

طیبه اکبری، دانشجوی کارشناس ارشد، دانشگاه آزاد علوم دارویی  
دکتر طاهره ناجی، استاد راهنما و مدیر گروه علوم پایه داروسازی دانشگاه آزاد علوم دارویی

## ژن RTS'S/AS01 به عنوان هدفی برای واکسن های ضد مالاریا

از برتری های ویژه ای برخوردارند ولی با چالش های زیادی نیز روبه رو هستند. این مزایا و چالش ها به صورت مفصل در فصول بعد مورد بررسی قرار گرفته اند، ولی آنچه در این جا باید به آن اشاره نمود، عدم تمایل شرکت های داروسازی بزرگ به تولید آن ها برای استفاده بر علیه مالاریا است (کلوزی، ۱۹۹۴). زیرا به عقیده آن ها، حتی در صورت سرمایه گذاری فراوان و تولید نوع مطلوبی از این واکسن ها، کشورهای درگیر با مالاریا که بیشتر در آفریقا و نواحی فقیر آسیا قرار دارند، قادر به پرداخت هزینه لازم برای تهیه آن نخواهند بود. لذا تحقیقات منجر به تولید این نوع از واکسن ها باید الزاماً محلی و منطقه ای باشد تا محققان کشورهایی که اپیدمیولوژی مشابهی در زمینه عوامل انتقال و پایداری مالاریا دارند در این زمینه فعال شوند. در همین راستا در این مطالعه سعی شده است قدمی موثر در شناخت و بررسی هدف های مهم در تولید واکسن های مهارکننده انتقال با استفاده از ژن RTS,S/AS01 است.

### بیان مساله

RTS,S/AS01 دو مولکول هدف مهم برای تولید واکسن های مهارکننده انتقال مالاریا به شمار می روند. اهمیت این دو مولکول در تولید واکسن هایی است که ایمنی مستقیمی در فرد ایجاد می کند و از انتشار بیماری با پشه پیشگیری می کنند. تاکنون چند نوع واکسن «تخریبی» توانسته است به مرحله آزمایشات بالینی راه یابد. بدین ترتیب بر روی دیگر مولکول های هدف باید تحقیقات وسیعی صورت پذیرد. از آنجایی که توالی RTS,S/AS01 در آنوفل استفسنی شناسایی شده است، لذا هدف اصلی از بررسی RTS,S/AS01 به دست آوردن توالی آن در آنوفل استفسنی برای مطالعات بعدی خواهد بود. ضرورت انجام این تحقیق از سه جنبه قابل بررسی است. بنابر دیدگاه اول، مالاریا هنوز یک بیماری عفونی خطرناک

در سال های گذشته، با استفاده بی رویه از سم های آفت کش برای کشتن پشه ی آنوفل و همچنین به کاربردن بی رویه از داروهای ضد مالاریا بر علیه انگل مالاریا، انواعی از پشه های ناقل و انگل بیماری زا پیداشده اند که به آفت کش ها و داروهای ضد مالاریا مقاومند. بدین روی، نیاز به واکسن های توانمند در پیشگیری از گسترش و پراکنش انگل های مقاوم به داروهای موجود است. این نوع از واکسن ها به دلیل ماهیت ویژه خود که ایمنی مستقیمی در فرد ایجاد نکرده ولی از گسترش بیماری پیشگیری می کند، گرچه از برتری های ویژه ای برخوردارند ولی با چالش های زیادی نیز روبه رو هستند. یک ژن هدف بسیار مهم برای تولید واکسن های مالاریا عبارتند از RTS'S/AS01 و RTS'S/AS01 در تجزیه هموگلوبین توسط پارازیت ترشح می شود و نقش حیاتی در توسعه پارازیت در انسان دارد. در این مطالعه برای طراحی و تولید ضد مالاریا با استفاده از RTS'S/AS01 آزمایشات متنوع و پیچیده ای شامل استخراج DNA از آنوفل استفسنی، انجام شد. نتایج نشان داد که RTS'S/AS01 قادر است به برای تشخیص نوع آنوفلس به کار رود.

