (مثل کشف جهش‌ها یا بررسی اپیدمیولوژی)، از کیت‌های آماده‌سازی مناسب استفاده می‌شود.

ج) توالی‌یابی (Sequencing):

عبور مولکول از نانوپور: یک موتور پروتئینی، مولکول DNA یا RNA را باز کرده و آن را از نانوپور عبور می‌دهد. هنگام عبور هر باز (پورین یا پیریمیدین)، تغییراتی در جریان الکتریکی ایجاد می‌شود. این تغییرات با استفاده از نرم‌افزارهای کامپیوتری تحلیل شده و به توالی ژنتیکی تبدیل می‌شوند.

داده‌های خام به کمک نرم‌افزار به توالی دقیق DNA یا RNA تبدیل می‌شوند.

د) تحلیل داده‌ها (Bioinformatics Analysis):

داده‌های توالی‌یابی شده با ابزارهای بیوانفورماتیکی برای شناسایی ویروس‌ها، بررسی جهش‌ها، و کشف الگوهای اپیدمیولوژی تحلیل می‌شوند.

انواع روش‌های نانوپور

منافذ بیولوژیکی

منافذ بیولوژیکی مانند آلفا همولیزین (αHL) و MspA، به‌عنوان ابزارهای کلیدی در توالی‌یابی DNA و RNA شناخته می‌شوند. این منافذ پروتئینی در غشاهای چربی جاسازی شده‌اند و می‌توانند به مولکول‌های ژنتیکی اجازه دهند تا از میان آن‌ها عبور کنند؛ به‌ویژه، آلفا همولیزین از نانوپورهایی با اندازه حدود ۱۰ نانومتر تشکیل شده است که قادر به شناسایی بازهای مختلف DNA از طریق تغییرات جریان یونی هنگام عبور آن‌ها از منافذ هستند. در مطالعات پیشرفته‌تر، ترکیب پروتئین‌های

مختلف مانند اگزونوکلازها به بهبود دقت شناسایی توالی DNA کمک کرده است.

آلفا همولیزین (αHL)

آلفا همولیزین یک پروتئین است که در ابتدا برای تجزیه گلبول‌های قرمز خون مورد استفاده قرار گرفت؛ اما در سال‌های اخیر به‌عنوان ابزاری برای شناسایی توالی‌های DNA شناخته شده است. این پروتئین با داشتن منافذ ۱۰ نانومتری قادر به شناسایی هریک از بازهای DNA است. با این‌حال، برای دستیابی به دقت بالاتر، پژوهش‌ها به سمت استفاده از اگزونوکلازها حرکت کرده‌اند که می‌توانند پایه‌ها را به‌طور جداگانه شناسایی کنند.

MSPA

MspA یک نانوپور از باکتری Mycobacterium smegmatis است که به‌عنوان ابزاری با ویژگی‌های بهبودیافته در شناسایی توالی DNA شناخته می‌شود. تغییرات در ساختار MspA باعث شده که این پروتئین بتواند DNA را بهتر عبور دهد و جریان یونی بیشتری برای شناسایی نوکلئوتیدها ایجاد کند. این ویژگی‌ها، MspA را به گزینه‌ای مناسب برای مطالعه توالی DNA تبدیل کرده است.

توالی‌یابی با نانوپورهای حالت جامد در این روش، به‌جای استفاده از پروتئین‌ها، از مواد جامد مانند نانولوله‌های کربنی استفاده می‌شود که منافذ نانومتری دارند. این منافذ به DNA یا RNA اجازه می‌دهند تا از آن‌ها عبور کنند. با این روش، می‌توان نوکلئوتیدها را با استفاده از جریان‌های الکتریکی و تونل‌زنی الکترونی شناسایی کرد. این روش پیشرفته‌تر از منافذ بیولوژیکی است زیرا نیاز به پروتئین‌های اضافی ندارد.

فلورسانس برای تعیین توالی DNA یکی دیگر از روش‌های مؤثر استفاده از نانوپورها در تعیین توالی DNA، استفاده از فلورسانس است. در این روش، هر نوکلئوتید به یک پروب فلورسنت متصل می‌شود که به‌محض عبور DNA از منافذ نانو، فلورسانس تولید می‌کند. این روش توانایی توالی‌یابی سریع و دقیق DNA را با استفاده از دوربین‌های پیشرفته برای شناسایی رنگ‌های فلورسانس مختلف فراهم می‌آورد.

