



## مقاله مروری

## نانو ذرات در تشخیص و درمان عفونت هپاتیت C

تاریخ دریافت: ۹۵/۳/۶ تاریخ پذیرش: ۹۵/۴/۱۰

## خلاصه

عفونت هپاتیت C یکی از اصلی ترین مشکلات بهداشتی جهان است. دو سوم جمعیت جهان یعنی حدود ۱۷۰ میلیون نفر به عفونت مزمن هپاتیت C مبتلا هستند و هر ساله هزینه های فراوانی صرف تشخیص و درمان این بیماری می شود. ویروس هپاتیت C ویروسی با تمایل به ایجاد عفونت های مزمن (۷۰ تا ۸۰ درصد موارد) است که در فاز انتهایی به سیروز یا سرطان کبد منجر می گردد. به دلیل وجود جهش های فراوان در ژنوم این ویروس، امکان تولید واکسنی موثر برای پیشگیری از ابتلا به این عفونت وجود نداشته است. امروزه استفاده از نانو ذرات در تشخیص و درمان هپاتیت C به دلیل کمتر بودن عوارض جانبی و همچنین کمک این ذرات به دارو رسانی موثر به بافت هدف توسعه پیدا کرده است. این نانو ذرات به دو دسته آلی و غیر آلی تقسیم شده و با اثر مستقیم یا غیر مستقیم خود موجب درمان یا جلوگیری از پیشرفت بیماری می شوند.

جمع آوری منابع معتبر برای نگارش این مقاله مروری با موضوع نانو ذرات در تشخیص و درمان عفونت هپاتیت C، از طریق پایگاه های علمی اطلاعاتی مانند PubMed، Scopus، و Google Scholar انجام گرفت. لازم به ذکر است که محدودیت زمانی برای جستجوی مقالات در هیچ کدام از پایگاه های اطلاعاتی در نظر گرفته نشد. ورود مقالات به مطالعه از طریق جستجوی کلمات کلیدی و معیار، استفاده از نانو ذرات مختلف در امر تشخیص یا درمان عفونت هپاتیت C بوده است. لازم به ذکر است که داده های ورودی به صورت کمی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. بیشترین نانو ذرات آلی استفاده شده به این منظور نانو ذرات لیپیدی و بیشترین نانو ذرات غیر آلی استفاده شده نانو ذرات مغناطیسی (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> و γ-Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)، طلا و مس بوده اند. هدف از این مقاله بررسی مروری انواع نانو ذرات در تشخیص و درمان عفونت هپاتیت C می باشد.

**کلمات کلیدی:** تشخیص، درمان، نانوذره، ویروس هپاتیت C

**پی نوشت:** این مقاله فاقد منبع مالی و تضاد منافع می باشد.

<sup>۱</sup> کیانا کتابی

<sup>۲</sup> زهرا مشکات \*

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد مرکز تحقیقات مقاومت های میکروبی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

۲- دانشیار گروه ویروس شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات مقاومت های میکروبی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

\*مشهد- دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مرکز تحقیقات مقاومت های میکروبی

تلفن: ۰۹۱۵۵۱۱۰۲۴۷

Email: meshkatz@mums.ac.ir

## مقدمه

تا دهه ۱۹۸۰ میلادی ویروس‌های هپاتیت نوع A و B تنها انواع شناخته شده از خانواده ویروس‌های هپاتیت بودند و انواع دیگر با عنوان هپاتیت‌های غیر A و غیر B<sup>۱</sup> در نظر گرفتند (۱)، (۲). ویروس هپاتیت C در سال ۱۹۸۹ و متعاقب آن ویروس‌های هپاتیت D یا دلتا و هپاتیت E شناسایی شدند (۱). این ویروس دارای ژنوتیپ‌های مختلف است که فراوانی شیوع آن‌ها در جوامع مختلف متفاوت می‌باشد (۳). ویروس هپاتیت C ویروسی با تمایل به ایجاد عفونت‌های مزمن است که در انتها منجر به سیروز یا سرطان کبد<sup>۲</sup> می‌شود (۴-۶). علایم ابتلا به این عفونت جز در فاز پیشرفته آن مشاهده نشده و در صورت عدم درمان، باعث فوت بیمار می‌گردد (۷). در گذشته اساس درمان عفونت هپاتیت C استفاده از اینترفرون<sup>۳</sup> و ریباویرین<sup>۴</sup> بوده است که به دلایلی چون عوارض جانبی متعدد استفاده از آن محدود شده است (۶، ۸، ۹). امروزه با پیشرفت علم نانو تکنولوژی می‌توان از نانو ذرات مختلف مانند نانو ذرات الی و غیر الی در امر تشخیص و درمان این بیماری استفاده کرد. در این مقاله سعی شده است تعدادی از نانو ذرات دخیل در تشخیص و درمان این عفونت بررسی شوند.

## روش کار

آغاز این مطالعه مروری به صورت جمع آوری اطلاعات از پایگاه‌های معتبر علمی نظیر PubMed، Scopus و Google Scholar انجام شد که این جستجو بر اساس کلمات کلیدی از جمله هپاتیت C، نانو ذرات، تشخیص هپاتیت C و درمان هپاتیت C صورت گرفت. جستجوی مقالات در انواع پایگاه‌های علمی بدون محدودیت زمانی و با استفاده از مقالات معتبر چاپ شده در داخل و خارج از ایران انجام شد. معیار ورود مقالات و داده‌ها، مطالعه در زمینه استفاده از انواع نانو ذرات

فلزی و غیر فلزی مختلف در امر تشخیص و درمان عفونت هپاتیت C بوده است.

