لیپوزوم‌ها، ابزاری در خدمت زیست‌فناوری

آزاده خیرالعموم
دانشیار دانشکده‌ی مهندسی شیمی
دانشگاه صنعتی شریف

لیپوزوم‌ها کاربرد وسیعی در مطالعه‌ی عملکرد غشاهای زیستی، به‌عنوان یکی از بهترین مدل‌های مطرح در علوم پزشکی و زیست‌شناسی دارند. قابلیت محصورسازی لیپوزوم‌ها سبب شده است تا در حمل داروهای آب‌دوست و چربی‌دوست، پروتیین‌ها و ژن‌ها به‌صورت ابزار مهمی در خدمت علم پزشکی قرار گیرند. استفاده از لیپوزوم‌ها می‌تواند در کاربرد عملکردهای غشا در زمینه‌های صنعتی نیز مورد توجه دست‌اندرکاران قرار گیرد. ازجمله کاربردهای قابل توجه لیپوزوم‌ها، تثبیت آنزیم‌های صنعتی و بازسازی پروتیین‌های غشایی است.

مقدمه

از اواسط سال‌های ۱۹۶۰، و به‌دنبال نظریه‌ی آلک بنگهام[1] و همکارانش مبنی بر تشکیل آبدانه‌های لیپیدی[2] با غشای دولایه بر اثر پراکندگی فسفولیپیدها در فاز آبی، تحول عظیمی در زمینه‌های علوم پزشکی، دارویی و مهندسی در استفاده از این آبدانه‌ها به‌عنوان مدلی در مطالعات سیستم غشایی ــ و اخیراً به‌عنوان «سیستم دارورسانی»[3] ــ آغاز شد. این آبدانه‌های لیپیدی کروی را «لیپوزوم»[4] می‌نامند. دو جنبه‌ی بارز لیپوزوم‌ها، آنها را برای مطالعه ارزشمند ساخته است:

الف) ریخت‌شناسی ویژه‌ی آنان، شامل غشای دولایه‌ی لیپیدیِ نیمه‌تراوا که فضای آبی را احاطه می‌کند؛

ب) قابلیت آنها در محصورسازی[5] مواد مختلف، اعم از آب‌دوست یا چربی‌دوست، در حین تشکیل.

ساختمان کلی تمامی غشاها، مانند غشای پلاسما و غشاهای اجزای داخلی سلول‌های یوکاریوت، از نظر زیستی به یکدیگر شباهت دارند؛ به این معنی که همه‌ی آنها تجمعی از مولکول‌های لیپید و پروتیین‌اند که از طریق برهم‌کنش غیر کووالانسی در کنار هم قرار گرفته‌اند. غشاهای سلولی، ساختمانی سیال و دینامیک دارند که در آن غالب مولکول‌های لیپیدی و پروتیینی قادر به حرکت‌اند. مولکول‌های لیپید یک ساختمان دولایه‌ی پیوسته با ضخامت ۵ نانومتر تشکیل می‌دهند که ساختمان اصلی غشای زیستی است و به‌صورت مانعی نفوذناپذیر از عبور بسیاری از مولکول‌های محلول در آب ممانعت می‌کند. مولکول‌های پروتیین در این غشای دولایه‌ی لیپیدی قرار گرفته و به‌همراه لیپیدهای اطراف، وظایف و اعمال مهم غشا را انجام می‌دهند. فسفولیپیدها، کلسترول ــ که تنها در غشاهای سلول‌های یوکاریوت موجود است ــ و گلیکولیپیدها به ترتیب مهم‌ترین نوع لیپیدهای غشاهای سلولی‌اند.

طی سه دهه‌ی اخیر مطالعات گسترده‌یی در زمینه‌ی خصوصیات عمومی لیپوزوم‌ها و استفاده از آنها در زمینه‌های زیر صورت گرفته است:

۱ـ مدل غشایی برای مطالعات نفوذپذیری غشا، سیالیت آن، نقش اجزای تشکیل‌دهنده‌ی غشا و مطالعه‌ی برهم‌کنش آن؛

۲ـ بازسازی پروتیین‌های غشایی به‌وسیله‌ی لیپوزوم‌ها، مطالعه‌ی اثرهای برهم‌کنش پروتیین و لیپید بر روی فعالیت و پایداری آنان و به‌طور کلی درک هرچه بیشتر عملکرد ویژه‌ی غشاهای زیستی؛

۳ـ محصورسازی داروها و مواد زیستی مانند انسولین، آنزیم‌ها، داروهای ضدسرطان[6]، که از ویژگی‌های زیر برخوردارند:

الف) طولانی بودن اثر دارویی، به‌علت گردش و حضور طولانی‌تر در بدن در مقایسه با داروهای محصور نشده؛

ب) کاهش سمزایی در بافت‌هایی که لیپوزوم در آنها انباشته نمی‌شوند؛

ج) حفظ دارو در مقابل حملات سیستم دفاعی و سوخت‌وساز بدن، تا رسیدن به مقصد تحویل دارو؛

د) امکان هدایت لیپوزوم‌ها به نقطه‌ی معین، مثل تومور، برای آزادسازی دارو از طریق تعبیه‌ی پادتن یا مواد زیستی شناساگر بر سطح آنها؛

هـ) آزادسازی موضعی دارو به‌طور اختصاصی به‌صورت تابعی از عوامل فیزیکی مانند درجه‌ی حرارت و pH موضعی.

۴ـ در سال‌های اخیر در آزمایش‌های بالینی برای اندازه‌گیری مقادیر بسیارکم مواد زیستی، همانند پادتن‌های HIV، HBV، HCV و سایر ویروس‌ها، از لیپوزوم‌هایی که بر روی سطح‌شان پادگن یا پادتن حمل می‌کنند، استفاده می‌شود.

انواع لیپوزوم‌ها

فسفولیپیدها مولکول‌های دوجزئی[۷] ــ شامل جزء آب‌دوست و جزء آب‌گریز ــ و نامحلول در آب هستند که بسیاری از آنها در آب به‌سرعت تشکیل غشای دولایه‌ی لیپیدی می‌دهند. همان‌گونه که در شکل ۱ ملاحظه می‌شود، صرفنظر از شکل ظاهری آنها، غشاهای دولایه‌ی لیپیدی به‌صورت دوایر متحدالمرکز بسته‌یی که توسط لایه‌هایی از آب از یکدیگر جدا می‌شوند، سازمان می‌گیرند.[۱] با به کارگیری روش‌های مختلف می‌توان آبدانه‌هایی تهیه کرد که تنها شامل یک غشای دولایه‌ی لیپیدی با توزیع قطر ۲۵۰ آنگستروم تا چندین میکرون باشند.

