

التوزيع الحيوي للجسيمات النانوية

Biodistribution of Nanoparticles

مقدمة

منذ نشأة وازدهار العلوم الطبية والصيدلانية، كان الحلم الكبير للأطباء والعلماء في مجال الصيدلة متركزاً على تحسين عملية وصول العقار بشكل متخصص إلى الأنسجة المستهدفة سواء أكانت تلك الأنسجة هي الأنسجة المنصبة بالمرض أم أي أنسجة أخرى والتي يوصل العقار إليها بالجرعة المناسبة ينتهي الأمر بالشفاء الكامل الناتج عن طريقة فعل العقار المتناول. بناءً على هذه الآمال والأحلام، فقد تركز مجهود العديد من العلماء بالعقود الأخيرة في التركيز على كيفية تحقيق زيادة في معدلات توصيل العقار إلى الأماكن البيولوجية المستهدفة من خلال العديد من الإنجازات والتي من ضمنها إعادة تجهيز صور مستحضرات هذه العقاقير وهذا ما أشار إليه العالم (Soppimath et al., 2001). وبالعودة إلى مصطلح نظام توصيل العقار (Drug delivery system)، فهو عبارة عن مصطلح عام يقصد به أي صورة مستحضر يتم تجهيز العقار عليه سواءً من خلال إدخاله في كبسولات أو على هيئة ملامعة لمادة ما مما يكون له أكبر الأثر في تعديل خصائص العقار من حيث وجوده بجسم الإنسان، حركياته الصيدلانية أو امتصاصه إلى داخل أنسجة أو خلايا معينة.

وعلى هذا الأساس، فكانت للتقنيات النانوية وما تشمله من جسيمات نانوية دوراً هاماً في مجال العقاقير وتوصيلها لأماكنها المستهدفة. لذلك فإن نظام توصيل العقار تبين أنه ذو صلة وثيقة بمجال السمية النانوية من حيث اشتغالها على جزيئات كبيرة مثل البروتينات أو الحمض النووي (DNA) أو البوليمرات سواء أكانت طبيعية أم مخلقة أم أنها تتركب من جسيمات نانوية الحجم مثل التي يُطلق عليها عديدة الألكتروليتات (Polyelectrolytes)، ليبوسومات (Liposomes) أو ليبيدات. وبناءً على النتائج والنجاحات التي تم الحصول عليها من استخدام هذه الجسيمات النانوية بالمجال الطبي، فقد تم إطلاق مصطلح الأدوية النانوية أو العقاقير النانوية (Nanomedicines)

وذلك على جميع العقاقير المحتوية في تركيبها وطريقة عملها على الجسيمات النانوية وذلك طبقاً لم أشار إليه العالم (Moghimi et al., 2005).

وللتأكيد على أهمية تلك الجزئية، فقد تم إجراء دراسات عديدة على هذه النوعية من العقاقير على الكثير من أنواع الكائنات الحية وكانت النتائج تشير إلى فعالية هذه العقاقير من حيث زيادة معدلات وصولها إلى أهدافها الحيوية. اعتماداً على تلك الحقائق، فقد كان من الأمور المهمة إجراء حصر وإسترشاد بالدراسات التي أثبتت نجاح استخدام الجسيمات النانوية بالمجال الطبي وذلك في محاولة لفهم كيفية أدائها لوظائفها من حيث زيادة كفاءة وصولها لأهدافها البيولوجية ومن ثم إمكانية إحداثها لتأثيرات سامة غير مرغوبة نتيجة لحدوث عمليات تراكم وغيرها. وفيما يتعلق بالجسيمات النانوية المتواجدة بالبيئة وتأثيراتها على الكائنات الحية بداية من الإنسان وحتى الكائنات وحيدة الخلية، فإن ذلك يستلزمه التذكير ببعض أساسيات علم السموم والتي تتركز في حدوث التعرض والإمتصاص والتنفاذية والتوزيع وما يتبع ذلك من حركيات (Kinetics) تتبعها الجسيمات النانوية حتى الوصول إلى أماكن فعلها البيولوجية سواء لإحداث فعلها العلاجي أو إحداث تأثيرها الضار أو السام.

أولاً: حركيات التسمم بالمواد الغريبة

Toxicokinetics of Xenobiotics

أ) عملية التعرض Exposure

إن عملية التعرض بمفهومها البسيط عبارة عن عملية تلامس واحتكاك بين الكائن الحي وبين المادة الغريبة. تلك المادة تبين أن خصائصها الطبيعية والكيميائية (Physico-Chemical Properties) هي التي تحدد ما إذا كان التعرض يكون ذو تأثيراً إيجابياً أم سلبياً. بمعنى آخر، هل المادة سائلة أم صلبة أم غازية. فعلى سبيل المثال، إن كانت المادة غازية، فإنه تبعاً لقيمة الضغط البخاري لهذه المادة، فإن التعرض الأساسي سيكون من خلال الاستنشاق بينما التعرض الثانوي سيكون من خلال الفم و بمقدار أقل من خلال الجلد. أما إذا كانت المادة سائلة فإن التعرض الأساسي سيكون متنوعاً ومتعدد تبعاً لنوع المادة وطبيعة استخدامها. بمعنى أوضح، فقد يكون التعرض من خلال الجلد أو الفم أو الحقن بأنواعه (حقن وريدي، حقن عضلي، حقن بالفشاء البريتوني أو حقن تحت الجلد وهذا بالقطع في المجال الطبي). أما إذا كانت المادة صلبة، فإنه تبعاً لطبيعة وقيمة ذوبان هذه المادة في الماء والدهون، يتحدد عليه طبيعة التعرض الأساسي إذا ما كان من خلال الجلد أم الفم أو الاستنشاق إذا كانت على هيئة مسحوق. أما إذا كانت غير قابلة للذوبان، فإن التعرض لها سيكون بصفة أساسية من خلال الجلد. أيضاً، فهل هذه المادة (أي ما كانت طبيعتها) هل هذه المادة عبارة عن المركب الأصلي أم هي ناتج تدهور أو ناتج هدمي للمركب الأصلي. بمعنى آخر، فقد يكون التأثير السام راجعاً للمركب الأصلي وقد يكون راجعاً لنواتج هدم هذا المركب.

وعلى أية حال ، فإن عملية التعرض للمركب الغريب والذي قد يكون ذو تأثير ضار قد أمكن تقسيمها إلى عدة أنواع من التعرض. فعلى سبيل المثال قد يكون التعرض للمركبات الضارة من خلال البيئة (تعرض بيئي Environmental Exposure) حيث يتم تعرض الكائن لأحد المكونات البيئية الملوثة بالمركب أو المركبات الضارة والتي تتواجد على هيئة ملوثات. أيضاً، فقد يكون التعرض من اتّووع المهني (Occupational Exposure) حيث يتم تعرض العاملين بمهنة معينة مثل عمال العديد من المصانع إلى العديد من المركبات والجزئيات والجسيمات التي تستخدم في عمليات ما يقومون بتصنيعه بصورة يومية. أو قد يكون التعرض من خلال الغذاء وهذا كثيراً ما يحدث حيث يتم التعرض للمركبات الضارة سواءً طبيعية أم كيميائية. أيضاً، فقد يكون التعرض من خلال الحياة اليومية بالمنزل.

وفي كل الأحوال، فإن أثناء عملية تعرض الكائن الحي للمركب الغريب تكون هناك العديد من العوامل التي تحدد ما إذا كان هذا التعرض ذو خطورة معنوية أو غير ذي درجة معنوية. تلك العوامل هي: الكمية أو الحجم من المركب أو المادة التي تم التعرض لها، وسيلة التعرض إذا كانت بالحقن (Injection) (أسرع الوسائل) أم بالاستنشاق (Inhalation) أم بالجلد (Dermal) أم من خلال الفم (Oral). أيضاً، مدى تكرار التعرض هل تم التعرض مرة واحدة أم عدة مرات وهل تلك المرات متتالية أم على فترات زمنية متباعدة. كذلك عمر الكائن الحي، وجنسه، وحالته الصحية.

بناءً على ذلك، فإن عملية تعرض الكائن الحي أي ما كان نوعه، فإنها إذا كانت ذات تأثير معنوي، فإن هذا معناه أن المركب الغريب سوف يتم امتصاصه وتغذيته ليصل إلى داخل جسم الكائن الحي (تيار الدم في حالة الإنسان) ومن ثم تأني المرحلة التالية من حركات التسمم (إذا كان المركب ذو تأثير سام) وهي مرحلة الامتصاص.

ب) الامتصاص والتغذية Absorption and Penetration

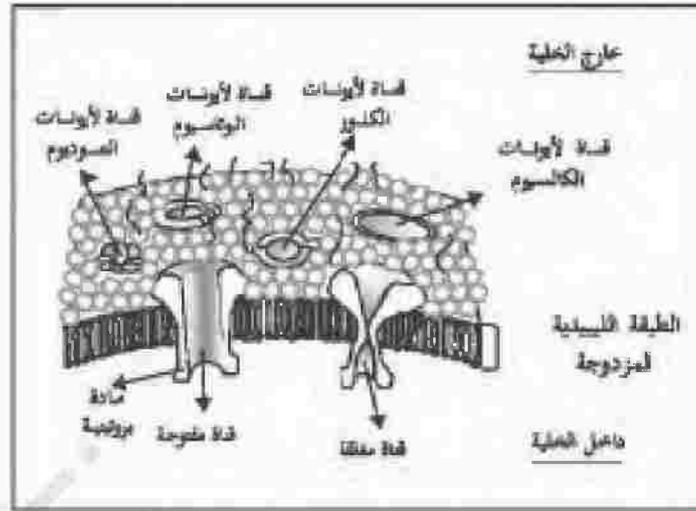
يلاحظ أنه في جسم الكائنات الحية الراقية كالإنسان أو الحيوان، أن هذا الجسم مكون من أعضاء وكل عضو يحتوي على عدة أجهزة وكل جهاز مكون من العديد الأنسجة وكل نسيج مكون من خلايا مميزة لهذا النسيج. بناءً على تلك الحقيقة، فإن الخلية الحية هي الوحدة البنائية المكونة لجسم الكائن الحي وعليه، فإن عملية التعرض سالفة الذكر ما هي إلا مرحلة تجمع ما بين المركب الغريب (الجسيم أو الجسيمات الثانوية) وبين خلايا هذا الكائن. تلك الخلايا سواءً كانت خلايا طلائية محيطة بالجلد (من طبقة الجلد الخارجية ومن ثم التعرض من خلال الجلد) أو خلايا طلائية مبطنة للفم ومن ثم التعرض من خلال الفم أو الخلايا المكونة للأعضاء والأجهزة المختلفة بداخل الجسم، أو الخلايا المبطنة بالممرات التنفسية و الحويصلات الهوائية بالرئة وذلك عندما يكون التعرض من خلال الاستنشاق أو أن يكون المركب قد تم إدخاله بالحقن إلى تيار الدم مباشرة وحيثذ فإنه في النهاية تكون هناك نقطة

لتلاقي وتلاصص المركب والخلية الحية. بداية من هذه المرحلة، تبدأ المرحلة التي يُطلق عليها الامتصاص والنفاذية (Absorption and Penetration).

عند بداية مرحلة الامتصاص والنفاذية (وهي تعني دخول جزيئات المركب إلى داخل الجسم)، فقد أثبتت الدراسات العديدة أن هذه المرحلة تتم أساساً؛ نتيجة خضوع المركب الغريب (الجسيم النانوي) إلى العديد من الميكانيكيات التي تمكنه من الدخول إلى داخل خلايا جسم الكائن الحي. تلك الميكانيكيات تُعرف باسم ميكانيكيات النقل وهي التي يقصد بها نقل أو انتقال جزيئات المركب الغريب (الجسيم النانوي) من خارج الخلية إلى داخلها ومن ثم إلى تيار الدم وعليه حتى يمكنه الوصول إلى هدفه البيولوجي لإحداث تأثيره العلاجي أو تأثيره الضار (وهذا بالقطع تبعاً للجرعة التي تم التعرض لها). وحيث إن الخلايا الحية الحيوانية تتميز بوجود الغشاء الخلوي (Cellular membrane)، فقد أشارت الدراسات إلى أن هذا الغشاء له القدر الكبير من الأهمية حيث إن له العديد من الوظائف الحيوية المهمة والتي من أهمها هو التحكم في عمليات النقل للمركبات من وإلى داخل الخلية.

وعن طبيعة هذا الغشاء، فقد أشارت دراسات البيولوجية الخلوية إلى أن الغشاء الخلوي مكون من طبقتين من المواد الليبيدية (فوسفوليبيدات وكوليسترول) وذلك بسُمك يتراوح ما بين 8.5 - 10 نانومتر. وفيما بين هاتين الطبقتين تتواجد مواد بروتينية علاوة على القنوات المتخصصة التي تخترق ذلك الغشاء والأجسام البروتينية التي تعمل على هيئة حوامل بروتينية أو مستقبلات أو حتى إنزيمات. إضافة إلى ذلك، فإن الغشاء الخلوي تبيّن أنه يحاط بمواد جليكوبروتينية وسكريات عديدة ومواد ليبيدية. وعلى أية حال، فإن المواد الليبيدية المكونة للغشاء الخلوي تبيّن أنها تحتوي على جزء قطبي لُحِب للماء (Hydrophilic) بينما الجزء الداخلي المنحصر بين الطبقتان فهو غير قطبي ومن ثم فهو مُحِب للدهون (Lipophilic). وعموماً، فمن الممكن توضيح التركيب العام للغشاء الخلوي من خلال الشكل رقم (٣.١). بناءً على ما سبق، فإن عملية امتصاص ونفاذية المركبات الغريبة عن الجسم تتم أساساً من خلال ميكانيكيات نقل متخصصة يقوم بها الغشاء الخلوي ومن ثم، فإنه يحدث ضرر لهذا الغشاء (وهذا ما يحدث بالكثير من الأحوال) نتيجة فعل العديد من المواد السامة (مثل ما تُحدثه الشقوق الحرة Free Radicals من أكسدة فوقية لليبيدات لهذا الغشاء)، فإن هذا معناه أن ميكانيكيات النقل عبر الغشاء الخلوي قد تأثرت سلباً ومن ثم يزداد الامتصاص وتزداد معه النفاذية وعليه يزداد معدل وصول المركب الغريب إلى هدفه البيولوجي وهذا بالقطع يكون معتمداً على طبيعة المركب أو الجسيم الضار وخصائصه الفيزيائية والكيميائية.

وبالعودة إلى ميكانيكيات نقل المركبات والجسيمات الغريبة عبر الغشاء الخلوي والتي تحكم عملية الامتصاص والنفاذية، فقد أمكن تلخيص طرق النقل المختلفة التي يقوم بها الغشاء الخلوي من أجل تنظيم مرور الجزيئات من وإلى الخلية إلى خمس طرق وهي كالآتي:



الشكل رقم (١، ٣). التركيب العام للغشاء الخلوي (تقلاً عن: علاء الدين بيومي، ٢٠٠٠).

١- الانتشار Diffusion: ذلك النوع من نقل الجزيئات عبر الغشاء الخلوي ينقسم إلى نوعين:

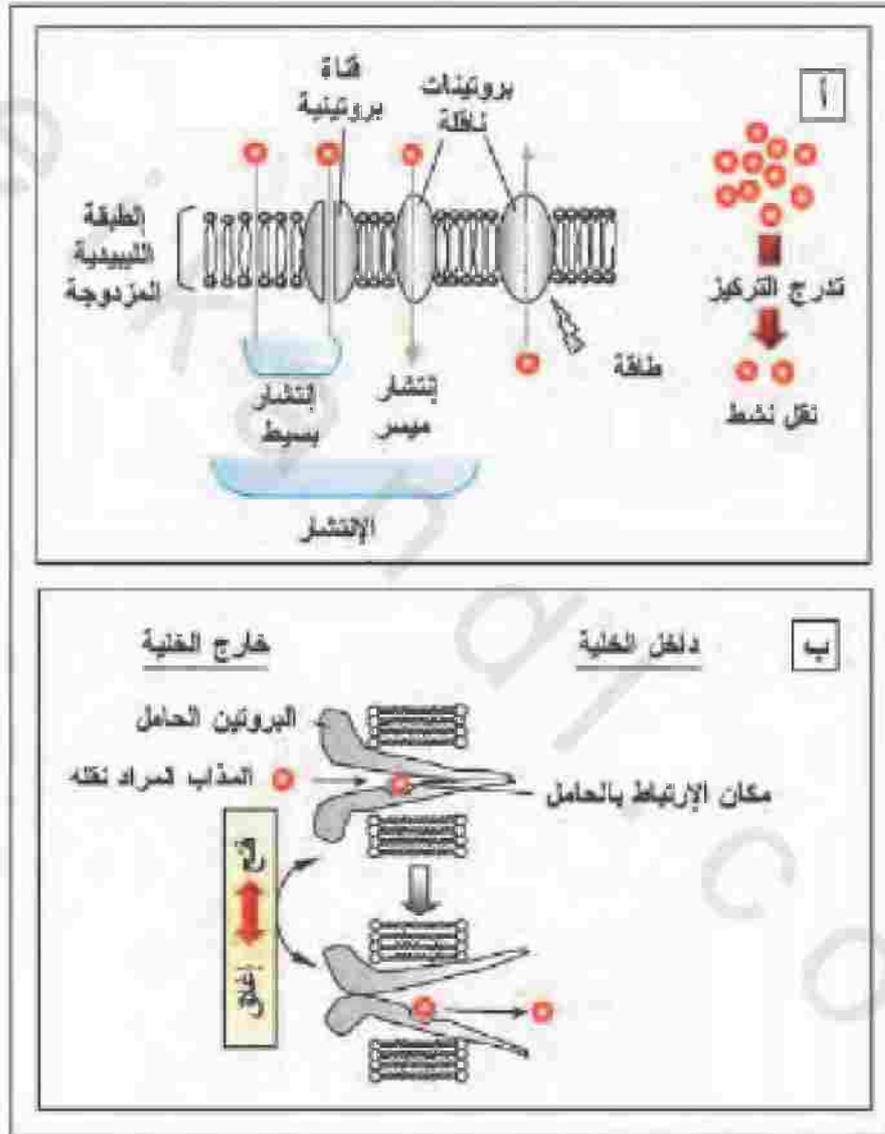
● الانتشار البسيط Simple diffusion

من خلال تلك الميكانيكية، يمكن للمعبد من الجزيئات أن تمر من خلال الغشاء الخلوي دون استهلاك أي طاقة، حيث تمر من مناطق عالية التركيز إلى مناطق منخفضة التركيز. ومن أمثلة تلك الجزيئات، نجد المركبات القطبية (polar compounds) التي يمكنها أن تمر من خلال الغشاء عن طريق الثقوب خاصة المكونة من ما يعرف بالبروتينات المنحدمة والموجودة على الغشاء الخلوي. ومن أهم شروط نجاح تلك الجزيئات للمرور من تلك الثقوب هو أن تكون صغيرة الحجم الجزيئي (أقل من ٨ أنجستروم)، كذلك لوحظ أن الأيونات سالبة الشحنة تمر بسهولة عن الأخرى موجبة الشحنة. أما عن الجزيئات غير القابلة للذوبان في الماء (جزيئات غير قطبية nonpolar molecules)، فنجد أنها قابلة للذوبان في الدهون، فيمكنها النفاذية مباشرة وبسهولة من خلال الغشاء الخلوي على أساس أن طبيعة تركيبه دهنية ومن ثم يتم النقل على أساس ذوبان تلك المركبات أو الجسيمات في المواد الليبيدية المكونة للغشاء.

● الانتشار المعيسر Facilitated diffusion

هنا يمكن لبعض الجزيئات كبيرة الحجم والتي يمكنها أن تذوب في الطبقة الليبيدية المكونة للغشاء أن تنتقل من التركيز الأعلى إلى التركيز الأقل ولكن بمساعدة بعض الخوامل البروتينية (Carriers proteins). في هذه الحالة يتم اتحاد بين الجزيء أو الجسيم مع أحد الخوامل البروتينية مكوناً بذلك معقد، ذلك المعقد له القدرة على الذوبان في الطبقة الليبيدية المكونة للغشاء وعليه يمكنه أن ينتشر ليستقل إلى الجانب الآخر من الغشاء، حيث يتفصل الجسيم من المعقد

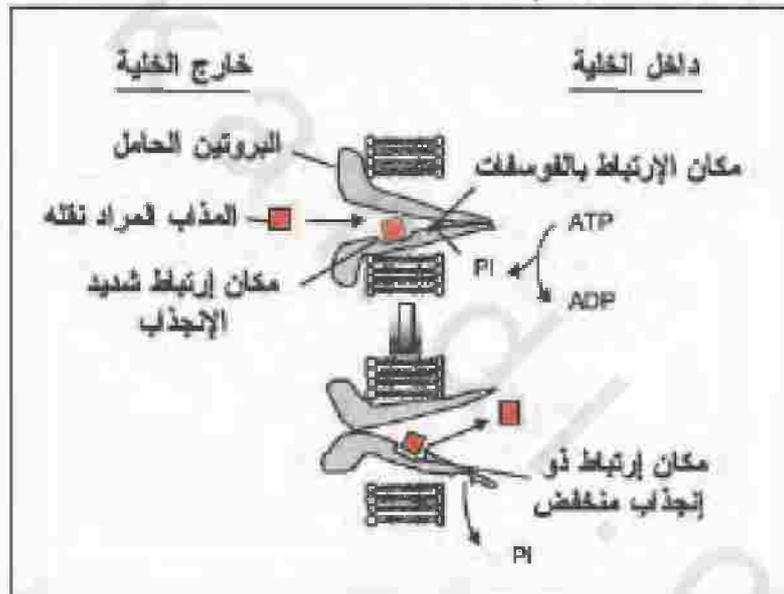
تاركاً الحامل البروتيني وهكذا. وعن العوامل المتحكممة في حدوث تلك النوعية من النقل، تركيز أو كمية الجسيمات أو المادة المراد نقلها على كل من جانبي الغشاء (خارج وداخل الخلية)، كمية الحوامل البروتينية المتاحة وكذلك توفر بعض الإنزيمات والهرمونات مثل الإنسولين والتي قد تزيد من نقل الجسيمات من خارج الخلية إلى داخلها. وعموماً يمكن تفهم هذه الميكانيكية من خلال الشكل رقم (٣،٢).



الشكل رقم (٣،٢). رسم تخطيطي يوضح الفرق بين (أ) عملية الانتشار البسيط (ب) الانتشار الميسر من خلال الغشاء الخلوي (تالياً عن: علاء الدين يومي، ٢٠٠٠).

٢- النقل النشط Active transport, Uphill transport, Diffusion Against Concentration Gradient

هنا، يمكن للعديد من الجزيئات أن تمر من أحد جانبي الغشاء الخلوي (التركيز الأقل) إلى الجانب الآخر (التركيز الأعلى). ومن أجل تحقيق ذلك، فلا بد من توافر عوامل بروتينية وإنزيمات متخصصة وطاقة (في صورة جزيئات ATP). ومن أمثلة المواد التي يتم نقلها بهذه الكيفية، الصوديوم والبوتاسيوم والأحماض الأمينية والكالسيوم والمغنسيوم وبعض السكريات مثل الجالاكتوز والفركتوز وأيضاً الجلوكوز. وعموماً، فإن أغلب عمليات النقل النشط يكون لمادتين أو جزئتين في الوقت نفسه وفي اتجاهين متضادين وذلك مثل ما يحدث بالخلايا العصبية من دفع الصوديوم خارج السيتوبلازم بينما يتم دفع البوتاسيوم إلى داخل الخلايا وهذا ما يعرف بمضخة الصوديوم والبوتاسيوم والتي من خلالها يتم نقل النبضة العصبية من نقطة إلى أخرى. ومن الممكن توضيح ميكانيكية النقل النشط من خلال الشكل رقم (٣.٣).



الشكل رقم (٣.٣). رسم تخطيطي لعملية النقل النشط من خلال الغشاء الخلوي (تقريباً من: علاء الدين بيومي، ٢٠٠٠).