## ۱. ویروس هپاتیت C:

ویروس هپاتیت C ویروسی با ژنوم RNA تک رشته، سنس مثبت و عضو خانواده فلاوی ویریده (Flaviviridae) و از جنس هیپاسی ویروس (Hepacivirus) می‌باشد. طول ژنوم ویروس حدود ۹/۶ kb بوده و دارای یک قالب باز خواندن<sup>۵</sup> است (۶، ۱۰-۱۲).

## ۱،۱. ژنوتیپ‌های ویروس هپاتیت C:

این ویروس بر اساس شباهت‌های فیلوژنیک و توالی‌های ژنومی به ۷ ژنوتیپ<sup>۶</sup>، ۵۰ ساب تیپ<sup>۶</sup> و میلیاردها شبه گونه تقسیم می‌شود. تفاوت توالی در ژنوم‌های مختلف می‌تواند تا ۳۰ درصد باشد. پاسخ به درمان و طول دوره درمانی در ژنوتیپ‌های مختلف ویروس متفاوت است. پاسخ درمانی هپاتیت C، ژنوتیپ 1b، به خوبی ژنوتیپ‌های ۲ و ۳ نیست (۱، ۳).

## ۱،۲. اپیدمیولوژی ویروس هپاتیت C:

توزیع ژنوتیپی هپاتیت C در جوامع مختلف بسیار متنوع است. ژنوتیپ 1 شایع‌ترین ژنوتیپ و مسئول ۴۶/۲ درصد از تمام عفونت‌هاست و بعد از آن ژنوتیپ ۳ بیشترین شیوع را دارد (۱/۳۰٪) (۶، ۱۳). ژنوتیپ‌های ۱ا و ۲ و ۳ و ۶ شایع‌ترین ژنوتیپ‌ها در آسیا هستند (۹). در انگلستان ۵۰٪ بیماران دارای ژنوتیپ 1، در ایالات متحده آمریکا ۵۶/۷٪ دارای ژنوتیپ 1a، ۱۷٪ ژنوتیپ 1b، ۱۱/۴٪ ژنوتیپ 2b، در شیلی ۴۶٪ ژنوتیپ 1b، در چین ۵۲٪ ژنوتیپ 2 و ۲۹٪ ژنوتیپ 3 را دارند. در ایران ژنوتیپ‌های ۱ و ۳ شایع‌ترین ژنوتیپ‌های هپاتیت C می‌باشند که به ترتیب دارای فراوانی شیوع ۵۵/۸٪ و ۲۸/۸٪ هستند (۱).

## ۱،۳. بیماری زایی ویروس هپاتیت C:

ویروس هپاتیت C ویروسی با تمایل به ایجاد عفونت‌های مزمن است که می‌تواند در انتها به سیروز کبدی یا سرطان کبد منجر شود (۴، ۱۰، ۱۴). ۲-۳٪ افراد در دنیا مبتلا به عفونت با هپاتیت C

<sup>1</sup>. NonA- nonB

<sup>2</sup> HCC (Hepatocellular carcinoma)

<sup>3</sup>. Interferon

<sup>4</sup>. Ribavirin

<sup>5</sup> ORF (Open reading frame)

<sup>6</sup>. Subtype

است. داروهای ضد ویروسی با اثر مستقیم مثل مهار کننده‌های پروتئاز (بوسپروویر<sup>۷</sup> یا تلاپروویر<sup>۸</sup> در ۲۰۱۱) موجب ایجاد انقلابی در درمان هپاتیت C شدند. درمان های سه گانه ترکیبی، باعث افزایش بیش از ۷۰ درصد نسبت پاسخ ویروسی<sup>۹</sup> در ژنوتیپ ۱ شدند. نسل اول مهار کننده‌های پروتئاز، سیمپروویر<sup>۱۰</sup> و یک آنالوگ نوکلئوتیدی، سوفسبوویر<sup>۱۱</sup> در سال ۲۰۱۳ مورد تایید FDA و در ساله ۲۰۱۴ توسط اروپا برای درمان هپاتیت C تایید شدند. تعداد دیگری از داروهای ضد ویروسی با اثر مستقیم<sup>۱۲</sup> و عوامل هدف قرار دهنده میزبان،<sup>۱۳</sup> در مراحل مختلف کار آزمایشی بالینی قرار دارند (۸). اما بیشتر درمان‌ها به دلیل عوارض جانبی، مقاومت ویروس به دارو و عدم توانایی دارو در جلوگیری از ایجاد سرطان کبد توسط ویروس، مناسب نبوده اند (۳، ۱۹).

#### ۱.۶. واکسن:

با توجه به نا کار آمدی درمان و شیوع و کشندگی بالای این ویروس کشف واکسنی پیش گیری کننده و یا درمانی بسیار حائز اهمیت است. اما مطالعات راجع به واکسن ویروس هپاتیت C در دو دهه گذشته با چالش‌های متفاوتی مواجه بوده است. از جمله دانش نا کافی در مورد چگونگی پاسخ ایمنی ذاتی علیه ویروس هپاتیت C، باعث شده تا محدودیت‌هایی در تولید واکسن‌هایی با اساس سلول های T ایجاد شود.

علاوه بر این جهش‌های ژنتیکی فراوان خصوصاً در گلیکوپروتئین‌های E1 و E2 در تولید ایمونوژن‌های گسترده و قوی اختلال ایجاد کرده است. نبود مدل حیوانی مناسب نیز یکی دیگر از چالش‌های پیش رو در تولید واکسن هپاتیت C می‌باشد (۶-۸).

با این حال پیشرفت‌هایی در تولید واکسن‌های پیش گیری یا درمان کننده ایجاد شده است که حاصل آن‌ها تولید مطالعاتی واکسن‌های پپتیدی، واکسن‌های پروتئینی نو ترکیب، ذرات شبه ویروسی، DNA واکسن‌ها و حامل‌های ویروسی بیان کننده

هستند که هر ساله ۳۵۰ هزار تا ۵۰۰ هزار نفر از آنها فوت می‌شوند (۶، ۱۵-۱۷).

