

# ارزیابی قدرت نانوذرات اکسید سربوم عامل دار شده با آپتامر ضد اینترلوکین ۱۷ در کاهش التهاب مغزی و درجه بیماری در مدل موشی بیماری مالتیپل اسکلروزیس

سید حسن حکمتی مقدم، علی جبالی<sup>۲\*</sup>

۱. دانشیار، متخصص آسیب شناسی بالینی، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران
۲. نویسنده مسول، استادیار، دکتری نانوفناوری پزشکی، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران

alijebal2011@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۹۷/۰۲/۰۸ تاریخ پذیرش نهایی: ۹۷/۰۳/۳۰)

**زمینه و هدف:** بیماری مالتیپل اسکلروزیس (ام اس) یک بیماری التهابی عصبی است که عامل ناتوانی جسمی در جوانان به ویژه در بانوان می باشد. هدف این مطالعه ارزیابی اثر نانوذرات اکسید سربوم عامل دار شده با آپتامر ضد اینترلوکین ۱۷ در کاهش التهاب مغزی و درجه بیماری در مدل موشی بیماری ام اس بود.

**مواد و روش ها:** این مطالعه از نوع تجربی بود و نخست، مدل بیماری با استفاده از عصاره های استخراجی شامل PLP و PBP ایجاد گردید. سپس نانوذرات اکسید سربوم عامل دار شده با آپتامر ضد اینترلوکین ۱۷ سنتز و به مدل های حیوانی ایجاد شده تزریق گردید. بعد از ارزیابی حسی و حرکتی موش های مورد مطالعه، بیان نسبی ژن های التهابی (اینترلوکین ۱۷ و اینترلوکین ۱۰ و اینترفرون گاما) در مغز ارزیابی شد.

**یافته ها:** این مطالعه نشان داد که عصاره های PLP و MBP نتوانستند به خوبی مدل بیماری را به وجود آورند. نانوذرات اکسید سربوم عامل دار شده با آپتامر ضد اینترلوکین ۱۷ نتوانست علایم را تا حدودی کاهش دهد اما توانست در برخی ژن ها مانند ژن اینترلوکین ۱۷ و اینترلوکین ۶ در هفته سوم تاثیر گذار باشد و التهاب را مقداری کاهش دهد.

**نتیجه گیری:** از این مطالعه چنین می توان نتیجه گرفت که نانوذرات اکسید سربوم عامل دار شده با آپتامر ضد اینترلوکین ۱۷ تاحدی می تواند جلوی پیشرفت بیماری را بگیرد. این در حالیکه بایستی فارماکودینامیک و فارماکوسینتیک این نانوذارو در مطالعات آینده مورد ارزیابی قرار گیرد.

**کلید واژه ها:** ام اس، نانوذرات، اکسید سربوم، آپتامر، مدل حیوانی

## مقدمه

هستند و این درحالی است که سلول های TCD+4 و سلول های B به میزان کمتر به درون دستگاه عصبی مرکزی فیلتر می شوند که خود منجر به التهاب و تخریب بافت عصبی و لایه میلین می شوند. سایتوکاین های التهابی نقش مهمی را در پاتوژنز بیماری ام اس، به ویژه در اوایل بیماری در رابطه با فعال سازی سیستم ایمنی و تخریب الیگودندروسیت ها و واحدهای میلین دارند. اینترلوکین ۱۷، اینترلوکین ۱۰، اینترلوکین ۶ و اینترلوکین ۲۳ جزء سایتوکاین های درگیر در این بیماری هستند. در حال حاضر هیچ درمان قطعی برای ام اس وجود ندارد، ولی در سالهای اخیر پیشرفت چشمگیری دیده شده است. اساس داروهای درمانی، مهار ایمنی و تعدیل کردن ایمنی است. در این تحقیق قدرت نانوذرات اکسید سربوم عامل

مالتیپل اسکلروزیس (ام اس) یک بیماری التهاب عصبی مزمن مغز و نخاع است، که عامل ناتوانی جسمی در جوانان به ویژه در بانوان می باشد. حدود ۲/۵ میلیون نفر در سراسر جهان به این بیماری مبتلا هستند. علت بیماری هنوز مشخص نیست اما مکانیزم اصلی آن آسیب زدن توسط سیستم ایمنی بدن یا اختلال در سلول های تولیدکننده میلین می باشد. التهاب در تمام مراحل بیماری وجود دارد، اما در مرحله حاد التهاب بارزتر از مرحله مزمن است. ضایعات اولیه نشان می دهند که سلول های محیطی ایمنی به سمت دستگاه عصبی مرکزی حمله می کنند و از سد خونی-مغزی عبور می کنند. این سلول ها با درصد بیشتری ماکروفاژها و سلول های TCD+8

هیچ درمان قطعی برای ام اس وجود ندارد ولی در سالهای اخیر پیشرفت چشمگیری در درمان این بیماری دیده شده است. اساس داروهای درمانی در این بیماری مهار ایمنی و تعدیل کردن ایمنی است. عوامل سرکوب کننده ایمنی طی دهه ها برای این بیماری مصرف می شوند. این داروها تعداد حملات را کاهش می دهند و پیشرفت بیماری را به تاخیر می اندازند و تنها بر روی بخش های التهابی بیماری موثر هستند. این عوامل سرکوب کننده التهاب دارای اثرات کم و تقریباً هیچ پیشرفتی در بهبودی بیمار ندارند. زیرا مکانیسم آسیب آکسون ها حداقل تا حدی مستقل از التهاب حاد یا مزمن است. این نشان می دهد که به استفاده بهتر از درمان های در دسترس و لزوماً استفاده از گزینه های درمانی جدید برای جلوگیری از پیشرفت بیماری و بهبودی آن نیازمندیم (۷-۹).

هدف از این مطالعه ارزیابی اثر نانوذرات اکسید سربوم عامل دار شده با آپتامر ضد اینترلوکین ۱۷ در کاهش التهاب مغزی و درجه بیماری در مدل موشی بیماری مالتیپل اسکلروزیس بود.

### مواد و روش ها

این مطالعه از نوع تجربی بوده و تمام آزمایشاتی که بر روی حیوان آزمایشگاهی انجام شد با رعایت اصولی اخلاقی کار با حیوانات مصوب کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی یزد بوده است. در این مطالعه -Realtime PCR از شرکت ABI آمریکا، -PCR MasterMix و RT-MasterMix از شرکت جین آل کره جنوبی، آپتامر و پرایمرها از شرکت تکاپوزیست ایران خریداری گردید. همچنین پپتید نوترکیب MOG فراگمنت ۳۵ تا ۵۵، سم پرتوسیس، ادجوانت کامل فروند و همچنین تمامی بافرها و محلول های مورد استفاده از شرکت سیگما آلمان تهیه گردید.

