

نگهداري بافت‌هاي زنده بدون انجماد

سال‌هاست يکي از آرزوهاي دانشمندان، حفظ و نگهداري سلول‌ها و بافت‌هاي زنده جانداران بدون ايجاد تمهيداتي خاص و در دماي عادي است. چرا که به طور معمول نگهداري سلول‌ها به مدت طولاني، مستلزم فریز کردن آنها در نیتروژن مایع (دماي منفي 170 درجه سانتیگراد) به همراه مواد نگهدارنده است.



جام جم آنلاین: سال‌هاست يکي از آرزوهاي دانشمندان، حفظ و نگهداري سلول‌ها و بافت‌هاي زنده جانداران بدون ايجاد تمهيداتي خاص و در دماي عادي است. چرا که به طور معمول نگهداري سلول‌ها به مدت طولاني، مستلزم فریز کردن آنها در نیتروژن مایع (دماي منفي 170 درجه سانتیگراد) به همراه مواد نگهدارنده است.

در این زمینه تحقیقات گسترده‌ای در مراکز تحقیقاتی معتبر دنیا در حال انجام است تا بتواند به ساده‌ترین شکل ممکن بافت‌های زنده را نگهداری کند.

يکي از این مراکز با توجه به ماهیت فعالیتش که با خون و سلول سر و کار دارد، سازمان انتقال خون ایران است.

دکتر مهریار حبیبی رودکنار، مدیر گروه بیوتکنولوژی مرکز تحقیقات موسسه عالی طب انتقال خون با انجام تحقیقاتی در خصوص کارکردهای ناشناخته پروتئینی به نام ««لیپوکالین 2» در بدن موجودات زنده این موضوع را دریافت که وجود میزان بالایی از این پروتئین در سلول‌ها، زنده ماندن و تکثیر آنها را در دماي یخچال معمولي میسر می‌کند.

گروه دانش جام‌جم با این محقق جوان کشورمان هم صحبت شده تا زوایای بیشتری از این تحقیق را بشکافد که در صورت سرمایه‌گذاری، جهت به بار نشستن آن، امیدهای تازه‌ای را ایجاد خواهد کرد.

معمولا سلول‌ها و بافت‌هاي زنده چگونه نگهداري می‌شود؟

به طور معمول نگهداري سلول‌ها به مدت طولاني، مستلزم فریز کردن آنها در نیتروژن مایع (دماي منفي 170 درجه سانتیگراد) به همراه مواد نگهدارنده است. به طور مختصر در تکنیک‌هاي انجمادي با افزودن مقادیر مشخصي DMSO، پروپان دی‌ال، اتیلن گلیکول، گلیسرول و ساکاروز به محیط کشت در چند مرحله تا حد ممکن آب درون سلولي را خارج و يکي از مواد فوق یا ترکیبی از آنها را به درون سلول وارد می‌کنند و سپس سلول‌هاي منجمد شده در مخازن مخصوص حاوي نیتروژن مایع برای سال‌ها نگهداري می‌شوند.

برای بازگشت سلول‌هاي منجمد شده، پس از خروج آنها از نیتروژن مایع بلافاصله در محیط کشت ویژه با دماي 37 درجه سانتیگراد قرار می‌گیرند. به این ترتیب در مدت‌زمان دو تا سه ثانیه دماي آنها از منفي 170 به 37 درجه سانتیگراد خواهد رسید. اما حجم زیاد برخی از سلول‌ها و بافت‌ها و تشکیل بلورهاي یخ به دلیل وجود آب درون سلولي از مشکلاتی است که امکان انجماد موفق آنها را محدود می‌سازد و تا حدودي سبب آسیب به سلول می‌شود. همچنین در زمان بازگشت سلول‌هاي منجمد شده به حالت معمول، تغییر دماي ناگهانی نیز آسیب وارده به سلول‌ها را دوچندان می‌کند.

با استفاده از یافته پژوهشی شما، نگهداري سلول‌ها و بافت‌هاي زنده به چه صورت خواهد بود؟

براساس یافته‌هاي این پژوهش، پروتئین ««لیپوکالین 2» می‌تواند به عنوان عامل حفاظتی در مقابل سرما و گرما به کار رود.

