

## پژوهش‌های زیستی و مشکلات در زیوه (مبحثی از فلسفه بیوشیمی)

دکتر مهدی هدایتی، ظاهره ابراهیمی

مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، مرکز تحقیقات پیشگیری و درمان چاقی، پژوهشکده‌ی علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران، نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول: تهران، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی غدد درون‌ریز، پژوهشکده‌ی علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دکتر مهدی هدایتی؛  
e-mail: Hedayati@endocrine.ac.ir

### چکیده

**مقدمه:** در دنیای امروز از یک سو توسعه‌ی علمی، افکار فلسفی را و از سوی دیگر اندیشه‌های فلسفی، گسترش و پیشرفت علمی را تحت تاثیر قرار می‌دهند. این نوشتار بر نیاز بررسی چالش‌های روش‌شناسی بیوشیمی و سردسته‌ی آن‌ها اشکالات مربوط به ارتباط تجربه‌های در زیوه (*in vitro*) و در زنده (*in vivo*) متمرکز شده است. موضوع بحث حاضر این است که چگونه تجزیه و تحلیل نظری می‌تواند فراتر از یک درک ساده‌ی علمی، موفقیت یا شکست‌های علمی را در پی داشته باشد؟ به منظور روشن شدن موضوع نمونه‌های متعددی ارائه شده است. در طی بحث به دینامیک بودن تعریف در زنده - در زیوه پرداخته شده و به موضوع اثر مصنوعی (*artifact*) به عنوان یکی از مشکلات مطالعه در زیوه اشاره شده است. همچنین، عدم ضرورت ساخت و مطرح نمودن اصطلاحاتی مانند برون زنده (*Ex Vivo*) مطرح می‌گردد می‌شود.

دریافت مقاله: ۹۲/۹/۲۴ - دریافت اصلاحیه: ۹۲/۱۰/۱۵ - پذیرش مقاله: ۹۲/۱۰/۱۵

### مقدمه

یکی از ویژگی‌های اواخر قرن بیستم، تمایز و تخصصی شدن حوزه‌های مختلف علم و فلسفه می‌باشد. به نظر می‌رسد اندیشه‌های فلسفی و کاربردهای علمی ارتباط نزدیک و موثقی با یکدیگر پیدا کرده‌اند. آموزه‌های استیفان تاهیم (۱۹۵۳)، توماس کوهن (۱۹۷۰) و نیز لن هکینگ (۱۹۸۳) امروزه پذیرفته شده‌اند. چنانچه فلسفه‌ی علم جزییات عملی علم را مد نظر قرار ندهد، ارزش چندانی ندارد. مطالعه‌ی حاضر نوعی فلسفه‌ی کاربردی و مفید برای علم بیوشیمی را مطرح می‌نماید. امید است تمام دانشمندان و دانشجویانی که به نوعی با پژوهش‌های بیوشیمی در ارتباط هستند و دیدگاهی متفاوت با این نظریه دارند، به مقاله‌ی حاضر به

عنوان یک متازیست کیمیا<sup>۱</sup> و یا روش‌شناسی نظری بیوشیمی بنگرند. علم، عرصه‌ی تصمیم‌گیری و عمل جدی برای مداخله است، نه فقط ابزاری به منظور تولید نظری دانش. علم باید پس از یک قرن توصیف مبتنی بر نظر، این بار در قالب اجرایی و عملی بر اساس اهمیت آزمایش‌ها، دستگاه‌ها و فن‌آوری‌ها تعریف گردد. این تغییر به سادگی اتفاق نخواهد افتاد و اطمینانی نیست که طرح این موضوع بتواند مانع استفاده‌ی متعصبانه و جانب‌گیرانه‌ی توصیفات قبلی علم شود. بنابراین، نقش مفید فلسفه‌ی بیوشیمی بیشتر در قالب تفسیر، و نه شرح و توصیف بیوشیمی کاربردی درک خواهد شد. دیدگاهی به حق و مشروع خواهد بود که بیوشیمی