لیپوزوم‌ها از نقطه‌نظر اندازه و چندلایه‌یی‌بودن به سه گروه تقسیم می‌شوند:

۱ـ **آبدانه‌های چندلایه**[۸]: این آبدانه‌ها اندازه‌های بسیار گسترده‌یی از چندین میکرومتر تا چندین میلیمتر دارند و حتی در صورتی که با یک روش معین تهیه شوند، ناهمگنی در اندازه‌ی آبدانه‌های تهیه شده کاملاً مشهود خواهد بود. این آبدانه‌ها از لایه‌های متعددی تشکیل شده‌اند که در آن فضای آبی بین لایه‌های لیپیدی دومولکولی براساس توازن نیروهای جاذب واندروالسی و نیروهای دافعه‌ی هیدراسیون و الکتروستاتیک لایه‌های مجاور پایدار می‌شود. آبدانه‌های چندلایه بر اثر توزیع فسفولیپیدها در محیط‌های آبی به‌سرعت تشکیل می‌شوند و از نقطه نظر پایداری، پایدارتر از سایر لیپوزوم‌ها هستند.

۲ـ **آبدانه‌های کوچک تک‌لایه**[۹]: قطر این آبدانه‌ها تقریباً بین ۲۰۰ تا ۵۰۰ آنگستروم است و شامل تنها یک لایه‌ی دومولکولی لیپیدی است که تنها یک محفظه‌ی آبی را دربردارد. آبدانه‌های کوچک تک‌لایه با اعمال انرژی ماوراء صوت برروی آبدانه‌های چندلایه تهیه می‌شوند.

تفاوت این آبدانه‌ها با آبدانه‌های چندلایه در چند ویژگی است:

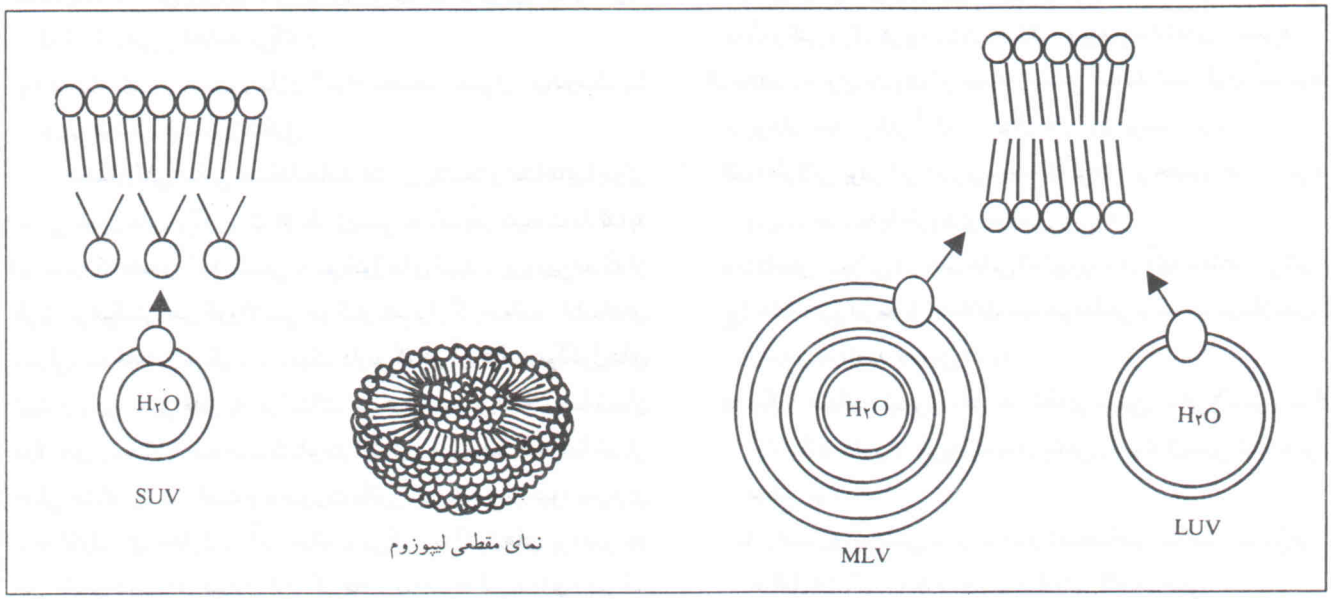
الف) حساسیت کمتری به تغییرات اسمزی دارند؛

ب) توزیع نامتقارن تعداد مولکول‌های لیپیدی در لایه‌ی خارج و داخل، بدین ترتیب که تقریباً حدود ۷۰ درصد کل لیپید در قشر خارجی قرار می‌گیرند؛

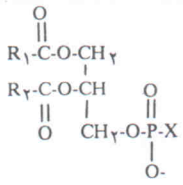
ج) شعاع کوچک انحناء این آبدانه‌ها سبب فشردگی‌هایی در تجمع مولکول‌های لیپیدی می‌شود که از این طریق تغییراتی در خصوصیات فیزیکی ـ شیمیایی ایجاد می‌شود.

۳ـ **آبدانه‌های بزرگ تک‌لایه**[۱۰]: این آبدانه‌ها همانند آبدانه‌های کوچک تک‌لایه‌اند ولی توزیع قطر آنها بین ۶۰۰ آنگستروم تا چندین میکرون است. بهترین ویژگی این آبدانه‌ها نسبت بالای حجم محفوظ شده به میزان لیپید است. معمول‌ترین روش در تهیه‌ی این آبدانه‌ها روش «تبخیر فاز معکوس»[۱۱] است که در سال ۱۹۷۸ پایه گذاری شد. آبدانه‌هایی که به این روش تهیه می‌شوند تک‌لایه و با توزیع قطر حدود چندهزارم آنگستروم هستند. حجم فاز آب محفوظ شده در این سه نوع لیپوزوم، هنگامی که با روش تبخیر فاز معکوس تهیه شده باشند، به ترتیب ۰/۵، ۴، و ۱۱، و بازده محصورسازی آنها ــ درصد مواد

شکل ۱ـ انواع لیپوزوم‌ها



جدول ۱ـ انواع مهم فسفولیپیدهایی که در غشاهای زیستی یافت می‌شوند.



فسفولیپید	X	بار خالص (pH ۶ـ۷)
PC	$-OCH_2CH_2\overset{+}{N}(CH_3)_3$	±
PE	$-OCH_2CH_2\overset{+}{N}H_3$	±
PS	$-OCH_2\underset{\underset{COO^-}{|}}{CH}\overset{+}{N}H_3$	-
PA	$-OH$	-
PG	$-OCH_2\underset{\underset{OH}{|}}{CH}CH_2OH$	-

محصورشده ــ برای مولکول‌های کوچک محلول در آب نیز به‌ترتیب ۱، ۱۰ و ۴۰ درصد گزارش شده است. ملاحظه می‌شود که این آبدانه‌ها به‌دلیل حجیم‌بودن محفظه‌ی داخلی، در محصورسازی مولکول‌های بزرگ مانند آنزیم‌ها، ژن‌ها و نیز داروها بسیار مورد استفاده قرار می‌گیرد.

