

- یگانه ظهیری^۱، رقیه قلی زاده دوران محله^۲، ندا مسرت^۳، شیوا احمدی شعار^۴، منصوره پاک نژادی^۵، حامد هادی زاده^۶
- ۱- دانشجوی پزشکی، عضو باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان دانشگاه آزاد اسلامی، زاهدان
- ۲- گروه علوم آزمایشگاهی، واحد زاهدان، دانشگاه آزاد اسلامی، زاهدان
- ۳- کارشناس ارشد ژنتیک دانشگاه سیستان بلوچستان
- ۴- گروه میکروبیولوژی، واحد شهرملکان، دانشگاه آزاد اسلامی، ملکان
- ۵- گروه میکروبیولوژی، واحد شهرقدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران
- ۶- دستیار تخصصی بیماری های داخلی، گروه داخلی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان

پیشرفت های بیوتکنولوژی ژن درمانی در پزشکی

حذف شده با پروتئین سالم انجام دهیم. با روش ژن درمانی ما قادر خواهیم بود بسیاری از ناهنجاری های ژنتیکی را درمان کنیم. این امر به وسیله قرار دادن ژن های سالم به جای ژن های معیوب در داخل بدن بیمار میسر شده است. فقط بیماری های ژنتیکی خاصی را می توان به وسیله جایگزینی ژنی اصلاح نمود. اولین کاندید ژن درمانی بیماری وراثتی کمبود آنزیم آدنوزین دی آمیناز (ADA) بود. این ناهنجاری ناشی از موتاسیون در ژن کدکننده ی آنزیم ADA است. وقتی که ADA تولید نمی شود سلول های دفاعی بدن توانایی خود را برای مقابله با آنتی ژن از دست می دهند.

با یک عمل ژن درمانی موفقیت آمیز روی کودکی که از این بیماری رنج می برد دانشمندان توانستند زندگی جدیدی به او بدهند یکی دیگر از نمونه های موفقیت آمیز ژن درمانی بیماری سیستمیک فیبروز است. ژن درمانی ثابت کرده است که در تئوری خیلی ساده تر از عمل است اشتیاق اولیه ما در مورد توانایی های استثنایی ژن درمانی به دلیل واقعیت ها و مشکلات این علم کم رنگ تر شده است سد های تکنیکی زیادی باید شکسته شوند تا ژن درمانی موفقیتی را کسب کند جایگزینی یک ژن به داخل سلول های مناسب، قرار دادن ژن در جایگاه مناسب در ژنوم آن سلول ها و وارد کردن آن ها به عمل و پاسخ به سیگنال های فیزیولوژیک سلولی همه از مشکلاتی هستند که امروزه باید حل شود (۱،۲).

دانشمندان در حال تحقیق در زمینه وارد کردن ژن ها به سایر سلول های بدن هستند. یکی از این نوع از روش های انتقال مستقیم ژن به درون سلول از طریق واکسیناسیون DNA است. در این روش به سلول هدف تزریقات متعدد

یکی از کاربردهای بیوتکنولوژی DNA نو ترکیب در پزشکی، ژن درمانی است. ژن درمانی به روش هایی گفته می شود که هدف آن درمان یک بیماری ارثی با انتقال نسخه صحیحی از ژن معیوب به فرد بیمار است. ژن درمانی در حال حاضر گسترش زیادی پیدا کرده است و شامل تلاش هایی است که برای درمان بیماری، یک ژن کلون شده را به بیمار وارد می کنند. هدف، بیان روش هایی که در ژن درمانی استفاده می شوند و پس از بررسی جنبه های اخلاقی آن می باشد. روش کار؛ مطالعه حاضر مروری، اطلاعات مربوط از پایگاه های Magiran و Pub med, Scopus, Google Scholer جستجو شد. تجزیه و تحلیل داده ها به صورت کیفی انجام شد.