٣- الدخول الخلوي (الإبتلاع) Endocytosis

وقبه تدخل الجزيئات الكبيرة مثل البروتينات وبعض الجسيمات عن طريق التهاب الخلايا لها وهذه العملية تحتاج إلى طاقة. والمثال على ذلك هو التهاب الخلايا للبكتيريا وهذا ما يُطلق عليه الأكل (الالتهام) الخلوي (Phagocytosis). أيضاً قد تقوم الخلية بالتهام جزء من سوائل البيئة الخارجية المحيطة بها وهو ما يُطلق عليه الشرب الخلوي (Pinocytosis).

٤- الطرد الخلوي Exocytosis

وفي تلك الحالة تقوم الخلية بإفراز جزيئات كبيرة مثل الهرمونات. والمثال على ذلك، هو ما تقوم به خلايا الفص الأمامي من الغدة النخامية من إفراز وطرود هرمونات بروتينية قد تم تصنيعها بداخل هذه الخلايا.

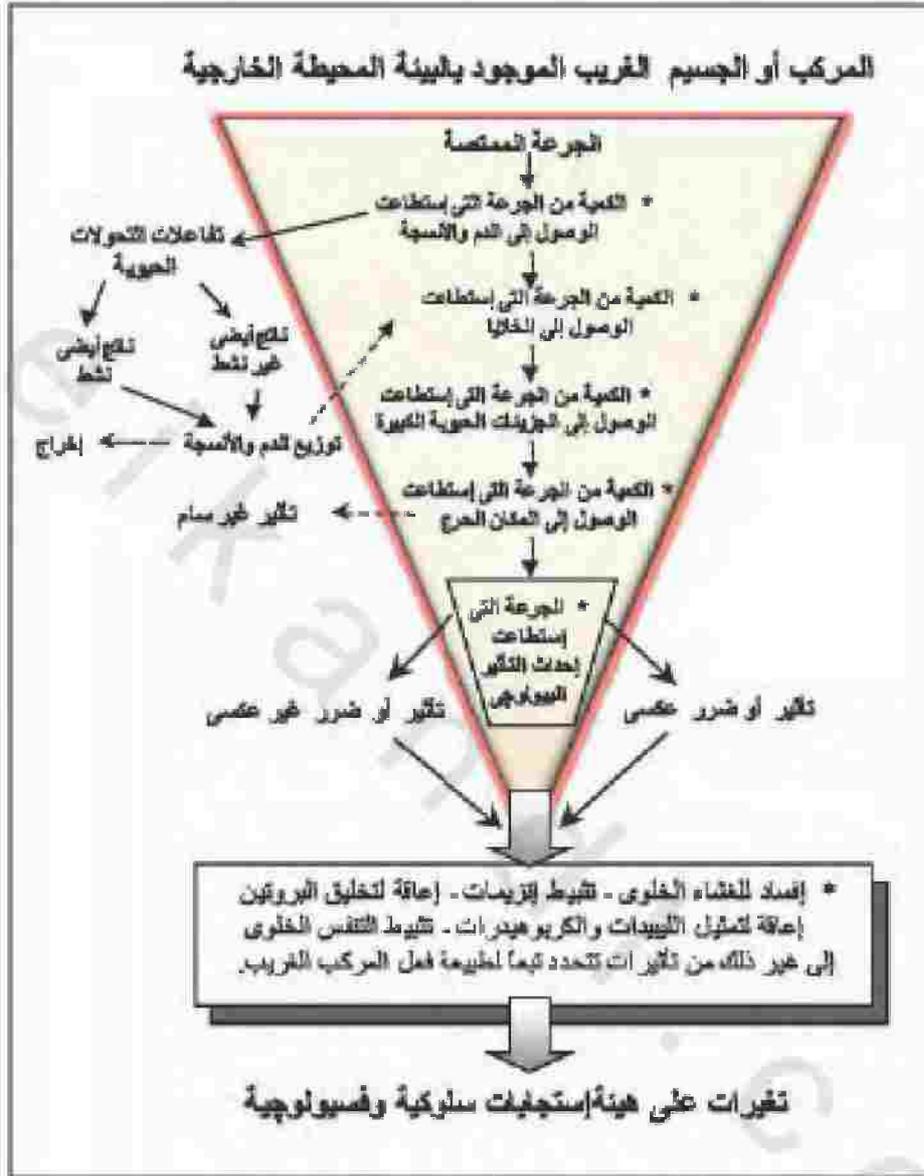
٥- الإسموزية Osmosis

وهي إحدى الظواهر التي من خلالها يتم إنتقال الماء ومروره عبر غشاء منفذ وذلك من منطقة ذات تركيز عالي بالماء إلى منطقة يكون الماء بها ذو تركيز منخفض (بمعنى آخر، من التركيز الأقل للمادة الذائبة في الماء إلى التركيز الأعلى للمادة الذائبة في الماء). وعلى هذا الأساس، يعتبر الضغط الإسموزي مهم جداً لترشيح الدم من خلال الكلية وكذلك من الوصول إلى نقطة التوازن بين التركيز بداخل الخلايا وخارجها.

كما سبق تنضح الأهمية القصوى للغشاء الخلوي على أساس أنه خط الدفاع الأول والذي يواجه المركبات السامة وغيرها من الجزيئات والجسيمات عند وصولها إليه وما يترتب على ذلك من إمكانية نفاذ تلك المركبات إلى داخل الخلية بأي من الميكانيكيات سالفة الذكر، مما يُسهل على تلك المواد الضارة من إحداث فعلها السام على المكونات الخلوية الداخلية وما يتبع ذلك من تأثير على أنظمة الخلايا ووظيفتها ومن ثم النسيج والعضو وعليه الكائن الحي بأكمله. وبالنسبة لنظرية تسمم الغشاء الخلوي، فإن العالم (Rothstein, 1959) كان أول من كشف عن إمكانية حدوث هذا الضرر على مستوى الغشاء وكان ذلك من خلال حقيقة أن الغشاء البلازمي هو أول حاجز يواجه المادة السامة عند وصولها للخلية.

أيضاً فإن الغشاء الخلوي هو أول ما نتج عنه ظهور التأثيرات السامة للمعادن الثقيلة. بناءً على ذلك، فإنه نظراً لطبيعة التركيب الكيميائي لهذا الغشاء وما يملكه من دقة التنظيم الخيوي العالي، فقد أوضحت دراسات السمية على المستوى الخلوي أن هذا الغشاء على درجة عالية من الحساسية تجاه العديد من المواد السامة. هذه الحساسية لوحظ أنها قد ترجع إلى أن المواد السامة قد تسبب تغيرات تركيبية للغشاء من خلال ارتباطها ببروتيناته أو بتكوين روابط تقاطعية (Crosslinking) بهذه البروتينات أو أنها تذوب بالمادة الليبيدية المكونة له. الأمر الذي يتبع عنه عدم انتظام في التركيب الطبيعي للغشاء مما يعمل على تكوين فجوات أو ثقوب به؛ نظراً للخصائص التنظيفية (Detergent properties) لبعض المركبات وهذا مما يؤدي إلى حدوث تغيرات بوظائف الخلية كنتيجة لتأثر بروتينات الغشاء بهذا الفعل وما قد يؤثر على المستقبلات الخلوية البروتينية وتثبيط للإنزيمات وإعاقة عمليات النقل سواءً من خلال الغشاء أو من خلال القنوات الموجودة به.

وبالعودة إلى عملية الامتصاص والنفاذية، فإنه طالما تم دخول المركب أو الجسم إلى داخل الجسم أي أنه قد تم امتصاصه، فيلاحظ أن المركب يمر من خلال العديد من الحواجز حتى يصل إلى مكان فعله مما يكون له أكبر الأثر



الشكل رقم (٣،٥). توضيح مدى تدرج الانخفاض في مستوى الجرعة الممتصة من المركب أو الجسم الغريب الذي تم تعرض الكائن الحي له وبين الكمية من تلك الجرعة التي استطاعت الوصول إلى مكان تأثيرها البيولوجي بداخل الخلية حيث تؤدي فعلها الضار على هيئة تغيرات كيميائية حيوية وما ينتج عن ذلك من استجابة الكائن الحي في صورة تغيرات فسيولوجية وسلوكية (قالاً عن: علاء الدين موسى، ٢٠٠٠).

ج) التوزيع و إعادة التوزيع Distribution and Redistribution

بعد أن تم التعرض للمركب أو الجسم الغريب وامتصاصه ونفاذته إلى داخل الجسم، فإنه ذلك معناه أن جزيئات ذلك المركب قد وصلت إلى تيار الدم ومن ثم أصبحت هذه الجزيئات خاضعة لحركة الدورة الدموية وهو

الأمر الذي بناءً عليه يتعرض المركب لعملية توزيع حيوي لجزيئاته بداخل أنسجة الجسم. تلك المرحلة تبين أنها تتأثر إلى حد كبير بالخصائص الطبيعية والكيميائية لهذا المركب أو الجسيم. بمعنى آخر، طبيعة وقيمة معامل ذوبانه بين الماء وبين الدهون وهو الأمر الذي يتحدد بناءً عليه طبيعة ارتباط المركب ببروتينات البلازما (كما هو الحال من ارتباط الكادميوم بالأليومين) أو أن ترتبط جزيئاته بالمستقبلات (Receptors) الموجودة في الأنسجة والأغشية الخلوية أو حتى بالسيترولازم الخلوي أو حتى بأغلفة أنوية هذه الخلايا وذلك يتحدد بالطبع إذا ما كانت تلك المستقبلات متخصصة أو غير متخصصة. اعتماداً على تلك المرحلة، فإن جزيئات المركب تصل إلى أماكن عديدة ومتنوعة إلا أن أهمها هو الكبد (المضو الرئيسي المتخصص بنسبة كبيرة لإجراء تفاعلات التحولات الحيوية).

وفيما يتعلق بإعادة التوزيع، فهو المقصود به إعادة توزيع جزيئات المركب أو الجسيمات بداخل الجسم الكائن الحي (خاصة في حالة الإنسان والحيوانات الراقية) من خلال مرور المركب بالدورة الكلوية والدورة البابية حيث يكون المركب قد اجتاز تفاعلات التحولات الحيوية (Biotransformation) والتفاعلات الأيضية (Metabolism) ومن ثم قد حدثت به تغيرات تركيبية ومن ثم تغيرات على صفاته الطبيعية والكيميائية وعليه يكون هناك توزيعاً جديداً للنواتج الأيضية (Metabolites) والتي تكون قد اكتسبت صفات جديدة مثل زيادة مقدار الذوبان في الماء ومن ثم زيادة قابليتها للإخراج أو العكس حيث يزداد وصولها إلى أهدافها البيولوجية حيث مكان إحداث الفعل السام أو أنه يتم تراكمها ببعض الأنسجة مثل الأنسجة الدهنية والمخاط.

د) التخزين Storage

وجد أن تخزين المركبات السامة بل وتراكمها بالأنسجة يحدث في حالة المركبات الثابتة والمحبة للدهون (Lipophilic). وعموماً، فهناك العديد من العوامل المحددة لطبيعة تخزين المركبات بالأنسجة الجسم، مثل الجنس والسلالة والعمر والحالة الغذائية ومعدلات التوزيع والنفاذية من الحواجز المختلفة وتفاعلات التحولات الحيوية والإزالة. ومن أهم الأعضاء التي تتراكم فيها المركبات الثابتة هي الكبد والكلى والجهاز العصبي؛ بالإضافة إلى الأنسجة الدهنية.

هـ) التحولات الحيوية Biotransformation

إن كلمة أيض (metabolism) ربما تستخدم بهدف يكون المقصود منه مجموع التفاعلات الكيميائية الحيوية التي تهدف إلى البقاء على قيد الحياة. ومن أحد أجزاء وأنواع تلك التفاعلات وجد أنه عبارة عن عمليات أيض البروتين، وأيض الدهون، وعمليات الأيض التي تتوسطها الإنزيمات. أيضاً، فإن كلمة أيض قد تستخدم بهدف

الدلالة على تأثير كائن حي ما بواسطة إنزيماته على التركيب الكيميائي للمركبات الغريبة عن الجسم وهذا بالتحديد ما يُطلق عليه اسم التحولات الحيوية وهو المقصود به في ذلك الاستعراض.

بصورة مختصرة ، يُقصد بالتحولات الحيوية بأنها مجموعة التفاعلات الحيوية التي تحدث بداخل خلايا وأنسجة وأعضاء جسم الكائن الحي والتي تهدف إلى محاولة البقاء على قيد الحياة. وفي هذا الشأن ، فقد أثبتت الدراسات العديدة أن معظم المواد الغريبة التي تدخل الجسم تخضع للعديد من التفاعلات الحيوية والتي من خلالها يحدث تحول وتغيير في طبيعة هذه المواد ومن ثم أطلق على هذه التفاعلات اسم تفاعلات التحولات الحيوية (Biotransformation reactions). من خلال هذه التفاعلات وهي بالقطع عديدة ومتنوعة ، يتعرض المركب أو الجسم الغريب إلى العديد من التفاعلات الأيضية. على سبيل المثال ، التغيرات الكيميائية التي تحدث لمركب معين نتيجة لفعل الوسط الحامضي لمعدة الكائن الحي بعد تناوله لذلك المركب عن طريق الفم. كذلك فعل الإنزيمات الهاضمة أو من خلال الفعل الأيضي للميكروبيا الموجودة في الأمعاء. أيضاً هناك العديد من المركبات السامة التي يتم أيضاً بواسطة النظم الإنزيمية المتراكزة في معظم الأعضاء مثل الرئتان والكلى والمخ والجلد والكبد وهو أكثرهم أهمية.

ونظراً لتعدد أنواع هذه التفاعلات ، فقد أمكن تقسيمها إلى قسمين رئيسين : الأول وهو التفاعلات من المرحلة الأولى (Phase I reaction) والثاني وهو التفاعلات المرحلة الثانية (Phase II reaction). بالنسبة للقسم الأول (Phase I reaction) نجد أنه يشمل تفاعلات الأكسدة والإختزال والتحلل المائي حيث يتم إدخال بعض المجموع الكيميائية الفعالة مثل الهيدروكسيل (OH) أو مجموع حامضية. ففي حالة التفاعلات التأكسدية فإنها تحدث من خلال فعل المجموع الإنزيمية المسماه سيتوكروم ب ٤٥٠ (Cytochrome P-450) التي تعمل على أكسدة المركبات السامة من خلال إدخال مجموع الهيدروكسيل ومجموع الأبيوكسيد أو بإزالة مجموع الألكيل أو بإزالة مجموع الأمين أو بإكسدة ذرات الكبريت أو بإستبدال ذرات الكبريت بالأكسجين أو بإزالة مجموع الهالوجين.

أما في القسم الثاني وهي تفاعلات الأيض بالمرحلة الثانية (Phase II reactions) ، فإن المركب الغريب نجد أنه يرتبط (Bind) أو يقترن (Conjugate) بمركبات أخرى داخلية المنشأ ؛ وذلك لتسهيل إفرازه. ومن أمثلة هذه التفاعلات هو ارتباط المركبات الغريبة بحامض الجلوكورونيك (Glucuronic acid) والكبريتات (Sulphates) والجليسين (Glycine) والجلوتاثيون (Glutathione). كما قد تحدث عمليات أستلة (إدخال مجموعة أستيل Acetylation) ومثلة (إدخال مجموعة ميثيل methylation). وعلى أية حال ، فقد أمكن إدراج أهم التفاعلات العامة المميزة لمرحلتها تفاعلات التحولات الحيوية ومكان حدوث هذه التفاعلات وذلك من خلال الجدول رقم (٣.١).

الجدول رقم (٣،١). أهم تفاعلات المحولات الحيوية للمواد الغريبة وأماكن حدوثها بالتفصيل.

مكان حدوث التفاعل	الإنزيم	التفاعل
Phase I reactions: تفاعلات المرحلة الأولى		
الميكروسومات والسيتوبلازم الدم والميسوسومات	Carboxyltransferase Peptidase	تحلل مائي Hydrolysis
الميكروسومات، والسيتوبلازم الميكروسومات، والسيتوبلازم	Epoxide hydrolase Azo- and nitro- reduction	إختزال Reduction
السيتوبلازم	Carbonyl reduction	
السيتوبلازم	Disulfide reduction	
السيتوبلازم	Sulfonamide reduction	
الميكروسومات والسيتوبلازم	Quinone reduction	
الميكروسومات	Reductive dehalogenase	
السيتوبلازم	Alcohol dehydrogenase	أكسدة Oxidation
الميتوكوندريا والسيتوبلازم	Aldehyde dehydrogenase	
السيتوبلازم	Aldehyde oxidase	
السيتوبلازم	Xanthine oxidase	
الميتوكوندريا	Monamine oxidase	
السيتوبلازم	Diamine oxidase	
الميكروسومات	Prostaglandin H synthase	
الميكروسومات	Flavin-mono-oxygenase	
الميكروسومات	Cytochrome P-450	
Phase II reactions: تفاعلات المرحلة الثانية		
الميكروسومات	Gluconamide conjugation	إقتران Conjugation
السيتوبلازم	Sulfate conjugation	
الميكروسومات والسيتوبلازم	Glutathione conjugation	
الميتوكوندريا والميكروسومات	Amino acid conjugation	
الميتوكوندريا والسيتوبلازم		إدخال مجموعة أستيل Acetylation
السيتوبلازم		إدخال مجموعة ميثيل Methylation

(المصدر: علام الدين بومن، ٢٠٠٠)

ثانياً: الحواجز التي تعيق توزيع الجسيم النانوي

Barriers to Nanoparticle Distribution

من الأمور المعترف بها من الناحية الفسيولوجية والبيولوجية هو أن الجزيئات الصغيرة الكارهة للماء (Small hydrophobic molecules) يمكن أن يتم حملها وتوزيعها على جميع مناطق الجسم بواسطة تيار الدم ومن ثم يمكن وصولها إلى معظم أنسجة الجسم وذلك من خلال عمليات التجزيء والانتشار والتي تعتمد بدورها على

الخصائص الفيزيائية الكيميائية للجزيء. أما بالنسبة للجزيئات والجسيمات الكبيرة، فإن الأمر يختلف نسبياً حيث يلاحظ أن عملية التوزيع الحيوي تعتمد بشكل أساسي على فسيولوجية الجسم وطبيعته التشريحية والتي يتضح من خلالها وجود العديد من الحواجز التي تعمل على تقييد توزيعه بعدة طرق وذلك اعتماداً على حجم ذلك الجسم. بناءً على تلك الحقائق ومن الناحية العملية، فعادة ما يلاحظ أن العديد من الجسيمات الثانوية التي يتم تصنيعها تكون في مدى من الأقطار التي تتراوح ما بين ٥-٥٠ نانومتر. من جهة أخرى، فإنه تبعاً لطبيعة خصائص الجسيمات الثانوية، فإن بعضها يميل إلى أن تتجمع معاً مما يكون نتيجة تكوين جسيمات ذات أقطار أكبر يصل مداها ما بين ٢-٤ ميكرومتر والتي قد تتواجد بالهواء على هيئة ملوثات يمكن أن تمر إلى داخل الجسم من خلال الرئة.

٢-٤ الحواجز الفسيولوجية والتصفية إلى الكبد *Physiological barriers and Clearance to the Liver*

من الأمور الثابتة عن جسم الإنسان هو قيامه وأدائه لمجموعة من العمليات المعقدة التي تستهدف حمايته من هجوم وغزو الكائنات الدقيقة مثل جراثيم الفطريات، البكتيريا، والفيروسات والتي تتراوح أحجامها ما بين ٥٠ نانومتر وحتى عدة ميكرومترات قليلة. تلك الكائنات الدقيقة لوحظ أنها بمجرد وصولها إلى تيار الدم، فإنه سريعاً ما يتم تغطيتها بتشكيلة من بروتينات السيرم. وفي بعض الحالات، فإن هذا الإجراء ربما يؤدي إلى تعرف الجسم على هذه الكائنات من أجل تحديد نوعية الأجسام المضادة المناسبة لهذه الكائنات. أما في حالة المواد الدقيقة خاصة التي تتميز بأسطح كارهة للماء، فإنها ترتبط بشكل كبير مع مجموعة من بروتينات الدم بأسلوب ويطريقة غير متخصصة وذلك كما أوضحه العالم (Young et al., 1988). ومن ضمن البروتينات التي تقوم بالارتباط مع المواد الدقيقة تلك المتعلقة بالأجسام المضادة والعوامل المكملية الأخرى والتي من خلالها يتم التعرف عليها بدخل الجسم بواسطة الماكروفاجات أو ما تعرف باسم البلاعم (Macrophages) وغيرها من الخلايا الإتهامية (Phagocytic cells). تلك الخلايا الإتهامية أو الماكروفاجات اتضح أن لها عدة أشكال في جميع أنسجة الجسم وبناءً عليه فليديها القدرة على أن تتناول وتبتلع الجسيمات الغريبة التي تتواجد أو تتراكم بأي مكان من الجسم. ومن أكثر الأعضاء التي تتراكم فيها هذه الخلايا هي الطحال، الكبد والعقد الليمفاوية.

علاوة على ذلك، فإنه بسبب طبيعة البناء النسيجي لهذه الأعضاء، فقد لوحظ أنه في عضو مثل الطحال، فإنه تتم عمليات التصفية والتنقية للجسيمات ذات الأقطار الكبيرة (الأكبر من ٢٥٠ نانومتر) حيث يتم احتجاز هذه الجسيمات بهذا العضو. أما الكبد، فتتم من خلاله تصفية الجسيمات الأصغر قطراً؛ وذلك بسبب أن طبيعة التركيب النسيجي للكبد مهيأة للترشيح. وفي هذا الصدد، فقد أوضحت الدراسات التشريحية لأنسجة الكبد أنها مكونة من مجاميع خلوية سداسية الشكل يُطلق عليها فصوص حيث يتم دخول الدم من الأركان الخارجية من هذه الوحدات الخلوية ويمر من خلال الأوعية التي يُطلق عليها الجيوب (Sinusoids) ومنها إلى الوريد المركزي الذي يصب تجاه

الفص المكون من الخلايا ذات البناء والبيكل السداسي. وعلى طول امتداد الأوعية الجيبية توجد الماكروفاجات والتي تعرف في الكبد باسم خلايا كوفر (Kupffer cells) والتي اتضح أن لها القدرة على اصطياد الجسيمات التي تمر بجانبها.

إضافة إلى ذلك، فإن الخلايا المبطنة (Endothelial cells) التي تحدد (تبطن) الأوعية الجيبية، اتضح أن بها فجوات يُطلق عليها نوافذ (Fenestrac) وهي ذات أقطار تتراوح ما بين ١٠٠-١٥٠ نانومتر والتي تؤدي بعد ذلك إلى الخلايا الكبدية البرانشيمية. وهذه الخلايا البرانشيمية اتضح أن أسطحها مغطاة بزوائد زغبية (microvilli) والتي تعود إليها مسئولية التقاط الجسيمات الصغيرة من خلال عمليات التهام خلوية وذلك كما أشار إليه العالم (Litzinger et al., 1994).

وكما هو معروف، فإن سريان الدم المتجه إلى الكبد يكون من مصدرين، أحدهما هو الشريان الكبدي القادم من القلب والآخر من الوريد البابي القادم من الأمعاء. ومن هذين المصدرين، فإن ما يقرب من ٢٥ ٪ من الدم الذي يسري حول الجسم اتضح أنه يمر بالكبد مع كل نبضة من نبضات القلب. بناءً على ذلك، فإن هذا المعدل يتيح من وجود نظام ترشيح يعمل بكفاءة عالية. إضافة إلى ما سبق، فقد تبين أن الكبد له دور واضح ومعلوم لدى الجميع من حيث قيامه بالوظيفة الأيضية للجزئيات الصغيرة ويقوم بتحويلها إلى جزئيات غير ضارة ومن ثم، فهو من الأعضاء القادرة على اصطياد الجسيمات النانوية واختصاصها للتفاعلات الأيضية طبقاً لطبيعة البناء النسيجي الخاص به وطبقاً لما لديه من نظم إنزيمية متخصصة في إجراءات تفاعلات التحولات الحيوية (Biotransformation reactions) والتي تنقسم بدورها إلى نوعين أساسيين، تفاعلات المرحلة الأولى (Phase I reactions) وتفاعلات المرحلة الثانية (Phase II reactions) كما سبق الإشارة إليهما.