ترکیب لیپیدی لیپوزوم‌ها

اگرچه لیپوزوم‌ها می‌توانند از انواع لیپیدها و مخلوط آنها تهیه شوند، لیپوزوم‌هایی که از فسفولیپیدها تهیه می‌شوند کاربرد بیشتری دارند. در جدول ۱ برخی از فسفولیپیدهایی که در تهیه‌ی آبدانه‌های لیپیدی استفاده‌ی بسیار دارند آمده است.

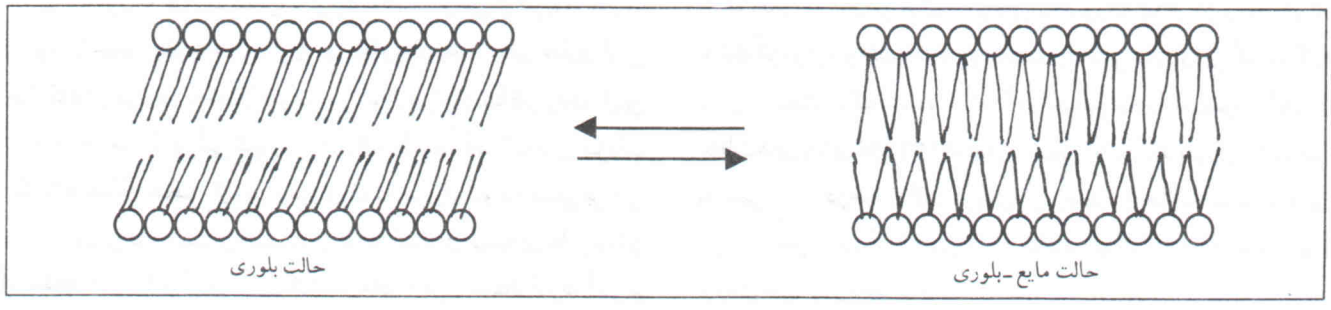
سیالیت[۱۲] غشاهای دولایه‌ی لیپیدی

از خصوصیات مهم لیپوزوم‌ها، سیالیت غشای دومولکولی لیپیدی است که نتیجه‌ی تغییر فاز فسفولیپیدهای غشا (Tc) است. همان‌گونه که در شکل ۲ نشان داده شده است، این پدیده عامل مهمی در افزایش نفوذپذیری[۱۳] غشا، برهم‌کنش بین سلول و لیپوزوم و تغییر شکل پروتیین‌های غشایی است. کلسترول از اجزای اصلی غشاهای زیستی یوکاریوت به شمار می‌رود. کلسترول نقش مهمی در خصوصیات فیزیکی و شیمیایی غشا دارد که از آن جمله می‌توان به کاهش نفوذپذیری غشا، افزایش استحکام و مقاومت آبدانه ــ که از مهم‌ترین عوامل کاربرد لیپوزوم‌ها به‌عنوان حامل داروهای درشت‌مولکول است ــ و نیز کاهش Tc اشاره کرد.[۲]

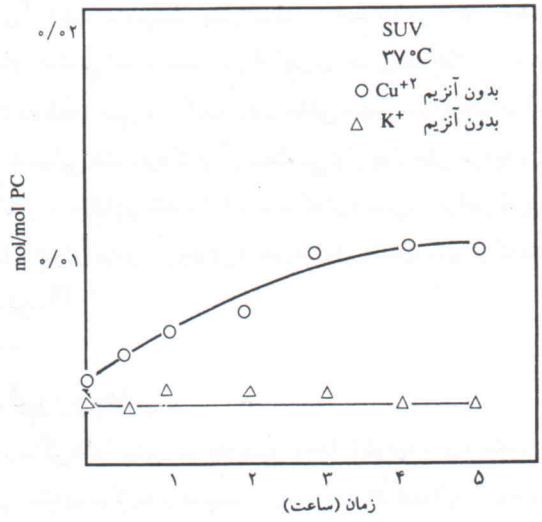
کاربرد لیپوزوم‌ها

یکی از ویژگی‌های قابل توجه لیپوزوم‌ها، نفوذپذیری انتخابی و اختصاصی غشای دولایه‌ی لیپیدی آن است. مثلاً نفوذپذیری مواد غیرالکترولیت آب‌دوست (غیرقطبی) 10^{-6}ـ10^{-4} سانتی‌متر در هر ثانیه، و نفوذپذیری مواد الکترولیت آب‌دوست (قطبی) 10^{-9}ـ10^{-7} سانتی‌متر در هر ثانیه ذکر شده است؛ حال آنکه نفوذپذیری کاتیونی حدود 10^{-12} سانتی‌متر در هر ثانیه یا حتی کمتر است که نشان‌دهنده‌ی این نکته‌ی مهم است که یون‌ها و به‌خصوص کاتیون‌ها بدون سازوکارهای حمل و نقل مواد از طریق پروتیین‌های غشایی نمی‌توانند به‌راحتی و تنها با سازوکار نفوذ ساده از غشا عبور کنند. نتایج حاصل از مطالعه‌ی کمّی نفوذپذیری یون‌ها از غشای دولایه‌ی لیپیدی در مورد دو نوع لیپوزوم کوچک تک‌لایه و بزرگ تک‌لایه در شکل‌های ۳ و ۴ نشان داده شده است. به‌طور کلی نفوذپذیری کاتیون‌ها از غشا بسیار کم و در مورد ساختار آبدانه‌های کوچک تک‌لایه این میزان باز هم در مقایسه با آبدانه‌های بزرگ تک‌لایه کاهش می‌یابد. علت آن نیز احتمالاً فشرده‌تر بودن ساختار غشایی آبدانه‌های کوچک تک‌لایه در مقایسه با آبدانه‌های بزرگ تک‌لایه است. از نتایج به دست آمده، میزان نفوذپذیری کاتیون یک‌ظرفیتی K^+ از غشای دولایه‌ی لیپیدی آبدانه‌های کوچک تک‌لایه کمتر از 10^{-11} سانتی‌متر در هر ثانیه و برای کاتیون فلزی سنگین Cu^{+2}، مقدار $6/0\times10^{-11}$ سانتی‌متر در هر ثانیه محاسبه شد.

