

CRISPR و نانوذرات: سیستم‌های نوین ویرایش ژن در درمان عفونت‌های مقاوم

مهسا بیرام نژاد^{*}، سمانه مرادی^۱

۱- کارشناسی ارشد میکروبیولوژی میکرو اورگانیزم‌های بیماریزا، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی

اردبیل، اردبیل، ایران

چکیده

افزایش گسترده مقاومت آنتی‌بیوتیکی ضرورت توسعه رویکردهای درمانی هدفمند را برجسته کرده است. این مقاله علمی-ترویجی با هدف بررسی نقش نانوذرات به‌عنوان سامانه‌های انتقال برای بهره‌گیری از سیستم‌های ویرایش ژن CRISPR در کنترل عفونت‌های باکتریایی مقاوم، در پایگاه‌های داده PubMed، Scopus و Google Scholar و در بازه زمانی ۲۰۱۴-۲۰۲۶ یک جست و جوی نظام‌مند انجام داد. شواهد نشان می‌دهد که نانوحامل‌های پلیمری (مثلاً مشتقات PEI)، لیپیدی (LNP) و سامانه‌های هیبریدی فاژ-نانو نقش تعیین‌کننده‌ای در محافظت و ارسال اجزای CRISPR (Cas9/Cas13) به باکتری‌های هدف ایفا می‌کنند؛ از جمله حذف ژن‌های مقاومت مانند *mecA* در MRSA، حذف پلاسمیدهای حامل ژن‌های *bla* در اشرشیا و کاهش قابل‌توجه تشکیل بیوفیلم در *Pseudomonas aeruginosa* و *Staphylococcus aureus*. با وجود پتانسیل بالای نانو-CRISPR برای بازیابی حساسیت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها و درمان هدفمند، محدودیت‌هایی از جمله ایمنی زیستی، انتقال در محیط‌های پیچیده زیستی، خطرات off-target و کمبود داده‌های بالینی وجود دارد. در نتیجه نانوحامل‌ها بستر امیدبخشی برای انتقال بالینی CRISPR فراهم می‌آورند اما نیازمند مطالعات پیش‌بالینی و بالینی هدفمند و استانداردسازی فناوری هستند.

کلمات کلیدی: مقاومت دارویی باکتریایی، سیستم‌های CRISPR-Cas، ویرایش ژن، نانوذرات، سامانه‌های انتقال دارو، بیوفیلم، استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا، آسینتوباکتر بومانی، پلاسمیدها، عوامل ضدباکتریایی، عفونت‌های بیمارستانی

۱. مقدمه

افزایش روزافزون مقاومت آنتی‌بیوتیکی به‌عنوان یکی از جدی‌ترین تهدیدهای سلامت عمومی در قرن بیست‌ویکم شناخته می‌شود و سازمان‌های بین‌المللی بهداشت آن را در زمره بحران‌های نوظهور جهانی طبقه‌بندی کرده‌اند [۱، ۲]. گسترش سویه‌های باکتریایی چنددارویی (MDR) و فوق‌مقاوم (XDR) در عفونت‌های بیمارستانی و جامعه‌محور، کارایی بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های کلاسیک را کاهش داده و چالش‌های مهمی برای نظام‌های درمانی در سطح جهانی و ملی ایجاد کرده است [۳، ۴]. این مسئله نه تنها موجب افزایش مرگ‌ومیر ناشی از عفونت‌ها می‌شود، بلکه هزینه‌های درمانی، طول مدت بستری در بیمارستان و فشار بر نظام سلامت را نیز به‌طور چشمگیری افزایش می‌دهد [۵]. برآوردهای علمی نشان می‌دهد که در صورت عدم توسعه راهکارهای درمانی نوین، مقاومت آنتی‌بیوتیکی می‌تواند در دهه‌های آینده به یکی از مهم‌ترین علل مرگ و میر در جهان تبدیل شود [۶، ۷]. در بسیاری از کشورها، از جمله کشورهای در حال توسعه، شیوع باکتری‌هایی نظیر *Staphylococcus aureus* مقاوم به متی‌سیلین (MRSA)، *Pseudomonas aeruginosa* و *Acinetobacter baumannii* مقاوم به کاربامپنم، نشان‌دهنده فوریت پرداختن به راهکارهای جایگزین برای کنترل عفونت‌های مقاوم است [۸-۱۰]. در حال حاضر، محدودیت‌های درمان‌های متداول از جمله کاهش اثربخشی آنتی‌بیوتیک‌ها، بروز مقاومت‌های متقاطع و نبود داروهای جدید با مکانیسم‌های نوین، ضرورت توسعه رویکردهای هدفمند و هوشمند را برجسته ساخته است [۱۱، ۱۲]. در این میان، پیشرفت‌های زیست‌فناوری مولکولی، به‌ویژه ظهور سیستم‌های ویرایش ژن مبتنی بر CRISPR-Cas، افق‌های تازه‌ای را در درمان عفونت‌های باکتریایی مقاوم گشوده‌اند. سیستم CRISPR که در اصل بخشی از سامانه ایمنی تطبیقی باکتری‌ها محسوب می‌شود، این قابلیت را دارد که به‌صورت اختصاصی ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی یا پلاسمیدهای حامل این ژن‌ها را هدف قرار داده و حذف کند [۱۳، ۱۴]. مطالعات آزمایشگاهی نشان داده‌اند که استفاده از CRISPR می‌تواند باکتری‌های مقاوم را به‌طور انتخابی از بین ببرد یا حساسیت آن‌ها را نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها بازگرداند. این ویژگی، CRISPR را به ابزاری بالقوه برای توسعه درمان‌های دقیق و شخصی‌سازی‌شده علیه پاتوژن‌های مقاوم تبدیل کرده است [۱۵، ۱۶]. با وجود این ظرفیت بالا، یکی از مهم‌ترین چالش‌های کاربرد درمانی سیستم‌های CRISPR در برابر باکتری‌ها، نحوه انتقال ایمن و مؤثر این سامانه‌ها به درون سلول‌های میکروبی است [۱۷]. مولکول‌های نوکلئیک‌اسیدی و اجزای CRISPR به‌طور طبیعی در محیط‌های زیستی ناپایدار بوده و به‌سختی وارد سلول‌های هدف می‌شوند. در این راستا، نانوفناوری به‌عنوان یکی از حوزه‌های پیشرو در پزشکی نوین، امکان طراحی حامل‌های نانومقیاس برای انتقال هدفمند سیستم‌های ویرایش ژن را فراهم کرده است [۱۸]. نانوذرات لیپیدی، پلیمری، فلزی و مغناطیسی می‌توانند از اجزای CRISPR در برابر تخریب محافظت کرده و انتقال آن‌ها را به باکتری‌های هدف تسهیل کنند. استفاده از نانوذرات به‌عنوان سامانه‌های انتقال (delivery systems) نه تنها کارایی و ویرایش ژنی را افزایش می‌دهد، بلکه می‌تواند اختصاصیت درمان را بالا برده و عوارض جانبی را کاهش دهد [۱۹]. پژوهش‌های پیشین نشان می‌دهد که در سال‌های اخیر مطالعات متعددی به بررسی کاربرد CRISPR در حذف ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی و همچنین استفاده از نانوذرات برای انتقال سیستم‌های ویرایش ژن پرداخته‌اند. برخی پژوهش‌ها نشان داده‌اند که نانوذرات لیپیدی و پلیمری قادرند سامانه‌های CRISPR-Cas را به‌طور مؤثر به باکتری‌ها منتقل کرده و بیان ژن‌های مقاومت را مهار کنند [۲۰-۲۳]. همچنین، استفاده از ترکیب فاژهای باکتریوفاژی با نانوذرات به‌عنوان حامل‌های هیبریدی برای انتقال CRISPR مورد توجه قرار گرفته است. با این حال، بسیاری از این مطالعات در مراحل آزمایشگاهی و پیش‌بالینی قرار دارند و هنوز چالش‌هایی در زمینه کارایی انتقال، ایمنی زیستی، اختصاصیت هدف و امکان کاربرد بالینی گسترده وجود دارد [۲۴]. با وجود پیشرفت‌های حاصل‌شده، شکاف‌های پژوهشی مهمی در این حوزه مشاهده می‌شود، از جمله این شکاف‌ها می‌توان به نبود راهکارهای بهینه برای انتقال اختصاصی