در این روش با انجام آزمایش‌هاي متعدد طی زمان‌هاي مختلف، گروه ما موفق به نگهداري سلول‌ها در دماي معمول یخچال شدند. سلول‌ها به صورت معمول با غلظت‌هاي مختلف لیپوکالین 2 مخلوط شده و سپس در یخچال نگهداري می‌شدند. پس از گذشت زمان‌هاي مختلف، سلول‌ها مجدداً از یخچال خارج و در شرایط معمول کشت داده می‌شدند. پس از گذشت زمان لازم، میزان زنده بودن و کیفیت سلول‌هاي زنده ارزیابی می‌شد. در نهایت پس از طی مدت زمانی حدود دو سال و انجام تحقیقات و آزمایشات تکمیلی و تاییدی متعدد، شرایط آزمایش و غلظت لیپوکالین 2 به منظور نگهداري سلول‌ها در دماي یخچال بهینه شد.

همچنین در مطالعات آزمایشگاهی روی مدل حیوانی نتایج به دست آمده این بود که در ایجاد شرایط استرس دمایی (افزایش و کاهش دما) میزان این پروتئین در بافت‌هاي حیاتی حیوان افزایش یافته و در نهایت منجر به بقای حیوان می‌شود. یافته‌هاي ما برای اولین بار در دنیا نشان داد که می‌توان سلول‌ها را که اجزای تشکیل‌دهنده بافت‌ها هستند با مجاور کردن با غلظت مناسب لیپوکالین 2، در دماي معمول یخچال نگهداري کرد.

حبیبی: یافته اخیر فقط در سطح سلول انجام شده است و برای ادامه کار مستلزم مطالعات دامنه‌دار در شرایط آزمایشگاهی و سپس تست روی مدل حیوانی است که این موضوع مستلزم تأمین بودجه و فراهم آوردن زمینه برای مطالعات آتی است. امروزه تخمین زده شده که از هر 200 نفر یک نفر به پیوند نیاز پیدا می‌کند. در سال‌های گذشته اصولاً پیوند تنها بوسیله اهدای بافت فرد دهنده و جایگزینی بافت مناسب با بافت آسیب‌دیده (در صورت مطابقت و همخوانی HLA فرد دهنده و گیرنده) امکان پذیر بود. به دلیل تخریب ارگان پیوندی، جراحان ملزم به انجام سریع عمل پیوند هستند و نگهداری بافت (ارگان پیوندی مورد نظر) بسیار مشکل است و در واقع امکان‌پذیر نیست. در سال‌های اخیر استفاده از سلول‌های بنیادی در درمان و پیوند مطرح شده است. علاوه بر موارد پیوند در پروژه‌های تحقیقاتی نیز در 80 درصد موارد به سلول و آزمایش‌های سلولی در محیط آزمایشگاهی نیاز است. در تمام موارد فوق، روش متداول نگهداری سلول‌ها فریز آنهاست که خود یک روش هزینه‌بر و توأم با ریسک بالاست، چرا که در مراحل فریز کردن و پس از گذشت مدت زمان فریز ماندن سلول‌ها پس از بازیابی سلول‌ها (دفریز) تعدادی از این سلول‌ها از دست می‌روند و کارایی برخی از آنها نیز کاهش می‌یابد. بنابراین در حیطه تحقیقات، پیدا کردن روش‌های مناسب و کم‌هزینه در نگهداری سلول‌ها یا بافت امری ضروری است.

نگهداری سلول یا بافت زنده اعم از عضو پیوندی یا خون در ازت مایع بسیار هزینه‌بر است. هزینه تهیه نیتروژن مایع، انتقال آن به مخازن نگهداری، هزینه پرسنل و خطرات ناشی از کار با آن جزو معایب کار با این روش است. همچنین طی فرآیند فریز کردن و با تغییر میزان نیتروژن آسیب وارده افزایش می‌یابد. اما با این یافته علمی و با به کارگیری لیپوکالین²، امید آن داریم که بتوانیم سلول‌ها را در دمای یخچال معمولی که بسیار ارزان خواهد بود، نگهداری کنیم.