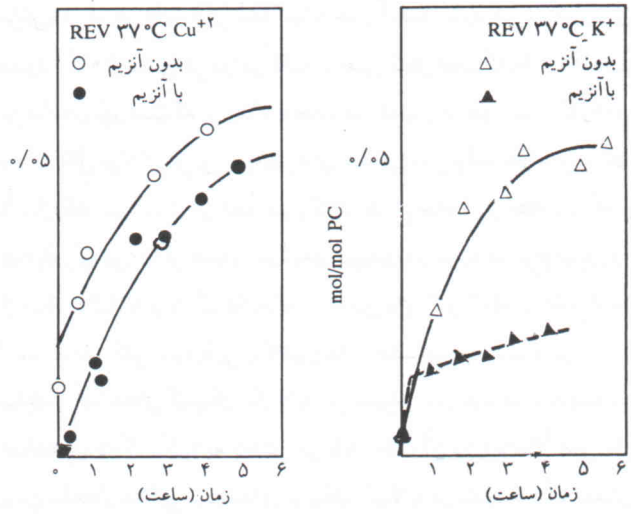
شکل ۲ـ سیالیت غشا



شکل۳ـ نفوذپذیری کاتیون‌ها از غشای آبدانه‌های کوچک تک‌لایه [۳]

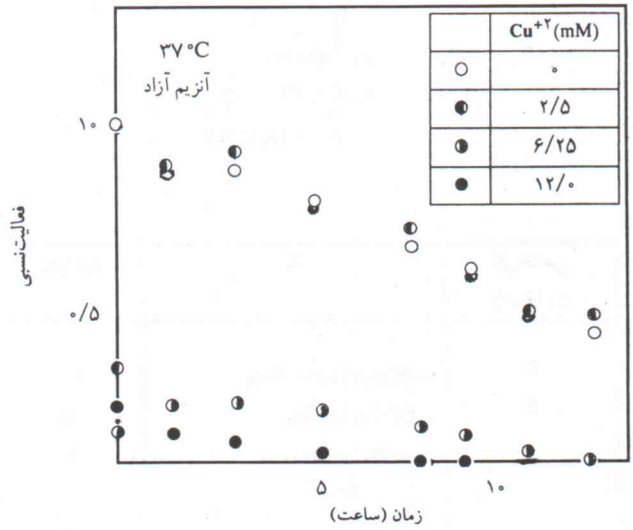


شکل۴ـ نفوذپذیری کاتیون‌ها از غشای آبدانه‌های بزرگ تک‌لایه [۳]

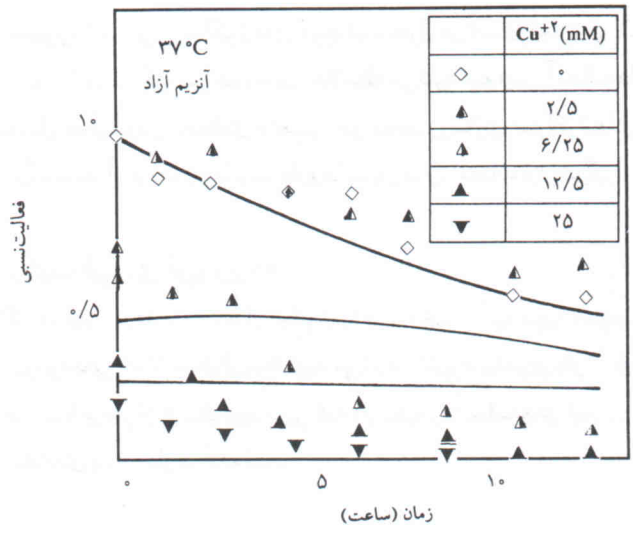


با توجه به نفوذپذیری بسیار کم کاتیون‌ها از غشای لیپوزوم‌ها، این نظریه در ذهن نقش می‌گیرد که غشای دولایه‌ی لیپیدی لیپوزوم‌هامی‌تواند مواد زیستی موجود در محفظه‌ی داخل لیپوزوم‌ها را از تأثیرات بازدارندگی یون‌ها و بخصوص کاتیون‌های یک‌ظرفیتی محفوظ بدارد. به عبارت دیگر، با توجه به اینکه برخی از آنزیم‌ها نسبت به یون‌ها حساس‌اند و فعالیت‌شان در مجاورت محلول‌های حاوی این مواد کاهش می‌یابد یا کاملاً متوقف می‌شود، می‌توان با قراردادن این آنزیم‌ها در محفظه‌ی آبی لیپوزوم‌ها ــ که طبیعتاً آبدانه‌های بزرگ تک‌لایه به‌دلیل حجم فاز آبی بیشتری که دارند برای مواد زیستی بزرگی نظیر پروتیین‌ها مناسب‌تر است ــ از طریق غشای لیپیدی اطراف آن محفظه، آنها را از آثار سوء کاتیون‌های فلزی حفظ کرد. آنزیم

شکل۵ـ اثر بازدارندگی یون Cu^{+2} در آنزیم آزاد [۴]

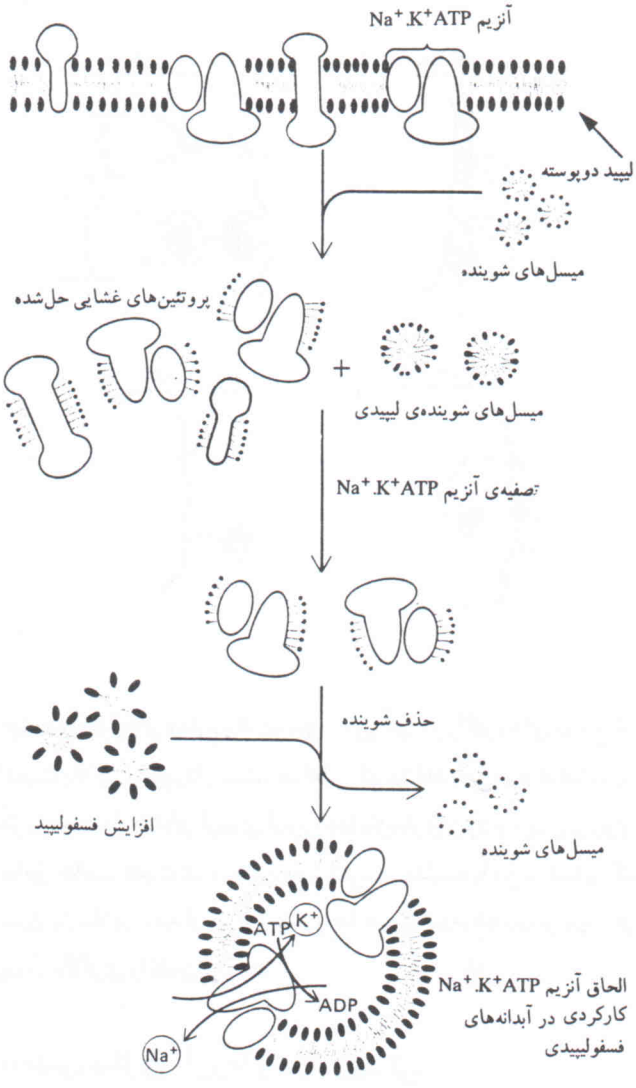


شکل۶ـ اثر محافظتی آبدانه‌های بزرگ تک‌لایه از آنزیم در مقابل اثر بازدارندگی یون Cu^{+2} [۴]



