



Nanobacteria: Living Microorganisms or Non-living Calcifying Nanoparticles?

Masoumeh Nezhadali^{1*}, Faezeh Ahmadi¹, Aida Bakhshi¹

¹ Department of Biology, Isl.C., Islamic Azad University, Islamshahr, Iran

Received Date:2026.01.24 Accepted Date:2026.05.20

Abstract

Nanobacteria, also known as calcifying nanoparticles (CNPs), were introduced in the late twentieth century as putative self-replicating entities and possible contributors to pathological calcification processes. These particles have been reported in association with several pathological conditions, including kidney stones, atherosclerotic plaques, dental calculus, and tumor-related calcifications. Early studies attributed life-like or pseudo-biological properties to these structures; however, accumulating physicochemical, molecular, and proteomic evidence has increasingly supported their non-biological nature. Current findings indicate that these particles lack nucleic acids and independent reproductive capacity and are mainly composed of protein–mineral complexes, particularly involving albumin and calcium-containing minerals. Relevant studies published up to 2024 were retrieved from PubMed, Google Scholar, Scopus, and Web of Science using keywords related to nanobacteria and calcifying nanoparticles (CNPs). This narrative aims to examine the historical background of nanobacteria, evaluate the evidence supporting and opposing their living nature, review current identification methods, and discuss their potential roles in human diseases associated with pathological calcification.

Keywords: Nanobacteria; Calcifying nanoparticles; Pathological calcification; Kidney stones; atherosclerosis

* Masoumeh.Nezhadali@iau.ac.ir

EXTENDED ABSTRACT

Introduction

Calcified nanostructures were initially observed in deposits from hot springs in Italy and certain sedimentary rocks, suggesting that these particles might play a role in carbonate mineral precipitation processes. Subsequently, Kajander and colleagues observed similar structures in commercial cell culture media and fetal bovine serum and referred to them as “nanobacteria.” In early studies, these structures were introduced as a novel form of life and were proposed to be involved in the development of a wide range of human diseases, including atherosclerosis, kidney stones, periodontal diseases, and certain malignancies. This extended narrative review aims to summarize the historical background of nanobacteria, critically examine the evidence supporting and opposing their living nature, and discuss their potential pathophysiological roles.

Evidence supporting and opposing the hypothesis of the “Living” nature of nanobacteria

With the advancement of research, it became evident that these structures do not possess the classical characteristics of living organisms. Subsequent investigations demonstrated that these particles are non-biological protein–mineral complexes composed primarily of hydroxyapatite, which are now referred to as calcifying nanoparticles (CNPs). Nevertheless, in the early years, certain features including their spherical or ovoid morphology, morphological resemblance to bacteria in electron microscopy images, and reports of apparent budding and replication were interpreted as evidence supporting the hypothesis that nanobacteria are living entities. In addition, the reported sensitivity of these structures to certain chemotherapeutic agents and chemical compounds was also considered indicative of biological activity. In contrast, extensive studies employing enzymatic, molecular, and spectroscopic approaches have provided compelling evidence against the living nature of nanobacteria. These investigations revealed the absence of detectable DNA or RNA within these structures. Treatment of CNPs with DNase I and RNase resulted in no structural changes, whereas exposure to proteinase K led to complete degradation of the particles. This enzymatic response pattern is inconsistent with that of living cells, which typically possess a protective cellular membrane and safeguarded genetic material, and is instead more consistent with non-living, protein-coated inorganic nanoparticles. Collectively, these findings indicate that these particles lack genetic components and support their classification as non-living structures.

Pathophysiological roles of nanobacteria

Recent evidence suggests that, from a pathophysiological perspective, calcifying nanoparticles do not function as active initiators of calcification processes under in vivo conditions. Pathological or ectopic calcification typically occurs in tissues that have already experienced disturbances in mineral homeostasis. Within this framework, the role of CNPs appears to be secondary and dependent on environments predisposed to calcification. For instance, in atherosclerosis, a chronic and progressive disease, particles with characteristics similar to CNPs have been identified within atherosclerotic plaques. However, available evidence indicates that these particles are not primary triggers of plaque formation but rather accumulate at later stages of the disease and may contribute to plaque hardening and stabilization. Similarly, the presence of calcified nanoscale structures has been reported in patients with kidney stones; however, to date, no convincing evidence has been provided to support an independent role for CNPs in the initiation of kidney stone formation. Furthermore, investigations examining the association between these particles and cancer have generally failed to demonstrate a direct carcinogenic role for CNPs.

Identification methods and interpretative challenges

To identify and characterize these structures, various imaging and analytical techniques have been employed, including scanning electron microscopy (SEM), transmission electron microscopy (TEM), energy-dispersive X-ray analysis (EDS), SDS–PAGE electrophoresis, and proteomic analyses. While these approaches provide valuable information regarding morphology, elemental composition, and protein content, misinterpretation of imaging findings and contamination-related artifacts remain important challenges in accurately identifying calcifying nanoparticles.

Conclusion

Overall, the available evidence indicates that nanobacteria are most likely not living organisms but rather calcifying nanoparticles formed through protein-mediated biomineralization processes. Nevertheless, under specific pathological conditions, their potential role as secondary contributors to the progression of calcification-related diseases should not be overlooked.

.