CRISPR به باکتری‌های هدف در محیط‌های پیچیده زیستی، محدودیت داده‌های بالینی درباره ایمنی و اثربخشی سامانه‌های نانو-CRISPR، و همچنین نیاز به توسعه نانوحامل‌های هوشمند با قابلیت پاسخ‌دهی به شرایط محیطی اشاره کرد. علاوه بر این، یکپارچه‌سازی دانش میکروبیولوژی، نانوفناوری و ویرایش ژن برای ارائه رویکردهای درمانی کاربردی همچنان نیازمند پژوهش‌های بین‌رشته‌ای بیشتر است [۲۵، ۲۶]. بنابراین هدف از این مقاله، بررسی و تحلیل نقش نانوذرات به‌عنوان سامانه‌های انتقال سیستم‌های CRISPR در درمان عفونت‌های باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک است. این مقاله با مرور مبانی نظری، مطالعات انجام‌شده و چالش‌های موجود، تلاش دارد چشم‌اندازهای نوین کاربرد فناوری‌های نانو و ویرایش ژن را در مقابله با بحران مقاومت آنتی‌بیوتیکی تبیین کرده و زمینه‌ای برای توسعه پژوهش‌های آینده در این حوزه فراهم آورد.

۲. مقاومت آنتی‌بیوتیکی: یک چالش جهانی

مقاومت آنتی‌بیوتیکی در دهه‌های اخیر به یکی از مهم‌ترین تهدیدهای سلامت عمومی در سطح جهانی تبدیل شده است. گسترش باکتری‌های چنددارویی (MDR) و فوق‌مقاوم (XDR) موجب کاهش اثربخشی بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های رایج و افزایش پیچیدگی درمان عفونت‌ها شده است. این روند نه تنها درمان عفونت‌های بیمارستانی و جامعه را دشوار کرده، بلکه با افزایش طول مدت بستری، هزینه‌های درمانی و نرخ مرگ‌ومیر همراه بوده است. استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها در پزشکی و دامپزشکی، انتقال افقی ژن‌های مقاومت و توانایی بالای باکتری‌ها در سازگاری ژنتیکی، از عوامل اصلی تشدید این بحران به شمار می‌روند [۲۷، ۲۸]. در میان پاتوژن‌های مقاوم، برخی باکتری‌ها به‌عنوان عوامل کلیدی عفونت‌های سخت‌درمان شناخته می‌شوند. *Staphylococcus aureus* مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) یکی از مهم‌ترین عوامل عفونت‌های بیمارستانی و زخم‌هاست که مقاومت آن به چندین کلاس آنتی‌بیوتیکی، گزینه‌های درمانی را محدود کرده است [۲۹، ۳۰]. همچنین *Pseudomonas aeruginosa* به دلیل توانایی تشکیل بیوفیلم، مقاومت ذاتی بالا و سازوکارهای متعدد دفع دارو، در عفونت‌های ریوی، سوختگی و بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه نقش مهمی دارد. از سوی دیگر، *Acinetobacter baumannii* به‌ویژه سویه‌های مقاوم به کاربامپنم، به‌عنوان یکی از تهدیدهای جدی در محیط‌های بیمارستانی شناخته می‌شود و درمان آن با دشواری‌های فراوانی همراه است [۳۱، ۳۲]. افزایش شیوع این پاتوژن‌های مقاوم و کاهش اثربخشی درمان‌های موجود، ضرورت توسعه راهکارهای نوین و هدفمند را برجسته می‌کند. رویکردهای سنتی مبتنی بر کشف آنتی‌بیوتیک‌های جدید به‌تنهایی پاسخگوی سرعت گسترش مقاومت نیستند؛ از این‌رو، استفاده از فناوری‌های نوین زیستی و نانوفناوری برای طراحی درمان‌های دقیق، اختصاصی و کم‌عارضه به‌عنوان مسیرهای امیدوارکننده در مقابله با عفونت‌های مقاوم مطرح شده‌اند [۳۳، ۳۴].