کاربردی به تفسیر پرسش‌های مهم و تصمیم‌گیری‌های کاربردی بپردازد. امروزه در بیوشیمی موضوع‌های بحث‌برانگیزی مانند گونه‌های تراریخته‌ی گیاهی، حیوانی و گسترش فن‌آوری دستکاری‌های ژنتیکی در جنبه‌های مختلف زندگی انسان به طور جدی مطرح می‌باشد. به هر حال موضوع و عنوان این مقاله، «وجود» این گونه پرسش‌های درونی و تخصصی است که در فلسفه‌ی علم مورد غفلت واقع شده، بنابراین به صورت بالقوه در فلسفه‌ی بیوشیمی دارای اهمیت بوده و مطرح می‌باشد. البته از آنجا که برخی مشکلات داخلی بیوشیمی مانند معضل تقلیل‌گرایی<sup>۱</sup> توسط فیلسوفان علم نیز مطرح شده، بنابراین این موضوع دوباره در اینجا تکرار نخواهد شد. در عوض به معضلاتی مانند اشکالات مربوط به داده‌های زیستی به دست آمده از پژوهش‌های در زیوه و در زنده پرداخته خواهد شد. همچنین، تلاش گردیده علاوه بر بیان مشکلات، راهکارهای مطرح در پژوهش‌های بیوشیمی نیز مطرح گردد. در ضمن استدلال‌های موجود پیرامون لزوم رویکردی نظری بر روش‌شناسی بیوشیمی نیز ارایه خواهد شد. البته بحث، به پژوهش‌های در زیوه<sup>۲</sup> و در زنده<sup>۳</sup> منحصر شده و به سایر مشکلات موجود در زمینه‌ی پژوهش بیوشیمی، پرداخته نخواهد شد.<sup>۱-۳</sup>

مشکل در زیوه - در زنده

فرهنگ لغت بریتانیکا، بیوشیمی را حیطه‌ای از علم تعریف می‌کند که با مواد شیمیایی و واکنش آن‌ها در گیاهان، حیوانات و میکروارگانیسم‌ها "سرورکار" دارد. به طور قطع واژه‌ی "سرورکارداستن" با دقت انتخاب شده است. بنابراین اشتباه است که بگوییم یک بیوشیمیدان این مواد و واکنش‌ها را توصیف، مطالعه یا مشاهده می‌کند. به طور معمول تجزیه و تحلیل یک واکنش شیمیایی در یک جاندار دست نخورده<sup>۴</sup> غیر ممکن است. تجزیه و تحلیل‌های بیوشیمیایی به طور معمول با فرآیند تخریب موجود زنده و جداسازی بخش مورد علاقه برای مطالعه، همراه است. به عبارتی بیشتر شواهد بیوشیمیایی به دست آمده از محیط در زیوه تحت شرایط تجربی مصنوعی صورت گرفته است. گاهی اوقات داده‌های در زیوه، نتیجه‌ی نهایی یک فرآیند بیوشیمیایی را دنبال می‌نماید. به عنوان نمونه مطالعه‌ی آنزیم‌های تخریب‌گر، در نهایت در فرآورده‌های پاک‌کننده‌ی خانگی ظاهر می‌شوند.

i - Reductionism

ii - In vitro

iii - In vivo

iv - intact

در حالی‌که دغدغه‌ی اصلی بیوشیمیدانان کسب دانش شیمی در موجود زنده می‌باشد. از دیدگاه نظری، ما به یک سیستم زنده‌ی کامل برای مطالعه نیاز داریم که از نظر تجربی در دسترس نیست، و به صورت تجربی به سیستم‌های زیوه دسترسی داریم که از دیدگاه نظری مطلوب نیست. مشکل اصلی مطالعه‌ی در زیوه این است که بیانات توجیهی و متقاعد کننده در رابطه با سیستم زنده را بر مبنای شواهد به دست آمده از سیستم در زیوه تعریف می‌نماید. کاربرد اصطلاح *in vivo* و *in vitro* مفهومی دینامیک بوده و به موضوع پروژه‌ی خاص تحقیقاتی مربوط می‌شود. در یک پژوهش، مطالعه‌ی کبد موش آزمایشگاهی را مطالعه‌ی در زنده نام برده‌اند و مطالعه‌ی روی سلول‌های همان کبد در محیط کشت را مطالعه‌ی در زیوه در نظر گرفته‌اند. در بررسی دیگری سلول‌های کبدی در محیط کشت مطالعه‌ی در زنده، و بررسی روی هوموژنیت همان سلول‌ها مطالعه‌ی در زیوه عنوان شده است. شرایط در زیوه و در زنده باید به عنوان مفاهیم عملکردی و مرتبط با هم به کار روند. به این ترتیب، استفاده از آن‌ها در موارد خاص و ویژه آسان و قابل درک می‌باشد. سیستم در زنده در نردبان سلسله‌ی مراتب زیستی (ارگانیسم، ارگان، بافت، سلول، اندامک، کمپلکس پروتئینی، پروتئین و زیرواحدها) در درجه‌های بالاتری نسبت به سیستم در زیوه جای می‌گیرد. در مواردی، ممکن است این سلسله مراتب ارتباط کمتری با یکدیگر داشته و چندان مطرح نباشد. به عنوان نمونه، کل سلول می‌تواند در زنده تلقی شود و اجزای سلول مانند اندامک‌های آن یا حتی اجزای مولکولی آن، در زیوه نامیده شوند. از طرفی، هر قدر شرایط مصنوعی‌تری حین مطالعه وجود داشته باشد، مطالعه‌ی در زیوه خواهد بود. به عنوان نمونه، مطالعه‌ی کریستال پروتئین در زیوه و مطالعه‌ی محلول بافری پروتئین در زنده خواهد بود.