سرطان کبد سالانه در نیم میلیون نفر در دنیا تشخیص داده می‌شود. این سرطان پنجمین سرطان شایع در مردان و هفتمین سرطان شایع در زنان گزارش شده است. ابتلا به هپاتیت C در ۸۰-۹۰٪ بیماران مبتلا به سرطان کبد در ژاپن، ۴۴-۶۰٪ در ایتالیا و ۳۰-۵۰٪ در آفریقا مشاهده شده است. شیوع هپاتیت C در افراد بعد از رایج شدن آزمایش خون افراد اهدا کننده خون بعد از دهه ۱۹۸۰ بسیار کاهش یافت.

سرطان کبد می‌تواند در اثر عوامل مختلفی چون ویروس‌های هپاتیت و یا تکثیر بیش از اندازه سلول‌ها (که منجر به ایجاد خطا در همانند سازی ژنوم سلول می‌شود) ایجاد شود. سرطان کبد معمولاً بیماری تهاجمی است که بعد از ظهور اولین علائم (که عمده‌ترین آنها زردی می‌باشد) می‌تواند کشنده باشد. البته درمان‌ها در این مرحله از بیماری معمولاً محدود و کم اثر هستند (۷). ابتلا به هپاتیت C به دو صورت حاد و مزمن وجود دارد که عفونت‌های مزمن ۵۰ تا ۸۰ درصد موارد را تشکیل داده و در انتها به سیروز یا سرطان کبد منجر می‌شوند (۴، ۱۴).

اصلی‌ترین ریسک فاکتورهای ابتلا به سرطان کبد، شامل عفونت با ویروس هپاتیت C و ویروس هپاتیت B، بیماری کبدی ایجاد شده در اثر مصرف الکل، تماس با افلاتوکسین‌ها و کبد چرب غیر الکلی هستند (۷).

#### ۱.۴. راه‌های انتقال:

از اصلی‌ترین راه‌های انتقال این بیماری استفاده از سرنگ‌های مشترک توسط معتادان تزریقی و همچنین اقدامات پزشکی مثل انتقال خون و به مقدار کمتر، رابطه جنسی، انتقال عمودی (از مادر به جنین)، انواع تاتو و... می‌باشد (۱۸).

#### ۱.۵. داروهای هپاتیت C:

درمان‌هایی که در گذشته برای عفونت هپاتیت C توصیه می‌شدند ترکیبی از پگ اینترفرون آلفا و ریباویرین بوده اند (۶، ۸، ۹). طی سال‌های اخیر درمان هپاتیت C دچار تغییرات اساسی شده

<sup>7</sup> Boceprevir

<sup>8</sup> Telaprevir

<sup>9</sup> SVR (Sustained viral response)

<sup>10</sup> Simeprevir

<sup>11</sup> Sofosbuvir

<sup>12</sup> DAA (Direct-acting antivirals)

<sup>13</sup> HATs (host-targeted agents)

ژن‌های ویروس هپاتیت C می‌باشد (۶).

### ۱.۷. تشخیص:

به طور کلی دو نوع تست آزمایشگاهی رایج برای تشخیص ویروس هپاتیت C وجود دارد: آنزیم ایمونواسی که برای تشخیص وجود آنتی‌بادی علیه ویروس هپاتیت C به کار می‌رود و واکنش زنجیره ای پلیمرز<sup>۱۴</sup> که می‌تواند ذرات ویروس را در خون افراد تشخیص دهد و نشان دهنده عفونت فعال است (۲۰). در این حالت گاهی عفونت مزمن به پایداری ویروس هپاتیت C در خون فرد بیش از ۶ ماه اطلاق می‌گردد (۲۱). اصلی‌ترین روش تشخیصی برای این ویروس بر اساس آزمایشات سرولوژی و تشخیص ایمونوگلوبولین G<sup>۱۵</sup> علیه ویروس هپاتیت C و همچنین استفاده از روش‌های ایمونواسی، ایمونوبلات اسی و به تازگی، ایمونوکروماتوگرافی است که روش‌های اخیر تفاوتی بین عفونت فعال یا از بین رفته هپاتیت C ایجاد نمی‌کنند (۲۲).

### ۲. نانوتکنولوژی و هپاتیت C:

با گسترش علم نانوتکنولوژی در دهه گذشته فرصت‌های بسیاری برای کشف خواص تشخیصی و درمانی نانوذرات ایجاد شده است. نانوتکنولوژی علم تولید و به کار گیری فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیک اتم یا مولکول‌هایی با سایز ۱ تا ۲۰ نانومتر است که در قرن ۲۱ کشف شد (۲۳، ۲۴). این مواد دارای خواصی متمایز از مواد دیگر هستند که شامل نسبت سطح به حجم زیاد و فعالیت بالای شیمیایی (که باعث بروز اثرات مغناطیسی، الکتریکی و قابل مشاهده می‌شود) می‌باشند. در سالهای اخیر توجه زیادی به نانو ذرات مهندسی شده در زمینه‌های متعدد از جمله محافظت محیط (اصلاح خاک، هوا و آب) و پزشکی (بیوسنسورها، تصویر برداری و دارو رسانی) شده است. علاوه بر این ارتباط زیست شناسی مولکولی و پزشکی با نانوتکنولوژی موجب تولید ساختارهای نانو با قابلیت تعامل با سیستم‌های بیولوژیکی شده است. برای مثال حامل‌های نانو مثل بخار سیلیکا (SiO<sub>2</sub>)، تیتانیوم دی‌اکسید (TiO<sub>2</sub>) و نانو ذرات مغناطیسی (γ-Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> و Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) به دلیل توانایی بالا در گرایش به هدف، استفاده‌های زیادی در دارو رسانی داشته اند (۲۴-۲۶).

