الفصل السابع

العلاج الجينى للأمراض أحادية الجين

obeikandl.com

الأمراض أحادية الجين هى الأمراض الناتجة عن عيب فى جين وحيد وهى مجال واضح للعلاج الجينى وقد أمكن حتى الآن التعرف على ما يقرب من ٤ آلاف مرض أحادى الجين. وقد أثبتت البحوث الحديثة أن العلاج الجينى يمكن أن يكون له دور هام كذلك فى التحكم فى الأمراض البشرية التى لها أساس من جينات متعددة والتى تتأثر بفعل العوامل البيئية.

ما هو العلاج الجينى.

هو تحوير وراثى لخلايا المريض بهدف شفاء أو علاج الأمراض، ويستخدم مصطلح العلاج الجينى بمعناه الدقيق لعلاج الأمراض الوراثية الخطيرة وليس لأن يستطيع الوالدان طلب أطفال بخصائص معينة، مثل القدرة على أداء الرياضات أو تغير صفة وراثية بشرية وهو أمر غير محتمل التوصل إليه.

والعلاج الجينى بدأ تجربته فى الإنسان منذ ١٥ عاماً وقد حقق بعض النائج المرية فى علاج مرض التليف الحوصلى ومرض نقص المناعة الشديد المركب والمرض العائلى لزيادة الكولسترول. ولكن مازال فى بدايته ولم يستطع العلماء السيطرة على هذه التقنية فهى تحتاج على دراسات وتجارب عديدة حتى يمكن شيوع تطبيقها بأمان.

والعلاج الجينى ينقسم إلى نوعين:

- **العلاج الجينى للخلايا الجسدية Gene therapy of somatic cells** وهو عبارة عن تحوير وراثى للخلايا الجسدية لا يؤثر إلا فى الفرد المعنى وهو العلاج المقبول أخلاقياً. والفوائد المباشرة للعلاج الجينى الناجح للخلايا الجسدية قد تكون أمراً واضحا. أما تأثيرات هذا العلاج على المدى الطويل فهى مما قد يصعب التكهن به. ومن الممكن على سبيل المثال أن خطأ يحدث فى إدخال جينات جديدة داخل الخلية قد يؤدى إلى تحول هذه الخلية إلى خلية سرطانية مع عدم ظهور السرطان إلا بعد أعوام تالية. فلذلك يجب الوضع فى

الاعتبار احتمال حدوث مخاطر صحية على المدى الطويل بسبب التدخل فى بناء الخلايا الجسدية. لذلك يفضل العلماء العلاج الجينى الذى يطلق عليه الإحلال أو الاستبدال (Replacementgene) حيث يتم استبدال الجين المعيب بالحين السليم دون إضافة جينات بعينها إلى طقم الجينوم. وقد حدد العلماء شروطاً معينة عند اللجوء إلى تقنية العلاج الجينى وهى:

- إذا كان المريض لا يستجيب للعلاج الروتينى أو الدوائى وحياته مهددة بالخطر.
- أن يكون الجين المسئول عن المرض قد تم دراسته ومعرفة آلية عمله وتم عزله وإكثاره معمليا (Cloning).
- ألا يكون الجين المسبب للمرض ذا آلية معقدة يصعب السيطرة عليه.
- يجب أن يتم إدخاله أو إيلاجه فى الموقع المناسب فى الجينوم وألا يتسبب فى تنشيط الجينات المسرطنة.

- **العلاج الجينى للخلايا التناسلية (الجنسية):**

يتطلب هذا العلاج التأثير فى الجينات الموجودة فى الخلايا التناسلية ولكن هذا النوع من العلاج للخط الجرثومى غير معروف العواقب وذلك لقصر معرفة وجود جينات الأمراض وسبب استمرارها وبقائها فى عشائر معينة من غيرها وربما تؤدى محاولات استئصال هذه الجينات إلى عواقب تكون فى غير مصلحة هذه العشائر.