در آزمون روانشناسی، مسئله‌ی اصلی صحت و اعتبار پیش‌بینی می‌باشد. در برخی از بخش‌های علوم اجتماعی، سعی می‌گردد آنچه که افراد طی مصاحبه‌ها یا هنگام پرسش‌نامه‌ها بیان می‌کنند به عنوان ترجیحات حقیقی آن‌ها، تعبیر و تفسیر شود. دیرینه‌شناسان و باستان‌شناسان فکر می‌کنند که می‌توانند مطالبی پیرامون گذشته را علاوه بر مبنای کاوش‌های خود بیاموزند. حتی گالیه ادعا نمود دانش خود در مورد سقوط اجسام را از مشاهده‌ی غلطیدن توپ در سرایشی اقتباس نموده است. این جنبه از علم به طور طبیعی

شده است. در اصل اثر مصنوعی، واکنشی است که در جاندار اتفاق نمی‌افتد اما در زیوه مشاهده می‌شود.<sup>۴</sup>

اینکه ابتدا یک بررسی پرسش‌نامه‌ای از یک نمونه انجام داده و سپس پرسیم که یافته‌های به دست آمده ممکن است چه معنایی داشته باشد، همیشه ممکن و میسر است، اگرچه به طور کامل عاقلانه نیست. در بیوشیمی به این سادگی نیست، به ویژه زمانی که مطالعه روی عملکرد زیستی درشت‌مولکول‌ها صورت می‌گیرد، می‌توان گفت که مسئله‌ی در زیوه - در زنده نقش بسیار مهمی را ایفا می‌نماید: مطالعه‌ی بیوشیمیایی فرآیندها بدون طراحی دقیق شرایط آزمایشگاهی، به طوری که برخی از فعالیت‌های زیستی اصلی و طبیعی مولکول‌های تحت مطالعه حفظ شود، بی‌معنی است. بر این اساس، بیوشیمی‌دانان به طور کلی باید روش شناسان باهوش و خوبی باشند. در بسیاری از موارد، مطالعات مشاهده‌ای در جاندار، فرضیه‌های ویژه‌ای را سبب می‌شود که می‌تواند در سیستم‌های مدل در زیوه مورد آزمایش قرار گیرد. از آن هنگام که مشخص گردید یک مدل در زیوه ممکن است بهترین دیدگاه علمی باشد، پرسش عملی و کاربردی این است که کدام مدل زیوه برای آزمون فرضیه‌ی ارابه شده بهترین گزینه خواهد بود. چنانچه بخواهیم کمی غیرمنصفانه بیان کنیم، بیوشیمی‌دان‌ها با امید هرچه بیشتر، مشغول ساختن سیستم‌های در زیوه مرتبط با زیست‌شناسی هستند؛ بیشتر بدون توضیح این که این سیستم‌های آزمایشگاهی و تجربی مرتبط چگونه هستند، و یا چگونه با چنین پرسش‌های مرتبطی باید برخورد گردد.<sup>۵</sup>