چرا این فناوری برای پژوهشگران مهم است؟

تشخیص ویروس‌های انسانی و حیوانی: ابزاری قدرتمند برای شناسایی عوامل بیماری‌های انسانی، حیوانی و پاتوژن‌های مشترک بین انسان و حیوان است.

پایش جهش‌ها: امکان ردیابی تغییرات ویروس‌ها در زمان شیوع.

کاربرد در دامپزشکی: استفاده از این فناوری

می‌تواند به کنترل بیماری‌های دامی و کاهش خسارات اقتصادی کمک کند.

برای مثال ویروس‌هایی مثل ویروس تب آفریقایی خوک (ASFV)، ویروس آبله میمون (MPXV)، و ویروس آنفلوانزا (IAV) تهدیدات بزرگی برای حیوانات و انسان‌ها ایجاد می‌کنند. این ویروس‌ها باعث مرگ‌ومیر بالا، بیماری مشترک میان انسان و دام و خسارات اقتصادی در صنعت دامپروری می‌شوند. فناوری نانوپور به ما کمک می‌کند تا این ویروس‌ها را سریع‌تر و دقیق‌تر تشخیص داده و شیوع آن‌ها را پایش کنیم، و به کمک این داده‌ها از همه‌گیری آن‌ها جلوگیری کنیم.

ویروس تب آفریقایی خوک‌ها (ASFV): بیماری ویروسی با مرگ‌ومیر نزدیک به ۱۰۰٪ در خوک‌هاست که واکسن یا درمان ندارد.

آبله میمون (MPXV): بیماری مشترک که با جهش‌های جدید در مناطق پرتراکم منتشر می‌شود.

ویروس آنفلوانزا (IAV): به دلیل توانایی بالای این ویروس در تغییر ژنتیکی و ایجاد پاندمی، بررسی مداوم آن ضروری است.

کاربردهای نانوپور در پژوهش‌های ویروسی

الف) تشخیص سریع ویروس‌ها:

ژوهشگران از فناوری نانوپور برای شناسایی ژنوم ویروس تب آفریقایی خوک (ASFV) استفاده کردند و توانستند سویه‌های مختلف این ویروس را در زمان واقعی تشخیص دهند. این روش در مواردی که نیاز به اقدام سریع (مثل کنترل شیوع در گله‌ها) دارد، بسیار کاربردی است.

ب) پایش اپیدمی‌ها و شیوع بیماری‌ها:

ویروس آبله میمون (MPXV) که اخیراً جهش‌های بیشتری پیدا کرده، با این فناوری پایش شده است. توالی‌یابی RNA این ویروس به پژوهشگران کمک کرده تا مسیر انتقال آن را شناسایی کنند و جهش‌های جدید را بررسی نمایند.

ج) مونتاژ ژنوم و کشف ویروس‌های جدید:

این فناوری می‌تواند ژنوم کامل ویروس‌ها را بدون نیاز به قطعه‌قطعه‌کردن توالی‌یابی کند. برای مثال، ژنوم ویروس ابولا (EBOV) و آنفلوانزا با استفاده از نانوپور بررسی شده است.

د) بررسی اثرات عفونت ویروسی بر میزبان:

با تحلیل RNA ویروس و سلول‌های آلوده، می‌توان تأثیر عفونت بر بیان ژن‌های میزبان را مطالعه کرد. چرا فناوری نانوپور مناسب است؟

خوانش‌های بلند: می‌توان توالی‌های بسیار طولانی DNA یا RNA را مستقیماً بررسی کرد.

زمان واقعی: امکان تحلیل داده‌ها در همان لحظه

وجود دارد.

قابلیت حمل: دستگاه MinION بسیار کوچک است و می‌توان آن را به‌راحتی به محل پژوهش‌ها منتقل کرد.

مقرون‌به‌صرفه: هزینه تجهیزات و زمان انجام آزمایش نسبت به روش‌های قدیمی کمتر است.

۵. نتیجه‌گیری

فناوری نانوپور، به دلیل انعطاف‌پذیری و سرعت بالا، ابزار قدرتمندی برای پژوهش‌های ویروسی است. با استفاده از این فناوری، می‌توان ویروس‌های نوظهور و بازپدید را سریع‌تر شناسایی کرد، شیوع بیماری‌ها را کنترل نمود و پایه‌ای محکم برای طراحی واکسن‌ها و درمان‌های جدید ایجاد کرد. این فناوری نه تنها به بهبود پیشگیری و درمان بیماری‌های ویروسی کمک می‌کند، بلکه امکان پیشگیری از شیوع گسترده‌تر آن‌ها را فراهم می‌آورد.