ب) الحواجز التشريحية Anatomical Barriers

بافتراض أن الجسيمات النانوية التي تم التعرض لها نتيجة دخولها إلى داخل الجسم أنها لم تدخل الكبد أو الطحال، في هذه الحالة، فإنها تستمر في الدوران مع تيار الدم ومن ثم فإن طبقة الخلايا المبطنة للأوعية الدموية هي التي تكون أكثر تعرضاً لهذه الجسيمات.

١- الخلايا المبطنة Endothelium

في معظم الأنسجة لوحظ أن الخلايا المبطنة لها تكون لها بعض الخصائص التي تميزها عن غيرها والتي تتركز في منع خروج المواد عن هذه الأنسجة وفي الوقت نفسه فهناك مسلكان من خلالهما يمكن للمواد أن تعبر من خلال هذه الطبقة من الخلايا. المسلك الأول وهو من خلال المرور من الفجوات بين خلوية (المسافات الطبيعية الموجودة بين الخلايا) أو المسلك الثاني والذي يكون عن طريق المرور من خلال الخلايا نفسها. وبالنسبة لطبيعة الخلايا المبطنة،

قد لوحظ أن معظمها يكون شديد الإنصال والالتحام ببعضه مما يجعل أغشية هذه الخلايا متصلة ببعضها بشكل يمنع من مرور المواد التي يزيد قطرها عن ٢ نانومتر. أما المواد ذات الأقطار الأكبر من ذلك، فقد تنفذ من خلال ميكانيكيات أخرى مثل الابتلاع الخلوي حيث يتم تكوين فجوات تحيط بهذه المواد وهذه الفجوات تتراوح أقطارها ما بين ٧٠-١٥٠ نانومتر بعدها يتم عبور المواد التي تم اصطيادها بداخل الفجوات إلى الجهة الأخرى من الخلايا. علاوة على ما سبق، فإنه في معظم الخلايا المبطنه أو الطلائية، فيكون معظمهم مرتكز على ما يُعرف بالغشاء القاعدي (وهو أحد أنواع الأنسجة الضامة) والذي يتكرب بدوره من لويقات دقيقة من البوليمرات البيولوجية المكونة من الكولاجين (Collagen)، لامينين (Laminin)، إيتاكتين (Entactin)، نيدوجين (Nidogen) ومادة (Heparan sulfate proteoglycans). وهذه اللويقات اتضح أنها تعمل على تكوين شبكة شديدة وظيفتها تتركز على عمل تلاصق الخلايا المبطنه ليربطها مع النسيج الضام وذلك كما أشار إليه العالم (Inoue, 1989). إضافة إلى ذلك، فقد أشارت فحوصات التركيب الدقيق للغشاء القاعدي بواسطة الميكروسكوب الإلكتروني النفاذ (TEM) بأن شبكة اللويقات المكونة لهذا الغشاء تحتوي على ثقوب تقدر أقطارها بما يتراوح من ١٣-١٥ نانومتر ومن ثم يكون ذلك هو العامل المحدد لمرور الجسيمات التي تقع أقطارها في ذلك المدى من الأقطار.

وللتأكد على مصداقية تلك القياسات، فقد لوحظ أن السوائل يمكنها المرور من خلال طبقة الخلايا المبطنه حتى يمكنها أن تدخل في تكوين السائل الليمفاوي. وإجراء تحليل للسائل الليمفاوي الذي تم تجميعه من عدة أنسجة مختلفة يمكن أن يعطي فكرة جيدة عن ما يمكن مروره من خلال هذه الطبقة المبطنه، حيث تبين أن الجزيئات البروتينية صغيرة الحجم فقط هي التي يمكنها المرور من خلال هذه الطبقة.

ومن الناحية التشريحية والتركيبية، فقد اتضح أن ليست جميع الخلايا والأنسجة المبطنه لديها نفس القدرة على النفاذية سالفة الذكر وإنما هذه القدرة تختلف تبعاً للعضو. فعلى سبيل المثال، لوحظ أن الخلايا المبطنه في عضو مثل المخ يكون الاتصال والالتحام بين الخلايا المبطنه أكثر صلابة وأكثر إحكاماً وضيقتاً ومن ثم لا تكون هناك مساحات بينية بين هذه الخلايا وعليه لا يوجد مسلك لمرور أو انتقال المواد من خلال هذا المسلك ومن ثم تنخفض معدلات حدوث ميكانيكية الانتقال من خلال الالتهام الخلوي وذلك كما أثبتته العالم (Brightman, 1977). وعلى أية حال، فقد اتضح أنه في بعض الحالات المرضية التي ينتج عنها حدوث التهاب (Inflammation)، فإن طبقة الخلايا المبطنه تكون أكثر تسريباً مما ينتج عن ذلك حدوث تراكم للجسيمات النانوية بداخل الأنسجة المتهبة وذلك كما أثبتته العالم (Schoeffl, 1964).

٢- عمليات الامتصاص الخلوي Cellular uptake processes

إن بمجرد وصول الجسيمات النانوية إلى السائل بين خلوي الموجود خارج الخلايا، فإنه بداية من تلك المرحلة يجب أن يتم فهم الميكانيكيات المستولة عن كيفية دخول هذه الجسيمات إلى داخل الخلايا. وفي هذا السياق،

قد اتضح أن هناك عدد من الميكانيكيات التي من خلالها يتم تسهيل امتصاص الخلايا للجزيئات الكبيرة والجسيمات الصغيرة وذلك لأسباب فسيولوجية تمكن الأنسجة والأعضاء من القيام بوظائفهم وذلك كما أشار إليه العالم (Van Deurs et al., 1989). ومن ضمن هذه الميكانيكيات التي تم الكشف عنها قديماً، تلك التي تم وصفها باسم الشرب الخلوي (Pintocytosis)، والمقصود بها التهام الخلايا لجزء من سوائل البيئة الخارجية، وهي في الحقيقة من ميكانيكيات الامتصاص غير المتخصصة والتي تتعلق بطبيعة تغذية الخلايا. في هذه الميكانيكية، يتم تكوين انعماد يشبه الفنجان بالغشاء الخلوي والذي يحيط بالمواد الموجودة بالسائل خارج الخلايا. ومن خلال تلك الميكانيكية فيمكن امتصاص المواد المرتبطة بالغشاء الخلوي حيث تتم عملية شرب إنمصاصي (Adsorptive pintocytosis) أو امتصاص المواد التي يحتويها السائل المحيط بالخلايا حيث يتم شرب الخلايا لجزء من هذا السائل (Fluid-phase pintocytosis).

أيضاً، فقد أمكن وصف نوعان من ميكانيكيات الشرب الخلوي، إحداهما تعرف باسم الشرب الخلوي الدقيق (Micropintocytosis)، حيث يتم تكوين فجوات يصل قطرها إلى ١٥٠ نانومتر والميكانيكية الأخرى تعرف باسم الشرب الخلوي الكبير (Macropintocytosis) وهو الناتج من تكوين فجوات تصل أقطارها إلى ٣٠٠ نانومتر. وعموماً، فإن الناتج من الامتصاص من خلال عملية الشرب الخلوي عبارة عن تكوين ما يُطلق عليه اسم الجسم الباطني (Endosome) الذي يتحول بعد ذلك إلى ما يُشبه العُضي الخلوي المعروف باسم الليسوسوم (Lysosome). وكما هو معروف، فإن الليسوسومات عبارة عن مكونات حامضية تصل فيها درجة الحموضة إلى ما بين ٤.٥ - ٥ وتحتوي على مدى واسع من الإنزيمات الهاضمة. وحديثاً أمكن وصف حدوث ما يُعرف باسم التجدد الغشائي (Membrane ruffling) وهو عبارة عن التغير الحادث بالغشاء الخلوي نتيجة امتصاصه للجسيم النانوي الذي يتراوح قطره في حدود ٣٠٠ نانومتر.

إضافة إلى ما سبق، فهناك أيضاً ما يعرف باسم الابتلاع الخلوي (Endocytosis) والمقصود بذلك هو دخول الجزيئات الكبيرة مثل البروتينات إلى الخلايا من خلال الالتهام وهي من العمليات التي تحتاج إلى طاقة ويُطلق عليها أحياناً اسم البلعمة (Phagocytosis) وهي ما يعرف باسم الأكل الخلوي. وعملية الابتلاع الخلوي تتم بصفة عامة بعد أن يتم تعرف الخلايا على الجزيئات من خلال بعض المستقبلات التي تتوسط عملية الامتصاص وهذا ما قام بوصفه العالم (Van Deurs et al., 1989). وفي هذه الحالة، فإن الفجوة التي تتكون يصل حجمها في حدود ١٠٠ نانومتر، ويتم توصيل هذه الفجوة إلى الليسوسومات ليتم هضم محتويات هذه الفجوة. وقد يتم حدوث الابتلاع الخلوي للجسيمات المحيطة من خلال تكوين تراكيب تشابه الدورق على الأغشية الخلوية تعرف باسم (Caveolae) وذلك كما وصفها العالم (Schmitzer, 2001). وهذه التراكيب اتضح أن قطرها يصل إلى حوالي ٧٠ نانومتر ولكن

ميكانيكية فعلها بالتحديد لم يتم إيضاحها بشكل دقيق ولكن تبين أنها ذات دور كبير في امتصاص المواد النانوية سواءً من خلال بعض الخلايا الطلائية (Epithelia) أو الخلايا المبطنة (Endothelia). ويعتقد بعض العلماء أن تكوين هذه التراكيب قد يكون من خلال بعض المستقبلات التي تتوسط عملية الامتصاص الخلوي. ومؤخراً قد أمكن وصف لعملية امتصاص أخرى تقوم بها الماكروفاجات وأطلق على هذه العملية اسم (Patoctyosis) ويقصد بها الثقر الخلوي حيث يتم تكوين ثُقرة بالغشاء الخلوي تتسع للجسيمات التي لا يتجاوز حجمها أكبر من ٥٠٠ نانومتر وذلك كما وصفه العالم (Kruith et al., 1999). ومن أمثلة هذه الجسيمات، تلك التي تكون كارهة للماء والتي يتم اصطيادها في ثنايا الغشاء الخلوي والتي تكون مفتوحة على المنطقة خارج الخلايا.

في الحقيقة، فإن جميع هذه الميكانيكيات سألقة الذكر اتضح أنها من الميكانيكيات الفسيولوجية الطبيعية والتي تقوم بها الخلايا لامتصاص الجزيئات والجسيمات الفسيولوجية المهمة والتي ينتهي بها الحال لتكون بداخل فجوات داخلية محاطة بأغشية بداخل الخلايا. أيضاً، فقد أمكن التعرف على ميكانيكيات أخرى لامتصاص الخلايا للجسيمات التي تعتمد على طبيعة الخصائص الطبيعية والكيميائية للجسيمات ومن هذه الميكانيكيات يتم امتصاص الجسيم ليكون في حالة تلامس واحتكاك مباشر بالسيترولازم وما به من بروتينات داخلية وعُضيات وذلك كما وصفه العالم (Geiser et al., 2005). ومن أمثلة الجسيمات التي تخضع لهذه الميكانيكية من الامتصاص هي الجسيمات صغيرة الحجم الكارهة للماء وأيضاً الجسيمات موجبة الشحنة. وفي هذا المجال، فقد اتضح أن بعض الجسيمات ذات الشحنة الموجبة قد تسبب عيوب بالأغشية الخلوية وقد يصل قطر هذه العيوب إلى ما بين ١٥-٤٠ نانومتر ومن ثم يتم السماح لخروج البروتينات الخلوية ودخول الجسيمات الصغيرة وذلك كما تم توضيحه بواسطة العالم (Hong et al., 2004).

ج) أماكن وجود الجسيمات في الأنسجة المتخصصة Localization of Particles in Specific Tissues

١- الرئة Lung

إن الجسيمات كبيرة الحجم أو تلك التي تكون ذات كتلات تتراوح أقطارها ما بين ٥ - ٧ ميكرومتر أو أكبر من ذلك اتضح أنه من الممكن أن يتم احتجازها في الممرات الشعرية بالرئة ومع ذلك فليس من المحتمل أن الجسيمات النانوية أن تتراكم بالجسم أو بالرئة لتصل إلى هذا المدى من الحجم وذلك طبقاً لما أشار إليه العالم (Illum and Davis 1982). ولكن قد تبين أن هناك نوعية من الجسيمات النانوية ذات القياسات الصغيرة التي تتواجد بالأماكن البعيدة من الرئة كما سيتضح فيما بعد.

٢- الطحال والكبد Spleen and liver

منذ بداية أعوام الثمانينيات وقد أمكن استخدام نماذج من الجسيمات النانوية المصنوعة من مادة البولي إستايرين (Poly styrene) من أجل توضيح الدور المهم والفعال الذي يقوم به كل من الكبد والطحال في إزالة هذه

الجسيمات من تيار الدم. ومن الدراسات التي تم إجراؤها تلك التي أثبتت أن جسيمات البولي إيثايرين الكارهة للماء ذات أقطار ١٥٠ نانومتر قد تم إزالتها من الدم في خلال ٥ دقائق إلا أنها قد تراكمت في الكبد وهذا بالتحديد ما أثبتته العالمان (Davis and Illum 1989). ومن الفوائد التي تم التوصل إليها من هذه الدراسة هو التعرف على سلوك الجسيمات عندما يتم حقنها في تيار الدم. وبعد ذلك، فإنه بإجراء تغطية (Coating) لهذه الجسيمات بمادة بولي إيثيلين جليكول [Poly (ethylene glycol), PEG] المحتوية على مادة ذات نشاط سطحي (Surfactant) مثل مادة (Poloxamers)، فإن سلوك الجسيمات يتغير ويتعدل. وقد اتضح أن السبب من وراء تعديل سلوك هذه الجسيمات بعد تغطيتها هو أن مادة بولي إيثيلين جليكول مكونة من سلاسل لها القدرة الكبيرة على الحركة كما أنها شديدة الحب للماء (Hydrophilic) مما يؤدي إلى تكوين طبقة سطحية ذات حيز ثابت كما أشار إلى ذلك العالم (Tadros, 1982) وهذا بدوره يقلل من مستوى ارتباط هذه الجسيمات ببروتينات السيرم وعليه يتيح وقت أطول لدوران الجسيمات بالدورة الدموية (Stolnik et al., 2001).

وعلى أية حال، فقد اتضح أن عملية التوزيع الحيوي للجسيمات المغطاة تتأثر بدرجة كبيرة بحجم الجسيمات. بمعنى آخر، تبين أن الجسيمات النانوية المغطاة بطبقة من مادة (Poloxamers)، والتي يصل قطرها إلى ٦٠ نانومتر، فإنها تتجنب الطحال، بينما إذا زادت أقطار الجسيمات إلى ١٥٠ نانومتر، فيتم امتصاصها جزئياً بواسطة الطحال ويزيادة أقطار الجسيمات إلى ٢٥٠ نانومتر فيتم امتصاصها بشكل معنوي بواسطة الطحال وقد تبين أن ذلك يتم من خلال عملية اصطياد ميكانيكي بواسطة الشقوق الخلوية المبطنة للطحال من الداخل وهذا ما يوضحه الجدول رقم (٣.٢) والذي أشار إليه العالم (Moghimi et al., 1991).

إضافة إلى ماسبق، فإن الجسيمات التي مازالت متواجدة بالدورة الدموية اتضح أنها عادة ما يتم امتصاصها بواسطة الكبد خاصة تلك التي تقل أقطارها عن ٦٠-٧٠ نانومتر. وفي هذه الحالة، فإن الامتصاص يتم من خلال الخلايا الكبدية البارانشيمية. أيضاً، فقد تبين أنه بإجراء بعض التغييرات في مادة بولي إيثيلين جليكول سواء من حيث الكمية أو الخصائص، فقد أدى ذلك إلى حدوث تأثيرات على معدلات التوزيع الحيوي. بمعنى آخر، لوحظ أنه إذا انخفضت كثافة طبقة مادة بولي إيثيلين جليكول، فإن ذلك يؤدي إلى خفض التأثير الوقائي ضد امتصاص الجسيمات بواسطة الكبد ومن ثم يؤدي ذلك إلى قصر فترة بقاء نصف العمر للجسيمات في الدورة الدموية. وقد اتضح أنه بتغيير نوع المواد ذات النشاط السطحي أو تغيير أي من خصائصها، فإن ذلك يتبعه تغيير في معدلات امتصاص الجسيمات النانوية المغطاة بها في الأعضاء المختلفة؛ وذلك بسبب عملية ارتباط هذه المواد بمكونات السيرم في الدم ومن ثم التأثير على معدلات امتصاص الخلايا لها بالعديد من الأعضاء والأنسجة مثل نخاع العظم (Porter et al., 1992).

الجدول رقم (٣، ٣). تآثر حجم الجسيم النانوي على امتصاص الطحال في الجرذان بعد ٢٤ ساعة من المعاملة بجسيمات بولي أمداين سواء المغلفة أو غير المغلفة بمادة (Poloxamer 407).

% للجرعة المحقونة		حجم الجسيم النانوي (نانومتر)
الجسيمات النانوية المغلفة بمادة (Poloxamer 407)	الجسيمات النانوية غير المغلفة	
٠.٢ ± ١.١	٠.٠٠ ± ٠.٣	٦٠
٦.٣ ± ١.٥	٠.٤ ± ٢.٦	١٥٠
١.٧ ± ٣٩.٥	١.١ ± ٦.٣	٢٥٠

تقاً عن (Moghimi et al., 1991).

٣- المخ Brain

منذ بداية القرن الواحد والعشرون وقد تبين أن هناك كماً هائلاً من الأدلة التي تشير إلى أن الجسيمات النانوية المغلفة بمادة بولي إيثيلين جليكول المحتوية على المواد ذات النشاط السطحي [Poly(ethylene glycol) containing surfactant] من الممكن أن تتراكم في المخ وذلك كما أشار إليه العالم (Kreuter, 2001). وفي الحقيقة ، فإن ذلك التأثير قد أمكن التأكد منه بواسطة الدراسات النسيجية للمخ في الحيوانات المعاملة حيث تمكنت الجسيمات النانوية من التفاض من الحاجز الدموي المخي (Blood Brain Barrier, BBB) ، وهذا ما أكدت عليه الدراسة التي قام بها العالم (Michaëlis et al., 2006). ليس هذا فحسب وإنما تبين أن الجسيمات النانوية موجبة الشحنة المغلفة بالجسيمات أو الجزيئات الدهنية يمكن امتصاصها ونفاذيتها من خلال الحاجز الدموي المخي وذلك كما أوضحه العالم (Fenst et al., 1999). علاوة على ذلك ، فقد قام العالمان (Lee and Partridge 2001) بإجراء دراسة تثبت بأن البروتينات المحتوية على جزيئات كاتيونية يمكنها الوصول إلى المخ وما حوله من خلايا طلائية في الحيوانات المعاملة سواء أكانت جرذان أم فئران.

٤- العقد الليمفاوية Lymph nodes

منذ عام ١٩٩٥ أشار العالم (Hawley) وآخرون بأن الجسيمات النانوية ذات الأقطار ٦٠ نانومتر والمغلفة بمادة بولي إيثيلين جليكول يمكنها التفاض من خلال العديد من الأنسجة والوصول إلى الجهاز الليمفاوي. وفي نفس هذه الدراسة فقد اتضح أنه اعتماداً على سمك الطبقة الطلائية الخارجية من مادة بولي إيثيلين جليكول فيمكن أن يتم امتصاص الجسيمات النانوية بواسطة العقد الليمفاوية أو أن تتجه مباشرة إلى الجهاز الدوري.

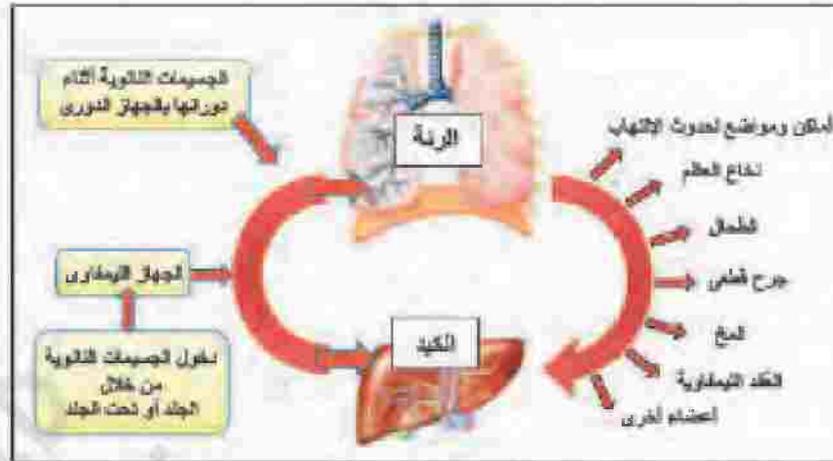
د) العلاقة بين دراسات ما تستهدفه العقاقير وبين علم السمية النانوية

Relevance of Drug Targeting Studies to Nanotoxicology

على الرغم من أن الجسيمات النانوية التي تم تصميمها بهدف استخدامها في أغراض تشخيصية وعلاجية قد سبق إجراء اختبارات تأثيراتها السامة قبل السماح باستخدامها إلا أن هذا لا يعني أنها غير ذات أية تأثيرات سامة

على وجه العموم. وفي الحقيقة، فإن هذه التأثيرات قد يكون من الممكن توقع حدوثها ولكن في الوقت نفسه، فإنه أثناء تصميم تلك الجسيمات النانوية فقد حاول العلماء بقدر المستطاع بأن تكون هناك بعض الشروط التي يجب توافرها بهذه المواد مثل كونها غير سامة، أن تكون قابلة للتدهور الحيوي وغير محفزة أو غير مهيجة للجهاز المناعي. وعلى الرغم من جميع هذه الإحتياطات، فما زالت هناك العديد من الدراسات التي تشير إلى حدوث العديد من التأثيرات السامة بفعل الجسيمات النانوية على العديد من أنواع الخلايا. ومن أمثلة تلك المواد النانوية تلك المعروفة بالبوليمرات الكاتيونية (Cationic polymers) المستخدمة في عمل المعقدات عديدة الإلكتروليتات (Polyelectrolyte complexes) التي يمكنها الوصول إلى الحامض النووي (DNA) وذلك كما أشار إليه العالم (Morgan et al., 1989) وأيضاً الجسيمات النانوية المصنعة من مادة [Poly (lactide-co-glycolide)] التي تم التصريح باستخدامها في المجال الطبي وذلك كما أوضحه العالم (Lam et al., 1993). بناءً على ذلك، فمن غير المحتمل على الإطلاق أن تكون هناك جسيمات نانوية يتم إنتاجها على المستوى الصناعي أو حتى التي تتواجد كملوثات بأن تكون غير سامة أو تكون آمنة بشكل مطلق.

بمعنى آخر، فإنه من خلال المسار الذي من خلاله يتم توزيع الجسيمات النانوية وامتصاصها كما هو مشار إليه في الشكل رقم (٣، ٦)، فإن هذه الجسيمات سيكون مقرها في النهاية إما في نسيج ما أو بداخل خلايا ما والتي قد تكون غير مشار إليها في هذا الشكل. وبصفة عامة، فإنه بمجرد حدوث التراكم للجسيمات النانوية بالنسيج، فقد يتم امتصاصها أولاً بداخل الخلايا، فإذا تم امتصاصها فمن المحتمل أن تستقر هذه الجسيمات في بعض العضيات الخلوية مثل الليسوسومات أو السيتوبلازم وذلك سيكون اعتماداً على خصائص الجسيم النانوي. فإذا ما افترضنا أن هذه الجسيمات النانوية قد استقرت في السيتوبلازم الخلوي، فإن ذلك قد يؤدي إلى حدوث أضرار مباشرة للخلية بالدرجة التي تؤدي إلى موتها. أما إذا استقرت هذه الجسيمات بداخل الليسوسومات، فإن ذلك ينشأ عنه أضرار من نوع آخر تسبب أمراضاً عديدة معروفة باسم أمراض التخزين الليسوسومي (Lysosomal storage diseases) وذلك طبقاً لما أشار إليه العالم (Vellodi, 2004). وحتى بافتراض بأن مادة الجسيم النانوي أمكن تنقيتها وإزالتها بواسطة ماكروفاجات الكبد، فإن عملية الإلتهاام التي تقوم بها الماكروفاجات سوف تشتمل على خطوة أكسدة والتي تحدث نتيجة لتوليد شقوق أكسجينية ضارة. من جهة أخرى، فإنه تبعاً لخصائص الجسيمات النانوية وأحجامها وقابليتها للتجمع، فإنها بعد دخولها إلى الجسم، فإنها تستقر في النهاية إما بالكبد وإما بالعظام وإما بالرائة وإما بما يحيط بهم وإما بينهم من خلايا.