استفاده بی رویه از حشره کش های گونه گونه بر علیه مالاریا باعث بروز مقاومت بر علیه آن ها شده است و این در حالی است که بیماری مالاریا همچنان یک تهدید مهم برای سلامتی کشورهای در حال توسعه است. به همین دلیل محققین بیوتکنولوژی و سلامت دنیا به دنبال راه های نوینی برای کنترل آن می باشند (دووسی، ۲۰۱۰). بر ایند این جستجوها به ایده واکسن های مهارکننده انتقال انجامیده است. واکسن های مهارکننده انتقال مالاریا مانع از آلودگی ناقلین پشه توسط پارازیت شده و بدین ترتیب مانع از پراکندگی بیماری می شوند. اگرچه مفهوم واکسن های مهارکننده انتقال، مفهوم جدیدی است ولی برای کاربردی بودن فراوان آنها، نه تنها در تولید واکسن بر علیه مالاریا بلکه در دیگر حوزه های سلامت - تحقیقات وسیعی بر روی آن در حال انجام است. این نوع از واکسن ها به دلیل ماهیت ویژه خود که ایمنی مستقیمی در فرد ایجاد نکرده ولی از گسترش بیماری پیشگیری می کند، گرچه

و پرهزینه در کشورهای جهان سوم به شمار می آید. آماری نیز که در ابتدای فصل به آن اشاره شد خود به خوبی بیانگر این وضعیت می‌باشند. در هر ۵ ثانیه یک کودک و سالانه نزدیک به دو میلیون نفر در دنیا جان خود را بر اثر این بیماری از دست می‌دهند. در ایران - که به‌طور کلی مناطق اندمیک مالاریای آن در بخش جنوب‌شرقی کشور، در جنوب در مرز با خلیج فارس و دریای عمان و در شرق در مرز با افغانستان و پاکستان، واقع است- اگر چه خطر این بیماری مهلک تا حدود زیادی رفع شده است ولی با پیدایش مقاومت به حشره‌کش‌ها، زنگ خطر دور از انتظار نیست. شاید این بیماری هر زمان دوباره ظاهر شود. مساله مهم دیگری که از ضروریات انجام این تحقیق می باشد، آن است که مشکل اصلی کنترل مالاریا در دنیا مقاومت ناقلین به حشره‌کش‌ها و مقاومت انگل پلاسمودیوم فالسیپاروم به داروهای در دسترس (کلروکین) است (کریستوفر و همکاران، ۲۰۰۴). این مقاومت باعث عدم کارایی روش‌های کنترل مالاریا شده است و در نهایت توسعه واکسن‌های ضد مالاریا تحت تأثیر فقدان سرمایه‌گذاری اقتصادی است، زیرا مناطق مالاریاخیز در فقیرترین کشورهای دنیا قرار دارند، که صرف‌نظر از نیازشان، هزینه خرید و توزیع واکسن مالاریا را در مقیاس وسیع ندارند. بدین ترتیب نباید منتظر دستاوردهای کشورهای توسعه یافته نشست و وظیفه ملی محققین بیوتکنولوژی کشور ایجاب می‌کند که در جهت تولید نسل جدید واکسن‌های موثر اقدام نمایند.