به احتمال زیاد، دلیل این امر این است که چنین پرسش‌ها و مسائلی، پیش پا افتاده در نظر گرفته شده است. بیوشیمی‌دان‌ها، تصور کرده‌اند که تنها و فقط یک راه برای برخورد با پرسش مربوطه وجود دارد و آن قضاوت در زمان موفقیت، یعنی زمان موفقیت‌آمیز بدون آزمایش است. هم‌چنین، آن‌ها تنها یک روش را دارای ارتباط نزدیک با سیستم‌های در زیوه می‌دانند و آن روش، طبقه‌بندی و تعیین ویژگی‌ها، به دست گرفتن کنترل و وارد کردن ترکیبات مولکولی به طور افزایشی به محیط زنده است، تا به سادگی در زمان مطلوب با افزودن یک فاکتور «عامل مورد نظر و دلخواه» اثر آن را بررسی نمایند.

چنانچه بخواهیم درک دقیقی از رفتار یک سیستم پیچیده مانند یک اندامک سلولی مانند میتوکندری، یک سلول و یا یک ارگانسیم کامل به دست آوریم، ابتدا بایستی ویژگی‌های آن

و غیر قابل بحث می‌باشد، اما موضوعی که بیوشیمی را تا حدی متمایز می‌سازد، مرکزیت خاص و ویژه‌ی مسئله‌ی *in vivo- in vitro* به دلایل زیر می‌باشد:

۱. بیوشیمی‌دان‌ها تمایل به شناسایی و شناخت مولکول‌های زیستی، مانند مولکول‌های موجود در ارگانسیم‌های زنده دارند. لیکن، به لحاظ ترمودینامیکی تعداد بی‌شماری از مولکول‌های زیستی ناپایدار بوده و بیشتر طی جداسازی متلاشی و تجزیه می‌شوند. به عنوان نمونه برخی مولکول‌ها درون سیستم جاندار به وسیله‌ی پروتئین‌های ویژه پایدار می‌شوند، اما با تخریب سلول، آنزیم‌های مخرب سبب تجزیه‌ی سریع مولکول‌های یاد شده می‌گردند. از سوی دیگر، تعیین ساختار سه بعدی مولکول‌هایی از قبیل پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و پلی‌ساکاریدها مورد نیاز است، اما این امر امکان‌پذیر نیست، زیرا ساختار فضایی درشت مولکول‌ها با پیوندهای ضعیف درون مولکولی و بین مولکولی مانند نیروهای واندروالس و پیوند هیدروژنی تعیین می‌شود. بنابراین به احتمال زیاد ساختار درون جاندار این مولکول‌ها متفاوت از ساختار تعیین شده در مطالعات در زیوه می‌باشد.
۲. بیوشیمی‌دان‌ها به مطالعه‌ی فرآیندهای شیمیایی درون موجود زنده و عملکرد مولکول‌های زیستی تمایل دارند. متأسفانه جز در موارد معدودی، این امر امکان‌پذیر نیست و مطالعه‌ی درون لوله‌ی آزمایش روی مولکول‌ها، اندامک‌ها و یا سلول‌های مجزا در محیط‌های بافری مصنوعی اجرا می‌شود. شرایط تجربی همیشه در کشمکش ارتباط زیستی و قطعیت تقلیل‌گرایی قرار دارد. اگر شرایط در زیوه بسیار شبیه شرایط درون جاندار باشد، به احتمال زیاد ارابه‌ی تفسیری منفرد بسیار پیچیده است و ما را یاد ضرب‌المثل معروف بیوشیمیایی می‌اندازد که: افکار پاک را با آنزیم‌های آلوده هدر ندهید. از سوی دیگر اگر محیط‌های در زیوه خیلی ساده باشند، احتمال دارد درشت مولکول‌ها واکنشی ندهند و پدیده‌ای اتفاق نیافتد. وضعیت بدتر این است که احتمال دارد مولکول‌های یاد شده عملکردی متفاوت از آنچه در جاندار دارند، از خود بروز دهند. استفاده از واژه‌ی اثر مصنوعی<sup>۱</sup> جزیی از مباحث تمام مقاله‌های بیوشیمی

نه؟ به عبارتی شناخت و عقاید اولیه‌ی ما در انتخاب مسیر و کسب موفقیت موثر هستند یا خیر؟