شناخته‌شده‌ی بتا گلوکورونیداز که نسبت به یون فلزی سنگین Cu^{+2} حساس است، به‌عنوان یک مدل آنزیمی مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج حاصل از این مطالعه در شکل‌های ۵ و ۶ که به ترتیب، اثر Cu^{+2} را در غلظت‌های مختلف بر فعالیت آنزیمی به‌صورت تابعی از زمان در دو حالت آنزیم آزاد و تثبیت شده در محفظه‌ی داخلی لیپوزوم بزرگ تک‌لایه نشان می‌دهند، ارائه شده است.[۴] در حالی که در حضور Cu^{+2} در غلظت‌های بالای ۶/۲۵mM، فعالیت نسبی آنزیم آزاد پس از ۱۰ ساعت به کمتر از ۱۰ درصد فعالیت اولیه‌ی آن رسید، در حالت تثبیت شده این آنزیم در مجاورت Cu^{+2} پس از ۱۰ ساعت تنها ۲۵ تا ۳۰ درصد فعالیت اولیه‌ی خود را از دست داد.

شکل۷ـ نحوه‌ی جداسازی پروتیین‌های غشایی از غشاهای زیستی و بازسازی آن‌ها در غشای لیپوزوم‌ها



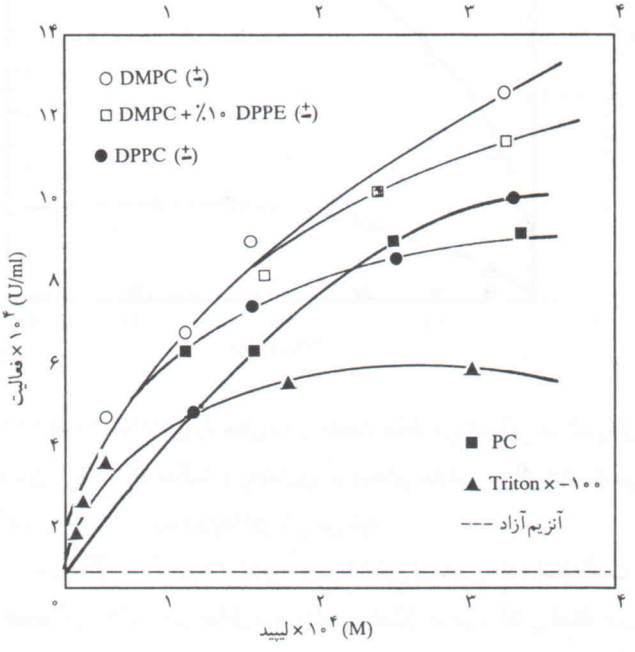
این نتایج در طراحی سیستم‌های جدید تثبیت آنزیمی با تلفیق واکنش‌های آنزیمی و خصوصیات ویژه‌ی لیپوزوم‌ها ــ مثل نفوذپذیری انتخابی غشا ــ اهمیت بسزایی دارد.

بازسازی پروتیین‌های غشایی با استفاده از لیپوزوم‌ها

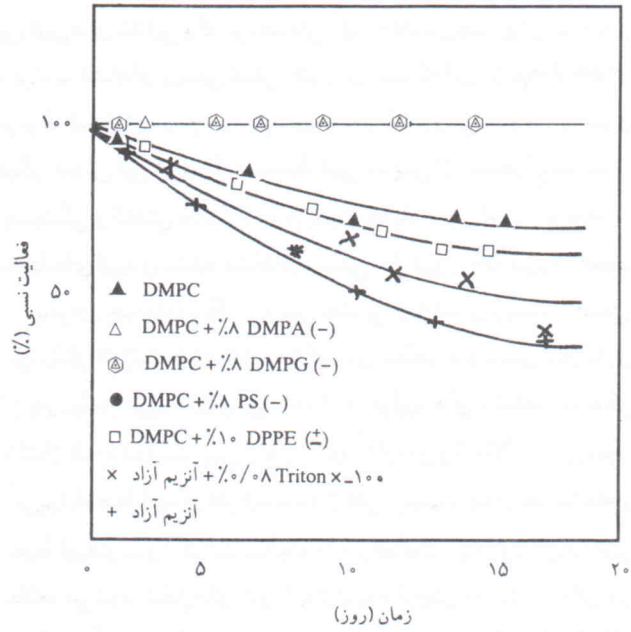
پروتیین‌ها، پس از فسفولیپیدها، مهم‌ترین مواد تشکیل‌دهنده‌ی غشاهای زیستی‌اند. این پروتیین‌ها را که بر روی سطح و یا کاملاً در داخل غشای دولایه‌ی لیپیدی جا گرفته‌اند، «پروتیین‌های غشایی» می‌نامند. این پروتیین‌ها با همکاری و ارتباط با لیپیدهای مجاور یا پروتیین‌های دیگر ــ چه محلول در فاز آبی و چه در اتصال با غشا ــ نقش مهمی در ایجاد غشای فعال دارند و عمدتاً به صورت کاتالیزورهای زیستی (آنزیم‌ها)، گیرنده‌های سلولی و عامل نقل و انتقال مولکول‌هایی که به‌آسانی از غشا عبور نمی‌کنند، عمل می‌کنند. برای مطالعه‌ی ساختمان و عملکرد پروتیین‌های غشایی و کاربرد صنعتی آنها، به‌علت پیچیده‌بودن ساختمان و ترکیب غشاهای زیستی اصلی، ضروری است که این آنزیم‌ها از غشای مربوطه استخراج، و در سیستم‌های ساده‌تری بررسی شوند. از سوی دیگر، تماس این آنزیم‌ها با محیط آبی ــ پس از استخراج ــ سبب چسبندگی و کاهش فعالیت آنها می‌شود. لذا بازسازی این آنزیم‌ها در محیط‌های لیپیدی مشابه غشاهای زیستی مثل لیپوزوم‌ها ضروری است.