نانوباکتری‌ها: ارگانسیم‌های زنده یا نانوذرات کلسیفیه‌کننده غیرزنده؟

معصومه نژادعلی^{۱*}، فائزه احمدی^۱، آیدا بخشی^۱

^۱گروه زیست شناسی، واحد اسلامشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اسلامشهر، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱۱/۰۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۲/۳۰

چکیده

نانوباکتری‌ها که با عنوان نانوذرات کلسیفیه‌کننده (CNPs) نیز شناخته می‌شوند، در اواخر قرن بیستم به‌عنوان ساختارهایی با قابلیت احتمالی خودتکثیری و عوامل بالقوه مؤثر در فرآیندهای کلسیفیکاسیون پاتولوژیک معرفی شدند. این ذرات در ارتباط با چندین وضعیت پاتولوژیک از جمله سنگ‌های کلیوی، پلاک‌های آترواسکلروتیک، جرم دندانی و کلسیفیکاسیون‌های مرتبط با تومورها گزارش شده‌اند. مطالعات اولیه ویژگی‌های شبه‌زیستی یا مشابه حیات را به این ساختارها نسبت می‌دادند؛ با این حال، شواهد فزاینده فیزیکوشیمیایی، مولکولی و پروتئومیکی به‌طور فزاینده‌ای از ماهیت غیرزیستی آن‌ها حمایت کرده است. یافته‌های کنونی نشان می‌دهد که این ذرات فاقد اسیدهای نوکلئیک و توانایی تکثیر مستقل بوده و عمدتاً از کمپلکس‌های پروتئین-معدنی، به‌ویژه شامل آلومین و ترکیبات معدنی حاوی کلسیم، تشکیل شده‌اند. مقالات مرتبط منتشر شده تا سال ۲۰۲۴ با استفاده از کلیدواژه‌های مرتبط با نانوباکتری‌ها و نانوذرات کلسیفیه‌کننده (CNPs) از پایگاه‌های Web of Science، Scopus، Google Scholar، PubMed استخراج شدند. این مقاله با هدف بررسی پیشینه تاریخی نانوباکتری‌ها، ارزیابی شواهد موافق و مخالف درباره ماهیت زنده آن‌ها، مرور روش‌های شناسایی و بررسی نقش‌های احتمالی آن‌ها در بیماری‌های انسانی مرتبط با کلسیفیکاسیون پاتولوژیک نوشته شده است.

واژگان کلیدی: نانوباکتری‌ها؛ نانوذرات کلسیفیه‌کننده؛ کلسیفیکاسیون پاتولوژیک؛ سنگ کلیه؛ آترواسکلروز.

* Masoumeh.Nezhadali@iau.ac.ir

مستقل هستند. مطالعات بیشتر نشان داد این ساختارها در واقع کمپلکس‌های پروتئین-معدنی غیریولوژیک متشکل از هیدروکسی‌آپاتیت می‌باشند که امروزه تحت عنوان نانوذرات کلسیفیه‌کننده (Calcifying Nanoparticles)

(CNPs) شناخته می‌شوند (۴). مطالعات اخیر نشان داده است CNPها ارتباط نزدیکی با بیماری‌های مختلف مرتبط با کلسیفیکاسیون، مانند تصلب شرایین و سنگ کلیه دارند (۵). بر این اساس، سؤال اساسی همچنان باقی است که آیا ساختارهای موسوم به نانوباکتری‌ها واقعاً اشکال جدیدی از حیات به شمار می‌آیند یا باید آن‌ها را به‌عنوان نانوذرات کلسیفیه‌کننده غیرزنده با نقش‌های ثانویه در فرآیندهای پاتولوژیک در نظر گرفت. این مقاله مروری با هدف پاسخ به این پرسش، شواهد موجود را به‌صورت انتقادی بررسی می‌کند.

پیشینه تاریخی نانوباکتری‌ها

مفهوم «نانوباکتری‌ها» نخستین بار در مطالعات زمین‌شناسی مطرح شد. فولک در بررسی رسوبات تراورتن چشمه‌های آب گرم ایتالیا و برخی سنگ‌های رسوبی، ساختارهایی کروی با ابعاد نانومتری را گزارش کرد و پیشنهاد داد که این ذرات ممکن است در فرآیند رسوب کانی‌های کربناتی نقش داشته باشد. گزارش اشکال مشابه در شهاب‌سنگ مریخی ALH84001 نیز به گسترش این فرضیه دامن زد و این ساختارها را به‌عنوان ذراتی مرتبط با کلسیفیکاسیون معرفی کرد بنابراین، آنها نانوذرات مسئول کلسیفیکاسیون نامیده شدند (۶).

در ادامه، کاجاندر و همکاران ساختارهای نانومقیاس مشابهی را در محیط‌های کشت سلولی تجاری و سرم جنین گاو مشاهده کردند و آن‌ها را «نانوباکتری‌ها» نامیدند. سپس پژوهشگران گزارش کردند این ساختارها حاوی کریستال‌های هیدروکسی‌آپاتیت هستند و به دلیل وجود