### تهیه PLP خام

برای بدست آوردن این عصاره از مغز تازه گاو استفاده گردید. بعد از ذبح حیوان سریعاً مغز آن توسط دامپزشک جدا شده و روی یخ به آزمایشگاه تحقیقات پیراپزشکی انتقال یافت. سپس ۱۰۰ گرم از آن را درون هاون خرد کرده تا تبدیل به سوپ کاملاً له شده، گردید. در مرحله

دار شده با آپتامر ضد اینترلوکین ۱۷ در کاهش التهاب مغزی و درجه بیماری در مدل موشی بیماری مالتیپل اسکلروزیس ارزیابی می گردد (۱-۳). فرد دارای ام اس همه علائم یا نشانه های عصب شناختی را دارد؛ رایج ترین این نشانه ها مشکلات دستگاه عصبی خودگردان، دیداری، حرکتی و حسی می باشند. علائم خاص از طریق محل های زخم در سیستم عصبی مشخص می شوند و شامل کم بساوی یا خواب رفتگی مانند مور مور شدن، اسپاسم، ضعف عضلات، واکنش های غیرارادی، گرفتگی عضلات یا ناتوانی در حرکت، ناتوانی در هماهنگی و تعادل ناهماهنگی عضلات، مشکل در صحبت کردن یا دیسفاژی، مشکلات دیداری (جنبش کره چشم، کاهش دید یا دوبینی)، احساس خستگی، درد شدید یا درد مزمن و مشکل در ادار و مدفوع می باشد. دشواری در فکر کردن و مشکلات عاطفی مانند افسردگی یا ناخویشتن داری عاطفی نیز در بین مبتلایان به ام اس رایج است. دیده یوتافس، شدت یافتن نشانه های بیماری بر اثر تماس با بالا و علامت لرمیت، احساس سوزش در پشت هنگام خم کردن گردن از ویژگی های بیماری ام اس می باشند. معیار اصلی ناتوانی و شدت مقیاس وضعیت ناتوانی گسترده می باشد که همراه با معیارهای دیگر مانند اسکلروز چندگانه تابعی کامپوزیت در تحقیقات مورد استفاده قرار می گیرد. این شرایط در ۸۵٪ موارد به شکل سندروم در طول چند روز آغاز می شود که از این تعداد ۴۵٪ دارای مشکلات حرکتی، ۲۰٪ دچار تاری دید و ۱۰٪ دارای سندروم مرتبط با نقض در عملکرد ساقه مغز می باشند، این در حالی است که ۲۵٪ باقی مانده دچار بیشتر از یک مورد از مشکلات ذکر شده می باشند. علت ام اس نامشخص است، با وجود این گمان می رود این بیماری بر اثر ترکیبی از عوامل محیطی مانند عوامل آلوده کننده و ژنتیک اتفاق می افتد. برخی شواهد دال بر پیوست این بیماری با درجه زیبایی دارد. تئوری ها در تلاش هستند تا داده ها را با توضیحاتی واقع بینانه ترکیب کنند اما این مورد تاکنون به عنوان موردی قطعی ثابت نشده است. اگرچه تعدادی فاکتورهای ریسک محیطی وجود دارد و این که بعضی از آن ها قابل تعدیل هستند، تحقیقات بیشتری برای تعیین اینکه حذف آن ها می تواند از بیماری ام اس پیش گیری کند مورد نیاز است (۴-۶).

تقسیم و در هر پهلو عقبی موش دو بار تزریق زیر جلدی انجام شد. یک هفته بعد از ایمن سازی اولیه، با همان مقادیر اول ایمن سازی ثانویه صورت گرفت. در هفته دوم ۲۴ ساعت بعد از تزریق، یک دوز حاوی ۲۰۰ نانوگرم سم پرتوسیس به صورت صفاقی تزریق نیز گردید. از فردای تزریق سم درجه بندی علائم بالینی برای هر موش صورت گرفت. (۱۰) نکته: زمان تزریق نانوذرات برای همه گروه ها از هفته سوم بود. برای کنترل کار، از پیتید نوترکیب MOG نیز برای ایجاد مدل حیوانی نیز با همین پروتوکل استفاده گردید. بطور خلاصه، ۲۰۰ میکرولیتر از محلول (حاوی حدود ۱۰۰ میکروگرم پیتید MOG) در عقب پهلو موش تزریق زیر جلدی انجام شد. یک هفته بعد از ایمن سازی اولیه، با همان مقادیر اول ایمن سازی ثانویه صورت گرفت. در اینجا نیز، در هفته دوم، یک دوز حاوی ۲۰۰ نانوگرم سم پرتوسیس به صورت صفاقی تزریق نیز گردید (۱۰).

#### تهیه نانوذرات اکسید سربوم عامل دار شده با آپتامر

با توجه به قدرت حل شوندگی کلرید سربوم ۵۰ گرم از آن را برداشته، در هاون کوبیده تا به صورت پودری در آمد، سپس در حجم ۵۰ سی سی از آب مقطر دیونیزه به خوبی حل گردید. با توجه به وزن مولکولی آن غلظت محلول بدست آمده حدود ۴ مولار بود. همچنین، ۸ گرم از NaOH در ۵۰ سی سی آب مقطر دیونیزه حل شد و محلولی با غلظت ۴ مولار به دست آمد. سریال غلظت ۲، ۱، ۰/۱، ۰/۰۱، ۰/۰۰۱) مولار از هر دو محلول تهیه شد و به صورت ماتریکسی با حجم ۱۰۰۰ میکرولیتر از هر ترکیب در مواجهه ی یکدیگر قرار داده شد تا رسوب اکسید سربوم تشکیل شود. در این مرحله به منظور بهتر دیده شدن واکنش به مدت زمان ۵ دقیقه در دور rpm3000 سانتریفیوژ نیز انجام شد. غلظت هایی از واکنش که در آنها رسوبی تشکیل نشده بود، حذف شدند و سایر لوله های دارای رسوب، سه دفعه با آب دیونیزه در دور rpm3000 به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. لوله ای انتخاب شد که بیشترین رسوب را ایجاد کرده بود. سپس با حلال PBS غلظت ۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر از نانوذرات تهیه شد و برای مرحله بعد مورد استفاده قرار گرفت. برای اتصال آپتامر و پوشش دار کردن نانوذرات ۲۵ میکروگرم معادل ۵۰ میکرولیتر از استوک نانوذره مورد

بعد برای رقیق تر شدن سوپ تهیه شده ۵ میلی لیتر سرم فیزیولوژی به آن اضافه گردید و شدیداً بهم زده شد. در مرحله بعد سوپ رقیق داخل بطری شیشه ای در پیچ دار قرار داده و به آن ۱۰۰ میلی لیتر محلول کلروفرم: متانول با نسبت ۲:۱ اضافه گردید و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای محیط با سرعت ۲۰۰ دور بر دقیقه مخلوط گردید. بعد از مخلوط سازی سوسپانسیون تهیه شده از یک گاز استریل عبور کرد تا ذرات درشت گرفته شود. سپس مایع عبوری با سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید و از مایع رویی استفاده گردید. ۱۰۰ میلی لیتر از مایع رویی با ۲۰ میلی لیتر سرم فیزیولوژی مخلوط و دوباره با سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. رسوب بدست آمده PLP بوده که غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم در ۱۰۰ میکرولیتر (یا ۱۰ میکروگرم در میکرولیتر) تهیه گردید و برای آزمایشات از آن استفاده گردید (۱۰).

#### تهیه MBP خام

برای بدست آوردن PLP، بعد از مخلوط سازی سوسپانسیون مغز با محلول متانول: کلروفرم، از یک گاز استریل عبور کرده و از ته نشین استفاده گردید. به تمامی ته نشین دوباره ۲۰۰ میلی لیتر محلول متانول: کلروفرم اضافه کرده و شدیداً بهم زده و باز از یک گاز استریل عبور کرده و به ته نشین ۲۵ میلی لیتر سرم فیزیولوژی اضافه گردید. برای حل شدن بهتر از کمی HCL نیز استفاده گردید. محلول بدست آمده حاوی MBP بوده که غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم در ۱۰۰ میکرولیتر (یا ۱۰ میکروگرم در میکرولیتر) تهیه گردید و برای آزمایشات از آن استفاده گردید (۱۰).