نحوه‌ی جداسازی یک پروتیین غشایی از غشای زیستی اصلی، به‌وسیله‌ی اترژانت‌ها (عوامل فعال‌کننده‌ی سطحی)، و سپس بازسازی آن به‌وسیله‌ی لیپوزوم‌های تهیه‌شده از فسفولیپیدهای مشخص در شکل ۷ نشان داده شده است. پس از بازسازی، آثار فعل و انفعالات آن پروتیین (آنزیم) بامحیط لیپیدی اطراف ــ چه از نظر ترکیب و چه از نظر ساختمان محیط لیپیدی ــ و تأثیرات سیالیت غشا بر فعالیت و پایداری آن پروتیین مطالعه می‌شود. شکل‌های ۸ و ۹ به‌ترتیب «افزایش فعالیت» و «افزایش پایداری» آنزیم سارکوسین دهیدروژناز را که در لیپوزوم کوچک تک‌لایه بازسازی شده است، با افزایش غلظت فسفولیپید برای انواع مختلف فسفولیپیدها نشان می‌دهند.[۵] فعالیت این آنزیم در حالت تثبیت‌شده در لیپوزوم کوچک تک‌لایه در مقایسه با آنزیم آزاد و تثبیت‌نشده تا حدود ۲۵ برابر افزایش یافته است. علی‌رغم کاهش فعالیت آنزیم آزاد پس از ۱۵ روز در دمای ۴۰ تا ۵۰ درجه، آنزیم بازسازی شده در برخی موارد

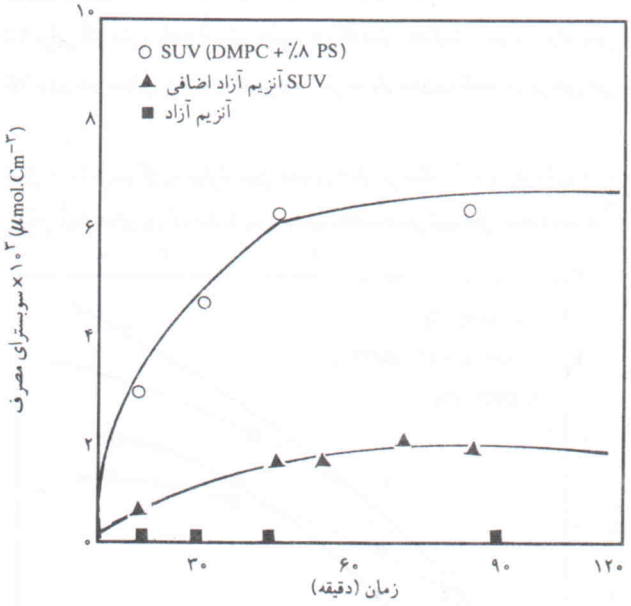
شکل ۸ ـ فعالیت آنزیم سارکوسین دهیدروژناز در حالت آزاد و بازسازی‌شده در غشای آبدانه‌های بزرگ تک‌لایه برحسب غلظت فسفولیپیدهای استفاده شده.[۵]



شکل ۹ـ پایداری آنزیم سارکوسین دهیدروژناز، در حالت آزاد و بازسازی‌شده در غشای آبدانه‌های بزرگ تک‌لایه با زمان [۵]



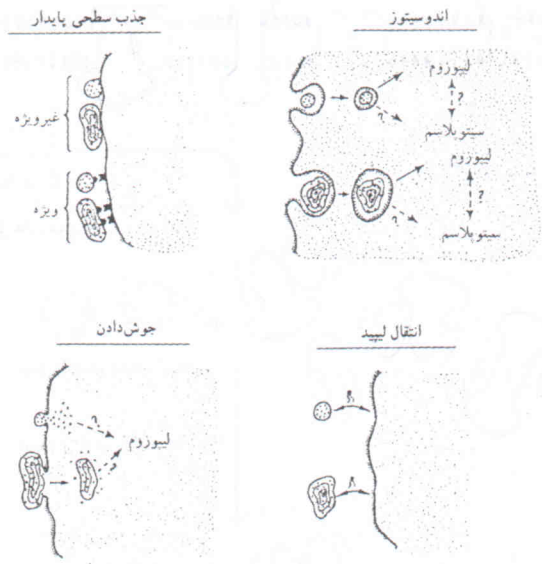
شکل ۱۰ـ مقایسه‌ی فعالیت آنزیم سارکوسین دهیدروژناز آزاد تثبیت‌شده با آنزیم بازسازی‌شده در غشای لیپوزوم بزرگ تک‌لایه‌ی تثبیت‌شده. عمل تثبیت بوسیله‌ی بسپارهای ENTP,ENT [۵]



۱۰۰ درصد فعالیتش را، حتی برای ماه‌ها، حفظ می‌کند. این دو نمودار نشان می‌دهند که فعالیت و پایداری آنزیم‌های غشایی در اثر تثبیت در غشای مصنوعی لیپوزوم‌ها افزایش می‌یابد.

در شکل ۱۰ کاربرد صنعتی آنزیم غشایی نمایش داده شده است. تثبیت آنزیم‌ها بر روی حامل‌های مناسب به‌دلیل ممکن‌ساختن استفاده‌ی

شکل ۱۱ـ سازوکار برهم‌کنش لیپوزوم‌های حاوی دارو با دیواره‌ی سلول میزبان [۶]



آنها در راکتورهای مداوم و استفاده‌ی مکرر آنها در راکتورهای منقطع، از اهمیت بالایی برخوردار است. همانطور که مشاهده می‌شود ابتدا باید آنزیم در داخل غشای لیپیدی لیپوزوم‌ها بازسازی شود و سپس بر روی حامل مناسب تثبیت شود. چنین سیستمی، در مقایسه با آنزیم غشایی که بدون بازسازی اولیه از طریق لیپوزوم‌ها تثبیت شده، فعالیت و پایداری بسیار بالاتری را نشان می‌دهد.