یافته ها؛ هدف ژن درمانی جایگزینی ژن بیمار و معیوب با ژن سالم در بدن شخص بیمار است. ژن درمانی در حقیقت یک شکل از مهندسی ژنتیک است، ژنوم بیمار طوری دستکاری می شود که پروتئینی که قبلا نمی ساخت یا بد عمل می کرد ساخته شود و یا عمل آن اصلاح شود. اول ژن معیوب باید شناسایی و قسمت سالم آن باید کلون شود. سپس ژن سالم به صورت مناسبی باید به بیمار وارد شود. تحویل ژن یک قسمت بسیار حساس است.

نتیجه گیری؛ کاربرد های بالینی ژن درمانی در درمان بیماری های ارثی و کلون سازی ژن ها برای متوقف کردن چرخه ی عفونت عوامل بیماری زای انسان، مثل ویروس ایدز صورت گرفته است، اما بیشترین تمرکز تحقیقات جاری در زمینه ژن درمانی به پتانسیل استفاده از آن برای درمان سرطان برمی گردد.

بیوتکنولوژی یک رژیم صحیح و بهبود یافته ای است که روش های جدید درمانی را در دسترس ما قرار می دهد، و بدون این روش ها چنین درمان هایی موثر نمی بود. جدا کردن و کلونینگ یک ژن خاص به ما این توانایی را داده است که کارهای بیشتری را علاوه بر جایگزینی پروتئین معیوب و یا

DNA را وارد می کنند که بیمار قادر به ساخت پروتئین یا آنزیم مورد نظر نیست. از این روش برای درمان هموفیلی در سگ ها در دانشگاه کارولینای شمالی استفاده شده است. این سگ ها قادر به ساختن فاکتور ۸ نیستند و خون بدن آنها در مدت زمان طولانی تری بند می آید. وقتی که به این سگ ها تزریقات داخل ماهیچه ای مکرر DNA وارد شد که حاوی ژن فاکتور ۸ بود، سطح این فاکتور افزایش یافت اما به سطح طبیعی نرسید. هدف نگارش این مقاله بیان روش هایی که در ژن درمانی استفاده می شوند و بررسی جنبه های اخلاقی آن است (۳و۴).

ژن درمانی بیماری های ارثی

دو دیدگاه اساسی در مورد ژن درمانی وجود دارد: درمان سلول های زاینده و درمان سلول های سوماتیک. در درمان سلول های زاینده نسخه سالمی از ژن مورد نظر به سلول لقایی یا نسخه وارد می شود و دوباره در رحم مادر قرار داده می شود. در صورت موفقیت ژن در تمام سلول ها وجود خواهد داشت و بیان خواهد شد. درمان سلول های زاینده با ریز تزریق به درون یک سلول غیرجنسی (سوماتیک) و سپس انتقال هسته به درون تخمک انجام می شود و به صورت تئوری می تواند در درمان کلیه بیماری های ارثی به کار رود. درمان سلول های سوماتیک شامل دستکاری سلول هایی است که بعد از جدا سازی از موجود زنده ترانسفکت شده و سپس دوباره به بدن موجود زنده باز گردانده می شوند T و یا به صورت در محل (in situ) و بدون جدا کردن از موجود زنده ترانسفکت می شوند این روش به ویژه برای درمان بیماری های خونی ارثی مثل (هموفیلی و تالاسمی) کاربرد دارد. ژن های مورد نظر به سلول های بنیادی حاصل از مغز استخوان انتقال می یابد و آن ها به تمام انواع سلول های خونی تمایز می یابند. راهکار مورد استفاده شامل تهیه عصاره مغز استخوان که محتوی میلیارد ها سلول است و پس از ترانسفکت کردن آنها با حامل هایی از نوع رتروویروس ها و پس از بازگرداندن سلول ها به بدن بیمار می باشد. تکثیر و تمایز سلول های ترانسفکت شده موجب می شود که ژن کلون شده در تمام سلول های خون دیده شود مزیت حامل های رتروویروسی این است که میزان ترانسفکت کردن بسیار بالایی دارند. به طوری

که با استفاده از این حامل ها امکان ترانسفکت کردن بخش اعظمی از سلول های بنیادی وجود در عصاره مغز استخوان به وجود می آید (۵و۶).