فالجينات التى تسبب ضرراً فى بيئات معينة قد تكون لها ميزة تطورية فى بيئات أخرى. لذلك يجب الفهم الكامل للعلاقة بين الأمراض ومفعول الجينات.

وفى هذا الصدد يجب التخلى عن إجراء الأبحاث التى تتم على الأجنة ويمكن استخدام تقنيات خاصة يمكن تطبيقها لمنع الجبن المسبب للمرض من أن يورث وذلك باستخدام تشخيص يسمى "ما قبل الغرس" على أن يتم اختيار الأجنة السليمة وحدها للغرس فى جدار الرحم وهذا لا يتطلب تدخلاً مباشراً فى جينات الجنين وبالتالى يمكن تجنب مخاطر الطفرات الوراثية التى يسببها إدخال الجين.

وقد يكون هناك قلة من المتزوجين لن يمكنهم الاستفادة من تشخيص ما قبل الغرس إذا كان هناك فردان مصابان بمرض متنح مثل التليف الحوصلى فإن أطفالهما سوف يصابون بالمرض لأن كل والد ليس لديه أليلات طبيعية يمررها لهم ورغماً عن هذا لا نستطيع أن نبرر

obeikandi.com

العلاج الجينى للخلايا الجرثومية فى هذه المواقف وذلك لأن الخبرة اللازمة لذلك لم تتطور بما يكفى لتحاشى الخطورة.

وعامة هنا ما يربو على ٧٠٠٠ مرض وراثى فى الإنسان سواء أحادية الجين أو متعددة الجينات ولحسن الحظ فإن بعض هذه الأمراض نادرة جداً ولكن البعض الآخر واسع الانتشار فمثلاً هناك فرد مصاب بمرض التليف الحوصلى من بين ٢٥ فرداً من سكان شمال أوروبا الأصليين وكذلك أمارض فقر الدم أو الأنيميا، الوهن العضلى الوراثى وزيادة الكولوسترول وأمراض أخرى يعانى منها الملايين من الناس وقد أدت الثورة الهائلة فى الهندسة الوراثية إلى التعرف على الجين المعيب المسئول عن مرض التليف الحوصلى والتعرف عليه فى عام ١٩٨٧ وقد كللت محاولات إدخال الجين السليم فى المرضى بالنجاح منذ عام ١٩٩٤ ومنها ظهر ما يسمى بالعلاج الجينى كما أسلفنا وهى إمكانية إزالة الجينات المعيبة وإحلال الجينات السليمة مكانها أو إصلاحها وذلك بإضافة جين سليم جديد.

ويمكن إيجاز خطوات العلاج الجينى كالآتى:

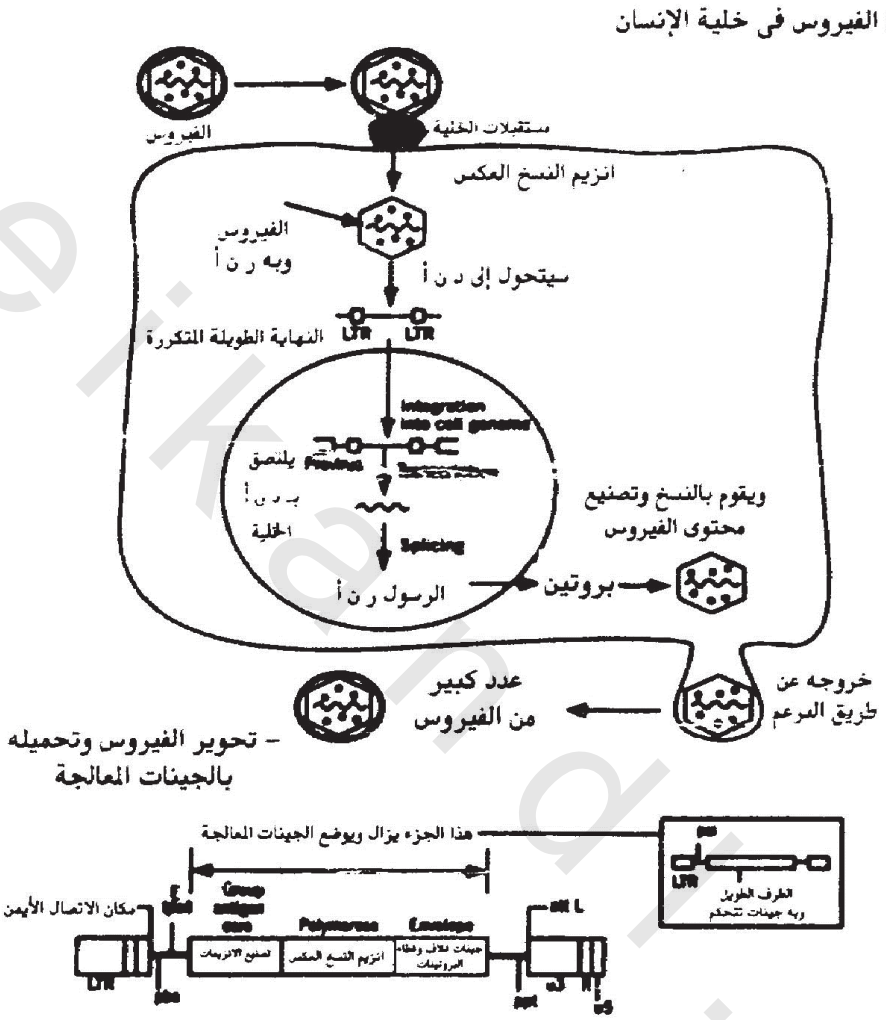
١ – عزل الجين السليم المطلوب إيلاجه أو إدخاله خاصة فى الأمراض الوراثية أحادية الجين وكذلك الجينات المضادة للسرطان، أو جين واحد أحد منتجاته هامة لتنشيط المناعة.

٢ – التوصيل السليم (توصيل الجين إلى النسيج المستهدف) Delivery and targeting to the appropriate tissue يمكن فصل بعض الخلايا المناسبة والسليمة من المريض نفسه ثم إدخال الجين السليم إلى داخل الخلايا فى المعمل ثم إيلاج هذه الخلايا إلى جسم المريض مرة أخرى وتسمى هذه الطريقة Autologous ex vive approach وهذه الطريقة يفضل استخدامها وذلك لأن الخلايا المحورة من نفس خلايا المريض لا تتعرض لرفض الجسم وبذلك يمكن الحفاظ على الجين الجديد دون أن يتعرض للتدمير بالجسم.

ومن الخلايا المستعملة لهذه الطريقة:

الخلايا الليفية (Fibroblasts)، أو خلايا الجلد، خلايا الدم مثل الخلايا الليمفاوية نوع (T) ونوع (b) وكذلك الماكروفاج (الخلايا البلعمية أو الخلايا الآكولة الكبيرة) كما أن هذه الخلايا سهلة العدوى بالفيروسات المحملة بالجين المراد إدخاله (وهذه الفيروسات يعاد تركيبها بطريقة خاصة بحيث يتم حذف الجينات التى تؤثر على جسم الإنسان ويركب عليها الجين أو الجينات المراد إدخالها إلى خلايا الإنسان، وتسمى هذه الفيروسات "الفيروسات الارتجاعية" المحورة (Retroviral constructs) أو يمكن استخدام نوع آخر من الفيروسات تسمى

الفيروسات الغدية (Adeno viruses). وتستخدم هذه الطريقة لإعادة نمو الجلد فى المرضى الذين يعانون الحروق الشديدة.



شكل (٣٢) : إدخال الجين باستخدام الفيروسات الارتجاعية إلى الخلايا

obeikandi.com

كذلك تستخدم خلايا الكبد (Hepatocytes) لعلاج قصور أمراض الكبد مثل الهيموفيليا (سيولة الدم الوراثى)، نقص إنتاج الكلوسترول وكذلك خلايا الشبكية لعلاج المرضى المرض الوراثى تهتك أو تحلل الشبكية (Retinal degeneration) بإدخال الجين السليم عن طريقها.