محصورسازی داروها و مواد زیستی

نحوه‌ی قرارگرفتن داروها در داخل لیپوزوم، برحسب ضریب چربی و آب، و نیز برحسب وجود یا عدم وجود بار الکتریکی، متفاوت خواهد بود. داروهایی که در آب محلولند در محفظه‌ی آبی درون لیپوزوم، و داروهایی که در چربی محلولند در غشای دولایه‌ی لیپیدی لیپوزوم‌ها جای می‌گیرند. لازم به ذکر است که میزان جذب دارو توسط سلول‌های میزبان در حالتی که دارو به‌وسیله‌ی لیپوزوم محصور شده باشد با حالتی که محصور نشده است، ممکن است متفاوت باشد. برای مثال، یک دارو ممکن است در آب بسیار محلول باشد، لذا در حالت آزاد و محصور نشده نمی‌تواند به راحتی از غشای لیپیدی سلول‌های میزبان عبور کند. اما اگر به وسیله‌ی لیپوزوم‌ها محصور شده باشد با استفاده از سازوکار «اندوسایتوسیس»[۱۴] و با بازدهی بسیار بالاتری جذب می‌شود. متوترکسیت ـ گاما ـ آسپارتیت نوعی از این داروهاست که بازدارنده‌ی

آنزیم دهیدروفولیت رداکتاز است. دارو، پس از آنکه به‌وسیله‌ی لیپوزوم‌ها محصور شد، به شیوه‌های مختلف قابلیت برهم‌کنش با سلول‌های میزبان را دارد. این سازوکارها برای آبدانه‌های کوچک تک‌لایه (SUV) و آبدانه‌های چندلایه (MLV) در شکل ۱۱ نشان داده شده است.[۶]

اولین سازوکار، «همجوشی»[۱۵] یا درهم‌آمیختگی غشا است که به‌معنای آزادسازی دارو به داخل سیتوپلاسم سلول است، بدون آنکه عبور دارو از عرض غشای لیپیدی سلول لازم باشد. در این حالت، غشای لیپوزوم و غشای سلول میزبان با هم تلفیق می‌شوند و موجب راه‌یابی تمامی محتویات دارویی به داخل سیتوپلاسم می‌شوند. در آغاز تصور می‌شد که این سازوکار اصلی‌ترین سازوکار در برهم‌کنش لیپوزوم و سلول میزبان است، اما با پیشرفت روش‌های اندازه‌گیری مشخص شد که این سازوکار در مقایسه با سه سازوکار دیگر اهمیت کمتری دارد.

سازوکار دوم، «اندوسایتوسیس» یا جذب لیپوزوم به‌طور کامل در داخل آبدانه‌های هضم‌کننده است. در این روش غالباً مواد دارویی در داخل آبدانه‌ی لیزوزم[۱۶] درون سیتوپلاسم رها می‌شود، اگرچه در مواردی مستقیماً در داخل سیتوپلاسم آزاد می‌شود.

سازوکار سوم، «انتقال لیپید»[۱۷] است که عبارت است از انتقال مولکول‌های لیپیدی بین لیپوزوم و سلول، بدون تداخل محتویات درونی آنها.

به‌دلیل تأثیر مهمی که سیستم حامل دارو می‌تواند بر سینتیک تأثیرگذاری دارو داشته باشد، تأثیر محصورسازی توسط لیپوزوم‌ها را می‌توان به‌صورت زیر خلاصه کرد:[۷]

الف) اثر طولانی: لیپوزوم‌ها در سیستم گردش خون به‌مراتب طولانی‌تر از داروهای آزاد باقی می‌مانند. ثابت‌های زمانی لیپوزوم‌ها در بدن از چند دقیقه تا چند روز گزارش شده‌اند. همچنین، ویژگی آزادسازی آهسته‌ی دارویی لیپوزوم‌ها، پتانسیل اثر دارو را افزایش می‌دهد.

ب) کاهش سم‌زایی: لیپوزوم‌ها معمولاً در کلیه و قلب، به‌اندازه‌ی داروهای آزاد تجمع نمی‌کنند. بنابراین، لیپوزوم‌ها بویژه برای محصورکردن داروهایی که سم‌زایی‌های کلیه‌یی و قلبی دارند بسیار مناسب‌اند.

ج) محافظت از دارو و سلول: محصورکردن می‌تواند محتویات دارویی لیپوزوم‌ها را تا رسیدن به عضو مورد نظر در مقابل آنزیم‌ها و سیستم ایمنی بدن حفظ کنند و مانع تأثیرات سمی دارو بر سلول‌های دیگر شوند.

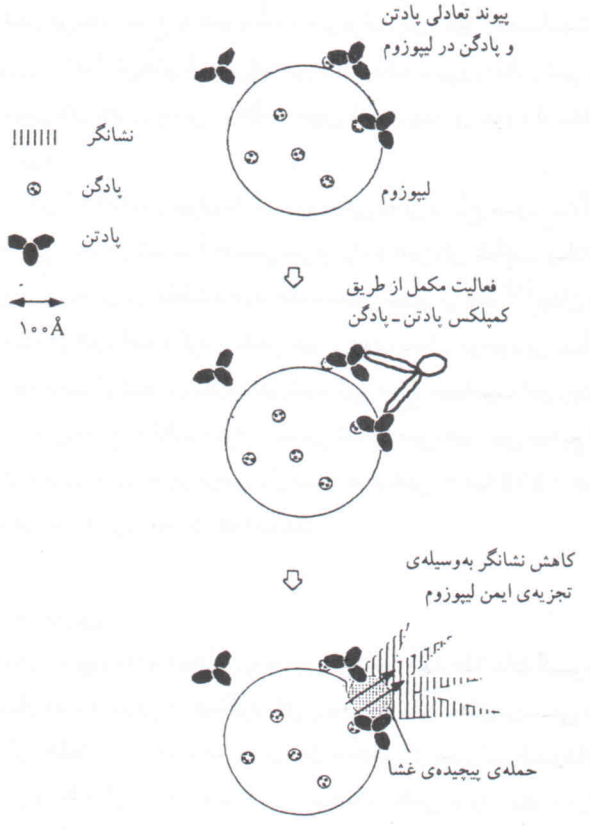
د) هدایت لیپوزوم‌ها: لیپوزوم‌ها را می‌توان با تعبیه‌ی عوامل شناساگر زیستی مثل پادتن، هورمون، کربوهیدرات‌ها، و سایر مواد به سمت سلول‌های میزبان و مورد نظر هدایت کرد.

هـ) آزادسازی انتخابی دارو: لیپوزوم‌ها را می‌توان چنان تهیه کرد که در پاسخ به تغییراتی در عوامل فیزیکی مانند درجه‌ی حرارت و pH در یک موضع مشخص مثل تومور بشکافند و محتویات دارویی خود را آزاد سازند. این نوع هدایت با هدایت مطرح شده در بند «د» متفاوت است و مزیتش آن است که ضرورتی ندارد که لیپوزوم جریان خون را ترک کند یا با سلول میزبان مستقیماً برهم‌کنش داشته باشد.