#### تزریق عصاره های خام بدست آمده برای ایجاد مدل

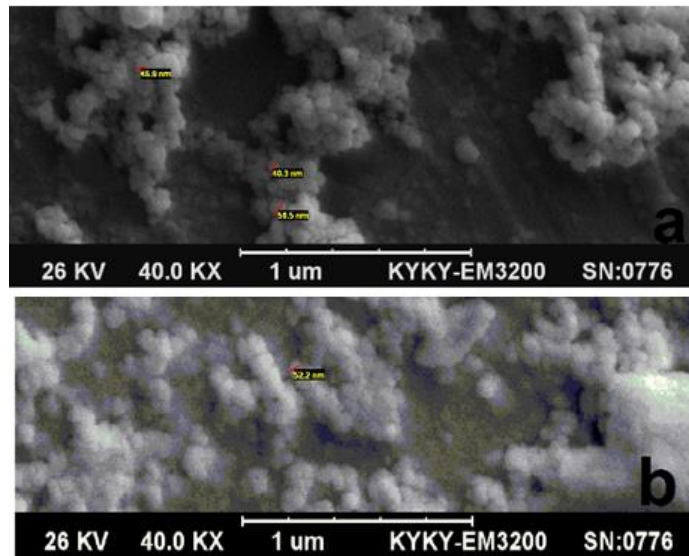
##### حیوانی

برای ایجاد مدل حیوانی EAE از موش ماده نژاد C57BL/6 استفاده گردید. از هر سه عصاره بدست آمده غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم در ۱۰۰ میکرولیتر (یا ۱۰ میکروگرم در میکرولیتر) تهیه گردید و ۱۰۰ میکرولیتر از هر یک بطور جداگانه با ۱۰۰ میکرولیتر از ادجوانت کامل فروند مخلوط شده و بعد از مخلوط سازی کامل، به هر موش تقریباً ۲۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون بصورت زیر جلدی تزریق شد. این مقدار حجم به ۴ تا ۵۰ میکرولیتر



مشخصه یابی نانوذرات عامل دار شده و غیر عامل دار از میکروسکوپ الکترونی روبشی استفاده شد (شکل ۱). وزن خشک رسوب به دست آمده در مرحله قبل تعیین شد و با حلال PBS به غلظت ۵ میکروگرم بر میلی لیتر رسانده شد و سپس به صورت داخل وریدی در ناحیه دم موش تزریق انجام شد. مقدار تزریق ۱۰۰ میکرولیتر به مدت ۳ روز بود. زمان تزریق برای همه گروه ها از هفته سوم بود.

نظر را برداشته و ۵۰۰ میکرولیتر از آپتامر اصلاح شده به غلظت ۱۰۰ پیکومولار به محلول فوق اضافه گردید و سپس به مدت ۳ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد درون انکوباتور شیکردار قرار داده شد. جهت حل شدن بیشتر نانوذرات و امکان تزریق به موش ها، ۲۰۰ میکرولیتر محلول دکستران با غلظت ۱۰۰ mg/mL را به ترکیب فوق اضافه کرده و ۳۰ دقیقه در انکوباتور شیکردار در دمای ۳۷ درجه گذاشته شد. سه بار با PBS با دور rpm1000 به مدت ۵ دقیقه شستشو داده شد. برای



شکل ۱. تصاویر SEM نانوذرات با بزرگنمایی ۴۰۰۰۰ در حالت عامل دار (a) و غیر عامل دار (b). نانوذرات سنتز شده در هر دو دارای شکل مدور و اندازه ۳۰-۱۲۰ نانومتر هستند.

در درون ظرف قرار داده و پس از مدت ۱۰ الی ۱۵ ثانیه از درون ظرف خارج گردیده و برای تشریح آماده گردیدند. سپس هر موش بر روی سینی تشریح قرار داده شد و به کمک دستمال کاغذی رطوبت ناشی از کلروفورم از بدن موش گرفته شد. سپس ۱ سانتی متر پایین تر از حدفاصل ۲ گوش از پشت سر برش داده شد و این کار به دو طرف به پیش برده و پوست سر را به سمت بالا برگردانده شد. در اینجا به نحوی کاسه مغز برش داده شد که حفرات ۲ گوش و ۲ چشم پدیدار شدند. برش به وسیله اسکالپل صورت گرفته سپس موش را بین انگشتان دست تابانیده و استخوان بین حفره چشمی و گوش در هر دو طرف به کمک یک قیچی مناسب (تشریح) شکسته شد و در ناحیه بین ۲ گوش (مقداری پایین تر) خط استخوان مجموعه موش دیده می شود. به کمک قیچی این استخوان نیز شکسته، آنگاه با کمک پنس مناسب مقداری از استخوان

**گروه های مورد مطالعه:** گروه های مورد مطالعه شامل موارد زیر بودند:

۱. موش نرمال که نه مدل بیماری داشتند و نه نانوذرات دریافت کردند.

۲. موش تحریک شده با عصاره PLP

۳. موش تحریک شده با عصاره MBP

۴. موش تحریک شده با عصاره PLP و مواجهه داده شده با سه دوز درمانی با غلظت ۵ میکروگرم بر میلی لیتر از نانوذرات (PLP+Nano)

۵. موش تحریک شده با عصاره MBP و مواجهه داده شده با سه دوز درمانی با غلظت ۵ میکروگرم بر میلی لیتر از نانوذرات (MBP+Nano)

**کالبد شکافی:** بعد از تکمیل دوره دریافت سامانه دارویی، ۲ میلی لیتر از کلروفورم را درون ظرف دربدار مناسب ریخته، سپس موش های مورد مواجهه و کنترل به ترتیب

های اطراف مغز را جدا گردید و به آرامی و با احتیاط بدون آسیب زدن به بافت مغز از مجموعه خارج گردید. سپس هر مغز را به صورت جداگانه داخل میکروتیوبی که قبلاً لیبل زده بودیم منتقل کرده و سپس یک میلی لیتر فسفات بافر سالین به آن اضافه گردید.

**استخراج RNA و سنتز cDNA:** استخراج با استفاده از کیت استخراجی RNA، براساس دستورالعمل کیت، RNA نمونه ها استخراج گردید. برای اینکار ابتدا سلول های مغزی توسط بافر Riboex شکسته و طی مراحلی DNA و پروتئین جدا می گردد. در مرحله اول مغز جدا شده درون میکروتیوب با چوبک پلاستیکی هموزن کرده و سپس ۵۰۰ میکرولیتر Riboex درون هر میکروتیوب اضافه و داخل آن ۵ عدد پرل شیشه ای ریخته و به شدت به مدت ۵ دقیقه هم زده شد. سپس میکروتیوب بمدت ۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس مایع رویی (شامل DNA و RNA و Protein) داخل یک میکروتیوب جدید ریخته و ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم خالص به آن اضافه گردید تا پروتئین ها رسوب کند. سپس میکروتیوب به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ گردید. برای جداسازی RNA از مایع رویی ۲۵۰ میکرولیتر ایزوپروپانول اضافه گردید و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط قرار داده شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه بر روی یخ منتقل گردید و در مرحله بعد به مدت ۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس محلول رویی جدا گردید و به ته نشین ۵۰۰ میکرولیتر الکل ۷۵ درصد اضافه گردید که این الکل باعث شستشو RNA می گردد. بعد از سپری شدن این مدت زمان به مدت ۵ دقیقه میکروتیوب با دور ۳۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. سپس الکل از درون میکروتیوب تخلیه و به صورت وارونه بر روی دستمال کاغذی قرار داده شد و در دمای محیط خشک گردید. سپس ۳۰ میکرولیتر آب عاری از آنزیم (DEPC) به RNA استخراج یافته اضافه گردید و فوراً داخل بن

ماری ۶۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه قرار داده شد تا تمامی RNA نه میکروتیوب حل گردد. در نهایت مجموعاً ۳۰ میکرولیتر (RNA total) به دست آمد که ۲ میکرولیتر از آن برای تعیین مقدار غلظت RNA و خلوص به دستگاه نانودراپ داده شد. برای سنتز cDNA، 20 میکرولیتر از RNA استخراجی درون میکروتیوب به مدت ۵ دقیقه در بن ماری ۶۵ درجه سانتی گراد قرار داده شد و سپس فوراً ۵ دقیقه روی یخ منتقل گردید تا از ایجاد ساختار ثانویه جلوگیری شود. سپس ۲۰ میکرولیتر از RT-MASTER MIX به میکروتیوب اضافه گردید. سپس ۵ دقیقه در دمای محیط (۲۵) درجه سانتی گراد قرار گرفت سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد درون بن ماری انکوبه گردید. در این مرحله آنزیم R.T فعال می گردد و پرایمر هگزامر به RNA ها متصل می شوند و cDNA سنتز می شود. در مرحله بعد برای غیرفعال شدن آنزیم R.T میکروتیوب به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد قرار داده شد. در نهایت بعد از سنتز نمونه ها تا انجام PCR نمونه ها در ۷۰- درجه سانتی گراد قرار داده شدند.