برخی پژوهش‌گران، موضوعات را با اصطلاحاتی مانند *ex vivo* یا *in situ* پیچیده و دشوار می‌سازند. با اصرار ورزیدن بر ویژگی دینامیکی مفاهیم در زیوه/ در زنده، می‌توان از مباحث غیر ضروری مانند اینکه FISH<sup>۱</sup> یک روش در زیوه است یا در زنده، اجتناب نمود. چنانچه پژوهش‌گر تصور نماید راهکارهای فیزیکی و شیمیایی دخیل در عملیات FISH ممکن است خطر مصنوعی شدن شرایط را اعمال نماید، FISH فقط در این شرایط، روشی در زیوه تلقی می‌گردد.<sup>۶،۷</sup>

به طور خلاصه مطالعه در درون جاندار بدون دستکاری، مطلوب نظری است، اما مطالعه‌ی تجربی روی سیستم‌های دستکاری شده و محدود در دسترس می‌باشند. مفاهیم مطالعات در زنده - در زیوه مفاهیمی دینامیک بوده و به دیده‌ی استاتیک نباید به آن‌ها نگریست. از خلق واژه‌های غیرضروری مانند خارج زنده (*ex vivo*) باید پرهیز نمود که به جای رفع مشکل فزاینده‌ی آن هستند، همچنین هرگز در مطالعات در زیوه اثر مصنوعی را نباید از نظر دور داشت.

را تا حد امکان به عنوان یک سیستم ساده درک نمایم. در بسیاری از موارد، این سیستم ساده شامل آنزیم‌های محلول در محیط‌های بافری ساده، حاوی یون‌های کوچک، مولکول‌های بافر، کوفاکتورها و غیره خواهد بود. پژوهش‌های دقیق‌تر تنها زمانی میسر است که قادر به خالص‌سازی آنزیم‌ها باشیم تا سایر آنزیم‌ها و درشت‌مولکول‌ها حذف شوند.

به هرحال این موضوع، تمام داستان نیست. قضاوت تنها با توجه به موفقیت نهایی غیرممکن است؛ زیرا پرسش‌های مرتبط با بیولوژی بایستی بر مبنای پیشرفت پژوهش‌های بیوشیمی، مطرح و انتخاب گردد؛ درست مانند کاربرد دانش بیوشیمی، البته همواره به طور موقت و گذرا. بنابراین، پژوهش‌گر بیشتر مجبور به تصمیم‌گیری است که کدام مسیر برای ادامه‌ی پیش‌بینی‌های مربوط به آزمایش‌ها و تجربه‌های پیشین، بایستی دنبال شود؟ به عنوان پرسش عمومی مبنی بر این که آیا بیوشیمیدانان به طور قطع اثبات کرده‌اند که برخی ترکیبات شیمیایی، سرطان‌زا نیستند؟ این امر به شایستگی بیان نشده که آیا موفقیت عملی، همزمان و همسو با واقعیت و یا هدف‌های شناختی و معرفتی ترجیحی هست یا

#### i- Fluorescenc In Situ Hybridization

## References

1. Kuhn TS. The Structure of Scientific Revolutions, 2nd edition. University of Chicago Press, Chicago, IL; 1970.
2. Toulmin S. The Philosophy of Science: An Introduction, Hutchinson University Library, London; 1953.
3. Hacking L. Representing and Intervening: Introductory Topics in the Philosophy of Natural Science, Cambridge University Press, Cambridge; 1983.
4. Strand R, Fjelland R, Flatmark T. In vivo interpretation of in vitro effect studies with a detailed analysis of the method of in vitro transcription in isolated cell nuclei. *Acta Biotheor* 1996; 44: 1-21.
5. Tyson CA, Frazier JM. Methods in Toxicology. In *Vitro Biological Systems*. Academic Press, London; 1993.
6. Hirschelmann R. Mode of action of anti inflammatory agents: the problem of data interpretation after Experiments *In vivo/Ex Vivo*, in situ and *In Vitro*. *Naunyn-Schiederberg's Archives of Pharmacology* 1991; 344 Suppl 2: S110.
7. Roger Strand. Towards a Useful Philosophy of Biochemistry: Sketches and Examples. *Foundations of Chemistry* 1999; 1: 271-94.