مقدمه

نانوباکتری‌ها نخستین بار توسط زمین‌شناسان به‌صورت ذرات کروی با ابعاد نانومتری بر روی سطوح معدنی شناسایی شدند. در ادامه، گزارش‌هایی از حضور ساختارهای مشابه در خون انسان، خون گاو و برخی سرم‌های کشت سلولی منتشر شد (۱). این ذرات که نانوباکتری‌ها نامیده می‌شوند معمولاً اندازه‌ای در حدود ۵۰ تا ۲۰۰ نانومتر دارند، عمدتاً با استفاده از میکروسکوپ الکترونی مشاهده شده‌اند. به دلیل مورفولوژی خاص خود، توجه پژوهشگران حوزه‌های مختلف را به خود جلب کردند (۲). برخی مطالعات در مراحل اولیه پژوهش، این ساختارها را به‌عنوان شکل جدیدی از حیات معرفی کرده و نقش آن‌ها را در بروز طیف وسیعی از بیماری‌های انسانی (۱)، از جمله تصلب شرایین، سنگ‌های کلیوی، بیماری‌های پریدنتال و برخی بدخیمی‌ها مطرح کردند. معرفی این ذرات به‌عنوان ارگانیسم‌های زنده جدید، موجی از پژوهش‌ها و مناقشات علمی را به دنبال داشت، چون این ساختارهای شبه‌نانوباکتری یا ذرات نانو کلسیفیه‌کننده (CNPs) ویژگی‌هایی از خود نشان می‌دادند که با باکتری‌های معمولی متفاوت بود. به عنوان مثال، برخی از آن‌ها مقاومت در برابر روش‌های ضدباکتریایی نشان می‌دادند، از نظر اندازه، بسیار کوچکتر از باکتری‌های معمولی بوده و توسط پوسته سفت و سخت از محیط بیرون محافظت می‌شدند که در باکتری‌های شناخته شده مشاهده نمی‌شود (۳). پیشرفت روش‌های تحلیلی و مطالعات دقیق‌تر نشان داد که ساختارهای موسوم به نانوباکتری‌ها فاقد ویژگی‌های اساسی موجودات زنده، از جمله مواد ژنتیکی و توانایی تکثیر

پوشش معدنی سخت، بررسی آن‌ها با روش‌های معمول تثبیت و رنگ‌آمیزی با دشواری‌هایی همراه است. همچنین CNPs به دلیل عدم مهار توسط آنتی‌بیوتیک‌هایی مانند پنی‌سیلین به عنوان پدیده‌ای غیرمعمول مطرح شدند (۸، ۷).

پس از گزارش اولیه درباره ماهیت بیولوژیکی نانوباکتری‌ها، سیسار و همکاران تلاش کردند این ساختارها را جداسازی کنند اما به نتایج کاملاً متفاوت درباره ماهیت آن‌ها دست یافتند. سیسار و همکاران در مطالعه خود تفسیر جدیدی از ذرات منتسب به نانوباکتری‌های جدا شده از سنگ کلیه انسان ارائه دادند. در آزمایش آن‌ها، اجسام کوکئیدی، از نظر مورفولوژی مشابه ساختارهایی بودند که کاجاندر توصیف کرده بود و با میکروسکوپ الکترونی روبشی مشاهده شده بودند. وجود فسفات کلسیم در این ذرات با استفاده از میکروآنالیز پراکندگی انرژی اشعه ایکس (EDX) شناسایی شد و حضور آپاتیت توسط پراش اشعه ایکس تأیید شد. با این حال، اسید نوکلئیک پس از کلسیم‌زدایی قابل جداسازی نبود. همچنین، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) که انجام شد، توالی نوکلئوتیدی را نشان داد که با ۱۶S rDNA مربوط به فیلوباکتریوم میرسیناستاروم، که به عنوان یک آلاینده شناخته شده در مطالعات PCR است، یکسان بود. نویسندگان به این نتیجه رسیدند که 16S rDNA که قبلاً در نانوباکتری‌ها گزارش شده بود، احتمالاً آلودگی محیطی بوده است (۹). مجموع این یافته‌ها نشان داد که شواهد اولیه در حمایت از ماهیت احتمالی زیستی نانوباکتری‌ها از استحکام کافی برخوردار نیست و بسیاری از ویژگی‌های نسبت داده شده به آن‌ها را می‌توان با فرآیندهای فیزیکوشیمیایی معدنی‌سازی توضیح داد. این بازنگری‌ها زمینه را برای معرفی مفهوم نانوذرات کلسیفیه‌کننده فراهم کرد.

شواهد موافق فرضیه «زنده بودن» نانوباکتری‌ها

بیشتر شواهد ارائه شده در حمایت از فرضیه زیستی بودن نانوباکتری‌ها به مطالعات اولیه بازمی‌گردد که با محدودیت‌های روش‌شناختی قابل توجه مواجه بود و در

پژوهش‌های بعدی مورد بازنگری قرار گرفت. با این حال، در مطالعات اولیه ویژگی‌هایی برای ساختارهای موسوم به نانوباکتری‌ها گزارش شد که در آن زمان به عنوان نشانه‌هایی از حیات تلقی می‌شد. از جمله این مشاهدات، گزارش ساختارهای کروی یا تخم‌مرغی شکل با ظاهری شبیه به باکتری‌ها در تصاویر میکروسکوپ الکترونی بود، همچنین در بسیاری از مطالعات اشاره شده این ساختارها شبیه باکتری‌های ریشه‌ای شکل بودند که با جوانه زدن تکثیر می‌شدند. در برخی مطالعات همچنین گزارش شد که این ساختارها قادرند از فیلترهایی با اندازه منافذ ۰.۲ میکرومتر عبور کنند؛ فیلترهایی که معمولاً برای حذف باکتری‌ها در فرایند استریلیزاسیون مایعات به کار می‌روند. این ویژگی در ابتدا به عنوان نشانه‌ای از اندازه بسیار کوچک و غیرمعمول این ذرات و در نتیجه احتمال ماهیت زیستی آن‌ها مطرح شد. با این وجود، بعدها مشخص شد که عبور از چنین فیلترهایی ویژگی اختصاصی موجودات زنده نیست و بسیاری از نانوذرات غیرزیستی نیز قادر به عبور از این فیلترها هستند (۱۰). از دیگر شواهد مطرح شده در حمایت از فرضیه زیستی بودن نانوباکتری‌ها، حساسیت این ساختارها به برخی داروهای شیمی‌درمانی و ترکیبات شیمیایی از جمله نیترو فورانتوئین، تری‌متوپریم، تری‌متوپریم-سولفامتوکسازول، ۵-فلورو اوراسیل و سیتوزین آرابینوزید اسید ۶-آمینو کاپروئیک، آزید سدیم و سیانید پتاسیم است. این مشاهدات در برخی مطالعات اولیه به گونه‌ای تفسیر شد که گویی نانوباکتری‌ها دارای متابولیسم فعال یا سیستم تکثیر مستقل هستند. با این حال، مطالعات بعدی نشان دادند که بسیاری از این ترکیبات دارای سمیت غیر اختصاصی هستند و می‌توانند بر ساختارهای غیرزیستی، کمپلکس‌های پروتئینی یا فرآیندهای شیمیایی نیز اثر بگذارند؛ بنابراین، این یافته‌ها