**Real-time PCR:** دقیقاً مشابه PCR، در یک میکروتیوب کوچک (۰/۲ میلی لیتر) ۱۰ میکرولیتر CDNA هر نمونه را جداگانه با ۱۰ میکرولیتر میکس PRIMER(F,R) و ۱۵ میکرولیتر اب مقطر مخلوط کرده و به میکروتیوب انتقال داده شد. و سپس ۳۵ میکرولیتر از Realtime-MasterMix(SYBER GREEN) به میکروتیوب اضافه گردید و در آخر نیز ۱ میکرولیتر رنگ ROX DYE به میکروتیوب اضافه گردید و سپس نمونه ها داخل دستگاه ترموسایکلر مخصوص Real-time قرار داده شد و طبق برنامه زیر دستگاه Run شد. بعد از اتمام سیکل ها نمونه از دستگاه بیرون آورده شده و مقدار CT هر نمونه یادداشت گردید. برای اطمینان از تکثیر ژن های مورد نظر منحنی ذوب نیز گرفته شد.

تنظیمات سایز تکثیر و tm و GC% و Self Max Complementarity: و Self 3' Max Complementarity: برای هر ژن لحاظ گردید. سپس پرایمرهای معرفی شده از نظر اختصاصیت و خواص

طراحی پرایمر: نخست توالی FASTA ژن های مربوطه از NCBI استخراج و سپس با استفاده از الگوریتم Nblast قسمت های مشترک از واریانت های متفاوت از یک ژن را بدست آورده شد. در مرحله بعد توالی بدست آمده در نرم افزار آنالین Primer3Plus وارد شد و



ژن بطور جداگانه محاسبه گردید. در این تحقیق بعد از انجام آزمون ها به صورت ۳ بار تکرار میانگین نتایج محاسبه و با آزمون آماری T-TEST معنی داری گروه ها مورد تحلیل قرار خواهد گرفت. سطح معنی داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

قوی تر از آن عمل نمود. نکته قابل توجه آن که پپتید MOG نیز نتوانست مدل قوی و مناسبی را ایجاد کند. از آنجایی که این پپتید بسیار حساس بوده و حفظ زنجیره سرد آن بسیار حائز اهمیت می باشد، احتمالاً عدم جواب مناسب ما از این پپتید به این علت بوده است. درمان با نانو ذرات پوشش داده شده نیز تاثیری بر روی علائم بالینی در هفته ی سوم و چهارم نداشت.

ترمودینامیک بترتیب در الگوریتم Primer-BLAST و Beacon Designer™ designs بررسی گردیدند.

**تجزیه و تحلیل نتایج Real-time:** برای پی بردن به میزان بیان ژن ها از فرمول دلتا دلتا سی تی استفاده نمودیم. این فرمول در اکسل کد گذاری و میزان بیان هر

#### یافته‌ها

نتایج درجه بندی علائم بالینی در EAE بوجود آمده حاصل از عصاره های استخراجی: جدول ۲ درجه بندی علائم بالینی را نشان می دهد. در جدول ۳ نتایج درجه بندی علائم بالینی بوجود آمده حاصل از عصاره های استخراجی را می توان دید. در این جدول مشخص است که PLP بصورت قدرتمند قادر به القای مدل EAE بود. MBP نیز توانایی القای مدل را داشت ولی PLP

جدول ۲. درجه بندی علائم بالینی در مدل حیوانی ام اس

درجه	علائم بالینی	روش تشخیصی	مشاهدات
۰	بدون علائم بیماری (سالم)	نگه داشتن موش از قانده ی دم، لمس نوک دم با یک جسم استوانه ای، مشاهده ی راه رفتن	پاهای عقبی کشیده می شود، دم حرکت کششی خود را دارد، دم به دور جسم استوانه ای می پیچد، راه رفتن نرمال است.
۰/۵	دم کمی شل و بی حس می شود	نگه داشتن موش از قانده ی دم، لمس نوک دم با یک جسم استوانه ای، مشاهده ی راه رفتن	پاهای عقبی کشیده می شود، نوک دم سست می شود و نمی تواند دور جسم استوانه ای بپیچد، راه رفتن نرمال است.
۱	فلج کامل دم	نگه داشتن موش از قانده ی دم، لمس نوک دم با یک جسم استوانه ای، مشاهده ی راه رفتن	نوک دم سست می شود و نمی تواند دور جسم استوانه ای بپیچد، راه رفتن نرمال است.
۲	از دست دادن حرکات هماهنگ، فلج اندام عقبی	نگه داشتن موش از قانده ی دم، مشاهده ی راه رفتن، نیشگون گرفتن پا	وقتی قانده ی دم گرفته می شود، پاهای عقبی در کنار هم هستند، موش با حرکت ناهماهنگ راه می رود. پاهای عقب به نیشگون رفلکس نشان می دهد، بی حسی در دم
۲/۵	فلج یکی از پاهای عقب	نگه داشتن موش از قانده دم، مشاهده ی راه رفتن، نیشگون گرفتن پا	موش یکی از پاهای خود را می کشد، یکی از پاهای عقبی نمی تواند به نیشگون پاسخ دهد، بی حسی در دم
۳	فلج کامل هر دو پای عقب	نگه داشتن موش از قانده ی دم، مشاهده ی راه رفتن، نیشگون گرفتن پا	موش هر دو پاهای خود را می کشد، هر دو پاهای عقبی نمی تواند به نیشگون پاسخ دهد، بی حسی در دم
۳/۵	فلج هر دو پای عقب، ضعیف شدن پاهای جلو	نگه داشتن موش از قانده ی دم، مشاهده ی راه رفتن، نیشگون گرفتن پا	موش پاهای عقبی خود را می کشد و به سختی با پاهای جلویی بدن را هل می دهد، پاهای جلویی به نیشگون پاسخ می دهد، بی حسی در دم

۴	فلج کامل پاهای جلو	نگه داشتن موش از قانده ی دم، مشاهده ی راه رفتن، نیشگون گرفتن یا	موش نمی تواند حرکت کند، پاهای جلویی به نیشگون پاسخ نمی دهد، بی حسی در دم
۵	مرگ	نگاه کردن و لمس کردن موش	تکان نمی خورد، بدنش سرد شده است، تنفسش تغییر کرده است

جدول ۳. درجه بندی علائم بالینی در موش ها بعد از تزریق عصاره ها و مواجهه با نانوذرات

	هفته ۱	هفته ۲	*هفته ۳	هفته ۴
PLP	۲	۳	۳	۳
MBP	۱	۱	۲	۲
MOG	۰	۰/۵	۰/۵	۰/۵

\* موش ها از هفته سوم، سه دوز نانوذرات با غلظت ۵ میکروگرم بر میلی لیتر بصورت داخل وریدی دریافت نموده اند.