۳. سیستم CRISPR به عنوان ابزار ضدباکتری

سیستم CRISPR-Cas یکی از مهم‌ترین پیشرفت‌های زیست‌فناوری مولکولی در سال‌های اخیر است که در اصل به عنوان بخشی از سامانه ایمنی تطبیقی در باکتری‌ها و آرکی‌ها عمل می‌کند. در میان انواع مختلف این سیستم، CRISPR-Cas9 به دلیل توانایی ایجاد برش‌های دقیق در توالی‌های هدف DNA، بیشترین کاربرد را در ویرایش ژنومی و توسعه راهبردهای ضدباکتریایی یافته است [۳۵]. این سامانه متشکل از یک آنزیم نوکلئازی (Cas9) و RNA راهنما (gRNA) است که به طور اختصاصی به توالی ژنی مورد نظر متصل شده و موجب برش دو رشته‌ای DNA می‌شود [۳۶-۳۸]. در زمینه درمان عفونت‌های مقاوم، این ویژگی امکان هدف‌گیری و تخریب ژن‌های مسئول مقاومت آنتی‌بیوتیکی را فراهم می‌کند. کاربرد ضدباکتریایی CRISPR عمدتاً بر حذف یا غیرفعال‌سازی ژن‌های مقاومت در کروموزوم باکتریایی یا پلاسمیدهای حامل این ژن‌ها متمرکز است. با طراحی RNAهای راهنما علیه ژن‌های کلیدی مقاومت، می‌توان توالی‌های ژنی خاص را برش داده و در نتیجه باکتری را نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها حساس کرد یا حتی موجب مرگ انتخابی آن شد [۲۲، ۳۹]. برای نمونه، هدف‌گیری ژن *mecA* در سویه‌های *Staphylococcus aureus* مقاوم به متی‌سیلین می‌تواند بیان پروتئین‌های مسئول مقاومت را مختل کرده و حساسیت باکتری به بتالاکتام‌ها را بازگرداند. همچنین، هدف‌گیری ژن‌های *bla* کدکننده بتالاکتامازها در باکتری‌های گرم‌منفی می‌تواند پلاسمیدهای حامل مقاومت را حذف کرده و انتشار ژن‌های مقاومت را کاهش دهد [۴۰]. یکی از مزیت‌های اصلی سیستم‌های CRISPR در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های کلاسیک، اختصاصیت بالا در شناسایی و حذف باکتری‌های هدف است [۴۱، ۴۲]. این رویکرد امکان حذف انتخابی پاتوژن‌های مقاوم بدون آسیب گسترده به میکروبیوتای مفید را فراهم می‌کند و خطر بروز مقاومت‌های متقاطع را کاهش می‌دهد. علاوه بر این، قابلیت هدف‌گیری پلاسمیدهای قابل انتقال افقی، CRISPR را به ابزاری بالقوه برای مهار گسترش ژن‌های مقاومت در جمعیت‌های باکتریایی تبدیل کرده است. با وجود این مزایا، کاربرد درمانی این سامانه‌ها نیازمند توسعه روش‌های مؤثر برای انتقال اجزای CRISPR به باکتری‌های هدف در محیط‌های زیستی پیچیده است که زمینه ورود فناوری‌های نانویی به این حوزه را فراهم می‌کند [۲۴، ۴۳].

۴. نقش نانوذرات به‌عنوان سامانه‌های انتقال CRISPR

با وجود پتانسیل بالای سیستم‌های CRISPR-Cas در حذف ژن‌های مقاوم و مهار پاتوژن‌های مقاوم، یکی از چالش‌های اساسی در کاربرد ضدباکتریایی این فناوری، انتقال مؤثر و پایدار اجزای CRISPR به درون سلول‌های باکتریایی است [۴۴]. مولکول‌های DNA، RNA و کمپلکس‌های ریبونوکلوپروتئینی CRISPR به‌طور طبیعی در محیط‌های زیستی در معرض تخریب آنزیمی قرار دارند و نفوذ آن‌ها از غشاهای باکتریایی به‌ویژه در باکتری‌های گرم‌منفی با دیواره سلولی پیچیده محدود است. از این‌رو، توسعه سامانه‌های انتقال کارآمد برای حفاظت از اجزای CRISPR و تسهیل ورود آن‌ها به سلول هدف، پیش‌شرط کاربرد درمانی این فناوری محسوب می‌شود [۴۵، ۴۶]. در این زمینه، نانوذرات به‌عنوان حامل‌های زیست‌سازگار و قابل‌مهندسی، نقش کلیدی در بهبود کارایی انتقال ژن ایفا می‌کنند و می‌توانند پایداری، اختصاصیت و کارایی ویرایش ژنی را افزایش دهند. نانوذرات لیپیدی از پرکاربردترین حامل‌های انتقال اسیدهای نوکلئیک هستند که به‌دلیل شباهت ساختاری به غشاهای زیستی، توانایی بالایی در ادغام با غشای سلولی و رهاسازی محتوای ژنی دارند. این نانوحامل‌ها می‌توانند اجزای CRISPR را در برابر تخریب محافظت کرده و انتقال آن‌ها را به سلول‌های هدف تسهیل کنند [۴۷، ۴۸]. نانوذرات پلیمری نیز به‌واسطه پایداری ساختاری، قابلیت تنظیم اندازه و بار سطحی، و امکان اتصال به لیگاند‌های هدف‌گیرنده، به‌عنوان گزینه‌ای مناسب برای انتقال هدفمند سیستم‌های ویرایش ژن مطرح شده‌اند. نانوذرات فلزی، به‌ویژه نانوذرات طلا، به‌دلیل زیست‌سازگاری، قابلیت عامل‌دار شدن سطح و توانایی اتصال به مولکول‌های DNA و RNA، در انتقال کمپلکس‌های CRISPR مورد توجه قرار گرفته‌اند. این نانوذرات می‌توانند به‌عنوان پلتفرم‌های پایدار برای حمل و رهایش کنترل‌شده اجزای ویرایش ژن عمل کنند [۴۹، ۵۰]. همچنین، نانوذرات مغناطیسی با امکان هدایت خارجی توسط میدان مغناطیسی و تمرکز در محل عفونت، چشم‌اندازهایی برای انتقال هدفمند و موضعی سامانه‌های CRISPR فراهم کرده‌اند. به‌طور کلی، استفاده از نانوذرات به‌عنوان سامانه‌های انتقال (delivery systems) می‌تواند با افزایش پایداری، کارایی ورود به سلول و اختصاصیت هدف، محدودیت‌های انتقال مستقیم CRISPR را برطرف کرده و زمینه را برای کاربردهای درمانی این فناوری در مقابله با عفونت‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک فراهم سازد [۲۴، ۵۱].