نمی‌توانند به‌تنهایی دلیل بر زنده بودن این ذرات محسوب شوند. مجموع این شواهد اولیه باعث شد نانوباکتری‌ها در برهه‌ای از زمان به‌عنوان عوامل بالقوه بیماری‌زا و محرک کلسیفیکاسیون پاتولوژیک مطرح شوند. با این وجود، بازنگری‌های بعدی نشان داد که بسیاری از این مشاهدات را می‌توان بدون فرض وجود یک موجود زنده مستقل، توضیح داد (۱۱، ۳).

شواهد مخالف و رد ماهیت زیستی نانوباکتری‌ها

۱. فقدان اسیدهای نوکلئیک

یکی از مهم‌ترین استدلال‌ها علیه فرضیه زنده بودن نانوباکتری‌ها، عدم شناسایی اسیدهای نوکلئیک در این ساختارهاست. مطالعات متعدد با بهره‌گیری از روش‌های آنزیمی، مولکولی و طیف‌سنجی گزارش کرده‌اند که DNA یا RNA قابل شناسایی در ساختارهای موسوم به نانوباکتری وجود ندارد. به‌ویژه، آنالیزهای ریزساختاری نظیر EDS مقادیر بسیار پایینی از عناصر نیتروژن و فسفر (حدود ۰/۳) را نشان داده‌اند که با حضور معنادار مواد ژنتیکی سازگار نیست. در ادامه، تیمار این ساختارها با DNase I و RNase منجر به هیچ‌گونه تغییر قابل‌توجهی نشد، در حالی که تیمار با پروتیناز K به هضم کامل آن‌ها انجامید. این نتایج نشان می‌دهد که ترکیب اصلی این ذرات فاقد مولفه‌های ژنتیکی بوده و بیشتر با ساختارهای غیرزنده مبتنی بر پروتئین-معدن سازگار است (۷، ۸).

۲. ترکیب شیمیایی و پروتئینی

شواهد حاصل از آنالیزهای پیشرفته پروتئومیکس (LC-MS/MS) نشان داده‌اند که ذرات موسوم به نانوباکتری

عمدتاً از پروتئین‌های منشأ انسانی نظیر آلبومین، کراتین، هموگلوبین و ایمونوگلوبولین‌ها تشکیل شده‌اند. چنین ترکیبی با منشأ میکروبی یا سلولی سازگار نیست و در عوض از این تفسیر حمایت می‌کند که این ذرات کمپلکس‌های پروتئینی-معدنی هستند که احتمالاً از برهم‌کنش پروتئین‌های سرمی با فازهای معدنی کلسیم‌فسفات ایجاد می‌شوند (۸).

۳. حساسیت به پروتیناز K

پژوهشگران گزارش کردند حساسیت کامل این ساختارها به پروتیناز K و مقاومت آن‌ها در برابر DNase و RNase از دیگر شواهد مهم علیه ماهیت سلولی نانوباکتری‌ها محسوب می‌شود. هضم کامل توسط پروتیناز K نشان می‌دهد که چارچوب اصلی این ذرات ماهیتی پروتئینی دارد، در حالی که عدم تأثیر نوکلئازها مؤید فقدان اسیدهای نوکلئیک است. این الگوی پاسخ آنزیمی با ساختارهای سلولی زنده که معمولاً دارای غشای سلولی، محتوای ژنتیکی محافظت‌شده هستند هم‌خوانی ندارد و بیشتر با نانوذرات غیرزیستی پوشیده‌شده با پروتئین سازگار است (۱۰، ۸).

۴. تشکیل غیرزیستی در شرایط آزمایشگاهی

شواهد قابل‌توجهی علیه ماهیت زنده نانوباکتری‌ها از مطالعات مربوط به تشکیل غیرزیستی این ساختارها در شرایط آزمایشگاهی به‌دست آمده است. در برخی آزمایش‌ها، انکوباسیون آلبومین در محیط کشت، بدون حضور سلول زنده یا عوامل میکروبی، منجر به تشکیل رسوباتی شد که در بررسی با میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)، مورفولوژی مشابه ساختارهای موسوم به نانوباکتری‌ها را نشان می‌دادند. این یافته‌ها بیانگر آن است که بسیاری از

ویژگی‌های منتسب به حیات در نانوباکتری‌ها را می‌توان با فرآیندهای فیزیکوشیمیایی و همچنین محدودیت‌ها یا خطاهای تفسیری در روش‌های تصویربرداری توضیح داد (۷۸).

نانوذرات کلسیفیه‌کننده (CNPs) و فرآیندهای پاتوفیزیولوژیک

شواهد بسیاری نشان می‌دهد ساختارهایی که در مطالعات اولیه به عنوان «نانوباکتری‌ها» توصیف شده‌اند، به جای میکروارگانسیم‌های زنده، بهتر است به عنوان نانوذرات کلسیفیه‌کننده (Calcifying Nanoparticles; CNPs) طبقه‌بندی شوند. مطالعات متعدد گزارش کرده‌اند که این ساختارها فاقد DNA یا RNA قابل شناسایی هستند و ترکیب آن‌ها عمدتاً از کمپلکس‌های پروتئین-معدنی تشکیل شده است که معمولاً شامل فسفات کلسیم در ارتباط با پروتئین‌های سرمی نظیر آلبومین و فتوئین A می‌باشند. این ویژگی‌ها با ماهیت یک واحد زیستی مستقل سازگار نیست و بیشتر از منشأ غیرزیستی حمایت می‌کند (۱۲).