وإذا تعذر الحصول على الخلايا من الإنسان المريض نفسه فإنه يمكن استخدام نوع معين من الخلايا التى لا تحتوى على الجزيئات الطاردة التى يرفضها الجسم عن طريق نظام التوافق النسيجى (MHC) وهى خلايا كيس المح المأخوذة من الجنين البشرى.

وعند استخدام الفيروسات الخاصة بإدحال الجنين المطلوب فإنها تتكاثر فى الأنسجة وتدمج هذا الجين مع جينات الخلية البشرية وفى الوقت نفسه لا تحدث هذه الفيروسات أى أمراض أو آثار ضارة بالإنسان.

كذلك يمكن إدخال الجين المرغوب إلى خلايا الجسم باستخدام بعض النظم غير الفيروسية والمخلقة فى المعمل مثل الكاتيونات الدهنية أو الكبسولات متناهية الصغر المصنوعة من الليبيدات أو البوليمرات أو إدخال الجين مباشرة.

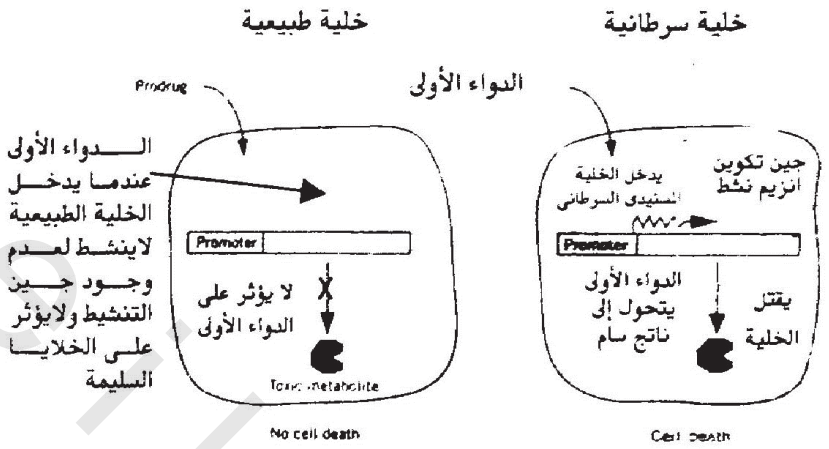
٣ – ضرورة التحكم والسيطرة على أداء الجين الجديد بعد إدخاله (Controlled expression of therapeutic gene)

الفيروسات الارتجاعية والموجهة

يمكن استخدام الفيروسات كحوامل للجينات المرغوب إدخالها فى خلايا أنسجة معينة (viral verctors) ومن أهم الفيروسات ما يسمى الفيروسات الارتجاعية (Retroviruses) وهذه الفيروسات يمكن إعادة صياغتها (وصياغة الحمض النووى الخاص بها وإزالة أجزاء معينة منه ثم إدخال الجين المرغوب ببقايا الحمض النووى للفيروس) ومن خصائص هذا الفيروس أنه بعد دخوله للخلية فإن حمضه النووى يرتبط ويندمج بالحمض النووى للخلية (كجزى منها ويبدأ ف ى أداء وظيفته والتعبير عن البروتين الخاص به) وفى الوقت نفسه لا يتسبب للإنسان بأى أضرار (شكل ٣٢).

وقد استخدمت هذه الطريقة أيضاً فى علاج المرضى المصابين بأورام المخ (Glioblastomas). وذلك بإدخال جين معين (هذا الجين مسئول عن إنتاج إنزيم ثايميدين كيناز) عن طريق الفيروس المعد لذلك. وعندما يدخل هذا الجين إلى الخلايا المسرطنة فيدمرها عندما ينتج هذا الجين الإنزيم أو الأجسام المناعية التى تدمر الخلايا السرطانية فقط وهذه

الطريقة تعرف باسم: Antibody – directed enzyme prodru therapy "العلاج الفيروسى الموجه والأجسام المضادة".