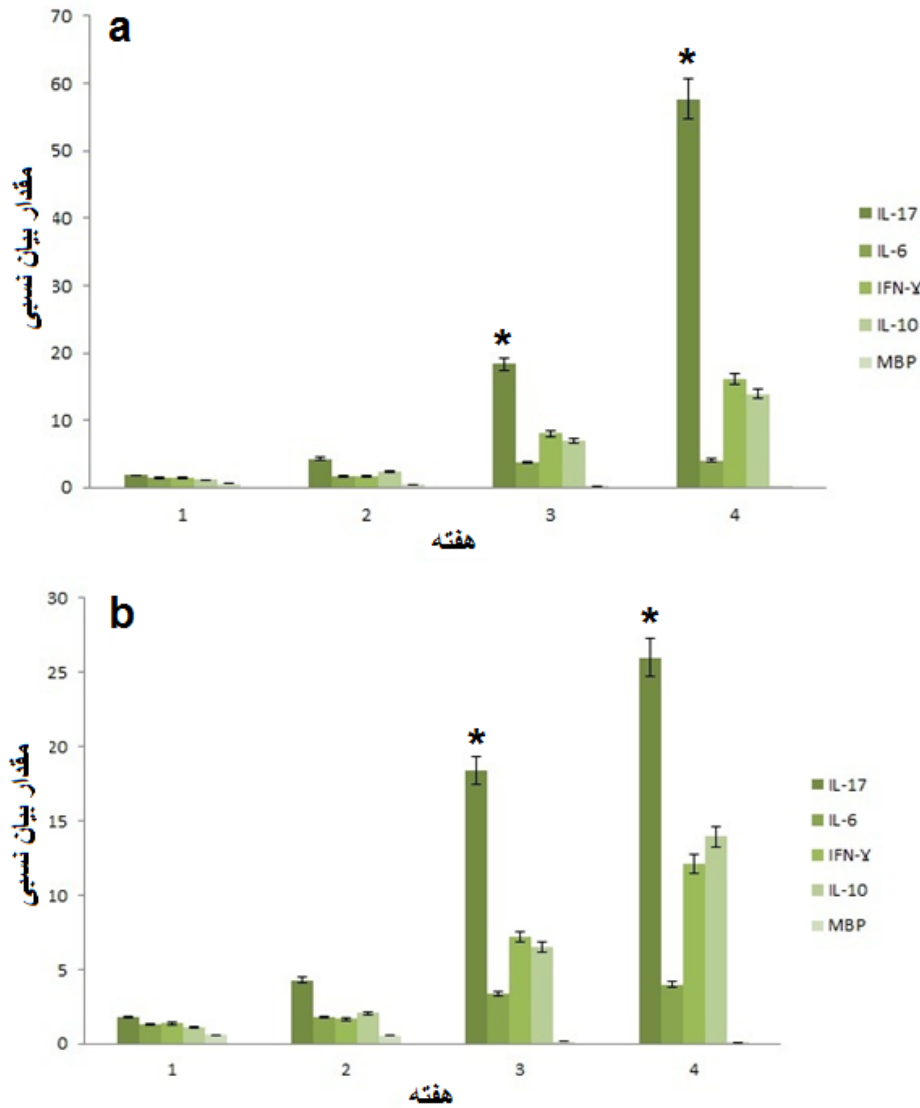
### نتایج بیان ژن ها

- مواجهه با نانوذرات اکسید سربوم عامل دار شده با آپتامر ضد اینترلوکین ۱۷ بر برخی از ژن های هر دو مدل ایجاد شده متاثر بوده و تاثیری بر مابقی ژن های مورد بررسی نداشت.
- مواجهه با نانوذرات اکسید سربوم عامل دار شده با آپتامر ضد اینترلوکین ۱۷ در هفته ی چهارم بر بیان ژن اینترلوکین ۱۷ تاثیر به سزایی داشت به نحوی که اختلاف معنی دار در مقایسه با سایر گروه مواجهه دیده شد ( $P < 0.05$ ).
- مواجهه با نانوذرات اکسید سربوم عامل دار شده با آپتامر ضد اینترلوکین ۱۷ در هفته ی سوم بر بیان ژن اینترلوکین ۶ و اینترفرون گاما تاثیر گذار بود ولی این تاثیر منجر به اختلاف معنی دار در مقایسه با سایر گروه های مواجهه نشد ( $P > 0.05$ ).
- ژن MBP بعد از مواجهه با نانوذرات در هر دو مدل ایجاد شده دچار افزایش بیان نشد که بیانگر عدم تاثیر گذاری این درمان بر سنتز غلاف میلینی است.

نمودارهای 1a و 1b به ترتیب بیان نسبی ژن های مورد مطالعه را طی ۴ هفته در مدل حیوانی ایجاد شده با PLP و مواجهه ی داده شده با نانوذرات اکسید سربوم عامل دار شده با آپتامر ضد اینترلوکین ۱۷ را نشان می دهد. همچنین نمودارهای 2a و 2b به ترتیب بیان نسبی ژن های مورد مطالعه را در مدل حیوانی ایجاد شده با MBP و مواجهه ی داده شده با نانوذرات اکسید سربوم عامل دار شده با آپتامر ضد اینترلوکین ۱۷ را طی ۴ هفته نشان می دهد. از نمودارهای مذکور نکات زیر قابل استنتاج است:

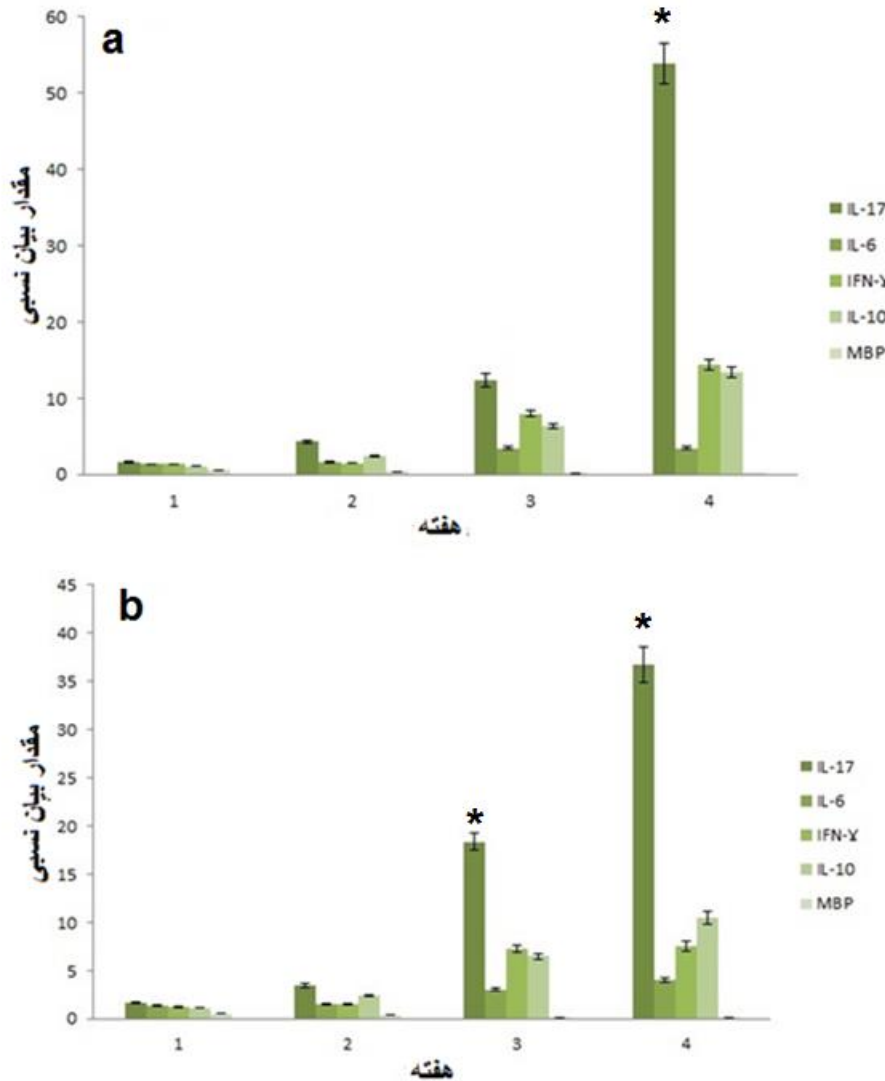
- PLP و MBP توانستند مدل ام اس در موش ایجاد کنند. این یافته به خوبی از طریق الگوی بیانی ژن ها قابل استنباط است.
- روند افزایشی همه ی ژن های التهابی در هر دو مدل ایجاد شده دیده می شود.
- ژن اینترلوکین ۱۷ بیشتر از ژن های اینترلوکین ۱۰ و ۶ و اینترفرون گاما در هر دو مدل دچار افزایش بیان گردید که این نکته بیانگر افزایش التهاب در مغز است.
- ژن MBP در هر دو مدل دچار کاهش بیان شده که بیانگر کاهش سنتز غلاف میلینی و وخیم تر شدن بیماری است.