۵. کاربرد نانو CRISPR در درمان عفونت‌ها

در مواجهه با عفونت‌های مقاوم بیمارستانی و پیچیدگی ساختار بیوفیلم‌ها، رویکردهای درمانی سنتی اغلب ناکارآمد بوده‌اند. عفونت‌های ناشی از پاتوژن‌های چنددارویی در محیط بالینی با چالش‌های مکرر درمان مواجه‌اند و بیوفیلم‌ها به‌دلیل ماتریس محافظتی خود، نه‌تنها مانع نفوذ آنتی‌بیوتیک‌ها می‌شوند بلکه انتقال افقی ژن‌های مقاومت را تسهیل می‌کنند، که این امر باعث افزایش پایداری و بقای جمعیت‌های باکتریایی می‌گردد. این وضعیت نیاز به راهکارهای نوینی را برجسته می‌کند که بتوانند به‌طور مستقیم سازوکارهای مولکولی مقاومت را هدف قرار دهند، نه صرفاً اثرات آن را کاهش دهند [۵۲]. سیستم‌های CRISPR-Cas که توانایی هدف‌گیری دقیق ژن‌های مرتبط با مقاومت، تشکیل بیوفیلم یا مسیرهای ارتباطی جمعیتی (quorum sensing) را دارند، پتانسیل بسیار بالایی برای برهم‌زدن پایداری این ساختارهای مقاوم فراهم کرده‌اند. مطالعات مروری اخیر نشان داده‌اند که ادغام CRISPR با نانوذرات می‌تواند امکان نفوذ به داخل ماتریس‌های بیوفیلم را بهبود بخشد، ژن‌های مسئول مقاومت یا تشکیل بیوفیلم را خاموش کند، و حساسیت باکتری‌ها را نسبت به روش‌های درمانی افزایش دهد [۲۴، ۵۳]. نانو CRISPR نه‌تنها امکان حذف مستقیم ژن‌های مقاومت واقع در کروموزوم یا پلاسمیدها را می‌دهد، بلکه می‌تواند مسیرهای مولکولی مرتبط با تشکیل بیوفیلم و ارتباطات جمعیتی را نیز هدف قرار دهد، که موجب

کاهش پایداری بیوفیلیم و افزایش دسترسی آنتی‌بیوتیک‌ها به سلول‌های باکتریایی می‌شود. برای مثال، مطالعه‌های اخیر نشان داده‌اند که فرمولاسیون‌های لیپوزومی CRISPR-Cas9 می‌توانند بیش از ۹۰٪ از جرم بیوفیلیم *Pseudomonas aeruginosa* را کاهش دهند و حمل‌کننده‌های مبتنی بر طلا توانایی افزایش کارایی ویرایش ژنی را تا چند برابر نسبت به سیستم‌های بدون حامل گزارش کرده‌اند [۲۴]. علاوه بر این، استفاده از نانوذرات امکان درمان هدفمند را نیز فراهم می‌کند؛ زیرا این پلتفرم‌ها با طراحی اختصاصی به سمت محتوای ژنی یا ساختارهای بیوفیلیم هدایت می‌شوند و به‌جای تخریب گسترده جمعیت میکروبی، تنها پاتوژن‌های هدف را تحت تأثیر قرار می‌دهند. این رویکرد هم‌زمان می‌تواند با آنتی‌بیوتیک‌های معمولی همراه شود و اثرات هم‌افزایانه ایجاد کند، که چشم‌اندازهای درمانی جدیدی را برای عفونت‌های بیمارستانی مقاوم باز می‌کند که پیش از این به‌طور مؤثر درمان نمی‌شدند [۵۴، ۵۵].

۶. روش کار

در این مقاله علمی-ترویجی، اطلاعات مورد نیاز از طریق مرور نظام‌مند منابع علمی منتشرشده در پایگاه‌های معتبر بین‌المللی شامل PubMed، Scopus و Google Scholar گردآوری شد. جستجوی منابع با استفاده از کلیدواژه‌هایی نظیر CRISPR antimicrobial، nanoparticle delivery، antibiotic resistance و nano-CRISPR در بازه زمانی ۲۰۱۴ تا ۲۰۲۶ انجام گرفت. مقالات مرتبط با کاربرد سیستم‌های CRISPR و نانوذرات در درمان عفونت‌های باکتریایی مقاوم انتخاب و پس از بررسی محتوایی، تحلیل و تلفیق شدند.