از نانو ذرات نجیب<sup>۱۶</sup> مثل طلا، نقره و پلاتین و همچنین از نانو ذرات مغناطیسی مثل کبالت، نیکل، آهن و ترکیبات آنها در مواردی هم چون درمان بیماری‌های ویروسی و سرطان استفاده می‌شود. علاوه بر این خصوصاً از نانو ذرات مغناطیسی به دلیل سازگاری زیستی بالای آنها در بدن، استفاده‌های درمانی متعددی شده است. فعالیت زیستی نانو ذرات مهندسی شده در داخل و خارج از بدن، باعث به کار گیری آنها در زمینه‌هایی مانند درمان‌های هایپر ترمی<sup>۱۷</sup> و تصویر برداری رزونانس مغناطیسی<sup>۱۸</sup> شده است (۲۷). البته در استفاده از نانو ذرات برای اهداف درمانی باید به دوز موثر برای عملکرد بالینی و دوز ایجاد کننده اثرات جانبی مضر دقت کرد. علاوه بر این نشان داده شده است که نانو ذرات کاتیونیک می‌توانند موجب همولیز و ایجاد لخته خون شود. در حالی که نانو ذرات آنیونی تقریباً غیر سمی و بی خطر هستند. همچنین بعضی نانو ذرات مانند SiO<sub>2</sub> می‌توانند تولید گونه‌های اکسیژن فعال<sup>۱۹</sup> و استرس اکسیداتیو را القا کنند. استرس اکسیداتیو می‌تواند در پاتوژنز بیماری‌هایی چون پارکینسون و آلزایمر نقش داشته باشد (۲۶).

نانو ذرات مورد استفاده در امر تشخیص و درمان بیماری‌ها را می‌توان به دو دسته آلی و غیر آلی تقسیم نمود. نانو ذرات آلی مانند : نانوذرات البومین، نانو ذرات کیتوزان، نانو ذرات لیپیدی و... نانو ذرات غیر آلی اغلب نانو ذرات فلزی هستند. مانند : نانو ذرات مغناطیسی، نانو ذرات مس، طلا، نقره و ...

### ۳. تشخیص عفونت هپاتیت C با استفاده از نانو ذرات:

تا کنون نقش نانو ذرات متعددی در تشخیص و درمان عفونت هپاتیت C مشخص شده است. به دنبال نیاز برای مشخص شدن وجود سکانس‌های ژنومی ویروس در فرد مبتلا، روشی کشف شد که در آن نانو ذرات طلا با توجه به دارا بودن خواص غیر خطی نوری<sup>۲۰</sup> می‌توانند در سنجش کمی RNA ویروس هپاتیت C با حد تشخیصی بسیار خوبی (۸۰ پیکومول) و اختصاصیت قابل قبول به کار روند (۲۸). همچنین از روش الکترو کمی لومینسانس

<sup>16</sup> Noble

<sup>17</sup> Hyperthermia

<sup>18</sup> MRI (Magnetic resonance imaging)

<sup>19</sup> Reactive

<sup>20</sup> NLO (Nonlinear optical)

<sup>14</sup> PCR (polymerase chain reaction)

<sup>15</sup> IgG

عبوری (گذاره)<sup>۲۶</sup>، تشخیص داد. الیگونوکلئوتیدهای تغییر داده شده الکانتیول<sup>۲۷</sup> با نانو ذرات طلا پیوند کووالان تشکیل می دهند تا پروب‌هایی برای RNA ویروس هپاتیت C یا DNA ویروس هپاتیت B ایجاد کنند. هنگامی که این پروب‌ها با نمونه سرم بیمار حاوی ویروس هپاتیت C و ویروس هپاتیت B مجاور شود، می‌توان با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری، نانو ذرات متصل شده با تجمع شبکه مانند آن‌ها را مشاهده نمود. تشخیص عفونت هم زمان ویروس هپاتیت C و ویروس هپاتیت B با این روش بسیار کارآمد، حساس و اختصاصی می‌باشد (۳۲).

#### ۴. درمان HCV با استفاده از نانو ذرات :

استفاده از نانو ذرات باعث کشف راه‌های تشخیصی و درمانی جدید خصوصاً در حوزه انتقال دارو به ارگان هدف شده است. در این بخش به معرفی و بیان نقش تعدادی از نانو ذرات دخیل در درمان بیماری هپاتیت C چه به صورت مستقیم و چه غیر مستقیم می‌پردازیم :

همان طور که گفته شد در گذشته درمان اصلی برای عفونت هپاتیت C استفاده از اینترفرون آلفا همراه با ریبوایرین بوده است (۳۳). اما به دلایلی چون عوارض جانبی و .... استفاده از آن محدود گشت (۳). امروز یکی از درمان‌های کشف شده استفاده از ذرات پلی اتیلن گلاکول متصل شده به اینترفرون آلفا است. البته این ذرات برای اتصال به هدف غیر اختصاصی هستند. در پژوهشی به جای این ماده از سیستمی با اختصاصیت و اثر بخشی طولانی متشکل از اینترفرون آلفا و نانو ذرات طلا و هیالورونیک اسید<sup>۲۸</sup>، استفاده شد. این ماده دارای اثر ماندگاری طولانی مدت در بافت هدف است. به طوری که در بررسی‌های انجام شده کمپلکس (HA-AuNPs/IFN  $\alpha$ ) ۷ روز بعد از تزریق در بافت کبد موش وجود داشت. اما بعد از این بازه زمانی پگ اینترفرون<sup>۲۹</sup> و اینترفرون آلفا در کبد موش مشاهده نشد. علاوه بر این، کمپلکس (HA- AuNPs/IFN  $\alpha$ ) به طور قابل ملاحظه‌ای