درمان سلول های سوماتیک در درمان بیماری های ریوی مثل سیستیک فیبروزیس نیز قابل استفاده است. در این مورد از DNA کلون شده در حامل های آدنو ویروسی یا بسته بندی شده به صورت لیپوزوم استفاده می شود که از طریق افشانه به درون لوله تنفسی وارد شده و توسط سلول های اپی تللیال ریه جذب می شوند. البته بیان ژن تنها در طی چند هفته ادامه می یابد و بنابراین نتوانسته است ابزار درمانی موثر در درمان سیستیک فیبروزیس باشد در مورد بیماری های ژنتیکی بحث شده بیماری واسطه عدم تولید پروتئین فعال توسط ژن جهش یافته است بنابراین آنچه لازم است رساندن نسخه درستی از ژن به سلول است و حذف ژن معیوب نیز ضروری نیست اما این راهکار در مورد بیماری های ژنتیکی با ژن غالب مناسب نیست زیرا محصول ژن معیوب مسئول بروز بیماری است و بنابراین درمان باید هم شامل وارد کردن نسخه صحیح ژن و هم شامل حذف نسخه معیوب از سلول باشد. برای انجام این فرآیند به یک سیستم انتقال ژنی نیاز است که نو ترکیبی بیان ژن موجود روی حامل و ژن معیوب موجود روی کروموزوم را پیش ببرد و باعث شود که نسخه معیوب کروموزومی با ژن سالم جا به جا شود این روش بسیار پیچیده و نامطمئن است و به این دلیل جنبه کاربردی پیدا نکرده است (۷و۸).

ژن درمانی و سرطان

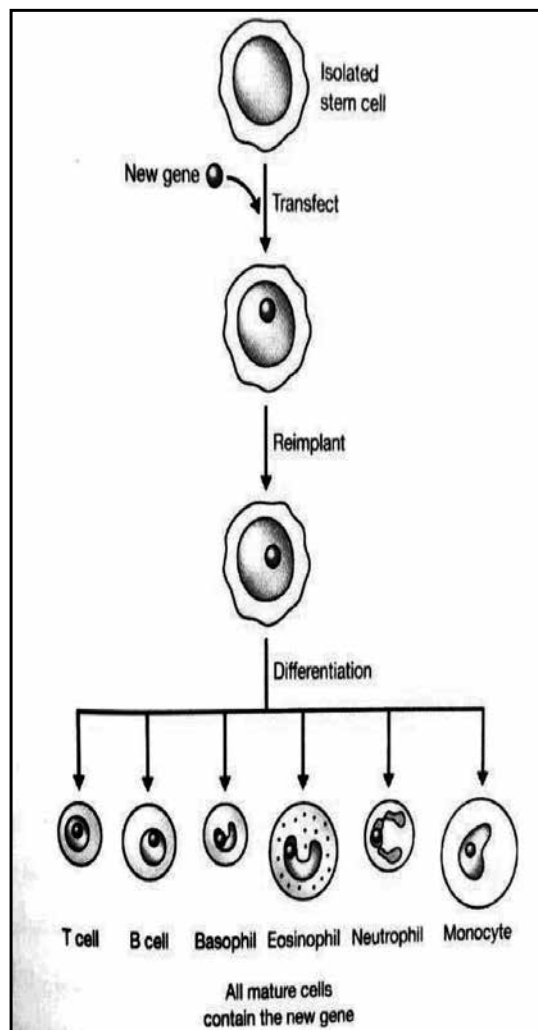
بیشترین تمرکز تحقیقات جاری در زمینه ژن درمانی به پتانسیل استفاده از آن برای درمان سرطان برمی گردد. بسیاری از سرطان ها در نتیجه فعال شدن یک انکوژن یا غیر فعال شدن ژنی که به طور معمول از ایجاد تومور جلوگیری می کند، ناشی می شوند. در هر دو مورد می توان از ژن درمانی برای درمان سرطان استفاده کرد. غیر فعال شدن یک ژن سرکوبگر توموری می تواند با ارائه نسخه صحیح آن به وسیله روش های ذکر شده برای بیماری های ارثی اصلاح شود. غیر فعال کردن یک انکوژن نیاز به روش ماهرانه تری دارد، زیرا هدف در اینجا جلوگیری از بیان انکوژن است نه جایگزین کردن آن با نسخه