نمودار ۱. بیان نسبی ژن های مورد مطالعه طی ۴ هفته در مدل حیوانی ایجاد شده با PLP (a) و مواجهه داده شده با نانوذرات اکسید سربوم عامل دار شده با آیتامر ضد اینترلوکین ۱۷ (b). علامت ستاره معنی داری در سطح  $p < 0.05$  را در مقایسه با سایر ژن ها در هفته یکسان نشان می دهد.





نمودار ۲. بیان نسبی ژن های مورد مطالعه طی ۴ هفته در مدل حیوانی ایجاد شده با MBP (a) و مواجهه ی داده شده با نانوذرات اکسید سربوم عامل دار شده با آیتامر ضد اینترلوکین ۱۷ (b). علامت ستاره معنی داری در سطح  $p < 0.05$  را در مقایسه با سایر ژن ها در هفته ی یکسان نشان می دهد.

### بحث و نتیجه گیری

در بیماری ام اس غلاف های میلین سلول های عصبی در مغز و نخاع آسیب می بینند. این آسیب دیدگی در توانایی بخش هایی از سیستم عصبی که مسئول ارتباط هستند می تواند اختلال ایجاد کند و باعث به وجود آمدن علائم و نشانه های زیاد شود. ام اس به چند شکل ظاهر می شود و علائم جدید آن یا به صورت عود مرحله ای (به شکل برگشتی) یا در طول زمان (به شکل متناوب) اتفاق می افتد. ممکن است در بین عود، نشانه ی بیماری به کلی از بین برود؛ با این وجود مشکلات عصبی دائمی به ویژه

با پیشرفت بیماری در مراحل بعدی به طور مداوم اتفاق می افتد. اگرچه علت بیماری مشخص نیست اما مکانیزم اصلی آن آسیب زدن توسط سیستم ایمنی بدن یا اختلال در سلول های تولیدکننده ی غلاف میلین است. دلایل ارائه شده در مورد این مکانیزم ها شامل عوامل ژنتیکی و عوامل محیطی مانند عفونت است. معمولاً ام اس بر اساس نشانه ها و علائم و نتایج آزمایش های پزشکی تشخیص داده می شود. درمان های موجود به منظور بهبود عملکرد بدن پس از هر حمله و جلوگیری از حملات جدید صورت می گیرد. اگرچه دارو هایی که برای درمان ام اس تجویز می شود اندکی موثرند اما دارای اثرات جانبی هستند و

وابسته به ساختار هستند ممکن است تا رسیدن به مناطق التهابی مغز به انواع مولکول ها متصل و دچار تغییرات ساختاری شوند و دوما آنزیم های موجود در خون ممکن است این مولکول را تجزیه کند که برای هریک از این اشکالات بایستی راه حل های مناسب اتخاذ گردد. پوشش دار کردن نانوذرات با پلیمرهایی چون PEG، دکستران و نشاسته یکی از این راه حل هاست. همچنین مقاوم کردن توالی الیگنوکلئوتیدی از راهکارهای نوین برای مقاوم سازی آپتامر هاست. معمولا این مقاوم سازی از طریق تغییر جزئی در ساختار الیگنوکلئوتیدها صورت می گیرد. بطور مثلا چونگ و همکاران از این استراتژی برای مقاوم سازی آپتامرهای تشخیص گر یون های فلزات سنگین استفاده کرده اند (۱۵).

در حال حاضر هنوز مدل حیوانی مناسبی که گویای تمام جنبه های مولکولی بیماری ام اس باشد، طراحی نشده است. مدل EAE نزدیکترین مدل برای بررسی بیماری ام اس است ولی خوب این مدل نیز مشکلات خاص خود را دارد. کامل نبودن التهاب مغزی و تغییرات ساختاری میلیون از جمله ایرادات این مدل هاست (۱۶). به هر روی در این تحقیق سعی گردید به عنوان یکی از اهداف اصلی مدل حیوانی ام اس ایجاد گردد. پپتید اصلی که برای ساخت این مدل استفاده می گردد، پپتید MOG است، اما این پپتید بسیار گران قیمت بوده و حساس به دما و شرایط نگه داری است. در این تحقیق سعی شد با تهیه ی عصاره های مختلف از مغز موش و گاو جایگزینی برای این ماده گران قیمت پیدا شود. در این تحقیق سه عصاره ی اصلی مغز یعنی Myelin و PLP و MBP تهیه و برای تهیه ی مدل مورد استفاده قرار گرفت. نتایج ارزیابی حسی و حرکتی و بیان ژن ها نشان داد که PLP و MBP بصورت قدرتمند قادر به القای مدل EAE بود. این بین به نظر می رسد که PLP قوی تر از MBP بود. در این مطالعه به عنوان کنترل نیز از پپتید MOG برای ایجاد مدل EAE استفاده گردید ولی متاسفانه نتایج ارزیابی حسی و بیان ژن ها مطلوب نبود که احتمالا به علت غیر فعال بودن این پپتید بوده است. همانطور که قبلا ذکر گردید این پپتید بسیار حساس بوده و حفظ زنجیره ی سرد آن بسیار حائز اهمیت می باشد.

تحمل آن دشوار است. با وجود این که شواهدی در مورد اثربخشی درمان های جایگزین ام اس وجود ندارد، بسیاری از دانشمندان به دنبال آن درمان ها هستند. پیش بینی نتیجه ی دراز مدت درمان بسیار دشوار است، اما نتیجه ی قابل قبول بیشتر در زنان، افرادی که در سنین پایین تر به این بیماری مبتلا شده اند، افرادی که در آن ها دوره های عود مشاهده می شود و افرادی که آن ها در مراحل اولیه حمله های کمی را تجربه کرده اند مشاهده می شود. امید به زندگی افراد دارای ام اس ۵ تا ۱۰ سال کمتر از دیگران است. از سال ۲۰۰۸، بین ۲ تا ۲/۵ میلیون نفر در سراسر جهان به این بیماری مبتلا شده اند، این در حالی است که نرخ ابتلاء در بخش های مختلف جهان و در بین جوامع مختلف تفاوت آشکاری دارد. این بیماری به طور معمول در سنین ۲۰ تا ۵۰ سالگی و در زنان دو برابر مردان اتفاق می افتد. نام «اسکروز چندگانه» به زخم ها (سختینه یا به عبارت دیگری پلاک یا زخم) که در ماده ی سفید مغز یا ستون فقرات قرار دارد گفته می شود. در حال حاضر، محققان در حال توسعه درمان ها و روش های تشخیصی جدید هستند (۱، ۱۱، ۱۲).