<sup>۲۱</sup> برای تشخیص ویروس هپاتیت C و هپاتیت B با استفاده از نقاط کوانتومی چند رنگ CdTe<sup>۲۲</sup> و نانو ذرات طلا<sup>۲۳</sup>، استفاده می شود. در شرایط ایده‌ال حد تشخیصی برای ویروس هپاتیت B، ۰/۰۸۲ پیکومول در لیتر و برای ویروس هپاتیت C، ۱/۳۴۱ پیکومول در لیتر بوده و سنسور DNA دارای اختصاصیت، حساسیت، پایداری و تکرار پذیری مناسب می‌باشد. این سنسور برای تشخیص RNA هدف ویروس هپاتیت C و DNA هدف ویروس هپاتیت B در انسان به کار می رود و نتایج حاصل از آن رضایت بخش ارزیابی شده است (۲۹).

در روشی دیگر، با استفاده از نانو ذرات کاتیونی طلا و نانو ذرات مغناطیسی، RNA ویروس هپاتیت C در سرم بیماران تشخیص داده می شود. در این روش RNA ویروس با استفاده از نانو ذرات مغناطیسی دارای الیگونوکلئوتیدهای مختص RNA ویروس هپاتیت C، استخراج می شود. RNA استخراج شده در حضور نانو ذرات طلا با الیگونوکلئوتید مختص خود واکنش می دهند. نانو ذرات طلا به ستون فسفات‌های RNA متصل شده و تجمع حاصل از آنها موجب تغییر رنگ محلول از قرمز به آبی می شود. در عدم حضور RNA هدف رنگ محلول قرمز باقی می ماند (۳۰). این رنگ قرمز حاصل از نانو ذرات طلا به دلیل خاصیتی در این ذرات به نام رزونانس سطحی پلاسمون<sup>۲۴</sup> است (۳۱). این روش ساده و مقرون به صرفه بوده و از آن می‌توان برای تشخیص سریع RNA ویروس هپاتیت C در سرم استفاده کرد (۳۰). زمان مورد نیاز برای این آزمایش حدود ۳۰ دقیقه است و با استفاده از این روش نیازی به دستگاه ترمال سایکلر<sup>۲۵</sup> نمی‌باشد (۳۱).

روش دیگری که برای تشخیص عفونت هپاتیت C با استفاده از نانو ذرات وجود دارد، استفاده از پروب‌های cDNA ویروس هپاتیت C و یا DNA ویروس هپاتیت B با جنس نانو ذرات طلا است. در این روش می‌توان RNA ویروس هپاتیت C و یا DNA ویروس هپاتیت B را از سرم بیماران مبتلا به عفونت هم زمان هپاتیت C و هپاتیت B با استفاده از میکروسکوپ الکترونی

<sup>26</sup> TEM (Transmission electron microscopy)

<sup>27</sup> Alkanethiol-modified

<sup>28</sup> HA (Hyaluronic acid)

<sup>29</sup> Peg-intron

<sup>21</sup> Electro chemiluminescence

<sup>22</sup> CdTe QDs

<sup>23</sup> AuNPs (Au Nanoparticles)

<sup>24</sup> Surface plasmon resonance

<sup>25</sup> Thermal cyclor

هپاتیت C مورد استفاده قرار گیرند. در این روش هدف تولید حاملی غیر ویروسی بر پایه نانو ذرات جامد لپیدی<sup>۳۵</sup> و ذرات مداخله گر برای مهار جایگاه داخلی ورود ریوزوم<sup>۳۶</sup> در ویروس هپاتیت C بوده است. تمام وکتور ها در اندازه های نانو و با شارژ سطحی مثبت تهیه شدند. ورود این ذرات به داخل سلول به سرعت و به صورت موثری انجام می شود (۳۷).

همچنین با کمک نانو ذرات لپیدی درمانی جدید برای مبتلایان به عفونت هم زمان هپاتیت C و ویروس نقص ایمنی انسان<sup>۳۷</sup> در نظر گرفته شده است. حدود چهار تا پنج میلیون نفر در دنیا مبتلا به عفونت هم زمان این ویروس ها هستند. استفاده از داروهای ضد رتروویروس ها باعث ایجاد سمیت برای سلول های کبدی و در نتیجه پیشرفت عفونت هپاتیت C و بیماری کبدی می شود. همچنین درمان ها بر پایه اینترفرون تنها بر حدود ۵۰٪ افراد موثر است و ایجاد عوارضی مانند بیماری های اتو ایمنی و عصبی روانی می کند. به منظور رفع این مشکل به تازگی کشف شده است که می توان از آنالوگ پپتید C5A مشتق شده از پروتئین NS5A ویروس هپاتیت C که دارای اثر ضد ویروسی است در این بیماران استفاده کرد. این ذرات پپتیدی در اندازه نانو بوده (۳۵ نانومتر)، در مقابل pH فیزیولوژیک بدن پایدار است و در شرایط برون تنی اثرات ضد ویروسی علیه هپاتیت C و HIV از خود بروز داده است (۳۸).