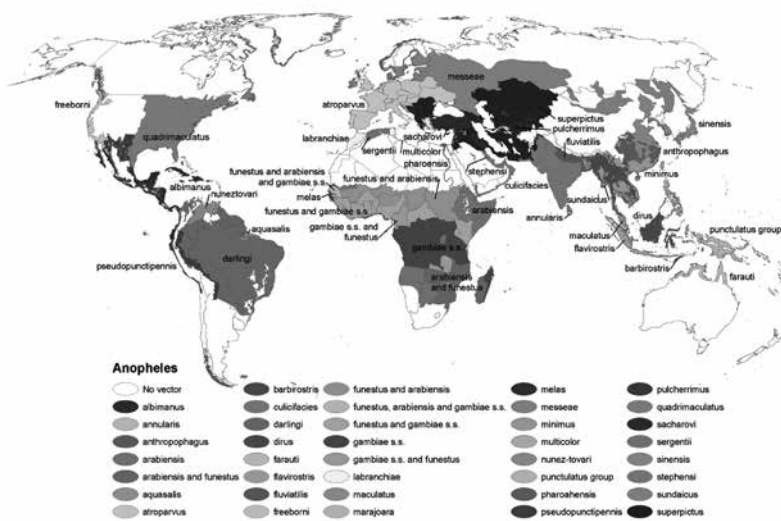
## اهمیت و کاربردها

از لحاظ اقتصادی تخمین زده شده که مالاریا سالانه منجر به کاهش دو درصدی رشد اقتصادی کشورهای درگیر می‌شود. لذا یکی از عوامل اصلی در کاهش رشد در کشورهای فقیر است. همچنین هزینه درمان سالانه ۳۵۰ تا ۵۰۰ میلیون مورد مبتلا به مالاریا که بیش از یک و نیم میلیون نفر به خصوص کودکان زیر ۵ سال را به کام مرگ فرو می‌برد در کشورهای درگیر بسیار بالاست. در این مطالعه سعی شده است تا در کنار بررسی برهمکنش‌های مهم گروهی از لکتین‌های حیاتی در شناسایی سلول‌های مورد حمله، نقش آن‌ها در مهار انگل در سلول‌های معده مورد ارزیابی قرار گیرد. علی‌رغم مطالعات گسترده‌ای که بر روی فرم‌های شیزوگونی در ایران انجام شده است، هیچ‌گونه اطلاعی از برهم‌کنش میان فرم‌های اسپروگونی انگل پلاسمودیوم فالسیپاروم با ناقلین ایران از جمله آنوفل استفنسی در دست نیست. به‌طوریکه شناخت ما از توانایی آلودگی ناقلین ایران بر اساس مطالعات اپیدمیولوژیک استوار بوده و لذا نکات فراوان و بی‌شمار مهمی در

مورد آلودگی ناقلین مهمی چون آنوفل استفنسی وجود دارد.

## شیوع مالاریا بر اساس گزارش سازمان بهداشت جهانی

میزان پراکنش کلی مالاریا در شکل ۲-۱ نشان داده شده است. سازمان بهداشت جهانی در جدیدترین آمار خود میزان پراکنش مالاریا و عوامل به وجود آورنده آن را به شرح زیر اعلام نموده است.



۱: میزان پراکنش کلی مالاریا در جهان بر اساس آمارهای سازمان بهداشت جهانی

مشکل اصلی کنترل مالاریا در نواحی اندمیک جنوب‌شرقی ایران مقاومت ناقلین به حشره‌کش‌ها و مقاومت انگل پلاسمودیوم فالسیپاروم به داروی کلروکین است. گزارش نهایی مالاریا در ایران نشان می‌دهد که در سال ۱۹۹۱، ۹۶۳۷۰ مورد مشاهده شده که ۴۵٪ آن مربوط به پلاسمودیوم فالسیپاروم بوده است و به‌وسیله تلاش‌های انجام شده برای کنترل بیماری این تعداد به ۱۸۹۶۶ مورد در سال ۲۰۰۵ کاهش یافته که از این تعداد اخیر تنها ۱۲٪ مربوط به پلاسمودیوم فالسیپاروم است. تعداد موارد مالاریا در طی سال‌های ۲۰۰۵-۱۹۹۱ به‌وسیله مرکز مدیریت بیماری‌ها در نمودار ایشان داده شده است. در سال ۲۰۰۲، ۵۲٪ موارد مالاریای گزارش شده مربوط به مهاجرین افغانی بوده است (بلینگولی، ۲۰۱۴)

## واکسن‌های مهار مالاریا

با توجه به موانع فیزیولوژیکی مختلفی از قبیل ماتریکس پروتروفیک و اپیتلیوم غدد معده میانی و بزاقی پشه انوفل، استراتژی‌های اساسی در مهار مالاریا در

حال حاضر عبارتند از هدف قرار دادن پلاسمودیوم زمانی که در معده میانی به سر میبرد و یا ممانعت از حمله به معده میانی پشه و یا اپیتلیوم غدد بزاقی. بدین ترتیب تا کنون دو شیوه اساسی در مهار مالاریا به کار گرفته شده است. دستکاری ژنتیکی پشه ها و واکسن های مهار کننده انتقال در مالاریا (شکل ۱-۲). اگر چه تولید پشه های مهندسی شده اکنون امکانپذیر است، اما این استراتژی همچنان نیازمند مکانیزم های پیچیده های جهت جایگزینی جمعیت های وکتورهای طبیعی با جمعیت های مهندسی شده است. واکسن های مهار کننده انتقال در مالاریا از مولکول هایی تشکیل یافته است که آنتی بادی هایی را تولید می کنند که در رشد و توسعه پارازیت در پشه اختلال ایجاد می کند. مفهوم واکسن های مهار کننده انتقال در دهه ۱۹۵۰ توسط هاف و همکارانش ایجاد شد (کواکی و همکاران، ۲۰۰۹). آنها گزارش کردند که با ترکیبی از پارازیت های جنسی و غیرجنسی مالاریای مرغی می توان ایمنی مهار کننده انتقال را در جوجه ها القا کرد. سی سال بعد مهم ترین آنتیژن های مهار کننده انتقال در مرحله جنسی پلاسمودیوم فالسیپاروم با استفاده از آنتی بادی های مونوکلونال و گامت ها و زیگوت های نشاندارکننده سطحی شناسایی شدند. بر روی این آنتی ژن ها RTS'S/AS01 و دیگر هدف های احتمالی تحقیقات وسیعی در حال انجام است. همچنین آنها دارای این مزیت هستند که ممکن است بر قابلیت بقا و یا باروری پشه اثر بگذارند و به این ترتیب با کاهش اندازه جمعیت ناقلین محلی یعنی عنصر اصلی انتقال پلاسمودیوم، میزان اثر بخشی واکسیناسیون را افزایش دهند. همچنین این واکسن ها بر روی گونه های مقاوم نیز موثرند و پراکنش آنها را کاهش می دهند. در نهایت تولید حجم وسیعی از پروتئین نوترکیب آنوفلس با فولدینگ مناسب با استفاده از یک سیستم بیان وابسته به حشره، از تولید آنتی ژن های پلاسمودیوم که معمولا دارای ساختار سه بعدی پیچیده ای می باشند راحت تر است (راماسری، ۱۹۹۶).