الشكل رقم (٣،٦). رسم تخطيطي يُلخص الأماكن التي يمكن أن تتركز بها الجسيمات النانوية بالعديد من الأنسجة المختلفة القادمة من الجهاز الدوري. أيضاً، فإن هناك تغيرات يمكن حدوثها نتيجة التغير في حجم أو أسطح الجسيمات النانوية وما يتبع عن ذلك من تراكم في مدى واسع من الأعضاء (تقريباً من Garnett, 2007).

ثالثاً: تفاعلات الجسيم النانوي مع الأغشية البيولوجية

Interactions of Nanoparticle with the Biological Membranes

توجد حالياً أنواع كثيرة ومتباينة من الجسيمات النانوية التي أمكن تخليقها والتوصل إلى صفاتها وخصائصها، وهذه الجسيمات اتضح أنها تشمل المعادن وأكاسيدها وذلك كما أشار إليه العديد من العلماء (Bonnemann and Richards, 2001; Fernandez-Garcia et al., 2004; Daniel and Astruc 2004) ليس هذا فحسب وإنما أمكن تصنيع الجسيمات النانوية من أشباه الموصلات (Trindade et al., 2001) وكذلك من مواد عضوية (Horn and Rieger, 2001). وفي الحقيقة، فقد أثبتت جميع هذه الأنواع من الجسيمات النانوية فوائدها بالعديد من التطبيقات والاستخدامات مثل دخولها في تفاعلات التحفيز (Schlogl and Abd Hamid, 2004)، التشخيص والعلاج الطبي (Mornet et al., 2004)، أجهزة التحسس أو الاستشعار (Sensors) (West and Halas, 2003)، مستحضرات التجميل (Somasundaran, 2004) والمواد الطلائية (Parker et al., 1996).

وقد اتضح أن جميع أنواع الجسيمات النانوية متشابهة ومعتقارة في أحجامها مع جميع المواد الأخرى ذات النشاط البيولوجي (وهي أيضاً دقيقة في أحجامها وتصل إلى المقياس النانوي) والتي تستخدم لإحداث تغيير كيميائي على البروتينات أو على نظم تخزين المعلومات وأدائها مثل الحامض النووي (DNA)، (RNA) وكذلك توفير التركيب اللازم لأغشية الأكتين (Actin membrane) والأنبيات الدقيقة (Microtubules). بناءً على ذلك التشابه بين أحجام الجسيمات النانوية المخلقة وبين الجزئيات البيولوجية، فقد أدى ذلك إلى اهتمام العلماء بما يمكن حدوثه من تفاعلات بين الجسيمات النانوية المخلقة وبين الجسيمات الطبيعية ودراسة نواتج هذه التفاعلات. لذلك، فقد أصبحت التأثيرات السامة للجسيمات النانوية المخلقة من الأمور التي تشكل مصدراً مهماً للعديد من التساؤلات وهو الأمر الذي تتج

هنا نشر العديد من المقالات المرجعية التي مازال الكثير من العلماء يستعين بها إلى الآن وذلك مثل ما قام بنشره العلماء التالية (Demaldson et al., 2004 a & b, Dreher, 2004, Wiesner et al., 2006; Hong et al., 2006).

وفي هذا المجال، فقد أشارت الدراسات العديدة إلى أن الجسيمات النانوية لها القدرة على الحركة بشكل مستديم بداخل العديد من الأنسجة البيولوجية، وذلك كما حدث في دراسة تأثير الجسيمات النانوية المخلفة مثل (الكربون ٦٠) في سمك ذئب البحر (Oberdorster, 2004)، الأكاسيد المعدنية في الجرذان (Oberdorster et al., 2004; Elmer et al., 2006) وكذلك على جلد الحنازير (Ryman-Rasmussen et al., 2006). وبناءً على نتائج تلك الدراسات وغيرها، فقد بدأت تساؤلات الكثير من العلماء عن طبيعة الميكانيكيات الفيزيائية التي تسلكها الجسيمات النانوية لكي يتم انتقالها فيما بين الأنسجة ومن ثم إحداث تأثيراتها البيولوجية. بناءً على ذلك، فقد قام العالم (Oberdorster et al., 2002) بنشر مقالة مرجعية تشمل استعراض ما تم إجراؤه من دراسات متعلقة بانتقال أنواع عديدة من الجسيمات النانوية بواسطة الجهاز التنفسي، والجهاز المعدي المعوي والجلد.

من جهة أخرى، فإنه اعتماداً على ما تم التنبؤ به بالكثير من الدراسات، فقد أمكن إثبات أن الجسيمات النانوية لها تأثيرات سامة وهذا في حد ذاته ليس مفاجأة حيث أنه من المتوقع حدوث تأثير سام؛ بسبب الجسم النانوي عند وصوله للمادة البيولوجية ولكن الجديد في هذا الموضوع هو أن الجسيمات النانوية عندما ينتج عنها تأثيرات سامة بصورة حادة حتى وإن كانت بمستوى ضئيل، فإنها يمكن أن تعمل على زيادة التأثيرات السامة التي تحدثها مواداً أخرى. فعلى سبيل المثال، استطاع العالم (Inoue et al., 2006 b) من إثبات أن الجسيمات النانوية المصنعة من الكربون الأسود والتي يبلغ قطرها ١٤ نانومتر قد جعلت الفئران التجريبية أكثر حساسية وبشكل مستديم للتوكسينات البكتيرية داخلية المنشأ (Bacterial endotoxin).

إضافة إلى ما سبق، فقد أمكن التعرف منذ وقت طويل بأن الجسيمات النانوية يمكنها إحداث نوع من النفاذية بالأغشية البيولوجية وهذا بالتحديد ما أمكن إثباته بواسطة مجموعة كبيرة من الدراسات التي تم إجراؤها على مستوى الخلايا الحية والتي من خلالها تم استخدام بوليمرات ذات قياسات نانوية وجسيمات أخرى والتي يمكن إدخالهم وتوصيلهم إلى الحامض النووي (DNA) بداخل أنوية الخلايا (Reineke and Grinstaff, 2005; Luo, 2005; Moghimi et al., 2005 a & b). ومن أجل محاولة فهم كيفية دخول الجسيمات النانوية إلى داخل الخلايا، فقد تم إجراء العديد من الدراسات على مستوى الحويصلات الدهنية (Lipid vesicles) والخلايا (Fischer et al., 2003; Kopatz et al., 2004). وعلى الرغم من ذلك، فإن تفاصيل الميكانيكيات المقترحة التي توضح كيفية دخول الجسيمات النانوية إلى داخل الخلايا وعبورها من الأغشية الخلوية وإحداثها للنفاذية بهذه الأغشية ما زالت مجال الكثير من الجدل العلمي.

ومن أجل التوصل إلى فهم ميكانيكيات النفاذية ودخول الجسيمات النانوية من خلال الغشاء الخلوي، فقد لجأ العديد من العلماء إلى استخدام نوعية من الجزيئات بالغة الدقة والتي أمكن تخليقها كيميائياً وأطلق عليها اسم

(دينديمرات Dendrimers). تلك الجزئيات اتضح أنها تقدم العديد من المميزات مثل التحكم في طريقة تخليقها، معرفة كافة التفاصيل عن صفاتها الفيزيائية والكيميائية وغيرها من خصائص الحجم والشكل بل والتحكم فيهم أيضاً. وعموماً، فإنه للتعرف على ماهي جسيمات الدينديمر، فيمكن الإشارة إليها بشكل مختصر بالفقرات التالية.

أ) تعريف الدينديمرات Identification of Dendrimers

إن مصطلح دينديمر (Dendrimer) له العديد من المعاني المختلفة إلا أنه في مجال التقنية النانوية فيقصد به التركيب المتشعب المكون من عدة جزئيات. ويقصد به أيضاً الجزئ الكبير أهم ما يميزه أن له تركيب متفرع ثلاثي الأبعاد ومن ثم يتميز ذلك الجسيم بإتاحة قدر كبير من مساحة الأسطح متعددة الوظائف. ونظراً لأهمية جسيمات الدينديمرات، فقد أطلق عليها أنها بوليمرات القرن الحادي والعشرون. وقد تم الكشف عن هذه الجسيمات لأول مرة عام ١٩٧٨ بواسطة العالم (Fritz Vogle) ومساعديه. وفي عام ١٩٨٥ قام العالم (Tomalia) بتخليق أول عائلة من الدينديمرات، وسبب التسمية يأتي من كلمة (دينديراي Dendri) والتي تعني شبيه بالشجرة وهي الكلمة المشتقة من اللغة اليونانية (Dendron) والتي تعني شجرة والشق الآخر من الكلمة (mer)، فأصلها من كلمة (meros) ومعناها جزء ويقصد به الجزء المشتق من كلمة بوليمر (Polymer). وفي نفس الفترة الزمنية، قام فريق العالم (Newkome, 1985) بتخليق جزئيات مشابهة للدينديمرات وأطلقوا عليها اسم (Arborols) وهي تسمية مشتقة من الكلمة اللاتينية (Arbor) والتي تعني أيضاً كلمة شجرة. وقد استخدم في هذا المجال مصطلح (Cascade molecules) على نفس النوعية من التراكيب إلا أن مصطلح دينديمرات (Dendrimers) كان الأكثر قبولاً للاستخدام والتعبير عن الجزئيات المتفرعة؛ وذلك بسبب ما تتميز به من أسلوب التفرع وتعدد التكافؤات. علاوة على ذلك، فقد أمكن استخدام هذه الجزئيات في العديد من المجالات الطبية والصيدلانية خاصة في مجال توصيل العقار والعلاج الجيني والعلاج الكيميائي.

ب) تركيب الدينديمرات Structure of Dendrimers

تركب الدينديمرات من وحدات بنائية تبدأ أساساً بذرّة نيتروجين والتي يُضاف إليها ذرة كربون من خلال تفاعلات كيميائية بشكل تكراري مما يكون نتيجة إنتاج شكل تركيب كروي. وقد لوحظ أنه بتكرار تفاعلات الإضافة، حيث يتم إضافة طبقات ومن ثم يزداد حجم الشكل الكروي وهذا بطريقة متحكم فيها طبقاً لما يريده الباحث. والجزء الكروي الناتج اتضح أنه مشابه لبعض الجزئيات الحيوية الكبيرة مثل الألبومين والبيموجلوبين. ومن الناحية التاريخية، فمن أوائل العلماء الذين أشاروا إلى التركيب الكيميائي لجسيمات الدينديمر كان العالم (Fritz Vogtle) وذلك في عام ١٩٧٨ من خلال إحداث نوع من التفاعل المتدفق التابع لتفاعل ميخائيل الذي يتم من خلاله إضافة مجموعة أمين (amino) إلى مجموعة أكريلونتريل (Acrylonitrile) وهو الذي ينتج عنه إضافة نهايتان

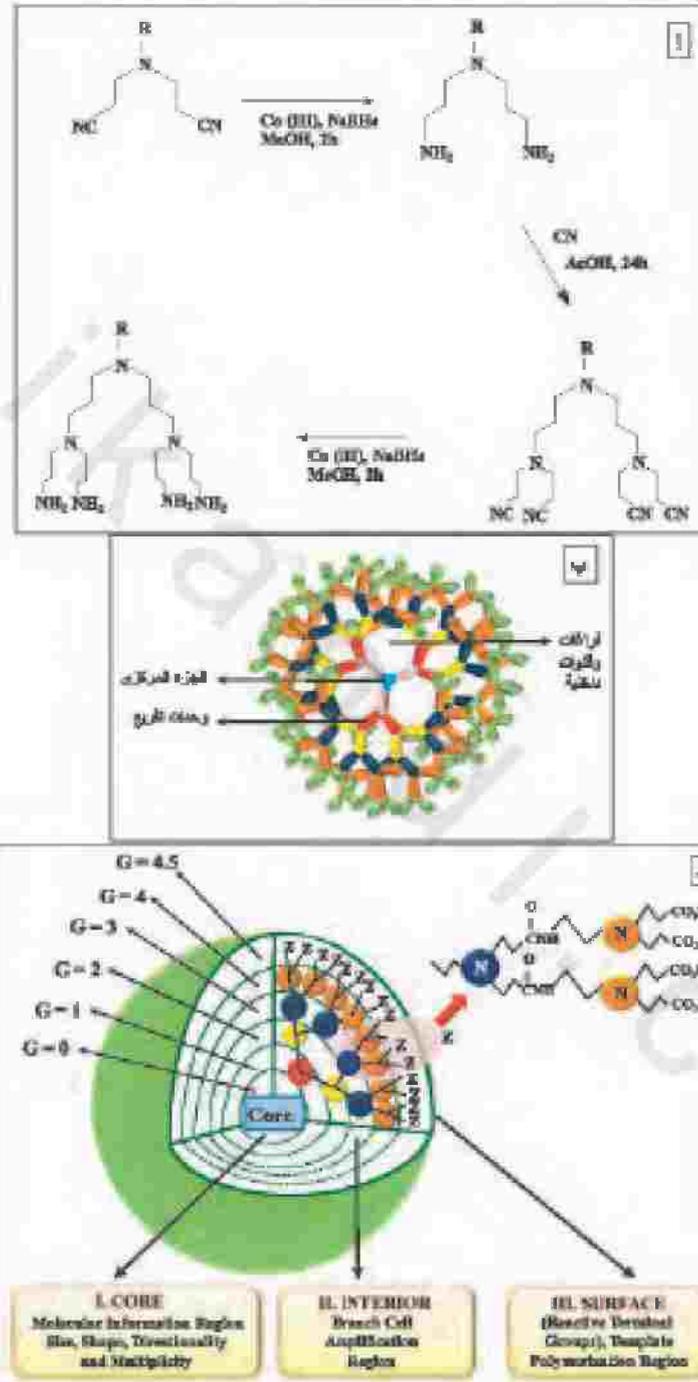
شبهتان بالفراغان أو الفرعان ويتبع ذلك حدوث إختزال لمجاميع النيتريل (Nitrils) مما يؤدي إلى الحصول على مجاميع ثنائية الأمين (Diamines) التي تخضع بعد ذلك لنفس التفاعل التخليقي التالي حيث يتم تزويد التفاعل بمادة [4-cascade benzylamine (2-N,N)] وهذا ما يُطلق عليه الجيل الثاني الشكل رقم (٣.٧) (Buhleier, et al., 1978). بمعنى آخر، فإنه في كل مرة تضاف فيه مجاميع أمين يُطلق على الناتج إسم جيل (Generation). فعلى سبيل المثال، بعد إضافة أول مجاميع من الأمين فإن الناتج يسمى الجيل الأول وبإضافة مجاميع أمين مرة أخرى فالناتج يُطلق عليه الجيل الثاني وهكذا.

ومن الناحية الشكلية والتركيبية، فإن جسيمات الدينندرايمر تتميز بأنها تحتوي على ثلاثة مكونات أو أجزاء من التراكيب الهندسية البنائية، الجزء أو المكون الأول وهو عبارة عن اللب (الجزء المركزي) البادئ (An initiator core) يليه المكون أو الجزء الثاني وهو عبارة عن مجموعة من الطبقات الداخلية التي يُطلق عليها أجيال (Generations) والتي تتكون بدورها من وحدات بنائية تكرارية والتي تتصل بشكل شعاعي بالجزء المركزي البنائي ثم الجزء أو المكون الثالث والأخير وهو عبارة عن الجزء الخارجي (الانتهائي) وهو القائم بأداء المهمة الوظيفية (يُطلق عليه الطرف الوظيفي) التي يقوم بها الجسم وهو الذي يتصل بالجزء الخارجي من الطبقات الداخلية.

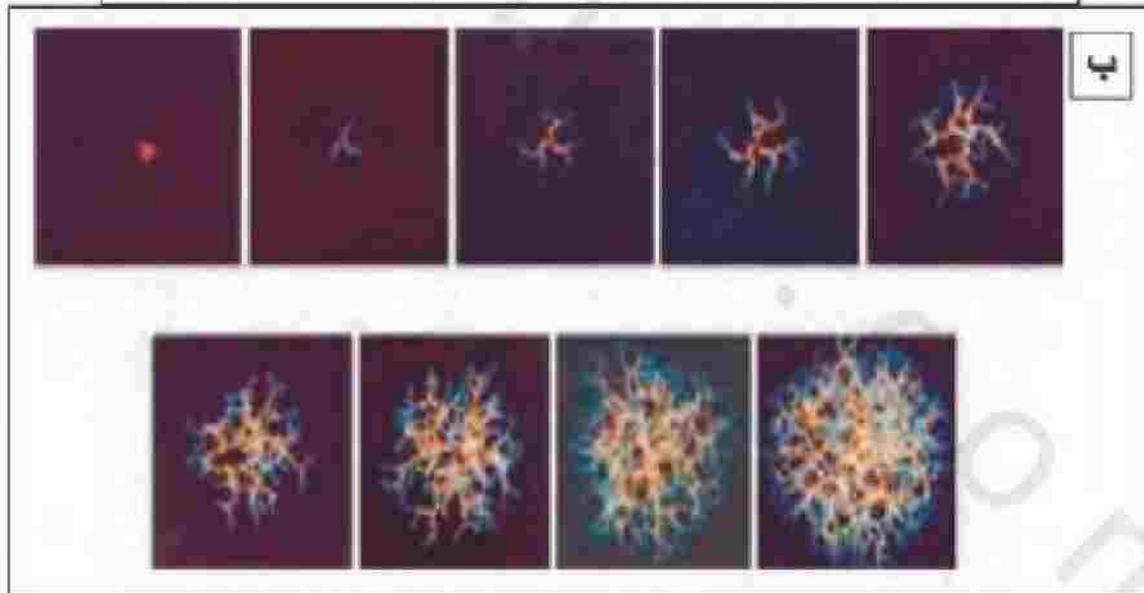
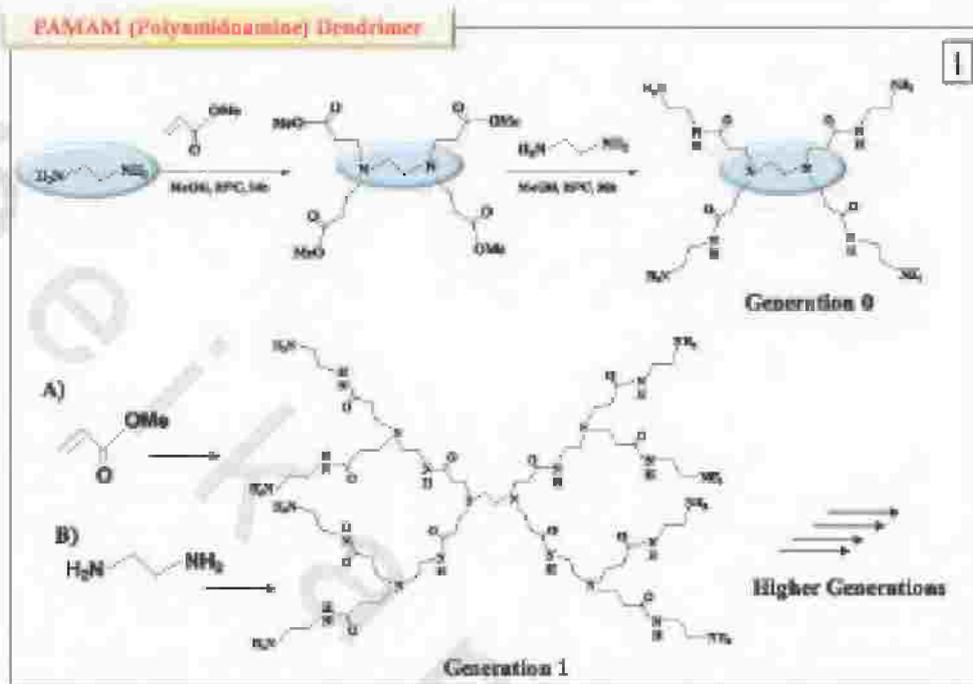
وفيما يتعلق بكيفية تخليق جسيمات الدينندرايمر، فهناك أكثر من طريقة، إحداها يُطلق عليها طريقة التباعد (Divergent approach) وهناك طريقة أخرى يُطلق عليها اسم طريقة التقارب (Convergent). وفي الحقيقة، فإن كل من الطريقتين يعاني الكثير من الميوب المتعلقة بالنواحي التطبيقية لإجراء تفاعلات التخليق علاوة على ما تستهلكه من وقت كبير في إجراء عمليات التنقية. وهناك طرق أخرى من التخليق يُطلق عليها تخليق الطور الصلب (The Solid-Phase Synthesis) وهي من الطرق التي لها العديد من المميزات أولها إمكانية استخدام مدى واسع من المواد الكيميائية بدون اللجوء إلى المشاكل المتعلقة لعمليات التنقية باستثناء عمليات الغسيل المتكرر. تأتي هذه المميزات هي إمكانية استخدام وحدات بنائية تتيج من إجراء تفاعلات تخليق لجسيمات غير متناظرة (Unsymmetrical dendrimers). ثالث هذه المميزات هو أن المادة أو الجسم الناتج (Resin) المتكون المرتبط بالدينندرايمر له القدرة على إستيعاب جزيئات أخرى.

ومن أشهر جسيمات الدينندرايمرات التي تم تخليقها كانت جسيمات بولي أميدو أمين [Polyamidoamine (PAMAM)] والتي قام العالم (Tomalia et al., 1985) بتخليقها لأول مرة (الشكل رقم ٣.٨). وفي هذا التفاعل يتم التخليق على مرحلتين، الأولى تشمل إضافة شاملة باتباع تفاعل ميخائيل وذلك لجزء مركزي أولي أو ابتدائي مكون من مجموعة أمين مع مادة ميثيل أكريلات (Methyl acrylate) يتبع ذلك تفاعلات إضافة لمجاميع الأميد على مجاميع الإستر الناتجة. وقد أمكن الحصول من هذه التفاعلات على جسيمات دينندرايمر تحتوي على ٩ طبقات أو ما يُطلق عليه (٩ أجيال

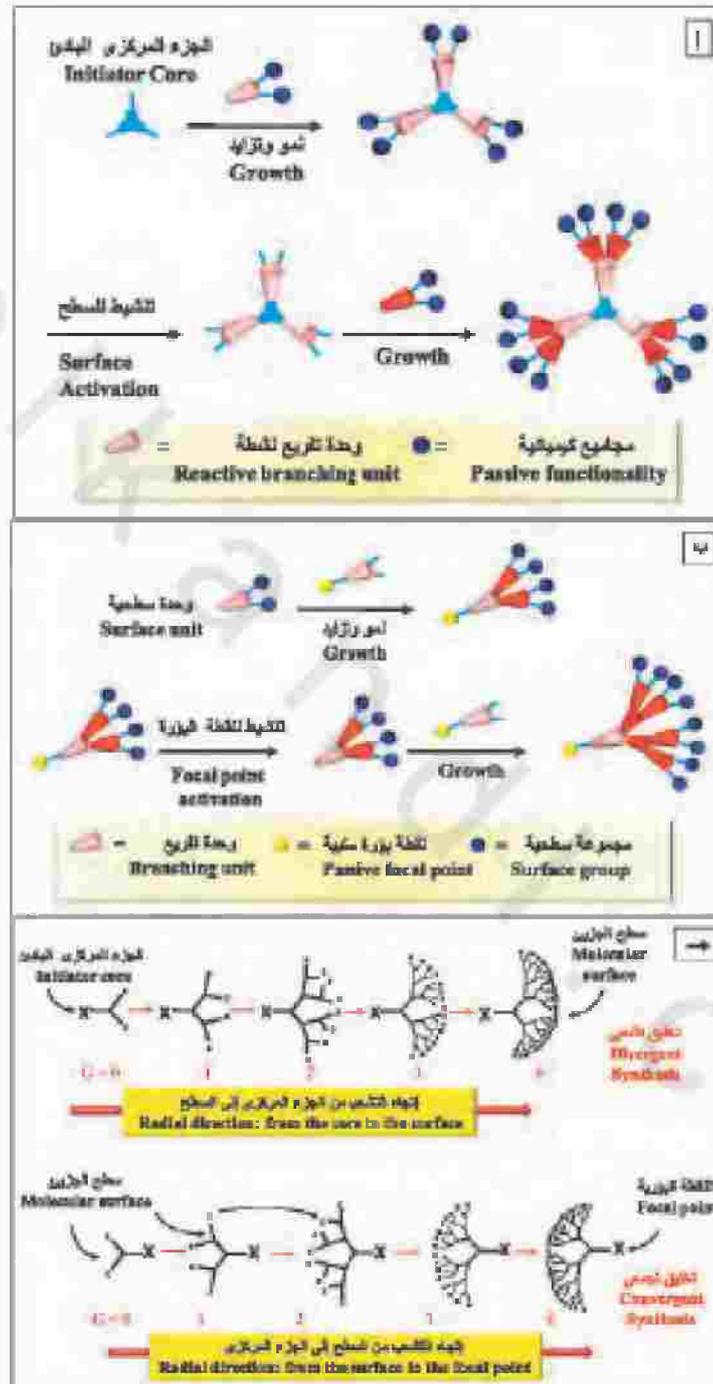
9 generations). وبصورة مبسطة، فإنه يمكن التعرف على طبيعة تخليق جسيمات الدينديرايمرات من خلال الرسم التوضيحي في الشكل رقم (٣،٩).