است زیرا نیازی به دانستن جزئیات ژنتیکی یک بیماری خاص نیست. ژن های بسیاری که پروتئین های سمی تولید می کنند، شناسایی شده اند. همچنین مثال هایی از آنزیم های تبدیل کننده شکل غیر سمی دارو به شکل سمی وجود دارد. وارد کردن یکی از پروتئین های سمی یا آنزیم های مبدل به درون تومور می تواند موجب مرگ سلول های سرطانی بلافاصله یا پس از مصرف دارو شود. واضح است که عامل کلیدی این راهکار، هدف گیری ویژه سلول های سرطانی است تا موجب مرگ سلول های طبیعی نشود. برای دستیابی به چنین راهکاری یک سیستم دارورسانی بسیار دقیق مانند تزریق مستقیم به داخل سلول های توموری یا راهکاری که موجب بیان اختصاصی ژن در سلول های سرطانی شود، لازم است یک راه حل احتمالی قرار دادن ژن مورد نظر تحت کنترل پروموتور تلومراز است که فقط در سلول های سرطانی فعال است (۱۱، ۱۲ و ۳۴).

راه حل دیگر استفاده از ژن درمانی برای افزایش فرایند کشتن طبیعی سلول های سرطانی توسط سیستم ایمنی بیمار است. این امر شاید با استفاده از ژنی که موجب ساخته شدن آنتی ژن های قوی در سلول های سرطانی شده و شناسایی آنها را توسط سیستم ایمنی تسهیل نماید میسر شود. امروزه این راه حل ها به همراه راهکار های دیگری که بر پایه ژن درمانی نیستند، برای مبارزه با سرطان تحت آزمایش هستند (۱۵، ۱۴ و ۳۵).

ملاحظات اخلاقی ژن درمانی

آیا از ژن درمانی می توان برای درمان بیماری های انسان استفاده کرد؟ با وجود سوالات اخلاقی بسیاری که در این باره وجود دارند، پاسخ دادن به این سوال چندان راحت نیست. از طرفی، هیچ افق اطمینان بخشی از استفاده مداوم اسپری ژن سالم سیستمیک فیبروزیس به عنوان وسیله ای برای کنترل این بیماری وجود ندارد. بطور مشابه، اگر پیوند های مغز استخوان پذیرفته شود، در این صورت مشکل است که بتوان علیه روش ژن درمانی در تصحیح مشکلات خونی، از طریق ترانسفکت کردن سلول های بنیادی صحبت کرد. سرطان چنان بیماری مهلکی



شکل ۱- تمایز سلول بنیادی ترانسفکت شده موجب حضور ژن جدید در تمام سلول های خونی بالغ می شود.

نا معیوب. یک راه ممکن برای انجام این کار ارایه یک نسخه آنتی سنس ویژه انکوژن به تومور است. RNA آنتی سنس، نسخه معکوس و مکمل RNA نرمال است و می تواند مانع سنتز پروتئین کد شده توسط ژنی که RNA علیه آن ساخته شده است شود. این کار احتمالاً با هیبرید شدن با mRNA و تولید یک RNA دو رشته ای صورت می گیرد. این RNA دو رشته ای بلافاصله توسط ریبونوکلازها تجزیه شده و هدف، غیر فعال می شود (۹ و ۱۰).