مطالعات تجربی نشان داده‌اند که نانوذرات کلسیفیه‌کننده می‌توانند از طریق مکانسیم‌های کاملاً فیزیکوشیمیایی، از جمله رسوب خودبه‌خودی فسفات کلسیم در مایعات زیستی فوق‌اشباع، و بدون دخالت هرگونه تکثیر سلولی یا فعالیت متابولیکی تشکیل شوند. امکان شکل‌گیری این ساختارها در شرایط آزمایشگاهی کنترل‌شده و در غیاب عوامل زیستی، شواهد قانع‌کننده‌ای علیه فرضیه زنده بودن آن‌ها فراهم کرد و از این تفسیر پشتیبانی می‌نماید که CNP ها محصولات جانبی غیرزیستی فرآیندهای تنظیم‌نشده هموستاز معدنی هستند (۱۳).

در سال‌های اخیر، ارتباط CNP ها با طیفی از کلسیفیکاسیون‌های پاتولوژیک مورد توجه قرار گرفته است. حضور این ذرات در بافت‌ها یا مایعات زیستی مرتبط با

بیماری قلبی عروقی، بیماری آلزایمر، تشکیل سنگ کلیه، سنگ کیسه صفرا و التهاب کیسه صفرا، پروستاتیت، کلسیفیلکسی و سرطان گزارش شده است (۱۴). با این حال مطالعات موجود از این دیدگاه حمایت می‌کند که CNP ها در محیط‌هایی تجمع می‌یابند که از پیش مستعد رسوب مواد معدنی هستند و بنابراین می‌توان آن‌ها را شرکت‌کنندگان ثانویه در نظر گرفت.

نقش‌های پاتوفیزیولوژیک نانوباکتری‌ها

در مراحل اولیه پژوهش‌ها، این فرضیه مطرح شد که ساختارهای نانومقیاس مشاهده‌شده در نمونه‌های کلسیفیه‌شده ممکن است نوعی باکتری زنده موسوم به «نانوباکتری» باشند. با این حال، شواهد در سال‌های اخیر نشان داده است که این ساختارها به طور دقیق‌تر باید به عنوان نانوذرات کلسیفیه‌کننده با منشأ غیرزیستی در نظر گرفته شوند (۳). بیماری‌های کلسیفیکاسیون پاتولوژیک یک مسئله شایع هستند که تشخیص و درمان آن‌ها با چالش‌های قابل توجهی همراه است (۱۵، ۵). کلسیفیکاسیون پاتولوژیک، که به عنوان کلسیفیکاسیون نابجا نیز شناخته می‌شود، به رسوب کمپلکس‌های معدنی در بافت‌های نرم خارج از استخوان‌ها و دندان‌ها تحت شرایط فیزیولوژیکی اشاره دارد. این وضعیت می‌تواند ناشی از عوامل ژنتیکی یا بیماری‌های مزمنی باشد که در مراحل بعدی زندگی به دست می‌آیند (۱۶). تحقیقات نشان می‌دهد که کلسیفیکاسیون پاتولوژیک شباهت‌هایی با کلسیفیکاسیون فیزیولوژیکی دارد، اما به دلیل عدم تعادل بین عوامل مهارکننده و محرک کلسیفیکاسیون رخ می‌دهد و منجر به معدنی شدن غیرطبیعی در بافت‌های نرم می‌شود (۱۷). به عبارت دیگر CNP ها نقش حیاتی در کلسیفیکاسیون پاتولوژیک دارند (۱۸).

کلسیفیکاسیون پاتولوژیک یکی از ویژگی‌های شایع بسیاری از بیماری‌های مزمن انسانی است و اغلب با پیشرفت و شدت بیماری ارتباط دارد (۵). نانوذرات کلسیفیه‌کننده به عنوان

اولیه که از اصطلاح «نانوباکتری» برای توصیف این ساختارها استفاده کرده‌اند، ارتباط آن‌ها را با انواع مختلفی از کلسیفیکاسیون‌های پاتولوژیک از جمله سنگ مثانه، کلیه و حالب؛ اجسام پساموما در سرطان تخمدان؛ و اسکروز شریانی، مطرح نموده است (۲۲).

۲. سنگ‌های کلیوی

در سال‌های گذشته، نقش ساختارهای نانومقیاس کلسیفیه شده در پاتوژنز سنگ‌های کلیوی، مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. و حضور آن‌ها در بیماران مبتلا به سنگ کلیه گزارش شده است. هرچند این یافته‌ها لزوماً به معنای وجود یک عامل زیستی در سنگ‌سازی نیست. برخی مطالعات تجربی اولیه، از جمله مطالعات حیوانی، تجمع این ذرات در بافت کلیه گزارش کرده‌اند و مطرح نموده‌اند که ذرات کلسیفیه شده می‌توانند به سلول‌های آسیب دیده در لوله‌های جمع کننده و پاپیلای کلیوی بچسبند و باعث آسیب به «توبول‌های جمع کننده» و پاپیلاهای کلیوی شده و از طریق کانی‌سازی زیستی، تشکیل هسته سنگ‌های فسفات کلسیم را القا کند و در نتیجه منجر به تشکیل سنگ کلیه شود (۲۳). با این حال، این یافته‌ها عمدتاً مشاهداتی بوده و شواهد قانع کننده‌ای مبنی بر این که CNP ها به طور مستقل آغازگر تشکیل سنگ کلیه باشند، ارائه نشده است. مطالعات سلولی نشان داده‌اند که CNP ها می‌توانند توسط سلول‌های اپی‌تلیال توبولی کلیه از طریق فرایندهایی نظیر فاگوسیتوز وارد سلول شوند. در شرایط آزمایشگاهی، تماس سلول‌ها با CNP ها با افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، کاهش پتانسیل غشای میتوکندری و کاهش زنده‌مانی سلولی همراه است. همچنین، شواهدی از فعال شدن مسیرهای آپوپتوز و اتوفازی، از جمله تغییر در بیان پروتئین‌های تنظیم کننده مرگ سلولی مانند Bax و Bcl-2 و افزایش مارکرهای اتوفازی گزارش شده است. با وجود این، باید توجه داشت که این نتایج عمدتاً از مدل‌های *in vitro* حاصل شده‌اند (۲۴).