الشكل رقم (٣،٧). رسم تخطيطي يوضح (أ) أساس التفاعل الكيميائي لتكوين الدينديرايمرات، (ب) التركيب العام للدينديرايمر، (ج) الجزء الداخلي والخارجي لجسيم الدينديرايمر (تقريباً عن Gohel, 2009).



الشكل رقم (٨، ٣). شكل يوضح (أ) كيفية تكوين جسيمات الـ dendrimers من النوع (بولي أمينو أمين PAMAM) من مرحلة الجزء المركزي وحتى الجيل السابع ويوضح كيفية زيادة قطر الجسيمات وعدد المجاميع السطحية، (ب) صور توضح نتائج تخليق جسيمات الـ dendrimers من النوع (بولي أمينو أمين PAMAM) المتجانسة (تقلاً عن Gebel, 2009).



الشكل رقم (٣، ٩). رسم تخطيطي يوضح (أ) تخليق الدندروإيمرات بطريقة التشعب، (ب) بطريقة التجميع، (ج) مقارنة بين الطريقتين (تقلاً عن Gohel, 2009).

ج) أنواع الدندرايمرات Types of Dendrimers

طبقاً لنوع التفاعل الكيميائي المتبع ونوعية المواد الكيميائية الداخلة في تفاعلات التخليق وعدد الطبقات

(الأجيال) المراد إدخالها على الجزيء، فهناك العديد من أنواع جسيمات الدندرايمرات وهذه الأنواع يُطلق عليها أسماءها من خلال طبيعة المواد الداخلة في تركيبها أو شكلها النهائي كالاتي:

- *- PAMAM dendrimers: Poly (amidoamine).
- *- PAMAMOS dendrimers: Poly (amidoamine-organosilicon).
- *- PPI dendrimers: Poly (Propylene Imine).
- *- Tecto dendrimers.
- *- Multilingual dendrimers.
- *- Chiral dendrimers.
- *- Hybrid dendrimer Linear Polymer.
- *- Amphiphilic dendrimers.
- *- Micellar dendrimers.
- *- Multiple antigen peptide dendrimers.
- *- Frechet Type dendrimers.

وفي الحقيقة، فإن كافة التفاصيل المتعلقة بجسيمات الدندرايمرات والتي لا يسع المجال هنا لذكرها، فيمكن

للقارئ المهتم بهذه الجزئية من الجسيمات الرجوع إلى المقالة المرجعية التي قام العالم (Gohel, 2009) بنشرها والتي ذكر فيها المعلومات الأساسية عن هذه الجسيمات وتأثيرها بالعوامل البيولوجية المختلفة من درجة حموضة، كيفية إذابتها وتأثيرها بالأملاح وخصائصها وطرق تخليقها واستخداماتها المختلفة وكذلك سميتها الخلوية.

د) استخدام الدندرايمرات في دراسات السمية النانوية Usage of Dendrimers in Nanotoxicology Studies

قام العديد من العلماء باستخدام نوعية من جسيمات الدندرايمرات التي يُطلق عليها (PAMAM) وهي

عبارة عن مختصر للإسم الكيميائي [Poly (amidoamine)] والتي أمكن استخدامها بالعديد من التجارب الخاصة بكيفية تخليقها والتحكم في أشكالها وأحجام جزئياتها وتأثيراتها السامة بل وتوافقها مع النظم البيولوجية (Tomalia et al., 1990 & 2003; Duncan and Izzo, 2005). ونظراً لما تقدمه هذه الجسيمات من مميزات عديدة، فقد كثرت استخداماتها كنموذج أمكن الاعتماد عليه في دراسات السمية النانوية؛ وذلك تبعاً لمميزاتها مثل سهولة تخليقها، التحكم في شكلها بطريقة أكثر دقة عن باقي الجسيمات النانوية، معرفة التركيب الكيميائي لجميع مكوناتها بشكل دقيق، معرفة كيمياء أسطحها، وجود مجاميع أمين على أسطحها الخارجية وهذا في حد ذاته يعزف من مميزات جسيمات الدندرايمرات مثل إمكانية تعديل هذه المجاميع حيث يمكن تعديل هذه المجاميع واستبدالها بمجاميع كيميائية أخرى مثل الأسياميد (Acetamide)، حامض الكربوكسيليك (Carboxylic acid). أيضاً، لوحظ أن طريقة تركيبها الذي يأخذ الشكل ثلاثي الأبعاد وهذا وبذلك يجعل هناك إمكانية كبيرة للتلامس بين هذه الجزئيات وبين غيرها مما يحيط بها بالوسط البيولوجي (Moeke et al., 2005) وكذلك لوحظ أنه تبعاً لما سبق من مميزات تركيبية، فإن ذلك

يجعل منها جسيمات تحتوي على جزيئات متعددة التكافؤات وهذا ما يزيد من فرصة تفاعلاتها مع الكثير من الجزيئات البيولوجية (Hong et al., 2007).

١- تفاعل الجسيمات النانوية مع الأغشية ثنائية الطبقة الدهنية المخلفة

Interactions of nanoparticles with synthetic lipid bilayer

في البداية يجب التنويه إلى أن هناك عديداً من العلماء الذين تمكنوا من التوصل إلى تخليق نوعية من الأغشية ثنائية الطبقة الدهنية يُطلق عليها [Supported Lipid Bilayers (SLB)] وهي التي تحاكي وتشابه في تركيبها الأغشية الخلوية. وبمجرد أن توصلوا إلى ذلك، فقد قاموا باستخدام هذا النموذج من الطبقات الدهنية في دراسات نفاذية الجسيمات النانوية من خلال هذه الأغشية المخلفة حتى يمكن التوصل لمعرفة ميكانيكية إحداث التفاعلات بين الجسيمات النانوية وبين مكونات هذه الطبقة. وهذه النوعية من الدراسات قد قام بإجرائها العديد من العلماء كمرحلة أولية قبل اللجوء إلى اختبار تأثير ونفاذية نفس الجسيمات النانوية على الخلايا المنزرعة خارج الجسم الحي (*in vitro*) (Hong et al., 2004; Meeke et al., 2004 a & b and 2005). ومن نتائج هذه الدراسات أمكن التوصل إلى وجود علاقة تربط بين عدد طبقات (عدد أجيال) جزيئات الدينديرايمرات وبين القدرة على إحداث فجوات بالأغشية ثنائية الطبقة الدهنية وهذا بالطبع يوضح العلاقة التي تربط بين حجم الجسيم النانوي وقطره وبين قدرته على النفاذ من خلال الغشاء ثنائي الطبقة الدهنية.

٢- دراسات نفاذية الجسيمات النانوية للأغشية الخلوية

Studies of nanoparticles penetration to the cellular membranes

تمكن الكثير من الباحثين من إثبات العلاقة بين حجم الجسيمات النانوية وبين قدرتها على النفاذ من خلال الأغشية الخلوية بالخلايا المنزرعة خارج الجسم الحي (*in vitro*). وهذه العلاقة قد أمكن إثباتها من خلال ما تم اختباره من سُمك الجسيمات النانوية من جزيئات الدينديرايمرات وبين الكمية من إنزيم لاكتيك ديهيدروجينيز [Lactic dehydrogenase (LDH)] وإنزيم ليوسيفيريز (Luciferase) (Hong et al., 2006 a & b). وقد أمكن إجراء هذه الاختبارات عند مستوى من تركيزات الجسيمات النانوية غير السامة خلويًا وذلك على العديد من الخطوط الخلوية الثديية المستمدة من الإنسان وكذلك الجرذان. وقد أمكن إثبات علاقة التناسب بين الكمية التي تنساب من إنزيم (LDH) من داخل الخلايا وبين مدى كبير من التركيزات المختبرة من جسيمات الدينديرايمرات سواء ذات الخمسة أجيال (٥ طبقات) أو السبعة أجيال (٧ طبقات)؛ وذلك بمستويات من التركيزات تراوحت ما بين ١٠-٥٠٠ نانومولار. وكانت من أهم ما تم الحصول عليه من نتائج تشير إلى عدم حدوث انسياب لإنزيم (LDH) وبين التركيزات المختبرة من الدينديرايمرات المؤسلة (Acetylated) ذات الخمسة طبقات بينما الجسيمات ذات الطبقات السبعة (٧ أجيال) والتي تنتهي بمجموعة أمين (G7-NH₂) فقد تيسبت في إحداث انسياب لإنزيم (LDH) بصورة أكبر

عن ما أحدثته جزيئات الدينندرايمرات ذات الطبقات الخمسة والمنتوية بمجموعة أمين ($GS-NH_2$). وقد أشارت الدراسات إلى أن جسيمات الدينندرايمرات المؤسفة المتعادلة لم تسبب انسياب لإنزيم (LDH) من داخل الخلايا وذلك بسبب أنها لم تدخل الخلايا وإنما حدث لها ابتلاع خلوي بفعل مستقبلات حامض الفوليك الذي سمح بحدوث عملية الابتلاع لجسيمات الدينندرايمر دون خروج أو انسياب لإنزيم (LDH). ليس هذا فحسب وإنما اتضح أن عملية انسياب إنزيم (LDH) ترتبط بحدوث تفاعل الجسيمات النانوية موجبة الشحنة مع الغشاء الخلوي وليس نتيجة دخول هذه الجسيمات إلى داخل الخلايا (Hong et al., 2004).

رابعاً: نماذج الحاجز البيولوجي المشيمي لتقييم انتقال الجسيم النانوي

Models of Placental Biological Barrier for Evaluation of Nanoparticle Transfer

نظراً لحقيقة تعرض الإنسان للجسيمات النانوية المتواجدة بالهواء، فإن هذا التعرض اتضح أنه يزداد بشكل كبير مع تطور أساليب الصناعة خاصة في مجال التقنيات النانوية والتي يقوم الإنسان بتصنيع واستهلاك منتجاتها (Oberdorster et al., 2005 a & b). بناءً على ذلك، فقد كان لا بد من الأخذ في الحسبان بأن هناك تزايداً في احتمال انسياب هذه الجسيمات إلى المكونات البيئية المختلفة بل وانتصاصها ودخولها إلى جسم الإنسان وما قد ينتج عن ذلك من مخاطر كبيرة غير معلومة المدى. وفي هذا السياق، فما زال هناك نقصاً شديداً في مقدار المعلومات المتعلقة بالتأثيرات المحتملة التي قد تحدثها الجسيمات النانوية على صحة الإنسان والبيئة وذلك كما تم تسليط الضوء عليه بالعديد من التقارير الصادرة عن الهيئات الدولية مثل وكالة (DEFRA, 2005)، الوكالة الأمريكية لحماية البيئة (US EPA, 2005 a & b)، الجمعية والأكاديمية الملكية للمهندسين في علم وتقنية النانو (The Royal Society, 2004). وجميع هذه التقارير كانت تشير إلى التأكيد على ضرورة توفير الوسيلة المناسبة لإجراء عمليات تقييم مخاطر الجسيمات النانوية بل وإنشاء النماذج المناسبة التي تحاكي الحواجز التي يمكن أن تعترض مسار هذه الجسيمات.

من جهة أخرى، فقد اتضح أن عملية تعرض الإنسان للجسيمات النانوية من المحتمل أن يكون منشأها من استخدام هذه الجسيمات أثناء العلاج الكيميائي أو نتيجة لتعاطيها كوسيلة تشخيصية وهذا بالطبع علاوة على موضوع التعرض المهني والبيئي من مصادر تصنيع هذه الجسيمات أو من خلال مصادر الاحتراق بالكثير من الأماكن البيئية. ومن الناحية الأكاديمية، فقد اتضح أن الجسيمات النانوية كما سبق الإشارة إلى ذلك سلفاً، أن لها العديد من الخصائص التي تجعل لها القدرة على التفاعل مع ما يحيط بها من مكونات بيولوجية. والسبب من وراء ذلك اتضح أنه راجع إلى حجمها الدقيق وما يصاحب ذلك من زيادة في مساحة سطحها لكل وحدة كتلة وهذا ما يؤدي إلى تزايد احتمال تفاعلاتها البيولوجية التي تختلف عن سلوك الجسيمات التي تكبرها في الحجم. وهذا في مجمله ما جعل هناك ضرورة لدراسة تأثير الخصائص الفيزيائية الكيميائية للجسيمات النانوية المختلفة وذلك مثل

مساحة السطح، والحجم، والتوزيع، والنقاوة الكيميائية، والبللورية، والشحنة، وتركيب السطح الخارجي وقابليته للتفاعل، والمكونات العضوية وغير العضوية بالسطح الخارجي، الذوبانية، والشكل والتكتل (Nel et al., 2006). فعلى سبيل المثال، أمكن إثبات أن صغر الحجم تزداد معه مساحة السطح، ومن ثم، فإن ذلك يتبعه تزايد في نسبة الذرات إلى الجزيئات بمنطقة السطح الخارجي ومن ثم تزداد القدرة التفاعلية لمكونات السطح الخارجي (Oberdörster, 2005 a & b).

أ) النفاذية من خلال الأجهزة والأنظمة البيولوجية Penetration Through the Biological Systems

هناك الكثير من الدراسات التي تم إجراؤها على الجسيمات النانوية التي أثبتت أن هذه الجسيمات قادرة على الدخول إلى العديد من أعضاء ومكونات جسم الإنسان من خلال الإستنشاق. والسبب من وراء ذلك كان راجعاً إلى قدرة مدى واسع من أنواع هذه الجسيمات النفاذ من خلال الجهاز التنفسي والرئة والخويصلات الهوائية لتصل إلى الدم ومنه إلى الكثير من أعضاء الجسم. ومن هذه اللحقة فهناك العديد من الحواجز البيولوجية التي قد تعترض هذه الجسيمات. فعلى سبيل المثال، أمكن إثبات عملية التوزيع للجسيمات النانوية التي يُطلق عليها النقاط الكمية [Quantum Dots, (QD)] إلى معظم أعضاء الجسم مثل الكبد، الكلى، الرئة، الطحال، العقد الليمفاوية وغنغاع العظم في الفئران التجريبية (Hoshino et al., 2004 a & b; Bailou et al., 2004) ومع ذلك، فما زال هناك الاحتياج إلى المزيد من الدراسات حول تلك الجزئية؛ نظراً لقلّة النتائج التي تؤيد ذلك الإعتقاد.

أيضاً، فقد اتضح أن كل من الجلد والجهاز المعدي المعوي من البوابات البديلة لدخول الجسيمات النانوية حيث تبين أن الكثير من الجسيمات النانوية التي تم تصميمها قد أمكن تحضيرها على صورة سائلة (Colvin, 2003)، ومن ثم فإن إنتقالها من خلال الأمعاء قد يسهل من عملية توزيعها بداخل الجسم؛ بسبب انتقالها من خلال الحواجز البيولوجية مثل الحاجز الدموي المخي (Blood Brain Barrier) والمشيمة (Placenta). وللتأكيد على ذلك، فإن امتصاص الجسيمات النانوية من خلال الأمعاء قد أمكن إثباته بعد تناول هذه الجسيمات عن طريق الفم سواءً من خلال التغذية أو الإدخال عن طريق الأنبوبة المعدية (Holsapple et al., 2005). أيضاً، فقد أمكن إيضاح أن الجسيمات النانوية الموجودة بالطعام قد تمكنت من الوصول إلى الجهاز الليمفاوي من خلال الأمعاء وتم إعادة توزيعها إلى أعضاء أخرى بصورة أكبر من الجسيمات الكبيرة (Donaldson et al., 2006).

وفي حقيقة الأمر، فقد أشارت بعض الدراسات إلى أن محصلة امتصاص الجسم للجسيمات النانوية قد يكون مرتبطاً بطبيعة خصائص وصفات الجسيم النانوي والذي قد يكون ذو تأثير على المستويات الخلوية (Cellular) و تحت الخلوية (Subcellular) أو على مستوى البروتين في خلايا وأنسجة الجسم حيث قد تكون لهذا الجسيم تأثيرات معاكسة وضارة مثل إحداث الإجهاد التأكسدي (Oxidative Stress)، إتهابات (Inflammation)، دنوة للبروتين

(Denaturation of protein) ، أضرار بالأغشية الخلوية ، ضرر بالحمض النووي (DNA) وحدث تفاعلات مناعية (Nel et al., 2006).

إضافة لما سبق، فقد أشارت دراسات أخرى إلى أن بعض خصائص الجسيم النانوي مثل شحنة سطحه قد تؤثر على قدرته وقابليته على العبور والنفاذ من الحواجز البيولوجية ومن ثم مستوى توزيعه فيما بين الأنسجة (Lockman et al., 2004; McNeil, 2005). كذلك، فمن المتوقع أن حدوث ظاهرة التجمع والتكتل (Aggregation/agglomeration) للجسيمات النانوية قد تؤدي إلى زيادة معدلات ثباتها نتيجة إصطيادها وإحتجازها في بعض الأنسجة مثل المشيمة وهذا ما قد ينتج عنه منع انتقالها إلى الجنين ولكن ذلك يكون اعتماداً على مكان حدوث التجمع والتكتل. وقد يتبادر سؤال مهم متعلق بسبب الإهتمام بدراسة احتمالية انتقال الجسيمات النانوية من خلال المشيمة.

وفي الحقيقة، فإن ذلك يكون راجعاً إلى حقيقة أن الجنين بداخل المشيمة يكون أكثر حساسية للتأثيرات الناتجة عن تعرض الأم للمواد الغريبة الخارجية مقارنة بالكائن البالغ؛ وذلك بسبب أن عمليات التطور والإنقسامات الخلوية والنمو في الأجنة تكون أسرع بكثير عن ما هو موجود بالكائن البالغ ومن ثم تكون الكثير من العمليات الحيوية والكيميائية بداخل الجنين أكثر حساسية وتأثراً بسبب وصول المواد الغريبة إليه أو بسبب عدم كفاءة المشيمة في القيام بوظائفها تجاهه (Baricer, 2004). من هنا كان الإهتمام بدراسة انتقال الجسيمات النانوية من خلال المشيمة والقادمة من الجهاز الدوري للأم مروراً بالمشيمة ووصولاً إلى الجنين من الأمور التي كان ينبغي دراستها بشكل مكثف وتفصيلي. وقد أمكن إجراء العديد من الدراسات في تلك الجزئية ولكن من حيث انتقال العديد من الملوثات البيئية من خلال المشيمة مثل المبيدات الحشرية التي تنتمي إلى قسم المركبات الكلورينية العضوية وبعض المركبات الفوسفورية العضوية وغيرهم.

وفيما يتعلق بطبيعة تركيب المشيمة (الشكل رقم ٣، ١٠) ووظيفتها وأنواعها فيما بين الثدييات، فعلى القارئ المهتم بهذه التفاصيل الرجوع إلى ما نشره العديد من العلماء (Page, 1993; Enders and Blankenship 1999). وبناءً على أهمية المشيمة في عملية التحكم ونفاذية المواد الغذائية والتبادل بين المواد فيما بين دم الأم والجنين، فقد أثبتت الدراسات إلى أن عملية الانتقال في الاتجاه من الأم إلى الجنين من خلال المشيمة تعتمد على العديد من العوامل الفيزيائية للمواد المنتقلة مثل مساحة سطحها، سمك الأغشية، معدل سريان الدم، والضغط اليليدروستاتيكي بداخل المشيمة، والمسام الشعرية بالجنين، وضغط الدم، ومستوى الاختلاف بين الضغط الأسموزي للأم والجنين (Bourget et al., 1995). علاوة على ذلك، فقد تبين أن معدلات انتقال المشيمة قد يتغير في علاقة مع سمكها الذي يصبح أكثر رقة أو أقل سماكة عند نهاية فترة الحمل (Sastry, 1999).

السيدات الحوامل ؛ نتيجة تعرضهن للمركبات المختبرة أثناء فترة الحمل. ومن أمثلة تلك المخاطر، تلك التي لا يمكن مشاهدتها إلا بعد فترة طويلة من حدوثها والتي قد تكون على هيئة تشوهات بالأجنة مثل ما أحدثه قديماً عقار الثاليدوميد (Thalidomide) وعقار داي إيثيل ستبيسترو (Diethylstilbestero). بناءً على ذلك، فما زال هذا المجال في إحتياج شديد لوجود بدائل عن استخدام السيدات الحوامل من أجل بحث إمكانية انتقال العديد من المواد الجديدة مثل الجسيمات النانوية عن طريق المشيمة. وفي هذا السياق، فقد أمكن استخدام العديد من الطرق التي سيتم التتويه إليها في مجال دراسة انتقال المواد عن طريق المشيمة وذلك فيما يلي :

١- استخدام الحيوانات Utilization of animals

يمكن استخدام العديد من أنواع الحيوانات خاصة الثديية مثل الفئران والجرفان في تجارب النقل المشيمي. ومن ضمن مميزات استخدامها أنها تمثل محاكاة لما يمكن حدوثه في الإنسان من ميكانيكيات امتصاص للمركب، تأثير العمليات الأيضية والفيسيولوجية ولكن مع الأخذ في الاعتبار مدى الاختلاف الكبير بين تركيب المشيمة في الحيوانات وبين تركيبها في الإنسان. ولمواجهة تلك الاختلافات، فقد يلجأ العديد من الباحثين إلى استخدام خنازير غينيا ؛ نتيجة تشابه تركيب المشيمة لديها مع مشيمة الإنسان كما أن فترة الحمل تستمر لفترة ٦٣ يوماً. ومن ضمن الباحثين الذين أشاروا باستخدام خنازير غينيا هو العالم (Millard et al., 2011).