در این مطالعه نانوذرات اکسید سربوم عامل دار شده با آپتامر ضد اینترلوکین ۱۷ بمنظور کاهش التهاب مغزی در مدل های موشی بیماری ام اس مورد مطالعه قرار گرفت. علت استفاده از اکسید سربوم، وجود شواهدی دال بر داشتن خاصیت ضد التهابی و آنتی اکسیدانتهی این مولکول بود (۱۳). فرضیه ی ما این بود که شاید با نانومتری شدن ذرات قدرت آنها افزایش و بتواند تا حدی التهاب مغزی را کاهش دهد. البته ورود این نانوذرات به مغز چالشی مهم است که بایستی در تحقیقات آینده مورد بررسی بیشتر قرار گیرد. طراحی حامل های تخصصی برای عبور فعال یا غیر فعال این سامانه از اهمیت بسیاری برخوردار است. پوشش دهی نانوذرات با آپتامر ضد اینترلوکین ۱۷ نیز در همین راستا صورت گرفت. از آن جایی که این اینترلوکین در مناطق التهابی مغز بیماران ام اس فراوان است می تواند هدف خوبی برای تحویل دارو باشد (۱۴).

در این تحقیق ما به هدف دارو رسانی هدفمند آپتامر ضد اینترلوکین ۱۷ را روی نانوذرات اکسید سربوم نشانندیم. البته لازم به ذکر است که چند مانع برای عملکرد بهینه ی این مولکول وجود دارد. اولاً چون آپتامرها شدیداً

کند. در مطالعه ای مستقل بایستی انواع پوشش های مناسب برای این نانوذرات تهیه و بعد از مجاورت با خون و سلول های مختلف اثر عملکردی آن مستقلا ارزیابی گردد. همانطور که در مقدمه نیز ذکر گردید هنوز درمان مناسبی برای بیماری ام اس وجود ندارد. این تحقیق برای اولین بار در ایران و جهان انجام شده است. در این قسمت سعی گردیده است که برخی مطالعات مرتبط آورده شود.

مهاجری و همکاران در سال ۲۰۱۵ در مقاله ی خود عنوان می کنند که نانوکوکومین پلیمریزه شده علائم عصبی را در مدل EAE ام اس کاهش می دهد و از طریق تنظیم فرآیندهای التهابی و اکسیداتیو و افزایش حفاظت از عصب و بهبود غشای میلینی بهبودی میسر می شود. آنها در مدل EAE کاهش قابل ملاحظه ای در میزان demyelination و افزایش التهاب و شکست سد خونی مغزی را تایید کردند. مطالعات بیان ژن در نخاع بیانگر کاهش بیان ژن های پروتئین التهابی و کاهش استرس اکسیداتیو و بهبود میلین سازی و افزایش نشانگرهای سلولی بود. نتایج این مطالعه نشان داد که نانوکوکومین پلیمریزه شده به عنوان عامل ضد التهاب و ضد استرس اکسیداتیو اثر معنی داری بر نمرات ارزیابی حسی و مکانیسم های ترمیمی میلین دارد (۱۷). این مطالعه از جنبه های مختلف با نتایج بدست آمده در مطالعه ی ما همخوانی دارد.

محمودی و همکاران در سال ۲۰۱۱ ادعا می کنند که از نانوذرات اکسید آهن سوپر پارا مغناطیس می توان در تشخیص و درمان ام اس استفاده نمود. با این نانوذرات می توان تکنیک های مختلف پزشکی (به عنوان مثال، توموگرافی انتشار پوزیترون و رزونانس مغناطیسی) را بهبود بخشید. همچنین این نانوذرات باعث کاهش التهاب و میلین سازی می شوند (۱۸).

لیلیانا و همکاران در سال ۲۰۱۶ به معرفی سیستم های مبتنی بر نانو و میکرو برای القای تلورانس ایمنی در ام اس پرداختند. آنها ادعا می کنند که استفاده از فن آوری های نانو و میکرو راه حل های نو ظهور و نوآورانه برای درمان ام اس است. این فن آوری ها می توانند با بازگرداندن هوموستاز ایمنی از طریق تعاملات ویژه ی آنتی ژن-آنتی بادی این کار را انجام دهند. علاوه بر این، آنها پیشنهاد استفاده از یک روش جدید به نام patches

ارزیابی بیان ژن ها نشان داد که در مدل هایی که با PLP و MBP درست شده بودند، روند افزایشی همه ی ژن های التهابی و روند کاهش ژن MBP طی ۴ هفته دیده شد که بیانگر تاثیر مثبت عصاره های تزریقی بودند. چنین الگویی در سایر گروه ها دیده نشد. همچنین این مطالعه نشان داد که مواجهه با نانوذرات اکسید سربوم عامل دار شده با آپتامر ضد اینترلوکین ۱۷ تنها توانست در برخی ژن ها و در برخی از هفته ها تاثیر گذار باشد. کاهش بیان ژن اینترلوکین ۱۷ و اینترلوکین ۶ و اینترفرون گاما در هفته ی چهارم از واضح ترین موارد تاثیر گذاری این نانوذرات بودند.

علت عدم تاثیر ۱۰۰ درصدی نانوذرات مورد استفاده احتمالا به دلایل زیر می باشد: احتمالا دوز مناسب نانوذرات برای کاهش التهاب کامل به مغز دریافت نشده است. در این تحقیق تنها سه دوز نانوذرات مورد استفاده قرار گرفت و به علت کمبود بودجه و امکانات سایر دوزها و دفعات دریافت دارو مورد مطالعه قرار نگرفت. در مطالعه ای مستقل بایستی دوز قابل تحمل این نانوذرات مشخص شده و فارماسنتیک و فارماکنتیک این داروی جدید معلوم گردد. همچنین توانایی عبور این نانوذرات به مغز بایستی مورد مطالعه قرار گیرد. نحوه ی تزریق نانوذرات به بدن نیز می تواند در تنظیم دوز نهایی دخیل باشد. مسلما تزریق داخل مغزی، داخل نخاعی، داخل وریدی، خوراکی و ... می تواند در غلظت نهایی و سرعت عملکرد اثرگذار باشد.

احتمالا زمان مناسب برای عملکرد کامل این داروی جدید در دسترس نبوده است. در این تحقیق به علت نبود مواد و امکانات تنها دو هفته بعد از تزریق نانوذرات، عکس العمل مغز مورد ارزیابی قرار گرفت. شاید با دادن زمان بیشتر التهاب مغز کمتر شده و ارزیابی حسی نیز بهبود یابد. البته این امکان نیز وجود دارد که با افزایش زمان اثر نانوذرات خنثی و التهاب مغزی بیشتر شود. احتمالا ساختار نانوذرات پوشیده شده با آپتامر تا رسیدن به مغز دچار تغییرات شده است. می دانیم که آپتامرها شدیداً وابسته به ساختار بوده و تا رسیدن به عضو هدف ممکن است با سایر مولکول ها و پروتئین های خونی و بافتی وارد واکنش شده باشد. این امر باعث کاهش عملکرد آنها شده و ممکن است نتواند به خوبی مناطق التهابی مغز را پیدا



این، نانوذرات برای ایجاد تحمل ایمنی و تحریک سلول های Treg می تواند مورد استفاده قرار گیرد (۲۱). از این مطالعه چنین می توان نتیجه گرفت که عصاره میلین قادر به ایجاد مدل بیماری نبوده ولی عصاره های PLP و MBP توانستند به خوبی بیماری را به وجود آورند. همچنین نانوذرات اکسید سربوم عامل دار شده با آپتامر ضد اینترلوکین ۱۷ نیز تنها توانست در برخی ژن ها مانند ژن اینترلوکین ۱۷ و اینترلوکین ۶ در هفته ی سه تاثیر گذار باشد و التهاب را تا حدودی کاهش دهد. برای پی بردن به کارایی این نانودارو بایستی فارماکودینامیک و فارماکوسینتیک آن در مطالعات آینده مورد ارزیابی قرار گیرد.

### تشکر و قدردانی

از تمامی پرسنل آزمایشگاه های دانشکده پیراپزشکی و پزشکی و بین الملل که ما را در این طرح یاری رسانیدند کمال تشکر را داریم.

