

دکتر مریم اسلامی

پزشک و دکتری تخصصی ژنتیک

مسدود کردن یک آنزیم واحد، رشد مجدد اندام در آکسولوتل‌ها را دوباره سیم‌کشی می‌کند.

در مطالعه‌ای که اخیراً در مجله Nature Communications منتشر شده است، محققان در ایالات متحده بررسی کردند که چگونه تجزیه رتینوئیک اسید (RA) با واسطه سیتوکروم P450 خانواده 26 زیرخانواده B عضو 1 (CYP26B1) هویت پروکسیمودیستال (PD) را در طول بازسازی اندام آکسولوتل تنظیم می‌کند. این مطالعه همچنین به سؤالات حل نشده در مورد چگونگی ایجاد شیب‌های RA در طول بازسازی و چگونگی تبدیل این مکانیسم‌ها به کاربردهای آینده برای پزشکی ترمیمی می‌پردازد. تصور کنید که یک اندام را از دست می‌دهید و شاهد رشد کامل آن، استخوان به استخوان و مفصل به مفصل هستید. در حالی که این برای انسان‌ها مانند داستان‌های علمی تخیلی به نظر می‌رسد، آکسولوتل‌ها (نوعی سمندر) این کار را به طور معمول انجام می‌دهند. آنها اندام‌ها را با دقت قابل توجهی بازسازی می‌کنند و بخش‌های صحیح را از شانه (استایلوپود) تا دست (اتوپود) بازیابی می‌کنند. این توانایی به بلاستما، خوشه‌ای از سلول‌های بنیادی مانند که موقعیت اصلی خود را "به خاطر می‌سپارند" بستگی دارد. RA بر این حافظه تأثیر می‌گذارد، اما چگونگی کنترل سطح آن در طول بازسازی هنوز مشخص نیست. درک این

کنترل‌ها می‌تواند پزشکی ترمیمی را متحول کند. تحقیقات بیشتری برای رمزگشایی مکانیسم‌های مولکولی هدایت‌کننده هویت موقعیتی مورد نیاز است. نویسندگان همچنین خاطرنشان می‌کنند که اگرچه اهمیت RA در هویت موقعیتی مشخص شده است، اما اینکه آیا سنتز RA در امتداد محور اندام درجه‌بندی می‌شود یا یکنواخت است و در عوض توسط تخریب موضعی کنترل می‌شود، همچنان یک سوال بی‌پاسخ است. این مطالعه از آکسولوتل‌هایی با اندام‌های قطع‌شده در سطوح تعریف‌شده پروگزیمال-دистال (PD)، شامل استایلوپود بالایی (US)، استایلوپود پایینی (LS)، ژئوگوپود بالایی (UZ) و اتوپود (A) برای بررسی سیگنال‌دهی RA استفاده کرد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز رونویسی معکوس کمی (qRT-PCR)، واکنش زنجیره‌ای هیبریداسیون فلورسانس درجا (HCR-FISH) و توالی‌یابی اسید ریبونوکلیک تک سلولی (scrRNA-seq) برای ارزیابی بیان ژن استفاده شدند. آنزیم‌ها و ژن‌های دخیل در سنتز RA، از جمله رتینالدهید دهیدروژناز 1 (RALDH1)، RALDH2 و RALDH3، تجزیه RA، مانند CYP26A1 و CYP26B1، و پاسخ RA، از جمله گیرنده آلفای اسید رتینوئیک (RARA) و گیرنده گامای اسید رتینوئیک (RARG)، در بلاستماهای پروگزیمال (PBS) و بلاستماهای دистال (DBS) بررسی شدند. برای دستکاری سطح RA، حیوانات با تالاروزول (TAL)، که با نام R115866 نیز شناخته می‌شود، یک مهارکننده آنزیم‌های CYP26، در غلظت‌های 0.1 میکرومولار (μM)، 1 میکرومولار و 5 میکرومولار درمان شدند. فعالیت RA با استفاده از حیوانات گزارشگر عنصر فلورسنت سبز افزایش یافته پاسخ دهنده به RA (RARE:EGFP) اندازه‌گیری شد. در برخی آزمایش‌ها، TAL با دی‌سولفیرام (DIS)، یک مهارکننده پان-RALDH، یا AGN (RAA) 193109، یک آنتاگونیست گیرنده‌ی پان-رتینوئیک اسید (RAR) ترکیب شد. بیان