الفاکننده‌های بالقوه این کلسیفیکاسیون غیرطبیعی در نظر گرفته می‌شوند که ارتباط نزدیکی با پیشرفت بیماری دارد (۵). اما تاکنون هیچ شواهد قانع کننده‌ای نشان نداده است که CNP ها بتوانند به طور فعال فرآیند کلسیفیکاسیون را در شرایط درون تنی آغاز کنند. در مقابل، شواهد موجود حاکی از آن است که این ذرات ترجیحاً در نواحی تجمع می‌یابند که پیش‌تر دچار اختلال در هموستاز مواد معدنی شده‌اند. مشاهدات از این دیدگاه پشتیبانی می‌کند که CNP ها، به جای محرک‌های فعال کلسیفیکاسیون نابجا، بیشتر به عنوان مشارکت کنندگان غیرفعال یا محصولات جانبی فرآیندهای معدنی سازی پاتولوژیک عمل می‌کنند (۱۹، ۲۰). در مجموع، داده‌های موجود نشان می‌دهد که نقش پاتوفیزیولوژیک CNP ها، احتمالاً ثانویه است.

۱. بیماری‌های قلبی-عروقی

تصلب شرایین یک فرآیند مزمن و پیشرونده است که در آن پلاک‌ها در دیواره سرخرگ‌ها تشکیل می‌شود. پلاک‌ها حاوی چربی، کلسترول، کلسیم و سایر مواد موجود در خون وجود دارند که با گذشت زمان، پلاک‌ها سفت می‌شوند تا شریان‌ها را تنگ کنند. سپس، جریان خون غنی از اکسیژن به اندام‌ها محدود می‌شود. تصلب شرایین می‌تواند منجر به مشکلات جدی از جمله حمله قلبی، سکته مغزی یا حتی مرگ شود (۳). در سال‌های اخیر، حضور ساختارهای کلسیفیه شده در پلاک‌های آترواسکروتیک مورد توجه قرار گرفته است و برخی مطالعات گزارش کرده‌اند که ذراتی با ویژگی‌های مشابه در این پلاک‌ها قابل شناسایی هستند. شواهد موجود نشان می‌دهد که CNP ها احتمالاً عامل آغازگر تشکیل پلاک‌های آترواسکروتیک نیستند و به نظر می‌رسد این ذرات در مراحل بعدی بیماری و در محیط‌هایی که از پیش مستعد کلسیفیکاسیون هستند تجمع می‌یابند. از این منظر، CNP ها ممکن است به عنوان مشارکت کنندگان در فرآیند کلسیفیکاسیون پلاک نقش داشته باشند و به پایداری یا سخت شدن پلاک کمک کنند، بدون آن که نقش مستقیمی در شروع آترواسکروز داشته باشند (۲۱). برخی گزارش‌های

بیماری پریودنتال یکی از شایع‌ترین بیماری‌های التهابی مخاط دهان است که می‌تواند منجر به تخریب شدید ساختارهای حمایتی دندان و در نهایت از دست رفتن دندان شود و حدود ۱۰ تا ۱۵ درصد جمعیت جهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. عامل اصلی آغازکننده التهاب و تخریب بافت پریودنتال، پلاک دندانی است. معدنی شدن پلاک دندانی در ادامه منجر به تشکیل جرم می‌شود که یکی از مهم‌ترین عوامل موضعی مؤثر در پیشرفت بیماری‌های پریودنتال به شمار می‌رود. در این میان، شناسایی نانوذرات کلسیفیه‌کننده (CNPs) مسیرهای جدیدی را برای بررسی مکانیسم‌های تشکیل جرم دندانی فراهم کرده و می‌تواند به درک بهتر تعاملات پیچیده میان پلاک و جرم دندانی کمک کند (۲۵).

۳. سرطان

اگرچه محققان ارتباط نانوباکتری‌ها را با سرطان گزارش کرده‌اند (۲۲) اما به طور کلی، شواهد فعلی از نقش سرطان‌زای مستقیم CNP‌ها پشتیبانی نمی‌کند. حداکثر، حضور آنها ممکن است منعکس‌کننده متابولیسم معدنی تغییر یافته یا تغییرات ریزمحیطی مرتبط با بافت‌های بدخیم باشد. برخی رویکردهای درمانی نوین از سیستم‌های مبتنی بر نانوذرات مهندسی‌شده استفاده کرده‌اند که گاه به‌طور نادرست با اصطلاح «نانوباکتری» توصیف می‌شوند. به‌عنوان مثال، سیستم موسوم به «نانوباکتری تروجان» یک پلتفرم مهندسی‌شده دارورسانی است که در آن نانوعوامل درمانی از طریق ناقل‌های اختصاصی (مانند ناقل‌های مالتودکسترین) به درون باکتری‌های اصلاح‌شده ژنتیکی منتقل می‌شوند. این سامانه‌ها به‌گونه‌ای طراحی شده‌اند که توانایی شناسایی هدفمند ناحیه تومور، نفوذ به بافت‌های عمقی و اعمال اثرات ضدتوموری (مانند بیان پروتئین‌های ضدسرطان یا اثرات فوتوترمال) را داشته باشند. لازم به تأکید است که این سیستم‌های مهندسی‌شده از نظر ماهیت، مکانیسم و هدف کاربردی کاملاً متفاوت از CNP‌های طبیعی هستند (۲۶).