### نتیجه گیری

همان گونه که گفته شد، هپاتیت C به دلایل مختلف از جمله جمعیت بالای افراد مبتلا به آن، نبود واکسن مناسب در پیش گیری از ابتلای افراد به این ویروس و مشکلات درمانی بیماران، یکی از اصلی ترین معضلات بهداشتی در جهان به شمار می رود. راههای درمانی استفاده شده برای بیماران تا به امروز به میزان کافی کارآمد و ایمن نبوده و بیشتر افراد از آثار جانبی مضر دارو یا تاثیر اندک آن بر روند بیماری خود گله مند بوده اند. در نتیجه

بیان 2',5' الیگواندینلات سنتتاز<sup>۳۰</sup> را که به منظور پاسخ ایمنی علیه عفونت ویروسی وجود دارد افزایش داد که این افزایش بیان، بسیار بیشتر از هنگامی بود که تزریق Peg-intron و INF  $\alpha$  به تنهایی انجام شده بود. همچنین در مقایسه با هم، کمپلکس HA-AuNPs/IFN  $\alpha$  به صورت موثرتری باعث درمان سیستماتیک هپاتیت C شده است (۳۴). این سیستم می تواند موجب کاهش سمیت دارو روی ریه ها نیز شود (۱۹).

در پژوهشی دیگر از نانو ذرات مس<sup>۳۱</sup> در محیط کشت سلولی Huh7.5 که دارای ویروس هپاتیت C بود استفاده شد تا اثرات ضد ویروسی آن بررسی شود. این ذرات به طور قابل توجهی در غلظت غیر سمی باعث کاهش خاصیت عفونت زایی این ویروس می شوند. نانو ذرات مس از اتصال ویروس و ورود ذرات شبه ویروسی ویروس هپاتیت C<sup>۳۲</sup> در ژنوتیپ های 1a, 1b و 2a جلوگیری می کند. اما تاثیری بر همانند سازی آن ندارد. بنابراین یافته ها، نانو ذرات مس در غلظت استاندارد، می توانند برای درمان بیماران مبتلا به عفونت هپاتیت C مزمن مورد استفاده قرار گیرند (۳۵).

از خواص نانو ذرات مغناطیسی در درمان عفونت هپاتیت C می توان همراه کردن آنها با DNAzyme را نام برد. DNAzyme الیگونوکلئوتیدی درمانی است که موجب شکاف برداری mRNA در سکانس های خاص و در نتیجه خاموش شدن یک ژن خاص می شود. چالش اصلی در استفاده از این الیگونوکلئوتید، رساندن آن به سلول یا بافت مورد نظر است. برای این منظور می توان از نانو ذرات خصوصاً نانو ذرات مغناطیسی استفاده کرد. به منظور درمان عفونت هپاتیت C، DNAzyme ژن NS3 (کد کننده هلیکاز و پروتئاز را که برای همانند سازی ویروس ضروری است) را جدا می کند. همراه کردن DNAzyme با نانو ذرات در محیط درون تنی<sup>۳۳</sup> نیز امکان پذیر است. این ذرات در بافت کبد و به طور مشخص در هپاتوسیت ها انباشته می شوند (۳۶).

ذرات مداخله گر RNA<sup>۳۴</sup> نیز می توانند در درمان عفونت

<sup>30</sup> OAS1 (2',5'-oligoadenylate synthetase 1)

<sup>31</sup> CO-NPs (Cuprous oxide nanoparticles)

<sup>32</sup> (HCVpp) Pseudoparticles

<sup>33</sup> In vivo

<sup>34</sup> RNAi (RNA interference)

<sup>35</sup> SLN (Solid lipid nanoparticles)

<sup>36</sup> IRES (Internal ribosome binding site)

<sup>37</sup> HIV (Human immunodeficiency virus)

همان طور که گفته شد در امر درمان نیز استفاده از نانو ذرات بسیار کمک کننده بوده است. با توجه به نتایج به دست آمده، از جمله بهترین نانوذرات استفاده شده برای درمان مبتلایان به عفونت هپاتیت C، نانو ذرات با خاصیت سوپرمغناطیسی از جمله نانوذرات آهن ( $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$  و  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) هستند. چرا که این ذرات با توجه به خاصیت یاد شده دارو رسانی قابل توجهی به بافت مورد نظر انجام می دهند. همچنین آهن یکی از مواد معدنی اصلی در بدن است. بنابراین از سازگاری زیستی بالاتری در مقایسه با دیگر نانو ذرات برخوردارند. نانو ذرات آهن بعد از ایفای نقش خود، می توانند در بدن به عنوان ذخیره آهن تجمع کنند. البته هنگام استفاده از داروهایی بر پایه این نانوذرات، مانیتورینگ ذخایر آهن بدن بیمار ضروری است.

همچنین تولید داروهایی بر پایه نانو ذرات آلی مانند نانو ذرات لیبیدی، نانو ذرات آلومین و ... روش درمانی دیگری است که با توجه به حضور طبیعی این مواد در بدن انسان، سطح ایمنی بالاتری در رابطه با ایجاد عوارض جانبی ایجاد خواهند کرد. به طور کلی امروز استفاده از نانوذرات مختلف در تشخیص و درمان بیماری ها، خصوصاً عفونت های هپاتیتی، در حال گسترش می باشد.

نیاز به تولید داروهایی با تاثیر گذاری قابل توجه و مهم تر از آن، سطح ایمنی قابل قبول بیش از پیش احساس می شود. می دانیم که بسیاری از نانو ذرات موجود در طبیعت، به مقادیر مختلف در بدن انسان نیز وجود دارند. بنابراین استفاده از این مواد برای درمان عفونت هپاتیت C چه به صورت مستقیم (مانند نانو ذرات مس) و چه به صورت غیر مستقیم (کمک در دارو رسانی موثر به بافت هدف)، مناسب بوده است.

تا به امروز آزمایشات متعددی بر نانو ذرات مختلف انجام گرفته تا میزان سمیت آنها و همچنین قابلیت انتقال مواد دارویی (مثل پگ اینترفرون، ریباویرین و ...) برای درمان عفونت هپاتیت C بررسی گردد.