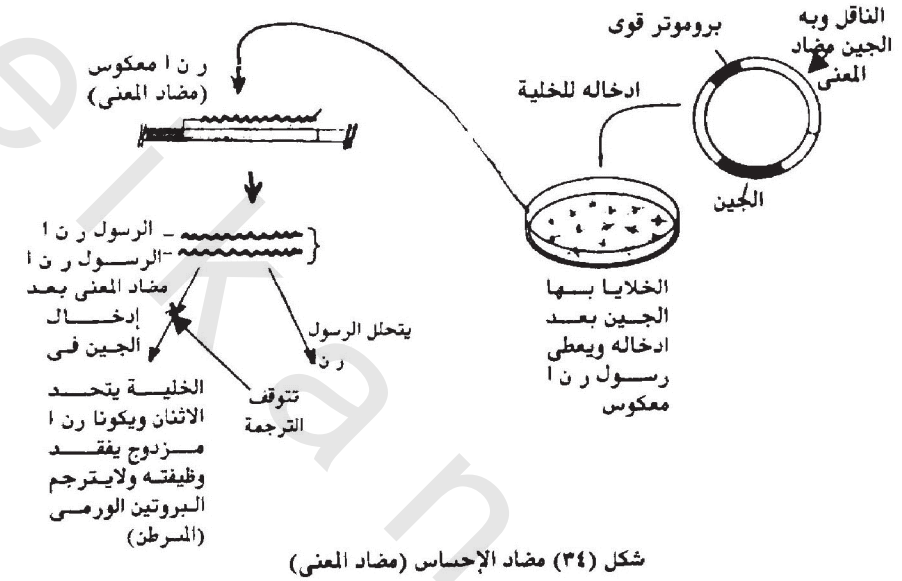
شكل (٣٣) : العلاج الفيروس الإنزيمى الموجه Virally directed enzyme Prodrug

ويتم وصل الجين المرغوب بمبتدئ من جين سرطانى ويتم إدخال إلى الخلية عن طريق الفيروس الرجعى وهذا الجين يشفر لإنتاج إنزيم يحول المركب ا لدوائى الأولى إلى نواتج ايضية سامة ولكن المركب الأولى غير سام ولكن نواتجه هى سامة للخلية وحيث إن الخلايا السرطانية هى التى تنتج الإنزيم فإنها تهلك.

مضاد الإحساس – Antisense (شكل ٣٤):

هو (ر ن أ) أو (د ن أ) وهو عبارة عن تتابع معكوس للجين ومكمل للتشفير (الإحساس) لجديلة من الجين وبالتالى يكون مكملاً للمرسال m-RNA الذى ينتجه الجين. وهذه الطريقة تعتبر من الطرق القوية لتعديل النشاط الجينى. والمهندس الوراثى يستطيع أن يدخل جينًا واحدًا يقوم بإنتاج مضاد الإحساس ر ن أ فى خلايا المريض وسوف يقوم هذا المضاد بمنع المرسال m-RNA من أى نسخ لهذا الجين. والطريقة التى يعمل بها مضاد الإحساس لا تزال غامضة ولكن الريبوزومات لا تستطيع أن تستخدم الـ ر ن أ المزدوج فى صنع البروتين فمضاد الريبوزومات لا تستطيع أن تستخدم الـ ر ن أ المزدوج فى صنع البروتين فمضاد الإحساس يربط m-RNA ويعمل على إيقاف نشاطه.