روش‌های شناسایی و چالش‌های تفسیری

روش‌های متعددی برای شناسایی و بررسی ساختارهایی که در گذشته تحت عنوان «نانوباکتری» توصیف شده‌اند به کار رفته است، اما تفسیر نتایج حاصل از این روش‌ها با چالش‌های قابل توجهی همراه بوده است. به‌عنوان مثال، مطالعات مبتنی بر وسترن بلات نشان داده‌اند که آنتی‌بادی‌های مونوکلونالی که به‌عنوان آنتی‌بادی‌های اختصاصی نانوباکتری معرفی شده بودند، در عمل واکنش‌پذیری قابل توجهی با آلبومین سرم نشان می‌دهند. علاوه بر این، گزارش شده است که ذرات شبه‌نانوباکتری استخراج‌شده از خون انسان توانایی تحمل دوزهای بسیار بالای تابش گاما (تا حدود ۳۰ کیلوگری) را دارند؛ سطحی از تابش که به‌طور معمول برای غیرفعال‌سازی کامل عوامل زیستی شناخته‌شده کافی است. همچنین، انجام واکنش‌های PCR برای شناسایی توالی‌های باکتریایی منجر به شناسایی هیچ‌گونه DNA باکتریایی قابل اعتماد نشده است. این مجموعه شواهد، تفسیر زنده بودن این ساختارها را با تردید جدی مواجه می‌سازد (۱۲).

از نظر روش‌های تصویربرداری و آنالیتیکی، تکنیک‌هایی نظیر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) و میکروسکوپ الکترونی انتقالی (TEM) (۲۷) آنالیز پراکندگی انرژی پرتو ایکس (EDS)، SDS-PAGE و آنالیزهای پروتئومیکس برای بررسی این ذرات مورد استفاده قرار گرفته‌اند. اگرچه این روش‌ها اطلاعات ارزشمندی درباره مورفولوژی، ترکیب عنصری و ماهیت پروتئینی این ساختارها فراهم می‌کنند، اما اتکای صرف به شباهت‌های مورفولوژیک می‌تواند منجر به تفسیرهای نادرست و نسبت دادن ویژگی‌های زیستی به ساختارهای غیرزنده شود. در مجموع، نتایج ما توضیح غیرزیستی محتمل‌تری برای خواص غیرمعمول نانوباکتری‌های مورد نظر ارائه می‌دهد (۷، ۱۲).

جمع‌بندی و نتیجه‌گیری

ثانویه داشته باشند. محققان گزارش کرده اند CNP ها ممکن است با آسیب رساندن به سلول ها، ترویج تمایز استخوانی و تأثیر بر فرآیندهای متابولیک، نقش مهمی در این بیماری ها داشته باشند و در نتیجه تشکیل هسته های کلسیفیکاسیون در بافت های موضعی را آغاز کنند. این هسته ها می توانند تحت تأثیر پاسخ های التهابی، بیشتر گسترش یابند و در نهایت منجر به ایجاد بیماری های کلسیفیکاسیون شوند (۱۵). درک صحیح ماهیت این ساختارها برای جلوگیری از تفسیرهای نادرست زیستی و طراحی راهبردهای درمانی مؤثر ضروری است (۲۸).

مجموع شواهد موجود نشان می دهد که نانوباکتری ها به احتمال زیاد موجودات زنده نیستند، بلکه نانوذرات کلسیفیه کننده ای هستند که از طریق فرآیندهای بیومینرالیزاسیون پروتئینی شکل می گیرند. با این حال، نقش آن ها به عنوان عوامل کمکی در پیشرفت بیماری های کلسیفیکاسیون محور قابل چشم پوشی نیست (۲۸). تحقیقات فعلی نشان داده است که CNP ها را می توان از شرایط مختلف کلسیفیکاسیون پاتولوژیک، از جمله سنگ کلیه، کلسیفیکاسیون عروقی، سنگ صفراوی و بیماری سنگ کلیه جدا کرد. این ذرات در برخی بافت ها و شرایط پاتولوژیک گزارش شده اند و ممکن است در کلسیفیکاسیون نابجا نقش