یک روش جدید ژن درمانی سرطان وارد کردن ژنی است که بتواند به طور اختصاصی سلول های سرطانی را بکشد. این روش، ژن درمانی با خودکشی نامیده شده و به نظر روش بسیار موثر و عمومی برای درمان بسیاری از انواع سرطان ها

نتیجه گیری

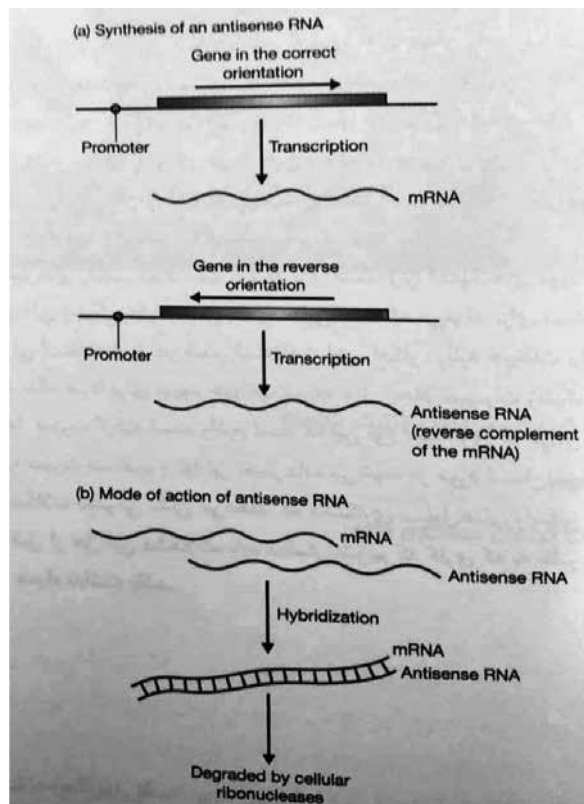
چند روند شناسایی شده عبارتند از:

۱- پیشرفت های مهم در فناوری ژن درمانی مهارپذیر، تنظیم دقیق نمایش ترانس ژن درمانی را در طی دوره ی چند ماهه تا چند ساله امکان پذیر کرده است. خصوصیات این فناوری عبارت است از: نمایش ترانس ژنی با مبنای پایین، نسبت بالای تحریک سازی و کنترل از طریق مولکول های کوچک پایدار در سلول که از طریق دهان به بدن می رسند. عملی بودن این فناوری در یک سری از پژوهش های عالی ثابت شده است. در این پژوهش ها از حاملان ویروس ترکیبی و مرتبط با آدنو (rAAV) استفاده می شود. این پیشرفت های مهم در ژن درمانی منحصر به فرد هستند؛ یعنی چنین سطوح پایداری و کنترل دارو برای بیش تر مواد دارویی سنتی (مولکول های کوچک، پپتیدها و پروتئین ها) وجود ندارد (۲۰۱۹ و ۲۰۲۰).

۲- پیشرفت های بزرگی در زمینه ی مراقبت از بیماران در راه است. برای دیابت و بیماری های دیگر غدد درون ریز، استاندارد مراقبتی از "چند تزریق در روز" به "یک تزریق ژن درمانی و خوردن چند قرص در روز" تغییر می کند. دارو درمانی را می توان برای افراد اختصاصی کرد. به عبارت دیگر اگر الگوی بیماری افراد تعیین شود (مثلاً از طریق فناوری حسگرها)، بیمار و پزشک می توانند با هم همکاری کنند تا یک رژیم دارویی منطقی و اختصاصی از مولکول های کوچک به دست آید که موجب انطباق پذیری و کنترل بیش تر بیماری شود، و همین انطباق و کنترل بیش تر هزینه ی بیماری را برای جامعه ی کاهش می دهد (۲۰۲۲، ۲۱ و ۳۲).

۳- با توجه به در دسترس بودن مجموعه ی مولکول های کوچک پایدار در سلول، ژن درمانی تبدیل به سیستم هم زمان تأیید و تهیه ی دارو می شود، که در آن درمان یک جایگزین دارویی پایدار است. این دارو را می توان سال ها پس از اولین تزریق به بافت هایی نظیر عضلات اسکلتی مهار کرد. این مجموعه ی کوچک مولکولی عنصر مهم و اصلی گنجینه ی علمی هر شرکت محسوب می شود (۲۴، ۲۳ و ۳۱).