مهم‌ترین کاربردهای این پروتئین چیست؟

از جمله مهم‌ترین کاربردهای این پروتئین آن است که می‌توان از آن به عنوان نشان‌گذار اولیه برای تشخیص سکنه قلبی و آسیب کلیوی اشاره کرد. همچنین عملکرد آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی آن نیز می‌تواند در ترمیم آسیب‌های بافتی و بیماری‌هایی که سیستم دفاعی بدن را از کار می‌اندازد نیز مفید باشد. همچنین اخیراً از این پروتئین به عنوان عاملی در درمان برخی سرطان‌ها استفاده شده و تحقیقات روی آن تازه آغاز شده است.

اما تحقیق اخیر ما کاربرد جدیدی برای این پروتئین در نگهداری بافت پیوندی در دمای معمول را پیشنهاد می‌کند. امیدواریم به کمک این پروتئین بتوانیم سلول‌ها را از آسیب ناشی از سرمای زیاد در امان نگه داریم. همچنین بتازگی مقاله‌ای به چاپ رسیده است که پیشنهاد می‌کند این پروتئین می‌تواند در بخش مراقبت‌های ویژه (ICU) کاربرد داشته باشد.

این طرح در حال حاضر در چه وضعیتی است و حمایت‌ها در این طرح چگونه بوده است؟

آنچه به این یافته منجر شد، حاصل یک طرح اصلی نبوده است. در واقع در حین آزمایش‌ها، بر اثر یک اتفاق و پیگیری‌ها و انجام آزمایش‌های متعدد این یافته به دست آمد. طرح‌های مختلفی در ارتباط با لیپوکالین² با همکاری همکارانم در انستیتو پاستور ایران، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله و دانشگاه علوم پزشکی تبریز انجام شده است.

گفتنی است یافته اخیر فقط در سطح سلول انجام شده است اما برای ادامه کار مستلزم مطالعات دامنه‌دار در شرایط آزمایشگاهی و مدل حیوانی است. نخستین مرحله از این مطالعه تولید لیپوکالین² به صورت نوترکیب در مقیاس وسیع و سپس استفاده از این پروتئین در نگهداری بافت در مدل حیوانی و در نهایت در استفاده آن در بالین است و این مستلزم تأمین بودجه و مطالعات آتی است.

عملکرد پروتئین لیپوکالین²

لیپوکالین² یکی از اعضای خانواده پروتئینی لیپوکالین است که به صورت طبیعی در گرانولوسیت‌های سلول‌های نوتروفیل چندهسته‌ای و بسیاری از سلول‌ها مثل سلول‌های کبدی یافت می‌شود.

این پروتئین دارای وظایف متعددی از قبیل تنظیم پاسخ ایمنی، انتقال آهن، مهار رشد باکتری‌ها، انتقال مولکول‌های هیدروفوبیک مثل ویتامین‌ها و محمولات متابولیکی است.

از طرف دیگر مطالعات نشان می‌دهند میزان فعالیت لیپوکالین² در شرایط استرس‌زا از قبیل قرار گرفتن در معرض اشعه ماوراءبنفش،

کمبود اکسیژن، پراکسید هیدروژن، فلزات سنگین و شوک گرمایی افزایش می‌یابد. این موضوع به مقاومت‌سازی سلول‌ها در برابر شرایط سخت که ادامه حساسیت ناممکن است، منجر می‌شود.

به طور معمول امروزه در جوامع بشری شرایط نامناسب و عوامل نامساعد در شرایط محیطی افزایش یافته است. ازجمله این عوامل می‌توان به اشعه‌ها، مواد اکسیدان و آلاینده‌های محیطی اشاره کرد. سیستم دفاعی و آنتی‌اکسیدان‌ها در مقابله با این شرایط، بسیار کارآمد و لازم است.

کارکرد آنتی‌اکسیدانی و حفاظتی به طور طبیعی نیز در بدن وجود دارد اما افزایش طبیعی آن در بدن محدود است و حضور این پروتئین بیش از مقادیر طبیعی باعث افزایش مقاومت بافت‌ها در برابر شرایط نامناسب می‌شود. علاوه بر مطالعات متعدد عملکرد دقیق این پروتئین تاکنون به طور دقیق مشخص نشده است.

امیر بامه - جام‌جم