### تعارض منافع

تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

microneedle، به عنوان یک مسیر درمانی جدید دادند. این روش می تواند برای تحویل آنتی ژن های خاص برای بازگرداندن ایمنی مناسب در ام اس باشد (۱۹).

دولتی و همکاران سیستم های تحویل داروی پیشرفته برای درمان ام اس را معرفی می کنند. آنها ضمن اهمیت دادن ابعاد مولکولی در این بیماری، فناوری نانو را روشی نو ظهور برای بهبود درمان بیماری ام اس می دانند. البته آنها نگرانی های جدیدی از نانوذرات برای القای مقاومت ایمنی بدن و تحمل ایمونولوژیک مطرح می سازند، چراکه ممکن است نانوذرات پاسخ های ایمنی غیر طبیعی و پاتولوژیک را ایجاد کنند (۲۰).

هویز و همکاران در سال ۲۰۱۷ از پتانسیل درمان نانوذرات در واکسولیت و ام اس خبر می دهند. آنها در مقاله ی خود ذکر می کنند که بسیاری از سرکوب گرهای ایمنی که در کلینیک استفاده می شوند، توزیع بیولوژیکی گسترده ای داشته و اغلب همراه با چندین عارضه ی جانبی هستند. در این بین نانوذرات توانایی غلبه بر چنین محدودیت هایی را دارند و امکان تحویل دقیق تر محتوی به بخش های هدف گیری را فراهم می سازد. علاوه بر

## References

- 1- Goldenberg MM. Multiple sclerosis review. *Pharmacy and Therapeutics*. 2012;37(3):175-179.
- 2- Kasper LH, Shoemaker J. Multiple sclerosis immunology The healthy immune system vs the MS immune system. *Neurology*. 2010;74(1 Supplement 1):S2-S8.
- 3- Sospedra M, Martin R. Immunology of multiple sclerosis. *Annu Rev Immunol*. 2005;23:683-747.
- 4- Poser CM, Paty DW, Scheinberg L, McDonald WI, Davis FA, Ebers GC, et al. New diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for research protocols. *Annals of neurology* 1983;13(3): 227-31.
- 5- McDonald WI, Compston A, Edan G, Goodkin D, Hartung HP, Lublin FD, et al. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Annals of neurology*. 2001; 50(1): 121-7.
- 6- Belbasis L, Bellou V, Evangelou E, Ioannidis JP, Tzoulaki I. Environmental risk factors and multiple sclerosis: an umbrella review of systematic reviews and meta-analyses. *The Lancet Neurology*. 2015;14(3):263-73.
- 7- DeLuca HF, Hayes CE, Cantorna MT. Multiple sclerosis treatment. Google Patents; 1998.
- 8- Comi G, Radaelli M, Sørensen PS. Evolving concepts in the treatment of relapsing multiple sclerosis. *The Lancet*. 2017;389(10076):1347-56.

- 9- Wingerchuk DM, Carter JL, editors. Multiple sclerosis: current and emerging disease-modifying therapies and treatment strategies. Mayo Clinic Proceedings; 2014; 5:1-8.
- 10- Miller SD, Karpus WJ, Davidson TS. Experimental autoimmune encephalomyelitis in the mouse. Current protocols in immunology. 2007; 1: 20-30.
- 11- Kamm CP, Uitdehaag BM, Polman CH. Multiple sclerosis: current knowledge and future outlook. European neurology. 2014;72(3-4):132-41.
- 12- Koriem KMM. Multiple sclerosis: New insights and trends. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 2016;6(5):429-40.
- 13- Hirst SM, Karakoti AS, Tyler RD, Sriranganathan N, Seal S, Reilly CM. Anti-inflammatory Properties of Cerium Oxide Nanoparticles. Small. 2009;5(24):2848-56.
- 14- Tzartos JS, Friese MA, Craner MJ, Palace J, Newcombe J, Esiri MM, et al. Interleukin-17 production in central nervous system-infiltrating T cells and glial cells is associated with active disease in multiple sclerosis. The American journal of pathology. 2008;172(1):146-55.
- 15- Chung CH, Kim JH, Jung J, Chung BH. Nuclease-resistant DNA aptamer on gold nanoparticles for the simultaneous detection of Pb<sup>2+</sup> and Hg<sup>2+</sup> in human serum. Biosensors and Bioelectronics. 2013;41:827-32.
- 16- McCarthy DP, Richards MH, Miller SD. Mouse models of multiple sclerosis: experimental autoimmune encephalomyelitis and Theiler's virus-induced demyelinating disease. Autoimmunity: Springer; 2012. p. 381-401.
- 17- Mohajeri M, Sadeghizadeh M, Najafi F, Javan M. Polymerized nano-curcumin attenuates neurological symptoms in EAE model of multiple sclerosis through down regulation of inflammatory and oxidative processes and enhancing neuroprotection and myelin repair. Neuropharmacology. 2015;99:156-67.
- 18- Mahmoudi M, Sahraian MA, Shokrgozar MA, Laurent S. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: promises for diagnosis and treatment of multiple sclerosis. ACS chemical neuroscience. 2011;2(3):118-40.
- 19- Pires LR, Marques F, Sousa JC, Cerqueira J, Pinto IM. Nano-and micro-based systems for immunotolerance induction in multiple sclerosis. Human vaccines & immunotherapeutics. 2016;12(7):1886-90.
- 20- Dolati S, Babaloo Z, Jadidi-Niaragh F, Ayromlou H, Sadreddini S, Yousefi M. Multiple sclerosis: Therapeutic applications of advancing drug delivery systems. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2017;86:343-53.
- 21- Huis In't Veld R, G Da Silva C, L Kaijzel E, B Chan A, J Cruz L. The Potential of Nano-Vehicle Mediated Therapy in Vasculitis and Multiple Sclerosis. Current pharmaceutical design. 2017;23(13):1985-92.



## **Evaluation of Cerium Oxide Nanoparticles coated with Anti-Interleukin 17 Aptamer in Reducing of Brain Inflammation and Degree of Disease in the Model of Multiple Sclerosis**

*SeyedHossein Hekmati Moghadam<sup>1</sup>, Ali Jabali<sup>2</sup> \**

- 1- Associate Professor, Department of Laboratory Sciences, Faculty of Paramedicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran
- 2- \*Assistant Professor, Department of Laboratory Science, Faculty of Paramedicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

**Corresponding Author:** Ali Jabali, Assistant Professor, Department of Laboratory Science, Faculty of Paramedicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran  
(E-mail: alijeal2011@gmail.com)

**(Received: April 22, 2018 Accepted: June 20, 2018)**

**Background and Aims:** Multiple sclerosis (MS) is an inflammatory neurological disorder that causes physical disability in young people, especially in women. The purpose of this study was to evaluate the effect of cerium oxide nanoparticles coated with anti-interleukin-17 aptamer in reducing the inflammation of the brain and the degree of disease in the mice with MS.

**Materials and Methods:** This study was an experimental study, and the disease model was first developed using extracts including PLP and MBP. Then the cerium oxide nanoparticles coated with Anti-Interleukin 17 aptamer were injected into animal models. After sensory and motor evaluation of the mice, the expression of some inflammatory genes (interleukin 17, interleukin 10, and interleukin 6 and interferon gamma) was evaluated.

**Results:** This study showed that myelin extract was not able to develop a disease model, but PLP and MBP extracts were able to produce good disease. Cerium oxide nanoparticles coated with anti-interleukin 17 aptamer could not affect on symptom but could decrease some genes such as the interleukin 17 gene and interleukin 6 in the third week and reduce inflammation to some extent.

**Conclusion:** It can be concluded that Serum oxidized nanoparticles coated with anti-interleukin 17 aptamer can somehow prevent the progression of the disease. However, the pharmacodynamics and pharmacokinetics of this nanodrug should be evaluated in future studies.

**Key words:** MS, nanoparticles, cerium oxide, aptamer, animal model