با توجه به نتایج به دست آمده، یکی از بهترین نانو ذرات در زمینه تشخیص این عفونت، نانو ذرات طلا بوده است. در صورت استفاده از دوز مناسب این نانو ذره، هیچ گونه سمیتی بر سلولها و بافت های مختلف بدن اعمال نمی شود. علاوه بر این نانو ذرات طلا به دلیل دارا بودن خاصیت رزونانس پلاسمون سطحی، در صورت اتصال به ژنوم هدف و تجمع، موجب تغییر رنگ محلول نمونه، از قرمز به آبی می شوند. سپس با استفاده از روش رنگ سنجی می توان به وجود یا عدم وجود ژنوم ویروس در نمونه بیمار پی برد. زمان مورد نیاز برای انجام این آزمایش بسیار کوتاه بوده و علاوه بر آن به دلیل استفاده از مقادیر اندک این نانو ذره در این روش، آزمایش یاد شده مقرون به صرفه خواهد بود.

## References

1. Makhloogh A, Roshan P. A review of transmission routs, diagnosis, prevention and treatment of HCV in hemodialysis patients. *J Clin Exc* 2013; 1:28-44 (Persian).
2. Teimourpour R, Meshkat Z, Gholoubi A, Nomani H, Rostami S. Viral Load Analysis of Hepatitis C Virus in Huh7.5 Cell Culture System. *Jundishapur J Microbiol* 2015; 8:e19279.
3. Baugh JM, Garcia-Rivera JA, Gallay PA. Host-targeting agents in the treatment of hepatitis C: a beginning and an end? *Antiviral Res* 2013; 100:555-561.
4. Kang M, Nicolay U. Evaluation of operational chronic infection endpoints for HCV vaccine trials. *Contemp Clin Trials* 2008; 29:671-678.
5. Sepahi S, Pasdar A, Ahadi M, Gerayli S, Rostami S, Meshkat Z. Haplotype analysis of interleukin-10 gene promoter polymorphisms in chronic hepatitis C infection: a case control study. *Viral Immunol* 2014; 27:398-403.
6. Ghasemi F, Rostami S, Meshkat Z. Progress in the development of vaccines for hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol* 2015; 21:11984-2002.
7. Gomes MA, Priolli DG, Tralhao JG, Botelho MF. Hepatocellular carcinoma: epidemiology, biology, diagnosis, and therapies. *Rev Assoc Med Bras* 2013; 59:514-524.
8. Qian XJ, Zhu YZ, Zhao P, Qi ZT. Entry inhibitors: New advances in HCV treatment. *Emerg Microb Infect* 2016; 5:e3.
9. Liu CH, Kao JH. Nanomedicines in the treatment of hepatitis C virus infection in Asian patients: optimizing use of peginterferon alfa. *Int J Nanomed* 2014; 9:2051-2067.