منابع

- Muhammad hossein pourghafari, [۲۰۲۵/۸/۲ ۳:۱۵ PM]
- Ji CM, Feng XY, Huang YW, Chen RA. The applications of nanopore sequencing technology in animal and human virus research. *Viruses*. ۷۹۸:(۵)۱۶;۲۰۲۴. <https://doi.org/10.3390/v16050798>
- Muhammad hossein pourghafari, [۲۰۲۵/۸/۲ ۳:۱۵ PM]
- Wang L, Li Y, Li H, et al. Application of Nanopore Sequencing in the Diagnosis and Surveillance of Influenza Viruses. *Mol Diagn Ther*. ۲۱۵-۲۰۳:(۲)۲۷;۲۰۲۳. doi:10.1007/s00۲۳-۰۴۰۲۹۱.۸-۰۰۶۶۹
- Zhang Y, Chen X, Zhao W, et al. Application of Host-Depleted Nanopore Metagenomic Sequencing for Virus Detection. *Animals (Basel)*. ۳۸۳۸:(۲۴)۱۳;۲۰۲۳. doi:10.3390/ani.۱۳۲۴۳۸۳۸
- Zheng S, Wu J, Chen F, et al. Nanopore Sequencing Technology and Its Applications. *MedComm*. ۲(۴;۲۰۲۳):e۳۱۶. doi:10.100۲/mco.۲,۳۱۶
- Muhammad hossein pourghafari, [۲۰۲۵/۸/۲ ۳:۱۵ PM]
- Rezagholivand A, Bazzar-Pirehkhani A, Pakdel A. Protein and nucleic acid sequencing using nanopore technology: A revolution in molecular genetics. *Q J Agric Nat Resour Eng*. ۵۴;۲۰۱۶(Winter):۳۸. Available from: <https://www.magiran.com/p16۶۴۷۰۰>

سگ‌ها و بیماری‌های مشترک

مصاحبه با دو استاد دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز

محمد حسین اکبرنژاد

دانشجوی دکترای عمومی دامپزشکی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز



با نام و یاد خدا

دکتر رضوی هستم استاد دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه شیراز و موضوع مورد بحث ما بیماری لیشمانیوز هست که به‌خصوص فرم پوستی آن تحت عنوان بیماری سالک شناخته می‌شود؛ اگرچه فرم دیگری از این بیماری هم وجود دارد که خطرناک‌تر هست و تمام ارگان‌های داخلی را درگیر می‌کند.

بیماری لیشمانیوز یک بیماری تک‌یاخته‌ای مشترک بین انسان و دام هست که انتقال آن توسط گروه خاصی از پشه‌ها به نام پشه‌های خاکی انجام می‌شود. پشه‌های خاکی برخلاف پشه‌های معمولی اندازه کوچک‌تری دارند و قدرت و دامنه پرواز آن‌ها به مراتب کم‌تر هست.

کشور ما و همچنین شهر شیراز یکی از کانون‌های بیماری لیشمانیوز پوستی (سالک) بوده است و موارد زیادی از این بیماری در انسان و حیوانات، مخصوصاً سگ گزارش شده و درحال حاضر هم متأسفانه یکی از بیماری‌های انگلی مشترک بین انسان و دام هست.

متعاقب نیش پشه‌ی آلوده، انگل توسط پشه به انسان منتقل می‌شود و بعد از یک دوره نهفتگی، یک پاپول یا برجستگی که معمولاً درد هم ندارد روی پوست ظاهر می‌شود و متعاقباً بسته به نوع انگل بعد از یک فاصله زمانی که ممکن است چند ماه طول بکشد این برجستگی به شکل زخم درمی‌آید. این زخم به مرور پیشرفت می‌کند و مخصوصاً در

فرم شهری ممکن است که به‌صورت وسیع، بخش مهمی از صورت را درگیر کند. بعد از یک دوره نسبتاً طولانی که حداقل ۹ ماه طول می‌کشد و گاهی هم ممکن است بیشتر از این مدت باشد، بیماری شروع به بهبود پیدا می‌کند. روی این زخم‌ها به مرور خشک می‌شود و سپس دلمه‌ای ظاهر می‌شود که بعداً کنده می‌شود و نهایتاً جای زخم برای همیشه روی صورت بیمار باقی خواهد ماند.