ژن‌های الگودهی 1 Meis homeobox و 2 (Meis1، Meis2)، ژن‌های خوشه‌ای Hoxa9 (homeobox A، Hoxa11، Hoxa13) و homeobox قد کوتاه (Shox، Shox2) ارزیابی شد. از Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats / CRISPR-associated protein 9 (CRISPR/Cas9) برای تولید حیوانات فاقد Shox (Shox^{-/-}) استفاده شد تا نقش عملکردی آن ارزیابی شود. این مطالعه تأیید کرد که سیگنالینگ RA در امتداد محور PD متفاوت است و سطوح بالاتری در PBها در مقایسه با DBها دارد. بیان CYP26B1 در مزانشیم DBها به طور قابل توجهی بالاتر بود. در مقابل، Meis1 و Meis2، که ژن‌های پاسخ‌دهنده به RA مرتبط با هویت پروگزیمال هستند، در PBها غنی شدند. Hoxa13 در DBها به میزان زیادی بیان شد. این الگوهای بیان با موقعیت‌های قطعه اندام مطابقت داشتند و از نظر تکاملی حفظ شده بودند. مهار تخریب RA با TAL، سیگنالینگ RA را افزایش داد، همانطور که توسط گزارشگران RARE:EGFP مشاهده شد، و باعث ایجاد مضاعف‌شدگی‌های اندام پروگزیمال از قطع عضوهای دیستال شد. درمان با TAL باعث شد که DBها به جای اتوپودها، استایلوپودها یا زئوگوپودها را بازسازی کنند. در غلظت 1 میکرومولار TAL، 66.7٪ از DBها مضاعف‌شدگی‌های کامل استایلوپود را ایجاد کردند. در مقابل، اندام‌های پروگزیمال قطع شده که با غلظت مشابه TAL درمان شدند، به طور طبیعی بازسازی شدند، اگرچه دوزهای بالاتر باعث اختلال در بازسازی شدند. این اثرات تأیید کرد که CYP26B1 غلظت‌های RA را که برای الگوسازی اختصاصی قطعه حیاتی هستند، تنظیم می‌کند. DBهای درمان شده با TAL، بیان Hoxa13 کاهش یافته و Meis1 افزایش یافته را نشان دادند. توالی‌یابی RNA، بازبرنامه‌ریزی رونویسی وابسته به دوز را نشان داد، به طوری که DBهای تیمار