٢- استخدام مشيمة الإنسان في نظام ارتشاحي خارج الجسم Human perfusion ex vivo placenta model

للتغلب على بعض الصعوبات والعيوب التي تواجه استخدام النماذج الحيوانية، أمكن اللجوء إلى تقنية تعتمد على استخدام مشيمة الإنسان بعد انتزاعها من بعض السيدات ووضعها في أجهزة متخصصة ومحاليل فيسيولوجية منظمه (Salines) أو بيئات غذائية خاصة بزراعة الأنسجة (Tissue Culture Media) تكون لها قدرة الحفاظ على حيوية المشيمة لفترات زمنية قد تصل إلى ٤٨ ساعة حيث يتم وضع مضخة المحلول الفسيولوجي وتوصيلها في مكان الشريان وأيضاً توصيل مكان لسحب ذلك المحلول من أحد الأوردة المشيمية والذي سيوجه للجنين (طريقة محاكاة) ومن هنا يتم عمل دائرة مغلقة يمكن من خلالها تقديم المركب أو المادة المراد دراسة انتقالها ووضعها في المحلول الفسيولوجي الداخل إلى المشيمة والكشف عنه في المحلول الخارج منها. وبالقطف فهناك بعض الاعتبارات التي يجب الاهتمام بها وذلك مثل استخدام مادة أنتي بايرين (Antipyrine) كمادة مرجعية وأن يوضع كل من مادة ديكستران (Dextran) والبيومين سيرم الإنسان (Human serum albumin) حتى يتم تجنب حدوث الاستسقاء ولكن مع الأخذ في الاعتبار أن انتقال بعض المواد مثل المركبات المحبة للدهون قد تتأثر نتيجة لوجود الألبومين وهذا له قدر كبير من الأهمية في حالة دراسة انتقال الجسيمات النانوية التي سبق طلاؤها بمواد محبة للدهون.

وعموماً، فإنه على الرغم من أن هذه الطريقة تعتبر وسيلة ممتازة للتعرف على انتقال المواد في مشيمة الإنسان إلا أن من أكثر عيوبها هو تكلفتها الاقتصادية الباهظة كما أنها تعتبر من التقنيات المعقدة والتي تحتاج إلى تدريب مستمر حتى يمكن التوصل إلى نتائج مرضية يمكن الوثوق بها إحصائياً. لذلك، فإنه على القارئ المهتم بالحصول على المزيد من المعلومات المتعلقة بتلك الجزئية الرجوع إلى أحد الأعمال التي قام بها بعض العلماء في ذلك المجال (Panigel, 1962; Schneider et al., 1972; Dancis et al., 1980; Vahäkängas and Myllynem, 2006).

٣- نماذج المزرعة الخلوية Cell culture models

نظراً للتطور والنجاح الكبير الذي تم إنجازه وتحقيقه في مجال زراعة الأنسجة، فقد تمكن العلماء من زراعة العديد من أنواع الأنسجة والتي من بينها أنسجة المشيمة والإبقاء على حيويتها خارج الجسم ولكن لفترات زمنية محدودة (Sastry, 1999; Vahäkängas and Myllynem, 2006). وللتغلب على ذلك، فقد أمكن التوصل إلى خطوط خلوية (Cell lines) مستمدة من الأورام السرطانية بالمشيمة (Choriocarcinoma cell line). وفي هذا الإطار، فتوجد العديد من الخطوط الخلوية المتاحة تجارياً مثل (BeWo)، (JAR) و (JEG-3) وهي من الخطوط التي يعود مصدرها إلى أورام خبيثة بالمشيمة أثناء الشهور الثلاثة الأولى من الحمل. ومن ضمن مميزات هذه الخطوط الخلوية هي إفرازها للهرمونات المشيمية مثل (hCG) والبروجيستيرون (Progesteron) (Sastry, 1996). وفي الحقيقة، فإن كل خط من الخطوط الخلوية الثلاثة سالفة الذكر اتضح أن له مميزات وأيضاً عيوب عن الخطان الخلويين الآخرين إلا أن الخط الخلوي (BeWo) له العديد من المميزات التي تجعله من الخطوط الخلوية الأفضل استخداماً وذلك مثل قابليته لتكوين طبقة من الخلايا في أوعية المزرعة، إمكانية نموه على أغشية شبه منفذة (Semi-permeable membrane) بمعدلات سريعة أثناء نموه علاوة على إمكانية التمييز بين أشكال النمو المختلفة. وللاستدلال على تفضيل ذلك الخط الخلوي، فقد قام العديد من العلماء باستخدامه بالكثير من الدراسات الخاصة بالنقل المشيمي (Liu et al., 1997; Ampasavate et al., 2002; Jn and Audus, 2005; Bode et al., 2006; Serrano et al., 2007).

خامساً: الحركيات الصيدلانية للمواد النانوية

Pharmacokinetics of Nanomaterials

توجد مجموعة من العناصر التي تؤدي لفهم نشاط المواد النانوية بداخل النظام البيولوجي للكائن الحي. هذه العناصر تتركز على معرفة معدلات امتصاص وتوزيع وإيض وإزالة المواد النانوية وهي في مجملها عبارة عن مجموعة من العمليات الحيوية التي يُطلق عليها المختصر (ADME) [Absorption, Distribution, Metabolism and Elimination]. وفي الحقيقة، فإن أهمية هذه المعلومات والنياسات الأساسية اتضح ضرورة الإلمام بها من الأمور المهمة حتى يمكن ربط الجرعة من هذه المواد النانوية بما تحدثه من تأثير يمكن ملاحظته. وعموماً، فإن تلك العمليات

الحيوية من الضروري قياسها وتقييمها يُطلق عليها في أنظمة الكيمياء الصيدلة مصطلح الحركيات الصيدلانية (Pharmacokinetics) أو حركيات التسمم (Toxicokinetics) ويُطلق عليها في مجال العلوم النانوية مصطلح الحركيات الحيوية (Biokinetics).

وعموماً، فأي ما كان المصطلح المستخدم للتعبير عن هذه العمليات الحيوية، فهناك عدد قليل جداً من دراسات الحركيات الصيدلانية هي فقط التي تم إجراؤها على المواد النانوية خاصة التي تم تصنيعها ليس بهدف الاستخدام العلاجي أو الطبي. وفي حقيقة الأمر، فهناك العديد من القياسات والاعتبارات المهمة التي يجب أن تؤخذ في الاعتبار عند إجراء تقييم المخاطر لأي مادة نانوية وجميعها تعتمد على معرفة الجرعة من هذه المادة النانوية التي تتواجد عند النسيج الذي تستهدفه ويتم احتجازها به. ومن هنا تأتي أهمية تقييم مخاطر تلك المادة خاصة إذا كانت لها القدرة على إحداث تأثيرات سامة.

أ) ما هي دراسات الحركيات الصيدلانية ؟ *What are Pharmacokinetic Studies?*

إن الحركيات الصيدلانية تم تعريفها على أنها علم معرفة كمية معدلات حدوث عملية الإمتصاص، التوزيع، أبيض وإخراج المواد بجسم الإنسان باستخدام نماذج رياضية. وبالفعل، فإن هذا الجزء من علم الصيدلة كان وما زال يتم تدريسه بجميع كليات الصيدلة والطب بجميع أنحاء العالم وذلك نظراً لأهميته القصوى. وهذا الفرع من علم الصيدلة يعتمد في أساسياته على المعادلات الرياضية التي تعبر عن كل من الجرعة من المادة ومقدار ما يُمتص منها ويتم توزيعه ودخوله في تفاعلات أبيض وإخراجه من جسم الكائن الحي وعلاقة ذلك بزمن التجرع وطريقة التعريض وعلاقتها بالخواص الفسيولوجية للجسم.

وفي الحقيقة، فهناك العديد من المراجع المتخصصة في توضيح تلك المعادلات بصورة مبسطة. ومن أمثلة هذه المراجع تلك التي قام بنشرها العلماء التالية أسمائهم (Gibaldi and Perrie, 1982; Riviere, 1999; Reddy et al., 2005). واعتماداً على المعادلات الرياضية والأسس الخاصة بكيفية إجراء حساباتها، فقد أمكن تصميم العديد من برامج الحاسب الآلي المتخصصة في هذه الحسابات والتي يجب على الباحث الإنمائها ومعرفة كيفية إدخال مجموعة البيانات التي تلزم لإجراء هذه النوعية من الدراسات مثل مقدار الجرعة التي تم تقديمها للكائن المختبر، طريقة وزمن التعريض، وغير ذلك من بيانات ومن ثم يقوم البرنامج برسم العلاقات الكمية واستنتاج العديد من القياسات مثل الوقت اللازم لإخضاع نصف الجرعة ($T_{1/2}$)، معدلات الامتصاص والتوزيع والإخراج وغيرها الكثير.

وقد اتضح أن أهمية تلك النوعية من الدراسات لا يعود فقط إلى معرفة أرقام كمية تعبر عن عمليات الامتصاص، التوزيع، الأبيض والإخراج وإنما هي العلاقات التي تستتج من هذه الأرقام خاصة فيما يتعلق بطبيعة

وشكل المستحضر الدوائي وطريقة التعريض وزمن التعريض وحجم الجرعة الممتصة وعلاقتها بالتأثيرات الجهازية وكذلك علاقتها بمعدلات الإخراج الكلوي والقدرة الأيضية للكبد. ومن الناحية العلمية، فإن جميع هذه العلاقات وغيرها اتضح أنها المتحكم في عملية توصيل العقار إلى مكانه المستهدف ومن ثم يمكن إلى حد كبير التوصل إلى تفسير لما يمكن حدوثه من تأثيرات سواءً أكانت إيجابية (علاجية أو وقائية) أم سلبية (تأثيرات جانبية غير مرغوبة سواءً كانت مؤقتة (عكسية Reversible) أم مستديمة (Irreversible)).

وفيما يتعلق بالمواد النانوية، فعلى الرغم أن معدلات الامتصاص لهذه المواد قد يكون منخفضاً، فإن معدلات الإزالة كذلك قد تكون منخفضة وهذا بالطبع ما قد ينتج عنه تراكم واحتباس لهذه المواد إلى حد كبير وللتعبير عن تلك الظواهر بشكل كمي، فكان ولا بد من اللجوء إلى الدراسات الخاصة بالحركات الصيدلانية. وفي هذا الشأن، فقد حدثت تطورات كبيرة وهائلة في نماذج المعادلات الرياضية التي تحكم الحركات الصيدلانية والتي يمكنها حساب وقياس أقل نسبة ومعدل لكل من الامتصاص، والتوزيع، والأبيض والإزالة بصورة كمية. وهذه النماذج قد أمكن تقسيمها إلى مجاميع من المعادلات والتي من ضمنها المعادلات المقسمة (Compartmental)، المعادلات غير المقسمة (Non-Compartmental) ونماذج متعلقة بالتعداد (Population) ونماذج تعتمد على الجانب الفسيولوجي للجسم (Physiological-based) وفي مجمل هذه المعادلات يُطلق عليها (PBPK). وعلى أية حال، فإنه لا يتسع المجال هنا لذكر هذه المعادلات وتفصيلها بهذا الكتاب.

من جهة أخرى، فإنه لحساب وتقييم عملية الامتصاص، فيتم استنتاج وحساب قيمة (ka) ومعدله من خلال حساب قيمة الكتلة (من المادة) مقسومة على الزمن $(ka: \text{mass/time})$ وكذلك لحساب نطاق هذا الامتصاص (ويقصد بذلك النسبة المتوية من الكمية الممتصة من المركب والتي تكون متاحة حيويًا Bioavailability % ويُعبر عنها بحرف $F\%$) ولحساب تلك القيمة فيتم من خلال ما تم إعطاه من الجرعة عن طريق الحقن الوريدي (Intravenous, IV) والتي من المفروض أنها قد تم امتصاصها بالكامل. ويمكن حسابها من خلال المساحة تحت المنحنى [Area Under Curve, (AUC)] الذي يتم رسمه من خلال العلاقة التي تربط الجرعات المعطاة مع الزمن مع طرق التعريض من خلال الحقن الوريدي وغير الوريدي (Extravascular/IV). وبمقارنة النسبة المتاحة حيويًا الناتجة من إعطاء المركب بكل من الطريقتين لنفس المركب، فيمكن التوصل إلى مصطلح يُطلق عليه التكافؤ الحيوي (Bioequivalence) وهذا ما يتم توضيحه بشكل تفصيلي في ما نشره العلماء (Chow and Liu, 2000; Patterson and Jones, 2006).

وفيما يتعلق بعملية التوزيع، فيتم تقييمها من خلال ما تم قياسه من حجم الامتصاص من المركب الذي تم امتصاصه من خلال جسم الكائن الحي المعلوم وزنه بالكيلوجرام ($Vd: \text{Volume/Kg}$) وهذا الحجم الذي تم امتصاصه يمكن معرفته من خلال نسبة الجرعة المعطاة من المركب متنسوبة إلى تركيز المركب في الدم. أما الإخراج

والإزالة من الجسم ، فيتم معرفتها باستخدام مقياس التنقية أو التصفية (Clearance) والتي يتم حسابها من الحجم الذي تم إزالته منسوب إلى الوقت مطروح من قيمة وزن الجسم بالكيلوجرام (Cl: Volume/Time-Kg) ، وهذه المعادلة يمكنها إظهار كفاءة مسلك الإخراج الذي يتبعه الجسم في إزالة المركب بعد إعطائه وذلك سواءً من خلال الكلى أو الكبد كأهم مصادر الإخراج من الجسم.

وبالنسبة للمواد النانوية وما حدث بها من أبحاث ، فلم تتضح بعد أن بعض هذه المواد يكون قد خضع للعمليات الأيضية مثل مواد الكربون النانوية. علاوة على ذلك ، فحيث أن معظم عمليات الحركات الصيدلانية تكون تابعة لتفاعلات الدرجة الأولى (First Order) فإن معدلات هذه التفاعلات عادة ما يتم التعبير عن نتائجها بقيمة يُطلق عليها فترة نصف العمر [Half-life, (T_{1/2})] والتي يُقصد بها الفترة الزمنية اللازمة للمادة لكي ينخفض تركيزها إلى النصف وفي الواقع فهو عبارة عن مقياس لنتائج كل من حجم ماتم توزيعه [Volume of distribution, (vd)] مقسوماً على قيمة التصفية أو التنقية [Clearance, (Cl)].

ومن هذه المقدمة البسيطة لبعض الأساسيات الخاصة بقياسات الحركات الصيدلانية ، يمكن التنبؤ بقيمة ما يعرف باسم حمل الجسم (Body burden) والذي يُعرف بالكمية الإجمالية من المادة الكيميائية بجسم الكائن الحي عند وقت معين. أيضاً ، يمكن التنبؤ بقيمة التعرض الجهازى (Systemic Exposure) ، قيمة تركيز المركب في الدم نتيجة تطبيق الجرعة من المركب أو المادة وكذلك الفترة الزمنية التي تم التعرض من خلالها. بناءً على ما سبق ، فهناك سؤال مهم يتعلق بالمواد النانوية وهو هل الحركات الصيدلانية التي تسلكها المواد النانوية تختلف عن الحركات الصيدلانية التي تسلكها المركبات أو المواد الكيميائية الأخرى غير النانوية ؟.

في الحقيقة ، فإنه للإجابة عن ذلك التساؤل ، يجب أولاً الإشارة إلى ما نشره العلمان (Montiero-Riviere and Tran, 2007) في ما يتعلق بإذا ما كان هناك اختلافات بين حركات المواد النانوية وبين غيرها من المركبات الكيميائية. وفي مناقشة هذين العلمان لهذا التساؤل ، فكان ولاهد أولاً وأن تتوافر البيانات التي يمكن من خلالها الإجابة على هذا التساؤل. فعلى سبيل المثال ، إذا كانت الإجابة المتوقعة بأن هناك اختلافاً بين حركية المواد النانوية عن غيرها وذلك اعتماداً فقط على صفة الحجم الصغير أو المتناهي في الدقة والتي تتميز به الجسيمات النانوية ، فإن هذا معناه أن قدرة امتصاص الجسم للمواد النانوية ستخضع بالنسبة للجسيمات الكبيرة وبناءً عليه سيحدث تغيير بكل من معدلات التوزيع والإزالة للمواد النانوية اعتماداً على طبيعة التفاعلات الحادثة بينها وبين الجهاز الشبكي البطني لجسم الإنسان [Reticuloendothelial System (RES)] والمقصود به الكبد والطحال والعقد الليمفاوية. وفي الحقيقة ، فإن الموضوع هنا بالنسبة للمواد النانوية ليس معنياً فقط بصفة الحجم الدقيق فقط وإنما المقصود به علاقة حركات الجسيمات النانوية بشكلها ومكوناتها وخصائص سطحها الخارجى الذي له دور كبير في طبيعة ما يحدث من تفاعلات بينها وبين الجهاز البطني للكائن الحي.

علاوة على ذلك، فقد أشارت أبحاث عديدة إلى أن هناك ظاهرة هامة لوحظ حدوثها مع مواد الكربون النانوية وهي التي تتحدد معها صفة قدرتها التفاعلية ومدى إتاحتها لحدوث هذه التفاعلات، وذلك حيث اتضح ميل هذه المواد إلى حدوث ظاهرة التحلل الذاتي والتفاعل مع بعض الجزيئات الحيوية مثل البيروتينات، الأملاح، والدهون، وغيرهم من الجزيئات المتواجدة بالبيئة البيولوجية. من جهة أخرى، فقد اتضح أن ظاهرة تكتل الجسيمات النانوية يؤدي إلى إنتاج جسيمات أكبر في حجمها ومن ثم معدلات امتصاصها يتغير وعليه معدلات ترسيب هذه التكتلات بالأنسجة سيتغير إذا ما قورن بالجسيمات النانوية غير التكتلة. بناءً على ذلك، فمن المتوقع أن هناك احتمالية بأن تفاعلات الجسيمات النانوية سيكون لها تأثير على معدلات كل من الامتصاص، والتوزيع، والأيض والإخراج، وهذا بالطبع سيكون مرتبطاً بحالاتها الشكلية والحجمية والكيميائية وكتلتها والتي لم يتم دراستها حتى وقت قريب.

إضافة لما سبق، فقد يتبادر سؤال آخر عن نوعية الحيوانات التي يجب استخدامها في تقييم قياسات الحركات الصيدلانية التي تسلكها المواد النانوية. في الحقيقة، فإنه طبقاً للعديد الحدود من الدراسات التي تم إجراؤها على جزيئة التوزيع الحيوي للمواد النانوية واتصالها، فقد اتضح أن هناك عدداً محدوداً من أنواع الحيوانات الصغيرة هي التي تم استخدامها والتي اشتملت على الفئران والجرذان والأرانب. ومن الناحية العملية، فقد كان اختيار هذه الأنواع من الحيوانات قد تم تبريره بناءً على ما هو متوفر من قواعد بيانات ومعلومات عن الحركات الصيدلانية (Pharmacokinetics) وحركات السمية (Toxicokinetics) للعديد من المواد والتي تم التوصل إليها وحسابتها على نفس هذه الأنواع من الحيوانات والتي أقرتها الهيئات العلمية المختلفة. أيضاً، فإنه مع العديد من أنواع المركبات أظهرت النتائج المتحصل عليها من نفس هذه الأنواع من الحيوانات علاقة ارتباط جيدة مع وضع الإنسان. كذلك، فإن هذه النوعية من الحيوانات تتميز بحجمها الصغير وسهولة الحصول عليها وتربيتها بل والتحكم في جميع الظروف المحيطة بها بالقدر الذي أمكن معه إنشاء العديد من مراكز تربية الحيوانات التجريبية بسلاسلها المختلفة والعناية بها بالعديد من دول العالم المتقدم.

من جهة أخرى، فقد اتضح أن صغر كتلة جسم الحيوانات المعملية مقارنة بكتلة جسم الإنسان يؤدي إلى أن أجسام الحيوانات المعملية تكون ذات معدلات أيضية أساسية مرتفعة [Higher Basal Metabolic Rate (BMR)] وما ينتج عنه أن يكون وقت دوران المركب بالدورة الدموية يكون أقصر. بناءً على ذلك، فإن ما يحدث يتطلب ارتفاع قيمة التنقية أو التصفية من هذه المواد ومن ثم تكون قيمة فترة نصف العمر ($T_{1/2}$) أقصر في أجسام الحيوانات مقارنة بجسم الإنسان وذلك طبقاً لما تم دراسته مع العديد من العقاقير والمركبات الكيميائية، وذلك كما أشار إليه العالم (Crnigmill et al., 2006). واعتماداً على تلك الاختلافات، فقد كان ذلك سبباً إلى اللجوء لاستخدام نظرية

النمو النسبي و/أو مساحة سطح الجسم لإجراء عمليات إستقراء لقياسات الحركيات الصيدلانية التي تمت بالأنواع المختلفة وتطبيقها على جسم الإنسان، وذلك تبعاً لما أظهره العديد من العلماء (Boxenbaum, 1982; Calabrese, 1983; Riviere et al., 1997; West et al., 1997; Martin-Jimenez and Riviere, 2002).

بناءً على ما سبق، فإنه إذا تم تطبيق ذلك المفهوم على المواد النانوية، فإن قيم فترات نصف العمر ($T_{1/2}$) المشار إليها في الجدول رقم (٣.٣) ستكون قليلة بشكل مبالغ فيه في حالة جسم الإنسان وعليه، فإن ذلك يؤدي إلى نشوء تساؤل آخر وهو المتعلق باحتمالية تأثير ما سبق على دراسات المواد النانوية. وعلى أية حال، فإنه اعتماداً على ما تم إجراؤه من دراسات اتضح أن مواد الكربون النانوية قد خضعت لعدد من التفاعلات مع المكونات البيولوجية وذلك بصورة معتمدة على الزمن (Time-dependent) وإعتماداً على طبيعة المواد المصنعة منها وكذلك خصائصها مثل التبادل الداخلي الأيوني مع المعادن والالكترونيات، الارتباط مع البروتينات والليبيدات بشكل كاره للماء وغير ذلك من خصائص. كذلك، فقد تبين أن العديد من التفاعلات قد حدثت نتيجة تكتل للجسيمات مع الجوانب البيولوجية.

وفي تلك الجزئية، فإن طبيعة هذه التفاعلات اتضح أنها تعتمد على مكان توزيع الجسيمات بالجانب البيولوجي (الخلايا أو النسيج أو العضو). وعموماً، فإن جميع التفاعلات اتضح أنها مرتبطة بالزمن. بناءً على ذلك، فإنه لتجنب الكثير من الأخطاء التي قد تنتج من عمليات الاستقراء من نتائج التجارب على الحيوانات الصغيرة، فقد كان رأي العلماء بضرورة اللجوء إلى استخدام حيوانات أكبر حجماً مثل الخنازير أو الكلاب الكبيرة حيث تكون قيم المعدلات الأيضية الأساسية (BMR) وكذلك وقت بقاء المواد النانوية متقاربة لما يمكن أن يحدث للإنسان (Aoyagi et al., 1992; Stevens and Hume, 1995). علاوة على ذلك، فمن المحتمل أن تكون الحيوانات المعملية صغيرة الحجم في دراسات الحركيات الصيدلانية للمواد النانوية سبباً في صغر كميات الجرعات المعطاة لها ومن ثم تكون جرعات غير كافية وتمنع من حدوث ظاهرة التكتل للجسيمات النانوية التي قد تحدث في حالة الإنسان (Riviere and Tran, 2007).

الجدول رقم (٣.٣). قيم بعض قياسات الحركيات الصيدلانية لبعض المواد النانوية التي تم إعطاؤها بالحقن الوريدي في بعض الحيوانات الصغيرة.

نوع الحيوان	المادة النانوية	الجرعة	فترة نصف العمر ($T_{1/2}$) (ساعة)	المراجع
فوران	f-SWNT	٣ ملجم/كجم	٣	(Singh et al., 2006 a)
فوران	(+) f-SWNT	٣ ملجم/كجم	٣.٥	(Singh et al., 2006 a)
فوران	SWNT (PL)	٠.٥ - ٠.٠٥ ملجم/كجم	٦.٠ - ٠.٥	(Liu et al., 2006 c)
جرذان	MSAD C ₆₀	١٥ ملجم/كجم	٦.٨	(Rajagopalan et al., 1996)
أرانب	SWNT	٠.٠٢ ملجم/كجم	١	(Cherakuri et al., 2006)

(+) موجب الشحنة، (PL) ليبيدات فوسفاتية.