1. Habibipour R, Zarrini G, Yarizadeh S. Isolation and Characterization of Hyperthermophilic Nanobacteria from a Hot Spring in Ardabil, Iran. *Medical laboratory journal*. 2017 May 1;11(3).
2. McLean RJ, Kirkland BL. Nanostructures and Nanobacteria. In *Nanobiotechnology: Physiological and Environmental Characteristics* 2014 Nov 6 (pp. 1-10). New York, NY: Springer New York.
3. Majidpour A, Rasouli S, Sardarabadi H, Noaparast M, Khedmatgozar M, Fathizadeh S, Ghooshchian M, Boustanshenas M, Sadat SA. The first identification of nanobacteria-like structures in vascular plaques of atherosclerosis patients in Iran. *Archives of Clinical Infectious Diseases*. 2019 Aug 31;14(14).
4. Martel J, Peng HH, Young D, Wu CY, Young JD. Of nanobacteria, nanoparticles, biofilms and their role in health and disease: facts, fancy and future. *Nanomedicine*. 2014 Mar 1;9(4):483-99.
5. Su XL, Xu FR, Yang J, Niu SQ, Shi HJ, He YF, Li ZH, Bagari P, Wu XW, Peng XY, Zhang HW. Calcifying nanoparticles induce apoptosis and calcification in bone marrow mesenchymal stem cells via the transforming growth factor- β /Smad pathway. *World Journal of Stem Cells*. 2025 Dec 26;17(12).
6. Abrol N, Panda A, Kekre NS, Devasia A. Nanobacteria in the pathogenesis of urolithiasis: Myth or reality? *Indian Journal of Urology*. 2015 Jan 1;31(1):3-7.
7. Yaghobee S, Bayani M, Samiei N, Jahedmanesh N. What are the nanobacteria? *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 2015 Sep 3;29(5):826-33
8. Erdemir F, Karabulut A, Ozveren B, Kocagoz T. How much do we know about nanobacteria? *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2024 Dec 1; 288:117415.
9. Cisar JO, Xu DQ, Thompson J, Swaim W, Hu L, Kopecko DJ. An alternative interpretation of nanobacteria-induced biomineralization. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97:11511-5.
10. Ciftcioglu N, Miller-Hjelle MA, Hjelle JT, Kajander EO. Inhibition of nanobacteria by antimicrobial drugs as measured by a modified microdilution method. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2002 Jul;46(7):2077-86.
11. Chabriere E, Gonzalez D, Azza S, Durand P, Shiekh FA, Moal V, Baudoin JP, Pagnier I, Raoult D. Fetuin is the key for nanon self-propagation. *Microbial Pathogenesis*. 2014 Aug 1; 73:25-30.
12. Martel J, Young JD. Purported nanobacteria in human blood as calcium carbonate nanoparticles. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2008 Apr 8;105(14):5549-54.
13. Wu CY, Young L, Young D, Martel J, Young JD. Bions: a family of biomimetic mineralo-organic complexes derived from biological fluids. *PloS one*. 2013 Sep 25;8(9): e75501.
14. Sardarabadi H, Mashregi M, Jamialahmadi K, Dianat T. Resistance of nanobacteria isolated from urinary and kidney stones to broad-spectrum antibiotics. *Iranian journal of microbiology*. 2014 Aug;6(4):230.
15. Li S, Wu J, Bin B. Mechanism of influence of calcified nanoparticles in the development of calcified diseases. *Biomedical Reports*. 2025 Apr 22;22(6):102.
16. Boraldi F, Lofaro FD, Quaglini D. Apoptosis in the extraosseous calcification process. *Cells*. 2021 Jan 12;10(1):131.
17. Kirsch T. Determinants of pathological mineralization. *Current opinion in rheumatology*. 2006 Mar 1;18(2):174-80.
18. Shi H, Niu S, Su X, Xu F, Wu X, Zhang H, Wang Y, Yang J. Characterization of Calcifying Nanoparticles Isolated and Cultured in the Outer Capsule Wall of Hepatic Hydatid Cyst and their Correlation with Autophagy. *Acta Parasitologica*. 2025 Aug;70(4):148.
19. Young JD, Martel J, Young L, Wu CY, Young A, Young D. Putative nanobacteria represent physiological remnants and culture by-products of normal calcium homeostasis. *PloS one*. 2009 Feb 9;4(2): e4417.
20. Young JD, Martel J. The rise and fall of nanobacteria. *Scientific American*. 2010 Jan 1;302(1):52-9.
21. Erdemir, F., Karabulut, A., Aydin, U., Guler, S., Cicek, A., Gokduman, S.N., Eser, E., Birdogan, S., Kocagoz, T., 2024. Metagenomic analysis of atheroma plaques for identification of microorganisms indicates presence of *Toxoplasma*

gondii as a possible etiological agent. *J. Infect. Public Health* 17 (10). <https://doi.org/10.1016/J.JIPH.2024.102539>.

22. Zhang MJ, Liu SN, Xu G, Guo YN, Fu JN, Zhang DC. Cytotoxicity and apoptosis induced by nanobacteria in human breast cancer cells. *International Journal of Nanomedicine*. 2014 Dec 30:265-71.

23. Hong X, Wang X, Wang T, Yu C, Li H. Role of nanobacteria in the pathogenesis of kidney stone formation. *American journal of translational research*. 2016 Jul 15;8(7):3227.

24. Wu J, Tao Z, Deng Y, Liu Q, Liu Y, Guan X, Wang X. Calcifying nanoparticles induce cytotoxicity mediated by ROS-JNK signaling pathways. *Urolithiasis*. 2019 Apr 1;47(2):125-35.

25. Wang S, Yang L, Bai G, Gu Y, Fan Q, Guan X, Yuan J, Liu J. A preliminary study on calcifying nanoparticles in dental plaque: Isolation, characterization, and potential mineralization

mechanism. *Clinical and Experimental Dental Research*. 2024 Jun;10(3): e885.

26. Chu B, Yang Y, Tang J, Song B, He Y, Wang H. Trojan nanobacteria system for photothermal programmable destruction of deep tumor tissues. *Angewandte Chemie International Edition*. 2022 Sep 5;61(36): e202208422

27. Yang J, Wang M, Yang J, Chu Z, Chen X, Wu X, Peng X. Calcifying nanoparticles initiate the calcification process of mesenchymal stem cells in vitro through the activation of the TGF- β 1/Smad signaling pathway and promote the decay of echinococcosis. *Open Life Sciences*. 2022 Oct 14;17(1):1335-46.

28. Jerman I. What nanobacteria and nanovesicles may tell us about the origin of life. *Open access library journal*. 2017;4(01):1.