۷. یافته‌ها

مرور مطالعات اخیر نشان می‌دهد که ادغام سیستم‌های ویرایش ژن CRISPR با نانوحامل‌ها به‌عنوان یکی از نوین‌ترین رویکردها در مقابله با عفونت‌های باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک مطرح شده است. نتایج پژوهش‌های منتخب (جدول ۱) بیانگر آن است که استفاده از نانوذرات پلیمری، لیپیدی و سامانه‌های هیبریدی می‌تواند انتقال مؤثر اجزای CRISPR به باکتری‌های هدف را تسهیل کرده و کارایی درمان را به‌طور چشمگیری افزایش دهد. در مطالعه Kang و همکاران (۲۰۱۷)، استفاده از نانوذرات پلیمری مشتق از پلی‌اتیلن‌ایمین (PEI) برای انتقال سامانه CRISPR-Cas9 به سویه‌های *Staphylococcus aureus* مقاوم به متی‌سیلین نشان داد که هدف‌گیری ژن *mecA* منجر به حذف ژن مقاومت و افزایش حساسیت باکتری به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام شد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که انتقال هدفمند CRISPR از طریق نانوحامل‌ها می‌تواند به بازایی اثربخشی آنتی‌بیوتیک‌های رایج کمک کند [۵۶]. مطالعه Park و همکاران (۲۰۲۵) نیز نشان داد که استفاده از نانوذرات لیپیدی برای انتقال سیستم CRISPR-Cas13a قادر است رشد *Escherichia coli* مقاوم را مهار کرده و بار عفونت را در مدل‌های آزمایشگاهی کاهش دهد. این مطالعه بر اهمیت نانوحامل‌های لیپیدی در محافظت از اجزای CRISPR و افزایش پایداری آن‌ها در محیط‌های زیستی تأکید دارد [۵۷]. همچنین، بررسی Saffari Natanzi و همکاران (۲۰۲۵) نشان داد که ترکیب نانوذرات لیپیدی و پلیمری با سامانه CRISPR-Cas9 می‌تواند موجب کاهش قابل توجه تشکیل بیوفیلیم در باکتری‌هایی مانند *Pseudomonas aeruginosa* و *Staphylococcus aureus* شود. کاهش بیوفیلیم‌ها باعث افزایش دسترسی آنتی‌بیوتیک‌ها به سلول‌های باکتریایی و بهبود پاسخ درمانی می‌شود [۵۸]. در

مطالعه Citorik و همکاران (۲۰۱۴)، استفاده از سامانه‌های CRISPR منتقل شده توسط حامل‌های زیستی نشان داد که هدف‌گیری ژن‌های bla در *E. coli* مقاوم می‌تواند پلاسمیدهای حامل مقاومت را حذف کرده و انتقال افقی ژن‌های مقاومت را مهار کند. این رویکرد نشان‌دهنده توانایی CRISPR در حذف انتخابی ژن‌های مقاومت در جمعیت‌های باکتریایی است [۵۹]. علاوه بر این، مرور Mayorga-Ramos و همکاران (۲۰۲۳) نشان داد که استفاده از نانوحامل‌های مختلف می‌تواند چالش‌های انتقال CRISPR را کاهش داده و اختصاصیت درمان را افزایش دهد [۶۰]. مطالعه Almufarriji (2026) نیز نانوحامل‌ها را به‌عنوان یکی از امیدبخش‌ترین پلتفرم‌ها برای انتقال هدفمند CRISPR در درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های فوق‌مقاوم معرفی می‌کند. به‌طور کلی، یافته‌های مطالعات منتخب نشان می‌دهد که نانوحامل‌ها نقش کلیدی در افزایش کارایی انتقال CRISPR، حذف ژن‌های مقاومت و مهار بیوفیلیم‌های باکتریایی دارند و می‌توانند به‌عنوان ابزارهای درمانی نوین در مقابله با عفونت‌های مقاوم مطرح شوند [۶۱].

ردیف	نویسنده / سال	نوع نانوذره	سیستم (ژن CRISPR هدف)	باکتری هدف	یافته‌های کلیدی
۱	Kang, Y. K., et al. (2017) [۵۶]	نانوذرات پلیمری (PEI)	Cas9 (هدف‌گیری mecA)	<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	حذف ژن مقاومت به متی‌سیلین و افزایش حساسیت به بتا‌لاکتام‌ها
۲	Park, J. E., et al. (2025) [۵۷]	نانوذرات لیپیدی (LNP)	Cas13a (هدف‌گیری RNA)	<i>Escherichia coli</i> مقاوم	مهار رشد باکتری و کاهش بار عفونت در مدل حیوانی
۳	Saffari Natanzi, et al. (2025) [۵۸]	نانوذرات لیپیدی و پلیمری	CRISPR-Cas9 (ژن‌های مقاومت و ژن‌های بیوفیلیم)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> و <i>Staphylococcus aureus</i>	استفاده از نانوحامل‌ها باعث افزایش پایداری و کارایی شده و CRISPR انتقال کاهش قابل توجه تشکیل بیوفیلیم و حساس‌تر شدن باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها گزارش شده است.
۴	Citorik, R. J., et al. (2014) [۵۹]	CRISPR + فاز (delivery hybrid)	ژن‌های Cas9 bla	مقاوم <i>E. coli</i>	حذف پلاسمیدهای مقاومت و مهار انتقال افقی ژن
۵	Mayorga-Ramos, A., et al. (2023) [۶۰]	نانوحامل‌های مختلف (لیپیدی، پلیمری، فلزی) برای تحویل سیستم‌های ضدباکتری CRISPR	CRISPR-Cas (هدف‌گیری ژن‌های مقاومت مانند mecA و bla)	و باکتری‌های MRSA گرم‌منفی مقاوم	سیستم‌های CRISPR ضدباکتری قادر به حذف انتخابی ژن‌های مقاومت هستند و استفاده از نانوحامل‌ها چالش انتقال را کاهش داده و اختصاصیت درمان را افزایش می‌دهد.
۶	Almufarriji, F. M. (2026) [۶۱]	نانوحامل‌های انتقال CRISPR (lipid/polymeric nanocarriers)	CRISPR-Cas9 (ژن‌های مقاومت چنددارویی)	باکتری‌های فوق‌مقاوم بیمارستانی	نانوحامل‌ها انتقال هدفمند به باکتری‌ها را CRISPR تسهیل کرده و به‌عنوان رویکردی نوین برای درمان عفونت‌های مقاوم و سوپرباگ‌ها معرفی شده‌اند.