10. Rossi LM, Escobar-Gutierrez A, Rahal P. Advanced molecular surveillance of hepatitis C virus. *Viruses* 2015; 7:1153-1188.
11. Douam F, Ding Q, Ploss A. Recent advances in understanding hepatitis C. *F1000Research*. 2016;5.
12. Shakeri MT, Nomani H, Ghayour Mobarhan M, Sima HR, Gerayli S, Shahbazi S, *et al.* The prevalence of hepatitis C virus in mashhad, iran: a population-based study. *Hepat Mon* 2013; 13:e7723.
13. Afshari R, Nomani H, Zaniani FR, Nabavinia MS, Mirbagheri Z, Meshkat M, *et al.* Genotype distribution of hepatitis C virus in Khorasan Razavi Province, Iran. *Turk J Med Sci* 2014; 44:656-660.
14. Gerayli S, Meshkat Z, Pasdardar A, Mosannen Mozafari P, Banihashemi E, Khajavi MA, *et al.* The association between oral lichen planus and hepatitis C virus infection; a report from northeast of iran. *Jundishapur J Microbiol* 2015; 8:e16741.
15. Rostami S, Shakeri M, Ghayour-Mobarhan M, Nomani H, Sepahi S, Gerayli S, *et al.* The Absence of Hepatitis C Virus Infection Among Patients with Hepatitis B virus in Mashhad, Iran. 2. 2012; 6:1-6.
16. Khaderi S, Shepherd R, Goss JA, Leung DH. Hepatitis C in the pediatric population: transmission, natural history, treatment and liver transplantation. *World J Gastroenterol* 2014; 20:11281-11286.
17. Takikawa S, Matsuura Y, Miyamura T. [The present studies of the development of HCV vaccine]. *Nihon rinsho* 2001; 59:1379-1383.
18. Stepień M, Rosinska M. Hepatitis C outbreaks in Poland in 2003-2013. Medical procedures as a dominant route of HCV transmission. *Przegl Epidemiol* 2015; 69:465-472, 585-590.
19. Jyothi KR, Beloor J, Jo A, Nguyen MN, Choi TG, Kim JH, *et al.* Liver-targeted cyclosporine A-encapsulated poly (lactic-co-glycolic) acid nanoparticles inhibit hepatitis C virus replication. *Int J Nanomed* 2015; 10:903-921.
20. Chevaliez S, Pawlotsky JM. Hepatitis C virus serologic and virologic tests and clinical diagnosis of HCV-related liver disease. *Int J Med Sci* 2006; 3:35-40.
21. Chen SL, Morgan TR. The Natural History of Hepatitis C Virus (HCV) Infection. *Int J Med Sci* 2006; 3:47-52.
22. Kamili S, Drobeniuc J, Araujo AC, Hayden TM. Laboratory diagnostics for hepatitis C virus infection. *Clin Infect Dis* 2012; 55 :S43-48.
23. Hulla JE, Sahu SC, Hayes AW. Nanotechnology: History and future. *Hum Exp Toxicol* 2015; 34:1318-1321.
24. Formoso P, Muzzalupo R, Tavano L, Filpo GD, Nicoletta FP. Nanotechnology for the Environment and Medicine. *Mini Rev Med Chem* 2016; 16:668-675.
25. Zhang L, Gu FX, Chan JM, Wang AZ, Langer RS, Farokhzad OC. Nanoparticles in medicine: therapeutic applications and developments. *Clin Pharmacol Ther* 2008; 83:761-769.
26. De Jong WH, Borm PJ. Drug delivery and nanoparticles: applications and hazards. *Int J Nanomed* 2008; 3:133-1349.
27. Long NV, Yang Y, Teranishi T, Thi CM, Cao Y, Nogami M. Biomedical applications of advanced multifunctional magnetic Nanoparticles. *J Nanosci Nanotechnol* 2015; 15:10091-10107.
28. Griffin J, Singh AK, Senapati D, Lee E, Gaylor K, Jones-Boone J, *et al.* Sequence-specific HCV RNA quantification using the size-dependent nonlinear optical properties of gold nanoparticles. *Small* 2009; 5:839-845.
29. Liu L, Wang X, Ma Q, Lin Z, Chen S, Li Y, *et al.* Multiplex electrochemiluminescence DNA sensor for determination of hepatitis B virus and hepatitis C virus based on multicolor quantum dots and Au nanoparticles. *Anal Chim Acta* 2016; 916:92-101.
30. Shawky SM, Guirgis BS, Azzazy HM. Detection of unamplified HCV RNA in serum using a novel two metallic nanoparticle platform. *Clin Chem Lab Med* 2014; 52:565-572.
31. Shawky SM, Bald D, Azzazy HM. Direct detection of unamplified hepatitis C virus RNA using unmodified gold nanoparticles. *Clin Biochem* 2010; 43:1163-1168.
32. Xi D, Luo X, Ning Q. Detection of HBV and HCV coinfection by TEM with Au nanoparticle gene probes. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci* 2007; 27:532-534.
33. Siontorou CG. Nanobodies as novel agents for disease diagnosis and therapy. *Int J Nanomed* 2013; 8:4215-4227.
34. Lee MY, Yang JA, Jung HS, Beack S, Choi JE, Hur W, *et al.* Hyaluronic acid-gold nanoparticle/interferon alpha complex for targeted treatment of hepatitis C virus infection. *ACS Nano* 2012; 6:9522-9531.
35. Hang X, Peng H, Song H, Qi Z, Miao X, Xu W. Antiviral activity of cuprous oxide nanoparticles against Hepatitis C Virus *in vitro*. *J Virol Methods* 2015; 222:7-15.
36. Ryoo SR, Jang H, Kim KS, Lee B, Kim KB, Kim YK, *et al.* Functional delivery of DNzyme with iron oxide nanoparticles for hepatitis C virus gene knockdown. *Biomaterials* 2012; 33:2754-2761.
37. Torrecilla J, del Pozo-Rodriguez A, Apaolaza PS, Solinis MA, Rodriguez-Gascon A. Solid lipid nanoparticles as non-viral vector for the treatment of chronic hepatitis C by RNA interference. *Int J Pharm* 2015; 479:181-188.
38. Zhang J, Mulvenon A, Makarov E, Wagoner J, Knibbe J, Kim JO, *et al.* Antiviral peptide nanocomplexes as a potential therapeutic modality for HIV/HCV co-infection. *Biomaterials* 2013; 34:3846-3857.



## Review Article

### Nanoparticles in diagnosis and treatment of hepatitis C infection: a review article

Received: 26 May 2016 - Accepted: 30 Jul 2016

<sup>1</sup> Kiana Ketabi  
<sup>2</sup> Zahra Meshkat\*

1- MSc Student, Antimicrobial  
Resistance Research Center,  
Mashhad University of Medical  
Sciences, Mashhad, Iran

2- Associate Professor of Medical  
Virology, Antimicrobial Resistance  
Research Center, Mashhad  
University of Medical Sciences,  
Mashhad, Iran

\* Mashhad- Antimicrobial Resistance  
Research Center, Mashhad  
University of Medical Sciences,  
Mashhad, Iran  
Tel: 09155110247  
Email: meshkatz@mums.ac.ir

#### Abstract

Hepatitis C infection is one of the major health problems of the world. Two-third of the world population (about 170 million) are infected with hepatitis C infection and every year spend a lot of cost in diagnosis and treatment of this infection. Hepatitis C virus is an enveloped, single-stranded RNA virus with positive polarity and is a member of *Flaviviridae* family and its genomic length is 9.6 kb. Hepatitis C virus has tendency to develop chronic infections (70 – 80 percent of cases) that in the end stages may lead to cirrhosis or hepatocellular carcinoma. Due to high heterogeneity in genome of these viruses, an effective vaccine to prevent hepatitis C infection hasn't been developed. For many years the main treatment for hepatitis C infection was a combination of pegylated INF- $\alpha$  and ribavirin, but its use has been limited because of numerous side effects of the drug and also viral resistance. Nanoparticles are used in diagnosis and treatment of hepatitis C infection commonly because of their effective drug delivery to the tissue. These nanoparticles are separated into two groups, organic and non-organic nanoparticles and they can effectively treat or prevent the progression of the disease with their direct or indirect effects. Most organic nanoparticles used for this purpose are lipid nanoparticles and the most non-organic nanoparticles are magnetic nanoparticles (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> and  $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), gold and copper. The purpose of this paper is to review the nanoparticles in diagnosis and treatment of hepatitis C infection.

**Keywords:** Diagnosis, Hepatitis C virus, Nanoparticle, Treatment

**Acknowledgement:** This article has no conflict of interest and funding source.