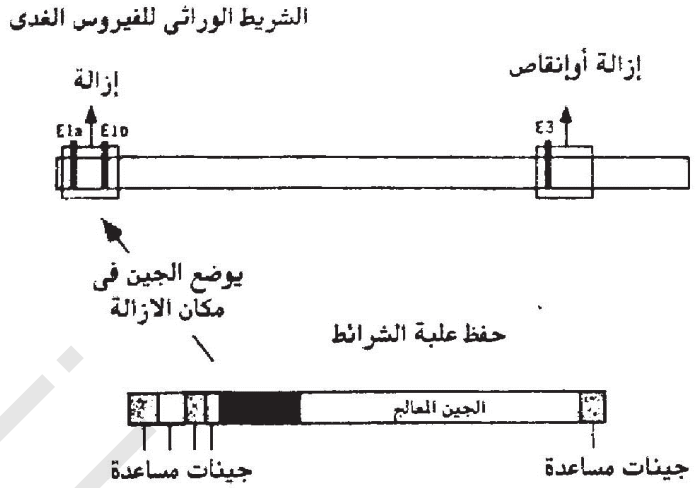
وقد اكتشف مضاد الإحساس كطريقة تقوم من خلال بعض البكتريا بتنظيم نشاط جيناتها بطريقة طبيعية. وقد أنتجت بعض الشركات مضادات الإحساس ومشتقاتها لإيقاف تأثير جين معين دون التأثير على الجينات الأخرى. ويستخدم بصفة خاصة فى إيقاف تأثير الجينات الورمية (Oncogenes) حيث يقوم بإبطاء أو منع تطور السرطان. كذلك فمضادات الإحساس تسطيع وقف تأثير الجينات الفيروسية.



شكل (٣٤) مضاد الإحساس (مضاد المعنى)

الفيروسات الغدية:

وتستخدم الفيروسات الغدية شكل (٣٥) (فيروسات الادينو – Adeno viruses) فى علاج بعض الأمراض الوراثية فى الأجهزة المختلفة من الجسم الإنسانى (مثل الجهاز التنفسى – الجهاز الهضمى والكبد – الجهاز العضلى – عضلة القلب – أنسجة المفاصل – الخلايا الطلائية للثدى – المخ والجهاز العصبى) وهذه الفيروسات لها حمض نووى د ن أ وهى من فيروسات البرد الخفيفة ويعمل داخل نواة خلية الإنسان بصف ة منفصلة عنها حيث إنه لا يلتصق حمضه النووية بالنواة ولكنه يعمل داخلها. ويتم تعديل أو صياغة هذا الفيروس بإزالة أجزاء معينة من حمضه النووى وإحلال الجين المرغوب إدخاله للخلية بدلاً من هذه الأجزاء حسب نوع المرض والخلايا ويتم إدخاله لخلايا الأعضاء التى بها العيوب الوراثية لإصلاحها (شكل ٣٥).