جدول ۱- مروری بر مطالعات منتخب اخیر مرتبط با نانوی CRISPR در درمان عفونت‌های باکتریایی مقاوم

۸. بحث

نتایج مطالعات بررسی شده نشان می‌دهد که ترکیب فناوری CRISPR با نانوفناوری می‌تواند رویکردی نوین و هدفمند در درمان عفونت‌های باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک فراهم کند. یکی از مهم‌ترین مزایای این رویکرد، امکان هدف‌گیری اختصاصی ژن‌های مقاومت بدون آسیب گسترده به میکروبیوتای مفید است. این ویژگی در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های سنتی که معمولاً طیف وسیعی از باکتری‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهند، یک مزیت قابل توجه محسوب می‌شود [۶۳، ۶۲]. یافته‌های مطالعه Kang و همکاران نشان داد که استفاده از نانوذرات پلیمری برای انتقال CRISPR می‌تواند ژن‌های مقاومت کلیدی مانند *mecA* را حذف کند و حساسیت باکتری را به درمان‌های رایج بازگرداند [۵۶]. این نتایج با مطالعات دیگر همخوانی دارد که نشان می‌دهد حذف ژن‌های مقاومت در سطح ژنومی می‌تواند اثربخشی آنتی‌بیوتیک‌ها را افزایش دهد. همچنین، مطالعات نشان داده‌اند که نانوذرات لیپیدی و پلیمری قادرند اجزای CRISPR را در برابر تخریب آنزیمی محافظت کرده و انتقال آن‌ها را به باکتری‌ها تسهیل کنند. این ویژگی به‌ویژه در باکتری‌های گرم‌منفی که دارای دیواره سلولی پیچیده هستند، اهمیت زیادی دارد. علاوه بر این، توانایی نانوذرات در نفوذ به بیوفیل‌ها می‌تواند به کاهش پایداری این ساختارها و افزایش دسترسی عوامل درمانی کمک کند [۶۴، ۱۶]. با وجود این مزایا، چالش‌هایی نیز در مسیر کاربرد بالینی این فناوری وجود دارد. از جمله این چالش‌ها می‌توان به مسائل مربوط به ایمنی زیستی، احتمال اثرات خارج از هدف (off-target)، کارایی انتقال در محیط‌های پیچیده زیستی و هزینه‌های تولید اشاره کرد [۷]. همچنین، بسیاری از مطالعات موجود هنوز در مراحل آزمایشگاهی یا پیش‌بالینی هستند و داده‌های بالینی کافی برای ارزیابی اثربخشی و ایمنی این سامانه‌ها در انسان وجود ندارد. با این حال، پیشرفت‌های اخیر در طراحی نانوحامل‌های هوشمند، سیستم‌های پاسخ‌دهنده به محیط و پلتفرم‌های تحویل هدفمند نشان می‌دهد که این چالش‌ها قابل رفع هستند. به نظر می‌رسد که در آینده، ترکیب CRISPR و نانوذرات می‌تواند به عنوان یکی از ابزارهای کلیدی در پزشکی دقیق و درمان عفونت‌های مقاوم مورد استفاده قرار گیرد [۶۵، ۶۶].

۹. نتیجه‌گیری

بر اساس مرور مطالعات انجام‌شده، فناوری CRISPR به‌همراه نانوحامل‌ها به‌عنوان یکی از امیدبخش‌ترین رویکردها در درمان عفونت‌های باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک مطرح شده است. این فناوری با امکان هدف‌گیری اختصاصی ژن‌های مقاومت و حذف انتخابی پاتوژن‌ها، می‌تواند محدودیت‌های درمان‌های سنتی را برطرف کرده و اثربخشی آنتی‌بیوتیک‌ها را افزایش دهد. نانوذرات به عنوان سامانه‌های انتقال، نقش کلیدی در حفاظت از اجزای CRISPR، افزایش پایداری آن‌ها و تسهیل ورود به سلول‌های باکتریایی ایفا می‌کنند. یافته‌های مطالعات اخیر نشان می‌دهد که استفاده از نانوحامل‌های لیپیدی، پلیمری و سامانه‌های هیبریدی می‌تواند کارایی و ویرایش ژنی را افزایش داده و تشکیل بیوفیل‌های مقاوم را کاهش دهد. با وجود پیشرفت‌های قابل توجه، کاربرد بالینی این فناوری هنوز با چالش‌هایی مانند ایمنی، کارایی انتقال و هزینه‌های تولید مواجه است و نیاز به انجام مطالعات پیش‌بالینی و بالینی بیشتر وجود دارد. با این حال، توسعه نانوحامل‌های پیشرفته و بهینه‌سازی سیستم‌های CRISPR می‌تواند در آینده نزدیک راه را برای استفاده از این فناوری در درمان عفونت‌های مقاوم هموار کند. در مجموع، ادغام نانوفناوری و ویرایش ژن می‌تواند افق‌های جدیدی در پزشکی نوین ایجاد کرده و به‌عنوان رویکردی نوآورانه در مقابله با بحران جهانی مقاومت آنتی‌بیوتیکی مورد توجه قرار گیرد.