### نحوه عمل RTS'S/AS01

RTS'S/AS01 با کربوهیدرات هایی که تنها در پاتوژن یافت می شود، نقش های مهمی در سیستم ایمنی بازی می کنند. برای نمونه لکتین فعال کننده مسیر کمپلمان و لکتین متصل به مانوز. خیار دریایی پروتئینی موسوم به لکتین تولید

می کند که از گسترش انگل مالاریا پیشگیری و آن را از بین می برد (ژانگ و لوکر، ۲۰۱۲) این پروتئین از گسترش انگل ها در داخل معده حشرات پیشگیری می کند. محققان برای تحریک پشه ها به منظور تولید لکتین، قسمتی از ژن خیار دریایی که این پروتئین را تولید می کند با ژنی از پشه آنوفل ترکیب کردند. نتایج نشان داد که این ترکیبات علیه چندین انگلی که منجر به بیماری مالاریا می شوند بسیار مفید واقع می شود. زمانی که انگل های مالاریا در مرحله اووکنیت هستند، لکتین می تواند به عنوان سمی خطرناک در مقابل انگل مالاریا عمل کند. شاید یک نقش دیگر لکتین، اتصال به گلیکوپروتئین های سطح بیرونی سلول های پارازیتی باشد. از ریشه گیاه شبدر یک نوع لکتین بنام تریفولین ترشح می شود، که میل ترکیبی زیاد برای قندهای خاصی دارد. این لکتین فقط به ۲- دزوکسی گلوکز می چسبد. کیسول پلی ساکاریدی ریزوبیوم تریفولی از پلیمرهای ۲- دزوکسی گلوکز است، بنابراین باکتری به کمک کیسول خود به تار کشنده شبدر چسبیده و آگلوتینه می شود (پیرا و همکاران، ۲۰۱۲)

### نتیجه گیری

واکسن های RTS'S/AS01 قابلیت بقا و یا باروری پشه را کاهش داده و به این ترتیب با کاهش اندازه جمعیت ناقلین محلی یعنی عنصر اصلی انتقال پلاسمودیوم، میزان اثر بخشی واکسیناسیون را افزایش می دهند. همچنین این واکسن ها بر روی گونه های مقاوم نیز موثرند و پراکنش آنها را کاهش می دهند. در نهایت تولید حجم وسیعی از پروتئین نوترکیب آنوفل با فولدینگ مناسب با استفاده از یک سیستم بیان وابسته به حشره، از تولید آنتی ژن های پلاسمودیوم که دارای ساختار سه بعدی پیچیده ای می باشند راحت تر است. چند آنتی ژن مناسب که تاکنون برای واکسن های مهار کننده انتقال شناسایی شده اند عبارتند از تریپسین و RTS'S/AS01.

### منابع

1. Desowies, R.S. (1996). The history of malaria. Parasite. 4: 170-176.
2. Bruce-Chwatt, L.J. (1985). Diagnostic methods in malaria. Essential Malariology. 2: 113-119
3. Clozzi, M. (1994). Malaria and afrotropical ecosystem: impact of man-made environmental changes. Parassitologia. 36: 223-227
4. Shahabuddin, M. and Kaslow, D.C. (1994). Plasmodium: parasite chitinase and its role in malaria transmission. Exp Parasitol. 79: 85-88.