شده با TAL، پروفایل‌های بیانی مشابه PB‌های تیمار شده با دی‌متیل سولفوکسید (DMSO) را اتخاذ کردند. در میان ژن‌های با بیان متفاوت، Shox و Shox2 وجود داشتند که به RA پاسخ می‌دهند و در PB‌ها غنی شده‌اند. بیان Shox با Hoxa13 همبستگی معکوس داشت و با Meis1 هم‌محلی بود، که نشان می‌دهد در پایین‌دست سیگنالینگ RA و Meis1 عمل می‌کند. نویسندگان خاطرنشان می‌کنند که Meis1 احتمالاً در این آبشار تنظیمی، بالادست Shox است، که توسط تجزیه و تحلیل پروموتور پشتیبانی می‌شود، و سلول‌های بیان‌کننده Shox و Hoxa13 متقابلاً منحصر به فرد بودند. مطالعات عملکردی با استفاده از حیوانات فاقد Shox القا شده با CRISPR/Cas9 نشان داد که آکسولوتل‌های Shox-/-، استایلوپودها و زئوگوپودهای کوتاه شده‌ای را با اختلال در استخوان‌سازی درون غضروفی ایجاد کردند. رنگ‌آمیزی بافت‌شناسی و آنالیز هماتوکسیلین و ائوزین، کندروسیت‌های نابالغی را نشان داد که نتوانستند به استخوان بالغ شوند. با این حال، اتوپاد تحت تأثیر قرار نگرفت. با وجود این نقص‌های اسکلتی، حیوانات Shox-/- اندام‌ها را بازسازی کردند و تأیید کردند که Shox برای بازسازی ضروری نیست، اما برای الگوسازی بخش‌های اسکلتی پروگزیمال بسیار مهم است. این مطالعه همچنین مشاهده کرد که بیان Shox2 می‌تواند تا حدی فقدان Shox را در برخی زمینه‌ها جبران کند، اگرچه نقص‌های پروگزیمال همچنان ادامه دارد و تشکیل کندروسیت در عناصر دیستال مستقل از Shox است. بیان Shox عمدتاً در سلول‌های مزانشیمی مشاهده شد و در DB‌های تیمار شده با TAL فعال شد. وقتی TAL به طور همزمان با DIS یا RAA تجویز شد، پروگزیمالیزاسیون DB‌ها مسدود شد، که نشان می‌دهد هم سنتز RA و هم سیگنالینگ واسطه‌گری گیرنده برای این اثر مورد نیاز است. علاوه بر این، در حیوانات Shox-/- که با TAL درمان شدند، تکثیر اندام

رخ داد، اما بخش‌های تکثیر شده توسعه نیافته بودند، که نشان می‌دهد Shox برای اجرا، اما نه شروع، الگوی پروگزیمال القا شده توسط RA ضروری است. در حالی که این مطالعه شواهد قوی ارائه می‌دهد که تخریب RA با واسطه Cyp26b1 هویت قطعه‌ای را کنترل می‌کند، همچنین بحث می‌کند که تنظیم‌کننده‌های بالادست Cyp26b1 (مانند سیگنال‌های Hoxa11، Hoxa13 یا FGF) در طول بازسازی هنوز مشخص نشده‌اند. به طور خلاصه، این مطالعه نشان می‌دهد که تخریب اسید رتینوئیک (RA) وابسته به CYP26B1 برای ایجاد هویت PD در طول بازسازی اندام آکسولوتل بسیار مهم است. با تنظیم سطح RA در بلاستما، CYP26B1 فعال‌سازی اختصاصی قطعه ژن‌های الگودهی را ممکن می‌سازد. افزایش سطح RA، هویت پروگزیمال را از طریق Meis1 و Shox ارتقا می‌دهد، در حالی که تخریب RA از هویت دیستال که توسط Hoxa13 مشخص می‌شود، پشتیبانی می‌کند. Shox برای تشکیل و استخوان‌سازی عناصر استایلوپودیال و زئوگوپودیال حیاتی است، اما برای تشکیل اتوپود یا بازسازی کلی لازم نیست. یافته‌ها همچنین با یک مدل آستانه خاص برای هویت موقعیتی (مشابه مدل پرچم فرانسه) سازگار است، اگرچه این مقاله عدم قطعیت‌هایی را در مورد اینکه آیا سنتز RA خود در امتداد محور PD یکنواخت یا درجه‌بندی شده است، برجسته می‌کند. این بینش‌ها بر اهمیت متابولیسم موضعی RA در بازسازی ساختارهای پیچیده تأکید می‌کنند و ممکن است استراتژی‌های احیاکننده آینده را در پزشکی و زیست‌شناسی تکاملی آگاه سازند.

<https://www.news-medical.net/news/20250611/Blocking-a-single-enzyme-rewires-limb-regrowth-in-axolotls.aspx>