۱۰. مراجع

1. Bhardwaj, S., et al., *Antibiotics and Antibiotic Resistance- Flipsides of the Same Coin*. Curr Pharm Des, 2022. **28**(28): p. 2312–2329.
2. Piergiacomo, F., L. Brusetti, and L. Pagani, *Understanding the Interplay between Antimicrobial Resistance, Microplastics and Xenobiotic Contaminants: A Leap towards One Health?* Int J Environ Res Public Health, 2022. **20**(1).
3. Almutairy, B., *Extensively and multidrug-resistant bacterial strains: case studies of antibiotics resistance*. Front Microbiol, 2024. **15**: p. 1381511.
4. Falagas, M.E., et al., *Fosfomycin*. Clin Microbiol Rev, 2016. **29**(2): p. 321–47.
5. Chen, B., W. Ke, and M. Li, *A nomogram predicting the risk of postoperative pneumonia after esophagectomy in esophageal carcinoma*. Front Med (Lausanne), 2025. **12**: p. 1553163.
6. Bandhavkar, S., *Cancer stem cells: a metastasizing menace!* Cancer Med, 2016. **5**(4): p. 649–55.
7. Izda, V., M.A. Jeffries, and A.H. Sawalha, *COVID-19: A review of therapeutic strategies and vaccine candidates*. Clin Immunol, 2021. **222**: p. 108634.
8. Hayward, C., et al., *Drinking water plumbing systems are a hot spot for antimicrobial-resistant pathogens*. J Hosp Infect, 2025. **159**: p. 62–70.
9. Kilinc, M., *Antibiotic Resistance and Mortality in ICU Patients: A Retrospective Analysis of First Culture Growth Results*. Antibiotics (Basel), 2025. **14**(3).
10. Okwu, M.U., et al., *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) and anti-MRSA activities of extracts of some medicinal plants: A brief review*. AIMS Microbiol, 2019. **5**(2): p. 117–137.
11. Islam, T., et al., *Antimicrobial Peptides: A Promising Solution to the Rising Threat of Antibiotic Resistance*. Pharmaceutics, 2024. **16**(12).
12. Oladipo, E.K., et al., *Novel antibacterial agents and emerging therapies in the fight against multidrug-resistant Acinetobacter baumannii*. Microb Pathog, 2025. **200**: p. 107361.
13. Mathuria, A., et al., *Advances in CRISPR-Cas systems for human bacterial disease*. Prog Mol Biol Transl Sci, 2024. **208**: p. 19–41.
14. Upreti, C., et al., *CRISPR-Cas inhibits plasmid transfer and immunizes bacteria against antibiotic resistance acquisition in manure*. Appl Environ Microbiol, 2024. **90**(9): p. e0087624.
15. Okesanya, O.J., et al., *Reinvigorating AMR resilience: leveraging CRISPR-Cas technology potentials to combat the 2024 WHO bacterial priority pathogens for enhanced global health security-a systematic review*. Trop Med Health, 2025. **53**(1): p. 43.
16. Vivekanandan, K.E., et al., *Exploring molecular mechanisms of drug resistance in bacteria and progressions in CRISPR/Cas9-based genome expurgation solutions*. Glob Med Genet, 2025. **12**(2): p. 100042.
17. Liu, C., et al., *Delivery strategies of the CRISPR-Cas9 gene-editing system for therapeutic applications*. J Control Release, 2017. **266**: p. 17–26.
18. Dara, M., et al., *Integrating CRISPR technology with exosomes: Revolutionizing gene delivery systems*. Biochem Biophys Res Commun, 2024. **740**: p. 151002.

19. Wu, F., et al., *Lipid Nanoparticles for Delivery of CRISPR Gene Editing Components*. Small Methods, 2026. **10**(2): p. e2401632.
20. de la Fuente Tagarro, C., et al., *Current Knowledge on CRISPR Strategies Against Antimicrobial-Resistant Bacteria*. Antibiotics (Basel), 2024. **13**(12).
21. Godbole, N., et al., *Extracellular vesicles as a potential delivery platform for CRISPR-Cas based therapy in epithelial ovarian cancer*. Semin Cancer Biol, 2023. **96**: p. 64–81.
22. Mayorga-Ramos, A., et al., *CRISPR-Cas-Based Antimicrobials: Design, Challenges, and Bacterial Mechanisms of Resistance*. ACS Infect Dis, 2023. **9**(7): p. 1283–1302.
23. Siahkhouhian, M., et al., *A Review of the Impact of Genetic and Epigenetic Interactions on Metabolic Regulation and the Nutritional Requirements of Elite Athletes: Molecular Mechanisms and Performance Implications*. Journal of Applied Exercise Physiology, 2025. **20**(40): p. 81–96.
24. Saffari Natanzi, A., et al., *Innovative approaches to combat antibiotic resistance: integrating CRISPR/Cas9 and nanoparticles against biofilm-driven infections*. BMC Med, 2025. **23**(1): p. 486.
25. Liu, Y., et al., *Advances of smart nano-drug delivery systems in osteosarcoma treatment*. J Mater Chem B, 2021. **9**(27): p. 5439–5450.
26. Naeem, M., et al., *Stimulus-Responsive Smart Nanoparticles-Based CRISPR-Cas Delivery for Therapeutic Genome Editing*. Int J Mol Sci, 2021. **22**(20).
27. Ruiz-Garbajosa, P. and R. Canton, *Epidemiology of antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa. Implications for empiric and definitive therapy*. Rev Esp Quimioter, 2017. **30 Suppl 1**: p. 8–12.
28. Tahmasebi, H., et al., *From Cure to Crisis: Understanding the Evolution of Antibiotic-Resistant Bacteria in Human Microbiota*. Biomolecules, 2025. **15**(1).
29. Sohail, M. and Z. Latif, *Molecular analysis, biofilm formation, and susceptibility of methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains causing community- and health care-associated infections in central venous catheters*. Rev Soc Bras Med Trop, 2018. **51**(5): p. 603–609.
30. Yang, J., et al., *Identification and Validation of a Novel Antibacterial Compound MZ-01 against Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*. Antibiotics (Basel), 2022. **11**(11).
31. Dias, V.C., et al., *Epidemiological, Physiological, and Molecular Characteristics of a Brazilian Collection of Carbapenem-Resistant Acinetobacter baumannii and Pseudomonas aeruginosa*. Microb Drug Resist, 2017. **23**(7): p. 852–863.
32. Vahhabi, A., et al., *A plethora of carbapenem resistance in Acinetobacter baumannii: no end to a long insidious genetic journey*. J Chemother, 2021. **33**(3): p. 137–155.
33. Rai, M., et al., *Nanotechnology based anti-infectives to fight microbial intrusions*. J Appl Microbiol, 2016. **120**(3): p. 527–42.
34. Zhu, X., et al., *Antibiotic resistance and nanotechnology: A narrative review*. Microb Pathog, 2024. **193**: p. 106741.
35. Abdolmaleki, A., et al., *CRISPR System and Its Applications in Medicine and Stem Cell Engineering*. 2024.