۴- با توجه به پیچیدگی زیستی و فنی فناوری آنالیز ژنوم، به یک فضای میان رشته ای نیاز داریم تا پایه ی



شکل ۲- RNA آنتی سنس می تواند برای خاموش کردن یک mRNA سلولی بکار رود.

است که عدم استفاده از رژیم های درمانی موثر بنا به دلایل اخلاقی، خود موضوعی غیر اخلاقی محسوب می شود. درمان سلول های زایشی مورد بسیار مشکل تری است، زیرا تکنیک های مورد استفاده برای تصحیح زایشی بیماری های ژنتیکی دقیقاً همان تکنیک هایی است که می تواند برای دستکاری های ژنتیکی دیگر ویژگی های ارثی استفاده شود. در ضمن استفاده از این راهکار درباره حیوانات برای درمان بیماری های ژنتیکی نبوده، بلکه صرفاً برای بهبود حیوانات مزرعه مثل ایجاد تغییرات ژنتیکی برای کاهش مقدار چربی در آنها صورت گرفته است. واضح است که این دستکاری که در آن محتوای ژنتیکی یک موجود زنده به صورت مستقیم و توارثی تغییر داده می شود، در مورد انسان قابل قبول است. در حال حاضر مشکلات تکنیکی نشان می دهند که دستکاری سلول های زایشی در مورد انسان بسیار مشکل است. قبل از حل این مشکلات، باید مطمئن شویم که کاری که بنظر خوب می آید، آسیب خطرناکتری همراه نداشته باشد (۱۸ و ۱۷).

Silence 11-4:(1)1;2010.

4. Nishitsuji H, Ikeda T, Miyoshi H, Ohashi T, Kannagi M, Masuda T. Expression of small hairpin RNA by lentivirus-based vector confers efficient and stable gene-suppression of HIV1- on human cells including primary non-dividing cells. Microb

Infect 85-76:(1)6;2004.

5. Yang Y, Meng H, Peng Q, Yang X, Gan R, Zhao L, et al. Downregulation of microRNA21- expression restrains non-small cell lung cancer cell proliferation and migration through upregulation of programmed cell death 4. Cancer Gene Ther 2014;In press.

6. Calin GA, Croce CM. MicroRNA signatures in human cancers. Nat Rev Cancer 66-857:(11)6;2006.

7. Urnov FD, Rebar EJ, Holmes MC, Zhang HS, Gregory PD. Genome editing with engineered zinc finger nucleases. Nat Rev Genet 46-636:(9)11;2010.

8. Sun H, Zhu X, Lu PY, Rosato RR, Tan W, Zu Y. Oligonucleotide aptamers: New tools for targeted cancer therapy. Mol Ther Nucleic Acids 8-182 :(1)3;2014.

9. Huang W, Zheng W, Liu S, Zeng W, Levitt RC, Candiotti KA, et al. HSV-mediated p55TNFSR reduces neuropathic pain induced by HIV gp120 in rats through CXCR4 activity. Gene Ther 36-328:(3)21;2014.

10. Thomas CE, Ehrhardt A, Kay MA. Progress and problems with the use of viral vectors for gene therapy. Nat Rev Genet 58-346:(5)4;2003.

11. Berg LJ. The "bubble boy" paradox: an answer that led to a question. J Immunol 6-5815:(9)181;2008.

12. Blaese RM, Culver KW, Miller A, Carter CS, Fleisher T, Clerici M, et al. T lymphocyte-directed gene therapy for ADA-SCID: initial trial results after 4 years. Science 80-475:(5235)270;1995.

13. Takefman D, Bryan W. The state of gene therapies: The FDA perspective. Mol Ther 877:(5)20;2012.

14. Herzog RW, Cao O, Srivastava A. Two decades of clinical gene therapy – success is finally mounting. Discov med 15 .11-105:(45)9;2010. Melchiorri D, Pani L, Gasparini P, Cossu G, Ancans J, Borg JJ, et al. Regulatory evaluation of Glybera in Europe two committees, one mission. Nat Rev Drug Discov 24-719:(9)12;2013.