ب) ما تم تحقيقه من دراسات متعلقة بالحركية الصيدلانية للمادة النانوية

Nanomaterial Pharmacokinetic Studies Conducted to Date

١- الفوليرينات Fullerenes

توجد القليل من الدراسات التي تم إجراؤها لبحث الحركيات الصيدلانية للفوليرينات [Fullerenes (C₆₀)] بالحيوانات المعملية الصغيرة. ومن ضمن هذه الدراسات تلك التي قام بها العالم (Rajagopalan et al., 1996) حيث قام بدراسة حركيات الجسيمات النانوية الفوليرينية (MSAD-C₆₀) والتي تتميز بذوبانها في الماء ولها نشاط مضاد للفيروسات وذلك على الجرذان المعملية التابعة لسلالة (Sprague-Dawley). في تلك الدراسة اتضح أن قيمة نصف العمر (T_{1/2}) كانت تقريباً سبعة ساعات وحجم التوزيع (V_d) كان ٢١/كجم وهذا ما يدل على أن توزيعها كان شديداً ولا توجد دلائل تشير إلى حدوث إفراز بولي. أيضاً، فإن ٩٩٪ منها قد ارتبط مع بروتينات البلازما.

من جهة أخرى، فإن العالم (Yamago et al., 1995) قام بدراسة حركيات مركب [Trimethylenemethan (TMM)] المحتوي على الكربون ١٤ [C¹⁴] المحب للدهون وأيضاً القادر على الذوبان في الماء نتيجة إحتوائه على الكربون ٦٠ وذلك بعد حقنه بالوريد وإعطائه عن طريق الفم بعد أن تم تحضير الجرعات في كحول الإيثانول ومادة بولي إيثيلين جليكول [Polyethylene glycol (PEG)] والأليومين. في تلك الحالة، فقد لوحظ أن بعد الحقن الوريدي لهذه المادة، فإن ٥٪ فقط من الجرعة المعطاة هي التي تم إخراجها عن طريق البراز بينما معظم الكمية الباقية كانت محبوسة بالكبد لفترة ٣٠ ساعة. أيضاً، فإن بعض المشتقات التي حدثت بها تغيرات بالسلسلة الجانبية الملاصقة للكربون قد أمكن الكشف عن تواجدها في الطحال، الكلى والمخ. وبالنسبة لما قام به العالم (Cagle et al., 1999)، فقد لاحظ من خلال دراسته للتوزيع الحيوي للفوليرينات المعدنية [endohedral metallofullerenes (HoC₆₀(OH)₂)] في الفئران بأن معدلات التنقية لهذه المادة من الدم كانت سريعة نسبياً (عدة ساعات)، بينما حدثت لها بعض التراكمات في العظام وتمركز بالكبد وبطء الإزالة منه. من هذه الدراسات القليلة وغيرها يتضح أن طبيعة تركيب الجسيمات النانوية وإحتوائها على المعادن ومعدلات ذوبانها في الماء كلها من العوامل التي تؤثر بشكل واضح على معدلات ثباتها وتراكمها وكذلك إزالتها من الجسم.

٢- أنابيب الكربون النانوية Carbon nanotubes

توجد دراسات قليلة هي التي تم إجراؤها على الحركيات الصيدلانية لأنابيب الكربون النانوية. من ضمن هذه الدراسات تلك التي قام بها العالم (Cherukuri et al., 2006) الذي قام باستخدام الأشعة تحت الحمراء في قياس تركيز هذه الأنابيب النانوية بعد إعطائها للكائنات المختبرة أيضاً العالم (Singh et al., 2006 a) الذي قام بدراسة التوزيع الحيوي لهذه الأنابيب النانوية في الأنسجة وكذلك قام بتقييم كفاءة الجسم في تنقيتها والتخلص منها بعد إعطائها عن طريق الحقن الوريدي. علاوة على ذلك، فقد قام العالم (Liu et al., 2006 c) بدراسة معدلات التوزيع

الحيوي لأنابيب الكربون النانوية لمعرفة مدى كفاءتها في استهداف الأنسجة بالأورام الخبيثة بالفئران. وفي الحقيقة، فإنه لتقييم مدى كفاءة هذه الدراسات، فقد أشار العالم (Riviero and Tran, 2007) بأن تلك الدراسات يعيها أنها قامت باستخدام عدد قليل من الحيوانات وعلى فترات زمنية قليلة مما يصعب معه الوثوق الكبير في ما تم الحصول عليه من نتائج. وعموماً، فمن أهم ما تم الحصول عليه من قياسات تلك التي تم الإشارة إليها في الجدول رقم (٣.٣).

٣- مواد نانوية أخرى Other nanomaterials

أشارت قواعد البيانات المتخصصة في هذا المجال بأن هناك قدر لا بأس به من الدراسات التي تم إجراؤها على بعض الحركيات الصيدلانية لبعض المواد المشتقة من جسيمات النقاط الكمية ذات النشاط الفلوريسنتي (Fluorescent quantum dots) التي تم تحضيرها بهدف الاستخدام الطبي. فعلى سبيل المثال، أظهرت بعض الدراسات بأن النقاط الكمية قد أضيفت إليها بعض الببتيدات ومن ثم تمكنت من استهداف بعض الأنسجة مثل الرئة والأوعية الدموية وذلك بعد حقنها بالوريد في الفئران التجريبية بجرعة مقدارها ١٠ ملجم/كجم. وقد نتج عن هذه المعاملة أن النقاط الكمية قد تراكمت في كل من الكبد والطحال وهذا ما أشار إليه العالم (Akerman et al., 2002). وفي بحث آخر على النقاط الكمية [Quantum Dots (QD)] التي سبق طلاؤها بمادة بولي إيثيلين جليكول [Polyethylene glycol (PEG)]، فقد تمكنت الجسيمات من الهروب من أن تكتشف بواسطة الأنسجة الشبكية في الأعضاء المهمة مثل الكبد، والطحال، والعقد الليمفاوية. ومن هذه الملاحظة قد تبين أن عملية الطلاء للجسيمات قد أدت إلى تغيير معدلات ترسيبها وخصائص حركياتها الصيدلانية كما أشار إليه العالم (Balkou et al., 2004) والذي لاحظ أن فترة نصف العمر ($T_{1/2}$) للجسيمات بعد طلاؤها قد وصلت إلى أقل من ١٢ دقيقة لجسيمات النقاط الكمية المحتوية على شقوق علبدة الأكريليك وشق ميثوكسي قصير السلسلة أو الكربوكسي بعد المعاملة بمادة بولي إيثيلين جليكول، أما بطول السلسلة، فقد تزايدت فترة نصف العمر إلى أكثر من ساعة زمنية بل وقد اتضح أن بعض الجسيمات الأخرى من النقاط الكمية قد تزايدت وقت احتباسها في بعض الأنسجة إلى أربعة شهور.

وفيما يتعلق بالجسيمات النانوية المحتوية في تركيبها على المعادن مثل الحديد [Iron nanoparticles (FeNP)]، فقد أمكن استخدام تقنية التصوير بالرنين المغناطيسي (Magnetic resonance) للكشف عنها بعد معاملة بعض الأنظمة البيولوجية بها مثل الخلايا المنزرعة خارج الجسم الحي (*in vitro*). وبناءً على ما تم الحصول عليه من نتائج، فقد اتضح أن الامتصاص الخلوي للجسيمات النانوية الأيونية كان بمعدلات أكبر مقارنة بالجسيمات المتعادلة أو الكاتيونية وذلك كما أظهره العالم (Wilhelm et al., 2003). ليس هذا فحسب وإنما قد أمكن استخدام جسيمات نانوية ممغنطة (Magnetic particles) والتي يتم الكشف عنها بالرنين المغناطيسي وهذا قد أدى إلى التعرف على أن

ظاهرة المغنطة قد نسيبت في إيجاد نوع من التخصص في طبيعة أسطح الجسيمات النانوية من حيث استهدافها لبعض الأنسجة (Surface-specific Tissue Targeting) بما أدى إلى وصولها إلى المخ وكتلك إطالة فترة بقائها واحتباسها في بعض الأعضاء مثل الكبد (أربعة أسابيع) وذلك طبقاً لما أشار إليه العالم (Kim et al., 2006). وفي الحقيقة، فإن هذا الإستنتاج يجب الإعراف بأنه جدير بالثناء والاهتمام من حيث أهميته في بعض التطبيقات وأيضاً من حيث احتمالية إحداثه لتأثيرات سامة خاصة عند حدوث التعرض المزمّن لهذه النوعية من الجسيمات.

وفيما عدا هذه النوعية من الدراسات، فقد قام علماء آخرون بدراسة حركيات مواد نانوية أخرى مثل الفضة لمعرفة توزيعها بين الأعضاء المختلفة لفترة سبعة أيام بعد معاملة الجرذان عن طريق الاستنشاق لفترة ٦ ساعات (Takenaka et al., 2001). أيضاً هناك علماء آخرون قاموا بدراسة تأثير استنشاق الجسيمات الكربونية فائقة الدقة وذلك على معدلات انتقالها بين الأعضاء المختلفة (Oberdorster et al., 2002 & 2004). كذلك قام العالم (Kreyling et al., 2002) بدراسة معدلات انتقال جسيمات الإيريديوم فائقة الدقة (Ultrafine iridium particles) بين الأعضاء المختلفة بعد استنشاق الجرذان التجريبية لها. وفي جميع هذه الدراسات كانت معدلات الانتقال للجسيمات بين الأعضاء متباينة ومتفاوتة تبعاً للظروف التجريبية وفترات التعرض وفترات التهوية بعد الاستنشاق وكذلك قطر الجسيمات التي تم التعرض لها. فعلى سبيل المثال، تبين أن ٢٠% و ١٠% من جسيمات الإيريديوم التي كانت أقطارها ١٥، ٨٠ نانومتر قد تم تصفية وتنقية الرئة منها وإنتقالها إلى الجهاز المعدي المعوي بعد مرور ٦ ساعات من استنشاقها بينما باقي النسبة من هذه الجسيمات قد تم إزالتها من خلال البراز بنسب ٤٧% و ٣٦% بينما نسبة ٢% و ٠.٣% هم الذين تم إزالتهم من الجسم عن طريق البول. أما باقي النسب القليلة المتبقية، فقد إنتقلت إلى باقي أعضاء الجسم.

٤ - حركة الجسيمات النانوية من خلال الجهاز الليمفاوي Lymphatic trafficking of nanoparticles

على الرغم من أن معظم دراسات الحركيات الصيدلانية قد تركزت على عمليات الامتصاص، والتوزيع، الأيض والإخراج للمادة مجال الدراسة والموجودة بالجهاز الدوري إلا أن معظم العلماء لم يهتموا بدراسة وجود المواد النانوية بالجهاز الليمفاوي. والامتناء لذلك هو ما قام به بعض الباحثين من دراسة دور الجهاز الليمفاوي في عمليات الامتصاص ولكن للجزيئات التي يزداد وزنها الجزيئي عن ١٦ كيلودالتون (Porter et al., 2001; McLennan et al., 2003 & 2005). ومن الناحية الفسيولوجية، فإن المركب بعد امتصاصه في الأوعية الليمفاوية فإنه يتحرك إلى العقد الليمفاوية وفي النهاية يعاد دخول المركب إلى الجهاز الدوري بواسطة الموصلات الصدرية (Thoracic ducts). ومن هنا تظهر أهمية وجود المواد بالجهاز الليمفاوي من حيث احتمالية إحداثها لتأثيرات سامة على الجهاز المناعي. وفي ما يخص المواد النانوية، فإن بعضها يعتبر كبير نسبياً بسبب ما تحتويه من تعديلات على أسطحها بالقدر الذي يمكنها من الانتقال من خلال الجهاز الليمفاوي. ومن أشهر الدراسات في هذه الجزئية تلك التي أثبتت أن

جسيمات ثاني أكسيد التيتانيوم (Titanium dioxide) يمكنها النفاذ من خلال الطبقات القرنية بالجلد ومن الجلد تستطيع الوصول إلى الجهاز الليمفاوي (Tam et al., 1996; Lademann et al., 1999). نفس الإستنتاج والملاحظات قد لاحظها علماء آخريين مثل (Rousee et al., 2007) الذي أشار إلى امتصاص الجلد للفوليرينات يكون من خلال الإجهاد الميكانيكي للجلد. أيضاً، قد لوحظ أن الجسيمات الدقيقة من السيليكا والألومينوسيليكات قد استطاعت كل منهم من النفاذ خلال الجلد والهجرة لتصل إلى العقد الليمفاوية بالفخذ (femoral lymph nodes) في الأشخاص ذوي الأقدام الحافية في أفريقيا وهذا ما ينتج عنه إصابتهم بمرض داء الفيل غير الفيلاري (Non-filarial leishmaniasis) بالجزء السفلي من الأقدام وهي الحالة المرضية المعروفة باسم (Podocniosis) وذلك طبقاً لما أوصى به العلماء (Cornishan et al., 1988; Blundell et al., 1989). وقد اتضح أن تلك الجسيمات متواجدة بالترية الحمراء المتواجدة بالقرب من مساحات البراكين والتي بكثرة التعرض لها تسبب أمراض انسداد الأوعية الليمفاوية. بناءً على هذه المشاهدات وغيرها، فيتضح أهمية إجراء دراسات امتصاص الجسيمات النانوية من خلال الجهاز الليمفاوي ومن ثم يجب أن يؤخذ هذا الجهاز في الاعتبار عند إجراء دراسات الحركيات الصيدلانية للجسيمات النانوية.

سادساً: تفاعلات الجسيمات النانوية مع الأنظمة البيولوجية وما يتبعها من تنشيط في ميكانيكيات إرسال

الإشارات بداخل الخلايا

Nanoparticles Interactions with Biological Systems and Subsequent Activation of Intracellular Signaling Mechanisms

نظراً لما تم التنويه إليه من دراسات تتعلق بالتأثيرات الإنتهاية التي تُحدثها الجسيمات النانوية بالعديد من أنسجة الكائن الحي، فقد كان لزاماً إجراء المزيد من الدراسات المتخصصة من أجل وصف بعض مسارات إرسال الإشارات بداخل الخلايا وعلاقتها بالتحكم في عملية الانتهاب الحادث بفعل الجسيمات النانوية. علاوة على ذلك، فقد كان من الأمور الضرورية التنويه إلى بعض الطرق المتخصصة والمتبعة لإجراء هذه النوعية من الدراسات. ومن أجل تحقيق ذلك، فكان ولا بد من التركيز على أن حدوث عملية الانتهاب قد تم اعتبارها من الأمور الرئيسة المؤدية إلى نشوء الأمراض الناتجة عن العديد من الجسيمات الممرضة التي تتمكن من دخول الجسم عن طريق الاستنشاق. وفي مجال التقنية النانوية، فقد اتضح أن ذلك المجال قد فتح العديد من المجالات الحديثة من طرق البحث العلمي المتعلقة بدراسة سمية الجسيمات النانوية بسبب احتمالية التعرض لها وامتصاصها بواسطة العديد من طرق النفاذية إلى داخل الجسم. فعلى سبيل المثال، استخدام الجسيمات النانوية في مستحضرات التجميل والمستحضرات السائلة التي تمنع من دكانة لون بشرة الجلد؛ نتيجة طول التعرض لأشعة الشمس، فإنها من الأمور التي من المتوقع أن يزداد معها معدلات امتصاص هذه الجسيمات من خلال البشرة وذلك كما أشار إليه العالم (Monteiro-Riviere،

(2007). أيضاً، فإن وجود الجسيمات الثانوية في الأطعمة والعقاقير من المتوقع أن يتم إمتصاصها بواسطة الجهاز المعدني المعوي ومن ثم تجد هذه الجسيمات طريقها إلى داخل جسم الإنسان وهذا بالطبع بالإضافة إلى ما يتم إدخاله إلى جسم الإنسان بشكل مباشر من جسيمات ثانوية عن طريق الحقن بهدف تشخيص حالة مرضية ما (Dudeck et al., 2006) أو بغرض العلاج الطبي من مرض آخر (Vicent and Duncan, 2006).

بناءً على ذلك، فقد تبين أن مجال التقنية الثانوية يمثل نوعاً من التحدي في دراسات الجسيمات الثانوية والذي يتمثل في كيفية إجراء الإختبارات وكيفية إعطاء هذه الجسيمات للكائن الحي المختبر سواءً عن طريق الإستنشاق أو الحقن (الوريدي أو البريتوني) أو الجلد أو عن طريق الفم. وبالطبع، فإن كل طريقة من طرق دخول الجسيمات الثانوية إلى جسم الإنسان لها تأثيراتها وتوابعها في ما يحيط بها من أنسجة وخلايا تقوم باعتراض هذه الجسيمات أو التي تمر وتنفذ من خلالها تلك الجسيمات. ومن هنا كان ولا بد من إجراء استعراض لما يمكن حدوثه من تأثيرات وتفاعلات تحدثها الجسيمات الثانوية مع الأنظمة البيولوجية بل والميكانيكيات التي تتبعها الجسيمات لإظهار التأثيرات الملحوظة.

أ) الالتهاب Inflammation

إن التأثيرات المرضية التي تحدثها العديد من الجسيمات الثانوية مثل جسيمات الكوارتز من النوع ألفا (α -quartz)، الإسيستوس (Asbestos) والجسيمات الدقيقة التي يصل قطرها إلى 10 ميكرومتر (PM_{10}) والمتواجدة كمكونات للهواء أمكن إثبات أنها جميعاً تُحدث على حدوث الإلتهاب وذلك كما أوضحه العديد من العلماء (Warheit et al., 1995; Albrecht et al., 2004). والالتهاب الذي يحدث تبين أنه يشمل عدد من أنواع الخلايا مثل الخلايا الطلائية، خلايا الماكروفاجات، خلايا الدم البيضاء من النوع المتعادل (Neutrophils) وهي الخلايا التي يحدث بها نوع من التنشيط يكون نتيجة حدوث بداية وتطور أو إطالة لميكانيكيات إرسال الإشارات التي تتحكم في عملية الالتهاب. وعموماً، فإن ميكانيكيات إرسال إشارات الالتهابات قد أمكن تقسيمها إلى نوعين، النوع الأول وهي ميكانيكية إرسال الإشارات خارج الخلايا أو بين الخلايا [Extracellular (Outside or Between Cells)] وميكانيكية إرسال إشارات بداخل الخلايا [Intracellular (Inside Cells)].

بالنسبة لميكانيكيات حدوث الالتهاب خارج الخلايا، فيتم تنشيطه والتحكم فيه بواسطة مدى واسع من الجزيئات مثل بروتينات السيتوكين (Cytokine proteins) (Kelley, 1990)، ليوكوترابينات (Leukotrienes) (Grayson and Korenblat, 2003) و بروستاغلاندينات (Prostaglandines) (Park and Christman, 2006). من جهة أخرى، فقد أشارت الدراسة التي قام بها العالم (Brown et al., 2004 a & b) أن كثيراً من التأثيرات المحفزة أو البادئة للالتهاب بفعل الجسيمات المرضية قد تركزت في تأثيراتها على التعبير الجيني المسئول عن إنتاج جزيئات السيتوكين المحدثة

للتهاب. وفيما يتعلق بميكانيكيات ومسارات إرسال إشارات الالتهاب التي تحدث بداخل الخلايا، فهي غالباً ما تتعلق بعملية التحكم في إنتاج المركبات الوسيطة المحفزة والبادئة لحدوث الالتهاب سالفة الذكر والتي تخرج خارج الخلايا. وفي هذا الجزء من الكتاب، سيتم التركيز على ما تم القيام به من دراسات تتعلق بقدرة العديد من أنواع الجسيمات النانوية من حيث تأثيرها في مسارات إرسال إشارات حدوث الالتهاب بداخل الخلايا.

(ب) العوامل التي تؤثر على مساحة سطح الجسيم النانوي وتفاعلات سطحه

Factors Affecting Nanoparticle Surface Area and Surface Reactivity

أثبتت الكثير من الأبحاث أن العديد من الجسيمات الممرضة بما في ذلك جسيمات الكربون (Stone et al., 1998)، جسيمات البولي إسترين (Polystyrene) (Brown et al., 2001)، والجسيمات النانوية لثاني أكسيد التيتانيوم، الكوبلت والنيكل (Dick et al., 2003) لهم القدرة على توليد أنواع الأكسجين النشط (Reactive Oxygen Species (ROS)) بما في ذلك الشقوق الحرة الهيدروكسيلية في بيئة الخلايا المزروعة خارج الجسم + وذلك بسبب ما تحتويه أسطح هذه الجسيمات من مجاميع كيميائية فعالة. وفي بعض ما تم إجراءه من أبحاث (Stone et al., 1998؛ Brown et al., 2001) فقد تمت الإشارة إلى أنه بالمقارنة بين الجسيمات المختلفة اعتماداً على صفة الحجم، فقد تبين أن الجسيمات الأصغر حجماً تكون أكثر قدرة على توليد أنواع الأكسجين النشط (ROS) لكل وحدة كتلة من الجسيمات. بمعنى آخر، فقد اتضح أن مساحة السطح لكل وحدة كتلة من الجسيمات النانوية تكون كبيرة عنها في حالة الجسيمات الكبيرة ومن ثم يمكن إرجاع أو ربط ما يتم إنتاجه من أنواع الأكسجين النشط إلى مساحة سطح الجسيم.

وبالعودة إلى بعض الأساسيات العلمية، فإن مسطح الجسيمات غالباً ما يتم استخدامه في علم الكيمياء على أنه مسطح حزاز وبناءً عليه تم الإقتراف بأنه في الجسيمات الأصغر تكون هناك قدرة تفاعلية تحفيزية بمقدار أكبر لكل وحدة مساحة لسطحها (Zhou et al., 2006). وفيما يتعلق بتأثير حجم الجسيم، فقد قام العالم (Stone et al., 2007) بوصف وتفسير تأثير حجم الجسيم بشكل مبسط. بناءً على ذلك، فقد تم التوصل إلى نظرية افتراضية مفادها أن الجزيئات البيولوجية يمكنها أن تتفاعل فقط مع الذرات الموجودة في الجسيم والتي لها القدرة على الدخول في هذا التفاعل. وهذا معناه أن مدى التفاعل فيما بين الجسيم النانوي والسائل البيولوجي المحيط به يعتمد على مساحة السطح البيئي المتاح بينهما وهو الذي يكافئ إجمالي مساحة سطح الجرعة من الجسيم النانوي. وعموماً، فإن الحقيقة من وراء ذلك تتضح أنها راجعة إلى أنه بانخفاض قيمة نصف قطر الجسيم، فإن نسبة مساحة السطح إلى الحجم تزداد وهذا ما ينتج عنه أن نسبة أكبر من الذرات المتواجدة بسطح الجسيم تكون على استعداد للدخول في التفاعل إذا ما قورنت بالذرات المتواجدة في معظم الجسيم (الشكل رقم ٣.١١).

الموجود على سطح الجسيمات. وإعتماداً على الدخول إلى النظام البيولوجي، فإن التفاعل قد يتم تعديله أو تغييره إما بفعل تروابط بين الجزيئات الحيوية مثل البروتينات داخلية المنشأ أو المواد ذات النشاط السطحي أو بفعل مستوى تركيز الأيونات في البيئة البيولوجية المحيطة. وبينما قوى التجمع ربما تكون كافية للتأثير على مساحة السطح المتاحة، إلا أنه من الصعوبة أن يتم التعبير عن هذه الحالة بصورة كمية بسبب التغير الدائم لحالة الميل أو التزوع الطبيعي للجسيمات لأن تتجمع والذي يعتمد على طبيعة الاهتزاز الميكانيكي، المكونات الكيميائية للبيئة البيولوجية والتفاعل مع الخلايا.

بناءً على ما سبق، فقد أشارت الدراسات التي تم إجراؤها إلى أن الجسيمات النانوية الأصغر حجماً ومن ثم توفر مساحة سطح أكبر، تكون أكثر قدرة على إحداث تأثيرات إتهابية (Oberdorster et al., 1990; Brown et al., 2001)، إجراء حث في التعبير الجيني للسيتوكين (Hohr et al., 2002; Brown et al., 2004 a)، إرسال الإشارات بداخل الخلايا (Stone et al., 2000 b) والتسمم الخلوي (Stone et al., 1998). وفي الكثير من هذه الدراسات فقد اتضح أنه على الرغم أن جميع مساحة السطح بالكامل لم تكن معرضة للأهداف البيولوجية إلا أنه ما زالت هناك علاقة واضحة بين مساحة سطح الجسيم والتأثير البيولوجي الحادث وذلك طبقاً لما أشار إليه بعض العلماء (Duffin et al., 2002; Stoeger et al., 2006).