سگ‌های ولگرد یکی از مخازن این بیماری هستند و اهمیت ویژه‌ای در همه‌گیرشناسی بیماری دارند. مخزن اصلی این بیماری انسان است؛ اما علاوه‌بر انسان، در سگ‌های ولگرد نیز وجود دارند و متأسفانه این مشکل به‌وفور در شیراز مشاهده می‌شود. این‌ها به‌عنوان بیماران و مخازن این انگل عمل می‌کنند و پشه‌ها با وضوح روی بدن انسان‌ها و یا سگ‌های آلوده دیده می‌شوند و می‌توانند انگل را به میزبان دیگر انتقال دهند؛ بنابراین راه‌های مختلفی برای پیش‌گیری و کنترل این بیماری‌ها هست که شاید یکی از مهم‌ترین آن‌ها، مبارزه با سگ‌های ولگرد است. علاوه‌بر مبارزه با سگ‌های ولگرد، رسیدگی به بهداشت محیط، توجه به محل خاص تکثیر پشه ناقل که به‌خصوص در جاهای تاریک و مرطوب زندگی می‌کنند و توجه خاص به زیاله‌های ساختمانی و جاهایی که حالت آب‌انبار داشته باشند، که محل‌های مناسبی برای تکثیر پشه هستند، می‌توانند به انتشار بیماری کمک کنند.

بارتولوز

به نام خدا.

دکتر حسن شریفی یزدی هستم استاد بخش کلینیکال پاتولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز. یک بیماری نوظهور در سگ‌ها که یک بیماری باکتریایی هست و شاید کم‌تر به گوش‌تان خورده باشد بیماری بارتولوز است که عامل باکتریایی آن باکتری بارتونلا است که گزارشات کمی از آن در دنیا هست. با توجه به اینکه بیماری نوظه‌وری هست متأسفانه اطلاعات کمی در خصوص این بیماری زئونوز یا مشترک بین انسان و پستانداران، به‌ویژه حیوانات خانگی (سگ و گربه) وجود دارد.

بارتونلا باکتری هست که برای اولین بار در سگ‌ها، در کشور یونان گزارش شد و تیم پزشکان ارتش آمریکا با کمک محققان ژاپنی تحقیقاتی بر روی سگ‌های ولگرد کشور عراق انجام داد و توانستند این باکتری را در سگ‌های ولگرد با تکنیک‌های مولکولی تشخیص دهند. حدس و گمان‌شان این بود که این باکتری باعث یک‌سری تب‌هایی با دلیل و منشأ نامشخص در سربازهای آمریکایی مستقر در عراق می‌شود. بعد از عراق، مطالعه در ایران

توسط تیمی از خودمان در دانشکده دامپزشکی انجام شد که در ۹۸ سگی که مورد ارزیابی قرار گرفت متأسفانه در ۱۲ مورد، گزارش آلودگی به این باکتری را داشتیم (حدوداً ۱۲ درصد آلودگی) و اهمیت بارتونلا که جنس آن با تعیین سکانس و ارسال نمونه برای سیکوونسی کاملاً مشخص شد.

اهمیت بارتونلا این هست که متأسفانه می‌توانند در انسان به‌عنوان یک پاتوژن زئونوز باعث مشکلات قلبی‌عروقی شود؛ به‌ویژه موجب بروز اندوکاردیت می‌شود. اگرچه این مورد، که اطلاعات کمی در خصوص انتقال این باکتری وجود دارد (درمورد این گونه خاص)، و بیش از ۱۱ گونه باعث بیماری در انسان شدند؛ اما اهمیت این باکتری نوپدید می‌طلبد که ما مطالعات بیشتری را داشته باشیم تا بتوانیم ارتباط بین اندوکاردیت و ابتلا به این باکتری نوظهور را پیدا کنیم. این بیماری می‌تواند از طریق گزش کنه یا کک یا از طریق خون‌خوارهایی مثل شپش به انسان منتقل شود. می‌تواند روی موارد اندوکاردیت بررسی بیشتر و تحقیقات مولکولی بیشتری انجام شود.

وهومن، روایت‌گر اندیشه‌های نیک در گستره‌ی دانش دامپزشکی است. از ژرفای علم تا تپش‌های روزمره‌ی یک دانشجو، در پی آنیم که نوشتن را به بهانه‌ای برای فهمیدن، گفت‌وگو و حرکت تبدیل کنیم. در وهومن، هر واژه تلاشی است برای ساختن فردایی روشن‌تر برای دامپزشکی ایران.