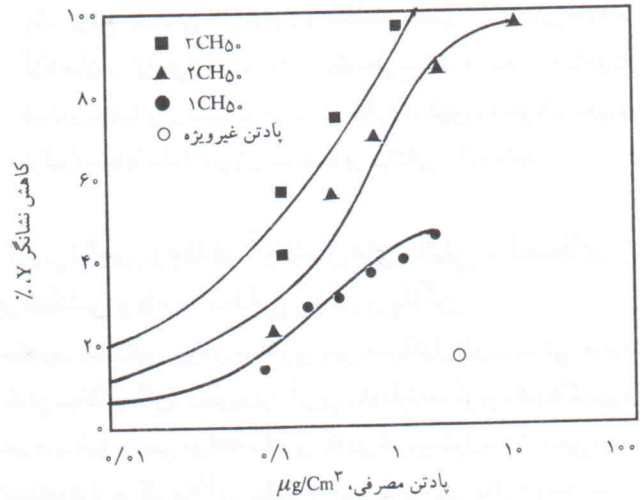
کاربرد لیپوزوم‌ها در آزمایش‌های بالینی با استفاده از برهم‌کنش ویژه و انتخابی پادتن و پادگن

خاصیت شناسایی ویژه‌ی مولکولی بین مولکول‌های زیستی، مانند پادتن ـ پادگن، آنزیم ـ سوبسترا، آنزیم ـ بازدارنده، آنزیم ـ کوفاکتور و غیره، به‌طور وسیعی در اندازه‌گیری مقادیر کم مولکول‌های زیستی مورد استفاده قرار می‌گیرد.[۸] در سال‌های اخیر با افزایش قابل توجه تعداد نمونه‌ها در آزمایش‌های بالینی و فرایندهای زیستی، ضرورت توسعه‌ی روش‌های اندازه‌گیری خودکار و سریع، در مقایسه با روش‌های شناخته‌شده‌ی فعلی، مطرح شد. از میان این روش‌ها، روش‌های تعریف‌شده برپایه‌ی استفاده از لیپوزوم‌ها، از نظر سرعت اندازه‌گیری و سادگی اجرا به‌عنوان بهترین روش‌ها شناخته شده‌اند. همان‌گونه که در

شکل ۱۲ـ سازوکار پاره‌شدن لیپوزوم در اثر برهم‌کنش پادتن و پادگن [۹]



شکل ۱۳ـ شدت پارگی لیپوزومی که بر سطح خود پادگن حمل می‌کند، برحسب میزان غلظت پادتن‌ها با غلظت‌های مختلف مکمل [۹]



شکل ۱۲ نشان داده شده است، در این روش بر سطح خارجی لیپوزوم‌هایی که معرف مناسبی را در فضای آبی خود محصور کرده‌اند، پادگن یا پادتن تعبیه می‌شود. مکمل[۱۸] اضافه شده به‌هنگام تشکیل کمپلکس پادگن ـ پادتن فعال می‌شود و به غشای لیپوزوم حمله کرده و سبب شکافتن آن می‌شود. مقدار معرّفی که براساس میزان پارگی غشا آزاد می‌شود، شدت حمله و نهایتاً غلظت کمپلکس پادگن ـ پادتن مربوطه را نشان می‌دهد. نتایج به دست آمده می‌تواند در تعیین حساسیت و پویایی آزمایش‌های ایمنی‌شناسی به‌کمک لیپوزوم‌ها، و نیز در آزمایش‌های بالینی پادتن به‌منظور تعیین شدت بیماری، مورد استفاده قرار گیرد.

شکل ۱۳ افزایش میزان پارگی لیپوزومی که بر سطح خود پادگن حمل می‌کند و در نتیجه، آزادشدن معرف را با افزایش غلظت پادتن ویژه‌ی آن پادگن در غلظت‌های مختلف مکمل نشان می‌دهد.[۹] چنان که ملاحظه می‌شود اضافه‌کردن پادتن غیر ویژه‌ی پادگن موجود بر سطح لیپوزوم سبب آزادسازی معرف نمی‌شود. این نتایج حساسیت این روش را در تعیین سریع غلظت مواد زیستی نشان می‌دهد. این نتایج از تکرارپذیری بسیار خوبی برخوردار است، به گونه‌یی که تنها ۱۵± درصد خطا در اندازه‌گیری مجدد مشاهده شد.

نتیجه گیری

شناسایی لیپوزوم‌ها و دستیابی به فناوری ساخت آنها، اطلاعات گسترده و بسیار مفید و دقیقی از عملکردهای پیچیده‌ی غشاهای زیستی در اختیار محققان قرار داده و به عنوان مدل ساده‌یی از سلول، رفتارهای سلولی را تقلید کرده و در بسیاری از زمینه‌های علمی مورد استفاده قرار گرفته است. به کارگیری اجزای غشامانند آنزیم‌های غشایی در صنعت به‌وسیله‌ی آبدانه‌های لیپیدی و نیز لیپوزوم‌ها در زمینه‌ی حمل دارو و آزادسازی تحت کنترل آن، توانسته جایگاه ارزشمندی را به خود اختصاص دهد و در آزمایش‌های بالینی به‌صورت وسیله‌یی سریع و بسیار دقیق در اندازه‌گیری مقادیر بسیارکم مواد زیستی مورد استفاده قرار گیرد.

پانوشت‌ها

1. Alec Bengham
2. lipid vesicle
3. Drug Delivery System (DDS)
4. liposome
5. encapsulation
6. anti tumour
7. amphipathical molecules
8. Multilamellar Vesicle (MLV)
9. Small Unilamellar Vesicle (SUV)
10. Large Unilamellar Vesicle (LUV)
11. Reverse-Phase Evaportion
12. fluidity
13. permability; percolation
14. endocytosis
15. fusion
16. Lysosome
17. Lipid transfer
18. complement

منابع

1. Szoka, F. Jr. *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.* **9**, pp. 467-508 (1980)
2. Alberts, B.; Bray, D.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K. and Watson, J.D. *Molecular Biology of the cell*, Garland Publishing Inc. (1989).
3. Sada, E.; Katoh, S.; Terashima, M.; Shiraga, H. and Miura, Y. *Biotech, & Bioeng* (1988).
4. Sada, E.; Katoh, S.; Terashima, M. and Tsukiyama, K. *Biotech. & Bioeng*. **32**, pp. 826-830 (1987).
5. Kheirolomoom, A.; Katoh, S.; Sada, E. and Yoshida, K. *Biotech. & Bioeng*. **37**, pp. 809-813 (1991).
6. Pagano, R.E. and Weinstein, J.N. *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.* **7**, pp. 435-468 (1978).
7. Weinstein, J.N.; Blumenthal, R.; Sharrow, S.O. and Henkart, P.A. *Biochim. Biophys. Acta*. **509**, pp. 872-288 (1978).
8. Sohma, Y.; Fujita, R.; Katoh, S. and Sada, E. *Applied Biochem. & Biotechnol.* **38**, pp. 179-188 (1993).
9. Katoh, S.; Sohma, Y.; Mori, Y.; Fujita, R.; Sada, E.; Kishimura, M. and Fukuda, H. *Biotech. and Bioeng.* **41**, pp. 862-867 (1993).