15. Ross JS YF, Kallakury BV, Sheehan CE, Ambros RA, Muraca PJ. HER2-/neu oncogene amplification by fluorescence in situ hybridization in epithelial tumors of the ovary. Am J Clin Path 5 :111 ;1999.

16. Bellacosa A DFD, Godwin AK, Bell DW, Cheng JQ, Altomare DA, Wan M, Dubeau L, Scambia G, Masciullo V. Molecular alterations of the AKT2 oncogene in ovarian and breast carcinomas. Int J Cancer 5 :64 ;1995.

17. Rocco JW SD. P16 (MTS1-/CDKN2/INK4a) in cancer progression. Exp Cell Res 13 :264 ;2001.

18. Noori-Daloi MR, Sharifi M. The repression of transcription process by the occurrence of DNA methylation. Roshd J 30-39 :(48)15 ;(1380)2001. [In Persian]

علمی علوم پایه و ساخت دارو را ارتقا دهیم. باید از موانع مهم مربوط به فناوری عبور کنیم، ولی مزیت های بالقوه ی آن فراوانند؛ البته اگر ژن درمانی مهارپذیر بتواند پتانسیل خود را به عنوان سیستم تأیید و رساندن دارو به واقعیت برساند. شاید روزی کشف و تهیه ی دارو به کاری عادی تبدیل شود (کمابیش به یک روند کامل و آماده تبدیل شود) و گذرهای سریع و مؤثر از پرسش های پایگاه های اطلاعاتی به جداسازی معقول cDNA و رفتن به مرحله ی تأیید قبل از آزمایش های کلینیکی و سپس رفتن به مرحله ی تأیید دارو در آزمایش های کلینیکی انسانی به وجه مشخصه ی آن تبدیل شود. از آنجایی که "ماده ی دارویی (drug substance) عموماً شامل ژن ترکیبی و کنترل کننده های کوچک مولکولی است، بسیاری از جنبه های فرمول سازی، ساخت، انتشار زیستی و سمی بودن دارو قبل از شروع یک برنامه ی جدید تهیه ی دارو معلوم می شود. بدیهی است شرکت ها نسبت به شرایط فعلی در محیط های بسیار کم خطرتری کار می کنند و این محیط امکان کشف طیف وسیع تری از داروها را فراهم می کند (۲۶، ۲۵ و ۳۰).

۵- نکته ی آخر این که، رویای ما رسیدن به آن گونه صنعت داروسازی است که دارای ابزارهای فنی و انگیزه های اقتصادی برای بهره برداری کامل از قدرت ژنومیک باشد. به خصوص رویای ما این است که در عرض ۱۰ تا ۱۵ سال بخش خصوصی دارای مسیری از کشف و تهیه ی دارو باشد که بسیار به صرفه تر (کامل تر، آماده تر و کم خطرتر) از شرایط فعلی باشد و بتواند بهره ی کاملی از چشم انداز توالی ژنوم انسانی ببرد (شرکت های داروسازی ریسک های حساب شده ای را انجام دهند). اگر این رویا محقق شود، می توان تصور کرد که انتقال این روند فناوری از کشورهای پیشرفته به کشورهای توسعه نیافته برای اولین بار مورد تشویق و حمایت قرار می گیرد (۲۷ و ۲۸ و ۲۹).

منابع:

1. Strachan T, Read AP. Gene therapy and other molecular genetic-based therapeutic approaches. Human Molecular Genetics. 2nd ed. New York: Wiley-Liss; 1999. p. 539-515.
2. Patil PM, Chaudhari PD, Megha S, Duragkar NJ. A review article on Gene therapy. Int J Genet 9-74:(1)4;2012.
3. Zhou J, Rossi JJ. Aptamer-targeted cell-specific RNA interference.