36. Ansori, A.N., et al., *Application of CRISPR-Cas9 genome editing technology in various fields: A review*. Narra J, 2023. **3**(2): p. e184.
37. Liang, Z., Y. Zong, and C. Gao, *An Efficient Targeted Mutagenesis System Using CRISPR/Cas in Monocotyledons*. Curr Protoc Plant Biol, 2016. **1**(2): p. 329–344.
38. Murjani, K., R. Tripathi, and V. Singh, *An overview and potential of CRISPR-Cas systems for genome editing*. Prog Mol Biol Transl Sci, 2024. **208**: p. 1–17.
39. Ahmed, M.M., et al., *CRISPR-Cas Systems in the Fight Against Antimicrobial Resistance: Current Status, Potentials, and Future Directions*. Infect Drug Resist, 2024. **17**: p. 5229–5245.
40. Xu, L., et al., *Eliminating the tigecycline resistance RND efflux pump gene cluster tmexCD-toprJ in bacteria using CRISPR/Cas9*. Int J Antimicrob Agents, 2025. **65**(1): p. 107390.
41. Ates, A., C. Tastan, and S. Ermertcan, *CRISPR-Cas9-Mediated Targeting of Multidrug Resistance Genes in Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*. Crispr j, 2024. **7**(6): p. 374–384.
42. Li, J., et al., *Cinnamaldehyde targets SarA to enhance beta-lactam antibiotic activity against methicillin-resistant Staphylococcus aureus*. mLife, 2024. **3**(2): p. 291–306.
43. Rabiee, N. and M. Rabiee, *Engineered Metal-Organic Frameworks for Targeted CRISPR/Cas9 Gene Editing*. ACS Pharmacol Transl Sci, 2025. **8**(4): p. 1028–1049.
44. Zhang, R., et al., *Advancements in CRISPR-Cas-based strategies for combating antimicrobial resistance*. Microbiol Res, 2025. **298**: p. 128232.
45. Breaker, R.R., et al., *Evidence that OLE RNA is a component of a major stress-responsive ribonucleoprotein particle in extremophilic bacteria*. Mol Microbiol, 2023. **120**(3): p. 324–340.
46. Vergalli, J., et al., *Porins and small-molecule translocation across the outer membrane of Gram-negative bacteria*. Nat Rev Microbiol, 2020. **18**(3): p. 164–176.
47. Chang, J., et al., *Integrating Combinatorial Lipid Nanoparticle and Chemically Modified Protein for Intracellular Delivery and Genome Editing*. Acc Chem Res, 2019. **52**(3): p. 665–675.
48. Yamada, A., et al., *Tri-membrane nanoparticles produced by combining liposome fusion and a novel patchwork of bicelles to overcome endosomal and nuclear membrane barriers to cargo delivery*. Biomater Sci, 2016. **4**(3): p. 439–47.
49. Rauf, M.A., et al., *Nanotechnology-Based Delivery of CRISPR/Cas9 for Cancer Treatment: A Comprehensive Review*. Cells, 2025. **14**(15).
50. Sharma, B., et al., *Nanoparticle Carriers: A New Era of Precise CRISPR/Cas9 Gene Editing*. Microna, 2025. **14**(2): p. 101–111.
51. Wan, F., et al., *Novel Strategy to Combat Antibiotic Resistance: A Sight into the Combination of CRISPR/Cas9 and Nanoparticles*. Pharmaceuticals, 2021. **13**(3).
52. Bharathi, D. and J. Lee, *Recent Trends in Bioinspired Metal Nanoparticles for Targeting Drug-Resistant Biofilms*. Pharmaceuticals (Basel), 2025. **18**(7).
53. Wang, Y., et al., *CRISPR-Cas in Acinetobacter baumannii Contributes to Antibiotic Susceptibility by Targeting Endogenous AbaI*. Microbiol Spectr, 2022. **10**(4): p. e0082922.

54. Gupta, A., et al., *Functionalized Polymers Enhance Permeability of Antibiotics in Gram-negative MDR Bacteria and Biofilms for Synergistic Antimicrobial Therapy*. Adv Ther (Weinh), 2020. **3**(7).
55. Hetta, H.F., et al., *Nanotechnology as a Promising Approach to Combat Multidrug Resistant Bacteria: A Comprehensive Review and Future Perspectives*. Biomedicines, 2023. **11**(2).
56. Kang, Y.K., et al., *Nonviral genome editing based on a polymer-derivatized CRISPR nanocomplex for targeting bacterial pathogens and antibiotic resistance*. Bioconjugate chemistry, 2017. **28**(4): p. 957–967.
57. Park, J.E. and D.H. Kim, *Advanced immunomodulatory biomaterials for therapeutic applications*. Advanced healthcare materials, 2025. **14**(5): p. 2304496.
58. Saffari Natanzi, A., et al., *Innovative approaches to combat antibiotic resistance: integrating CRISPR/Cas9 and nanoparticles against biofilm-driven infections*. BMC medicine, 2025. **23**(1): p. 486.
59. Citorik, R.J., M. Mimee, and T.K. Lu, *Sequence-specific antimicrobials using efficiently delivered RNA-guided nucleases*. Nature biotechnology, 2014. **32**(11): p. 1141–1145.
60. Mayorga-Ramos, A., et al., *CRISPR-Cas-based antimicrobials: design, challenges, and bacterial mechanisms of resistance*. ACS infectious diseases, 2023. **9**(7): p. 1283–1302.
61. Almufarriji, F.M., *Nanocarrier-mediated CRISPR-Cas delivery: a novel approach against antibiotic-resistant superbugs*. Saudi Pharmaceutical Journal, 2026. **34**(1): p. 5.
62. Ashwath, P. and A.D. Sannejal, *A Quest to the Therapeutic Arsenal: Novel Strategies to Combat Multidrug-resistant Bacteria*. Curr Gene Ther, 2022. **22**(2): p. 79–88.
63. Vikal, A., et al., *Nano Revolution: Harnessing Nanoparticles to Combat Antibiotic-resistant Bacterial Infections*. Curr Pharm Des, 2025. **31**(7): p. 498–506.
64. Imran, M., et al., *Overcoming Multidrug Resistance of Antibiotics via Nanodelivery Systems*. Pharmaceutics, 2022. **14**(3).
65. Hao, J., et al., *Smart Nanoarchitectures for Precision RNA Delivery: Harnessing Endogenous and Exogenous Stimuli in Cancer Treatment*. Theranostics, 2025. **15**(15): p. 7747–7778.
66. Park, S., et al., *Nanoparticle-Based Delivery Strategies for Combating Drug Resistance in Cancer Therapeutics*. Cancers (Basel), 2025. **17**(16).