أيضاً، فإنه بالإضافة إلى حجم الجسيمات، فإن طبيعة التركيب الكيميائي لسطح الجسيمات تبين أنه المحدد المهم في طبيعة سلوك الجسيم مع النظام البيولوجي. بمعنى آخر، فإنه مع الكثير من الجسيمات النانوية المهندسة، فإن طبيعة التركيب الكيميائي لسطح الجسيم يكون مختلفاً بشكل معنوي عن ما هو موجود بمركز الجسيم. وعلى هذا الأساس، فقد أمكن إجراء الكثير من الدراسات المتعلقة بتصميم جسيمات ذات تركيب كيميائي يميز على سطحها بشكل يؤثر ويتحكم في درجة انتشارها وتشتتها ومن ثم تفاعلها مع غيرها من المواد. وفي هذه الجزئية أمكن استخدام المواد ذات النشاط السطحي وكذلك روابط استبدالية وغير ذلك من مواد لها القدرة على إحداث تغيير في طبيعة مكونات أسطح الجسيمات بالقدر الذي يجعلها في النهاية مشحونة أو يكون عليها سلاسل طويلة من الجزيئات أو زيادة القوى الحيزية (Increase Steric Forces) أو تحسين التفاعل مع المذيبات (جعل السطح محب للماء مما يجعله قابلاً للتشتت في الوسط المائي).

وإذا ما قورن بين الجسيمات النانوية والأخرى الكبيرة، فيلاحظ أن الجسيمات الكبيرة والتي تصل أبعادها عدة ميكرومترات أو أكبر، فإن الصفات والخصائص الإلكترونية لها تكون غير معتمدة على حجم الجسيم. أما على المستوى النانوي فإن حجم الجسيم يكون صغيراً بدرجة كافية التي تكون الإلكترونات فيه مقيدة أو محجوزة وهو الأمر الذي يؤثر على طبيعة الخصائص الفيزيائية الكيميائية للجسيم. ونظراً لطبيعة احتجاز الإلكترونات بالجسيمات النانوية، فإن ذلك يتولد فيه طاقات تتزايد بشكل كبير على حسب طبيعة اتجاهات الجسيم النانوي خاصة إذا ما

إنخفضت قياساته عن 10 نانومتر (Edelstein, 2002). بناءً على ذلك، فإنه من خلال التحكم في مكونات الجسيم وعمليات إنتاجه، فإن مستويات الطاقة الكمية يمكن أن يتم ضبطها وتحسينها لإنتاج وتوليد خصائص وصفات محددة للجسيم. وعلى هذا الأساس، فإن الجسيمات التي يتم إنتاجها قد تكون على هيئة نقاط كمية (Quantum Dots, QD)، أو على هيئة لفائف كمية تشبه الأسلاك (Quantum Wires) أو على شكل أوعية كمية (Quantum Wells) والتي تتميز أي منها بعملية إحتجاز وتقييد للإلكترونات في واحد أو اثنين أو ثلاثة من اتجاهاتها (Poole and Owens, 2003). وبالنسبة للجسيمات النانوية شديدة الصغر والتي تقل أقطارها عن 5 نانومتر، فإن الجهد الإلكتروني بها يزداد في الروابط المتواجدة بين الذرات مما يؤدي إلى قدراتها التفاعلية أو حدوث تغير في تركيبها البللوري (Borm et al., 2006 a & b).

بناءً على ما سبق، فقد تم إجراء ونشر العديد من الأبحاث المتخصصة في دراسة سمية الجسيمات النانوية سواءً خارج الجسم الحي (*in vitro*) أو داخله (*in vivo*) والتي توضح جميعها العلاقة بين حجم الجسيم، مساحة سطحه وما تحدثه من التهابات. ومن أمثلة هذه الجسيمات التي إشتملت عليها الدراسات كانت جسيمات ثاني أكسيد التيتانيوم، الكربون الأسود وكريات البولي إسترين وجميعها أمكن إثبات علاقة أحجامها الصغيرة بحدوث التهابات رئوية بعد استنشاقها وهذا ما يؤدي إلى تأثيراتها السلبية في الصحة إذا ما تواجدت على هيئة ملوثات بالهواء (Sexton et al., 1995; Donaldson et al., 2000).

ج) التسمم الخلوي بفعل الجسيم النانوي Nanoparticle Cytotoxicity

قبل إستعراض المعلومات الخاصة عن تقييم قدرة الجسيمات النانوية في حث الإشارات الخلوية وحدوث الالتهاب، كان لابد أولاً التنويه إلى ضرورة تقييم التسمم الخلوي الذي تحدثه الجسيمات النانوية بالخلايا المستخدمة كهدفاً بيولوجياً لتقييم التأثيرات التي تحدثها الجسيمات النانوية وذلك من أجل الحصول على تفسير مناسب للاستجابات المتحصل عليها من الأنظمة البيولوجية المختبرة. وفي هذا المجال، فهناك العديد من التقنيات وطرق التقييم المتنوعة التي يمكن اتباعها في التعبير والتقييم عن التأثيرات التي تحدثها الجسيمات النانوية. ومن أشهر تلك التقنيات تلك المعتمدة على تقدير الحيوية الخلوية. ولتقدير الحيوية الخلوية، فهناك العديد من الطرق والتقنيات المتخصصة إلا أنه سيتم التركيز هنا على ما تم اتباعه في تقييم تأثير الجسيمات النانوية. فعلى سبيل المثال، العديد من الدراسات اعتمدت على تقييم التأثيرات التي تحدثها الجسيمات المختبرة من خلال ما تسببه من انسياب إنزيم اللاكتيك ديهيدروجينيز (Lactic dehydrogenase (LDH) والذي ينساب من داخل الخلايا المنزرعة خارج الجسم (*in vitro*) إلى خارجها لتصل إلى البيئة الغذائية المحيطة كنتيجة لحدوث ضرر بالغ بالغشاء الخلوي الذي قد يؤدي إلى موت الخلية أو نتيجة للموت الفعلي للخلية نتيجة التحطم الكامل لغشاء الخلية. وبعد ذلك، فإنه يتم قياس نشاط

إنزيم (LDH) في البيئة الغذائية المحيطة بالخلايا التي تعرضت للجسيمات النانوية المختبرة ومن ثم تعبر درجة النشاط عن مقدار الضرر أو الموت الحادث للخلايا (Stone and Kinloch, 2007).

من جهة أخرى، فقد اتضح أن الجسيمات النانوية والميكرونية لها قدرة كبيرة في الارتباط مع البروتينات أو أنها تحفز تدهورها (Triele et al., 2003) وهذا ما قد يؤدي إلى تقليل قيمة ومقدار المحتوى البروتيني في الجزء الرائق من بيئة الخلايا (Zhang, 2003). وللاستدلال على مصداقية ذلك، فقد لاحظ العالم (Stone et al., 2007) بأن إنزيم (LDH) المخلوط بالجسيمات النانوية قد نتج عنه تقليل لمحتوى إنزيم (LDH) بالبيئة المحيطة بالخلايا.

يوجد إختبار آخر يُطلق عليه اسم (MTT) وهو اختصار لاسم المادة الكيميائية (3-(4,5-dimethylthiazolo-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) وهو من الإختبارات الشائعة في استخدامها للتعبير وقياس الحيوية الخلوية (Mossman, 1983). في هذا الإختبار، فإن جزيئ (MTT) يتحول إلى منتج لونه أزرق (يعرف باسم Formazan) بفعل إنزيم (Succinic dehydrogenase) الموجود بالميتوكوندريا ومن ثم، فإن انخفاض القدرة الأيضية للخلايا والتي تستخدم للاستدلال على حيويتها يمكن التعبير عنه من خلال كمية ما يتم تكوينه من المنتج الأزرق من الخلايا بعد تعريضها للجسيمات النانوية المختبرة. وفي الحقيقة، فإن المشكلة تكمن في أن الجسيمات النانوية قد يكون لها قدرة امتصاص الضوء أثناء قياس كمية وكثافة اللون الأزرق وفي هذا الشأن يجب أن يتم إجراء تصميم تجريبي يراعي تلك الجزئية.

علاوة على ذلك، فهناك تقنيات أكثر تقدماً وهي المتصلة على استخدام مادة (Annexin V) المخلوطة بمادة (Propidium iodide) وذلك من أجل التعبير عن حيوية الخلايا بصورة كمية وأيضاً للتمييز بين طبيعة الموت الخلوي إذا كان من خلال الموت التكرزي (Necrosis) أو موت خلوي فيولوجي (Apoptosis) وذلك كما أوضحه العالم (Honng et al., 2004). وطبيعة إجراء الطريقة تعتمد على صبغ الخلايا بصبغة فلوريسينية وبعدها يتم تقدير حيوية الخلايا بصورة كمية باستخدام جهاز القياس الخلوي المتتابع (Flow cytometry) أو باستخدام جهاز قياس الطيف الفلوريسينسي (Fluorimeter). أيضاً يمكن تصوير الخلايا بواسطة الميكروسكوب الفلوريسينسي لملاحظة أية تغيرات حادثة على الخلايا بعد معاملتها.

توجد تقنية أخرى تعرف باسم تقييم الحي والميت (Live/Dead Assay) وهو الذي اتبعه العالم (Sayes et al., 2006 b). ويعتمد هذا الإختبار على معاملة الخلايا بصبغة [Calcein acetoxymethylester (AM)] التي تنتشر إلى داخل الخلايا؛ نتيجة طبيعتها المحبة للدهون. وبمجرد دخول الصبغة إلى داخل الخلايا الحية والحيوية، فإن إنزيمات الإستريز السيتوبلازمية ستقوم بعملية إنقسام للصبغة وينتقل مركب الكالسين (Calcein) ذو الطبيعة الفلوريسينية. علاوة على ذلك، فإن الخلايا يتم معاملتها بمادة (ethidium homodimer) التي تستطيع الدخول إلى الخلايا إذا كانت الأغشية

الخلوية قد حدث بها أضراراً ومن ثم تموت الخلايا. ويداخل الخلايا، فإن مادة الأيثيديوم (ethidium) ترتبط بالحامض النووي (DNA) وتتولد إشارة فلوريسية التي يمكن قياسها كميّاً أو تصويرها بجانب الإشارة الفلوريسية الخاصة بمادة الكالسين (Calcein).

ومن الناحية العملية، فإنه في حالة اتباع التقنيات المعتمدة على استخدام طرق التقييم الفلوريسية، فإنه يجب الأخذ في الاعتبار أن بعض الجسيمات النانوية قد تتداخل مع عملية التقدير الكمي للشعاع الفلوريسينسي وذلك لأنه اتضح أن بعض الجسيمات النانوية مثل جسيمات ثاني أكسيد التيتانيوم يمكنها أن تعكس الضوء فوق البنفسجي بينما جسيمات الكربون الأسود تقوم بامتصاص الضوء ومن ثم يحدث تغيير في خلفية الشعاع الفلوريسينسي. وبصفة عامة، فإنه للاطلاع على المزيد من التفاصيل المتعلقة بالسمية الخلوية للجسيمات النانوية، فإنه بالفصل السادس توجد غالبية التفاصيل المتعلقة بهذه الجزئية.

د) الرابط بين الإجهاد التأكسدي، إرسال إشارات الكالسيوم والالتهاب

The Link Between Oxidative Stress, Calcium Signaling and Inflammation

إن عملية الإجهاد التأكسدي وما تستهدفه من مسارات إرسال الإشارات الخلوية أمكن إثباتها من خلال ما تحدثه من تغيرات في طبيعة التعبير الجيني للجينات التي تشمل تنشيط خلايا الدم البيضاء المتعادلة والماكروفاجات وهو الأمر المؤدي إلى حدوث إلتهاجات (Rahman, 2003). وللتأكيد على إحداث الجسيمات النانوية للإجهاد التأكسدي، فقد قامت بعض الدراسات باستخدام مصادر مؤكسدة غير الجسيمات النانوية وأمكن الحصول على دلائل تشير إلى أن أنواع الأكسجين النشط والإجهاد التأكسدي يؤثر على إرسال إشارات الكالسيوم بالخلايا. وقد اتضح أن الكالسيوم يعتبر من العناصر شديدة الأهمية بداخل الخلايا حيث من خلاله يتم التحكم بالعديد من العمليات الخلوية بما في ذلك قذف الخلايا لمحتوياتها (Exocytosis)، بناء الهيكل الخلوي والإنزيمات وهم من المكونات التي تقوم بتنظيم نشاط عامل النسخ (Transcription factor) (Berridge, 2004).

وفيما يتعلق بالكالسيوم، فإن تركيزاته بداخل السيتوبلازم الخلوي يتم الحفاظ عليها في مدى من التركيزات المنخفضة والتي تتراوح في حدود نانومولار (nM) وذلك من خلال اشتراك أيونات الكالسيوم مع إنزيم (ATP-ase) الذي له أكثر من وظيفة بالغشاء الخلوي حيث يتم طرد الكالسيوم ومنعه من دخول الخلية، إحتجاز الكالسيوم بداخل الشبكة الإندوبلازمية وكذلك وجود الكالسيوم في حالة مرتبطة مع البروتينات المخصصة لذلك وهذا في مجمله ما يتيح حدوث تغيرات طفيفة نسبياً في مستويات الكالسيوم من أجل توليد إشارات شديدة الفعالية (Orrenius et al., 1992). بناءً على ذلك، فقد لوحظ أن تركيز الكالسيوم بداخل الخلايا والذي يتراوح في مدى من نانومولار يكون مضاد لتركيزات الكالسيوم خارج الخلايا والتي تصل إلى مليمولار (mM) وهذا ما يكون نتيجة الإبقاء على نوع من تدرج التركيز بشكل ثابت وهو الأمر الذي ينتج عنه التحكم في دخول الكالسيوم إلى داخل الخلايا. ومن

خلال ذلك التنظيم المعقد، فقد لوحظ أن تنشيط مدى كبير من الإشارات المتنوعة بالخلايا قد ينتج عنها تحفيز وإثارة لإنسياب الكالسيوم من الشبكة الإندوبلازمية وتدخل إلى البلازما من خلال قنوات الكالسيوم مولدة بذلك إشارات شديدة الفعالية بداخل الخلايا والتي يمكن استرجاعها وتعديلها بفعل مضخة إنزيم (Ca²⁺-ATPase). بناءً على ذلك، فإن المواد المؤكسدة بما في ذلك أنواع الأكسجين النشط (ROS) قد تكون ذات تأثير على إشارات الكالسيوم من خلال أكسدةها لمجاميع الكبريت التي تدخل في عمل مضخة إنزيم (Ca²⁺-ATPase) بكل من الغشاء البلازمي والشبكة الإندوبلازمية (Barnes et al., 2000; Berridge, 2004)، وهذا بذلك مما يؤدي إلى خفض كفاءة الطرد والاحتجاز سالفة الذكر.

علاوة على ذلك، فقد تم اقتراح أن أنواع الأكسجين النشط قد يمكنها أن تؤثر على نشاط وكذلك وظيفة قنوات الكالسيوم بالغشاء الخلوي وعلى البروتينات التي ترتبط بالكالسيوم التي يطلق عليها كالمودولين (Calmodulin) (Kourie, 1998). واعتماداً على ذلك، فإن الاقتراح الخاص باستمرار التعرض لأنواع الأكسجين النشط (ROS) فإن ذلك يتبعه تسرب للكالسيوم إلى داخل سيتوبلازم ومن ثم تخفض قيمة تدرج التركيز مما يسمح معه بزيادة تركيز الكالسيوم بداخل الخلايا. أيضاً، توجد دلائل وشواهد مادية تفيد بأن إشارات الكالسيوم يمكنها أن تتحكم في حدوث عملية الالتهاب وذلك طبقاً لما تم إثباته أثناء حدوث مما يعرف باسم الإلتان (Sepsis) وذلك كما أشار إليه العالمان (Deacise and Spitzer, 1987).

بناءً على ما سبق، فإنه يأخذ جميع الشواهد السالفة معاً، فإنه يستدل من ذلك أن أنواع الأكسجين النشط تعمل على تعديل وتغيير في إشارات الكالسيوم وهو الأمر المؤدي إلى تنشيط تسلسل الإشارات بداخل الخلايا والتي تشمل تنشيط عامل النسخ (Transcription factor) وهو ما يكون نتيجة إنتاج المركبات البادئة للالتهاب (السيتوكينات Cytokines). وللاستدلال على مصداقية ذلك، فقد استطاع العالم (Brown et al., 2004) من إثبات أن المادة المؤكسدة الهبة للدهن (tert-butyl hydroperoxide (tBHP) تعمل على تنشيط تدفق الكالسيوم في الماكروفاجات مما يؤدي إلى إنتاج المادة البادئة للالتهاب (TNFα). من جهة أخرى، أمكن إثبات أنه باستخدام مشيطات لإشارات الكالسيوم مثل مركب فيراباميل (Verapamil) والذي يعمل على إنسداد قناة الكالسيوم وكذلك المركب المخلي للكالسيوم (BAPTA-AM) كان كل منهما قادراً على منع المادة المؤكسدة (tBHP) من أن تحث على إنتاج المركب البادئ للالتهاب (السيتوكين من النوع TNFα). من هنا يتضح الدور المهم الذي يلعبه الكالسيوم في كيفية التأثير على فعل المادة المؤكسدة وما تحثه من إنتاج المركب البادئ للالتهاب (السيتوكين).

أيضاً، فقد أشار العالم (Bynn et al., 2002) إلى أن تعرض الخلايا إلى فوق أكسيد الهيدروجين (H₂O₂) يؤدي إلى حدوث تشييط عوامل الاستساح بالجينات المتخصصة في تنظيم والتحكم بعملية الالتهاب والتي من أهمها

العامل النووي (Kappa B). وفي الحقيقة، فقد اتضح أن عملية التحكم في ظهور الالتهاب بداخل الخلايا يتم تنظيمها بشكل بالغ الدقة من خلال ميكانيكيات عديدة تتدخل فيها العديد من العوامل والمكونات مثل تنظيم تركيز الكالسيوم، درجة نشاط إنزيم (Kappa B-kinase)، مستويات البروتينات التي ترتبط بالكالسيوم والتي تسمى كالموديولين (Calmodulin) ومستوى التعبير الجيني لعوامل الإستهساخ وغيرهم والتي اتضح أنهم جميعاً مرتبطين معاً بشكل معقد ومن ثم يكون كل منهما في غاية الحساسية تجاه تفاعلات الأوكسدة الحادثة بفعل المواد المؤكسدة مثل أنواع الأوكسجين النشط والتي تؤدي إلى إنتاج المركبات المسؤولة عن ظهور الالتهاب (Bigelow and Squir, 2005; Brown et al., 2004 a). ليس هذا فحسب وإنما اتضح أن الكالسيوم له دور واضح في ميكانيكية حدوث الموت الخلوي إن كان من خلال التكرز (Necrosis) أو من خلال الموت الخلوي الفسيولوجي (Apoptosis) وذلك كما تم توضيحه بواسطة العالم (Orrenius et al., 1996).

ه) الربط بين أنواع الأوكسجين النشط والجسيمات النانوية والالتهاب

Linking ROS, Nanoparticles and Inflammation

في مجال الدراسات المتخصصة بالتأثيرات الضارة التي تحدثها عمليات الإجهاد التأكسدي، فقد أشار العالم (Stone et al., 1998) بأن الجسيمات النانوية الكربونية السوداء (قطرها ١٤ نانومتر) قد تسببت في إحداث خفض في المحتوى الخلوي من الجلوتاثيون كدليل على حدوث الإجهاد التأكسدي في الحط الخلوي المستمد من الخلايا الطلائية الرئوية. ونفس الجسيمات في دراسة أخرى تسببت في إحداث تدفق للكالسيوم في الحط الخلوي (Monomac 6) (Stone et al., 2000a)، وكذلك في ماكروفاجات الحويصلات الرئوية بالجرذان (Stone et al., 2000b). ونفس هذا التأثير على الكالسيوم قد أحدثته الجسيمات النانوية المصنعة من مادة بولي إسترين (Brown et al., 2001). وللتصديق على حدوث ذلك التأثير بفعل الجسيمات النانوية، فقد أمكن تسييط ما أحدثته هذه الجسيمات النانوية من تزايد في تركيزات الكالسيوم بداخل الماكروفاجات من خلال معاملتها بالمواد المضادة للأوكسدة وهذا مما يثبت الارتباط الواضح بين قدرة الجسيمات على إجراء حث لأنواع الأوكسجين النشط وبين قدرتها على إجراء حث في زيادة تركيزات الكالسيوم (Stone et al., 2000 a & b). أيضاً، فقد أشار العاملان (Stone and Kinloch, 2007) إلى إمكانية وجود العلاقة التي تربط بين الجسيمات النانوية خاصة التي من أصل عضوي وبين قدرتها على حث الالتهاب من خلال ميكانيكيات الإجهاد التأكسدي وهذا نفس ما أثبتته بعض العلماء (Baulig et al., 2003).

و) علاقة ارتفاع نسبة طول إلى عرض الجسيمات النانوية بتأثيراتها الخلوية

High-Aspects Ratio Nanoparticles and their Relations with their Cellular Effects

توجد العديد من أنواع الجسيمات النانوية التي تزداد فيها نسبة طولها إلى عرضها وذلك مثل الأنابيب النانوية (Nanotubes) (Donaldson et al., 2006)، القضبان النانوية (Nanorodes) (Chen et al., 2006 c)، الألياف

النانوية (Nanofibers) (Melaiye et al., 2005) واللفائف النانوية (Nanowires) (Chen et al., 2006). ونظراً لتشابه هذه الجسيمات مع ألياف الإسبستوس، فقد أدى ذلك إلى جذب انتباه الكثير من العلماء خاصة من حيث ما يمكن حدوثه من تأثيرات ممرضة بفعل هذه الجسيمات النانوية التي تشابه الأسبستوس (Donaldson et al., 2006). وفي الحقيقة، فإن التأثيرات السامة التي تحدثها ألياف الأسبستوس بالخلايا الحية قد أمكن دراستها وإثباتها على المستوى الجزيئي والخلوي. ومن أشهر هذه التأثيرات هي إحداثها للالتهاب، إنتاج أنواع الأكسجين النشطة، وخفض الأنظمة المضادة للأكسدة، وإحداث الإجهاد التأكسدي، وإحداث أكسدة فوقية للبيبتات، وإحداثها للطفرات وتنشيطها لزيادة تركيزات الكالسيوم بداخل الخلايا وزيادة إنتاج السيوكينات وحثها للمجينات المرطبة.

وفي هذا المجال، قام العديد من العلماء بإجراء الكثير من الدراسات المتخصصة التي تثبت تلك التأثيرات

السلبية (Googlick et al., 1989; Tuomala et al., 1993; Faux et al., 1994; Janssen et al., 1994 & 1995; Simeonova and Luster, 1996; Gilmour et al., 1997; Drumm et al., 1999; Brown et al., 2000; Swain et al., 2004; Mossman et al., 2006). وفيما يتعلق بالجسيمات النانوية التي تزداد فيها نسبة طولها إلى عرضها، فقد تم إجراء بعض الدراسات على أنابيب الكربون النانوية وما تحدثه من التهابات وتكوين تورمات حبيبية بفئران التجارب (Lam et al., 2004; Shvedova et al., 2005). وعموماً، فإن نتائج هذه الدراسات ما زالت في احتياج المزيد من الدعم بنتائج دراسات أخرى يجب إجراؤها خاصة فيما يتعلق بأسلوب التعرض ومقدار الجرعات المختبرة والنظام المتبع إن كان خارج الجسم الحي (*in vitro*) أو داخله (*in vivo*) ومحاولة إيجاد العلاقة التي تربط التأثيرات الحادثة بقياسات وأبعاد وأنواع الجسيمات النانوية المختبرة. بمعنى آخر، فإن الطريق ما زال طويلاً في هذه الجزئية حتى يمكن تعميق فهم ما تحدثه الجسيمات النانوية من ميكانيكيات تسمم وإصابة بالأمراض المختلفة؛ نتيجة تعرض الإنسان لها. وفي النهاية، فإن هذه النوعية من الدراسات سوف تساعد على إيجاد الطرق المناسبة والأمنة في تطوير تقنيات نانوية أكثر أماناً للإنسان وما حوله من مكونات بيئية.