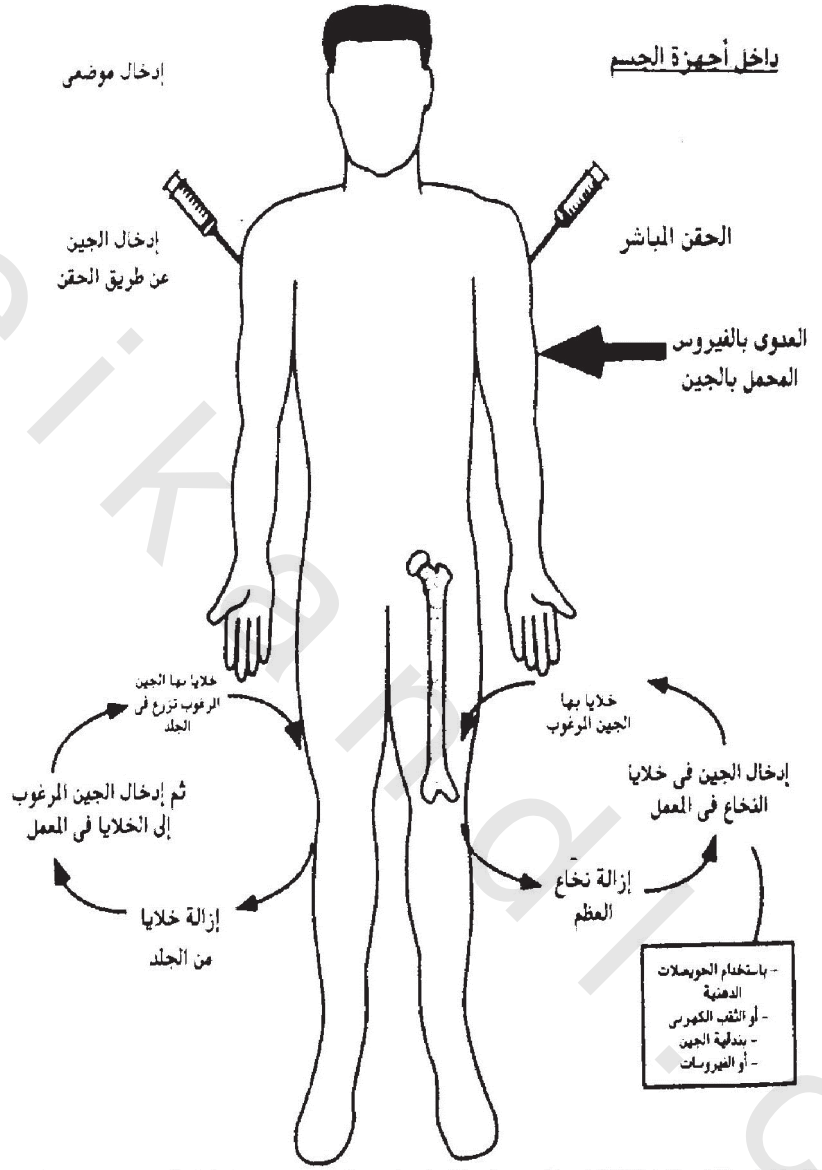
شكل (٣٥) فيروس الادينو المحور (المعاد صياغته) لكى يستطيع أن يحمل الجين المعالج والمرغوب إدخاله إلى الخلية. ويتم ذلك بإزالة بعض المقاطع من الـ د ن أ الخاص به فى النقاط المشار إليها بالشكل Ela, Elb, E3 ثم يتم وصل ما يسمى بالشريط المبرمج (Cassette) الذى يحتوى على الجين المعالج مع بعض التتابعات المعينة والتى تساعد هذا الجين عن التعبير عن نفسه (أداء وظيفته للخلية).

obeikandl.com

أهم الأمراض الوراثية الشائعة التى يمكن أن تعالج بالجينات

المرض	موقعه على الكروموسوم	الجين المعيب
- مرض الأنيميا المنجلية Sickle cell disease	11p	سلسلة الهيموجلوبين نوع بيتا
- مرض التليف الحوصلي Cystic Fibrosis	7	شريط ATP (ABC) وهو نوع من البروتين
- هينتجون Huntington's disease	4	تم التعرف عليه ولكن وظيفته غير معروفة
- وهن ديوكين العضلي Duchenne's muscular dystrophy	Xq	الديستروفين Dystrophin
- الفينيل كيتون البولى Phenl Ketouria mental retardation	1q	انزيم الفينيل ألانين هيدروكسيلاز Hypoxanthineguanine-phospho ribosyl transferase
- مرض ليش نهان Lesch-Nyhan syndrome	15q	Glucocerebrosidase
- مرض جوشر Gaucher's disease	_	سلسلة ألفا فى إنزيم الليبوسوم هيكسوز أمينيداز أ Alphe chain lysosmal hexosaminidase A
- مرض تاى Tay-Sach's disease	_	تراكم الجاكتلوز
- مرض نقص الجالاكتوز Galctosemia	20q 13.11	تراكم الأحماض الأمينية والكيتونية
- نقص الادنيوسين دى امیناز Ademosine deaminase (ADA) deficiency	14p	اديتنوسين دى امیناز
- الثاليثميا T halassemias		سلسلة بيتا للهيموجلوبين
- نقص مضاد التربسين – ١ Alpha 1 – antitrypsin deficiency		ألفا – ١ انتى تربسين Alpha 1 -antibryspsin

obeikandl.com



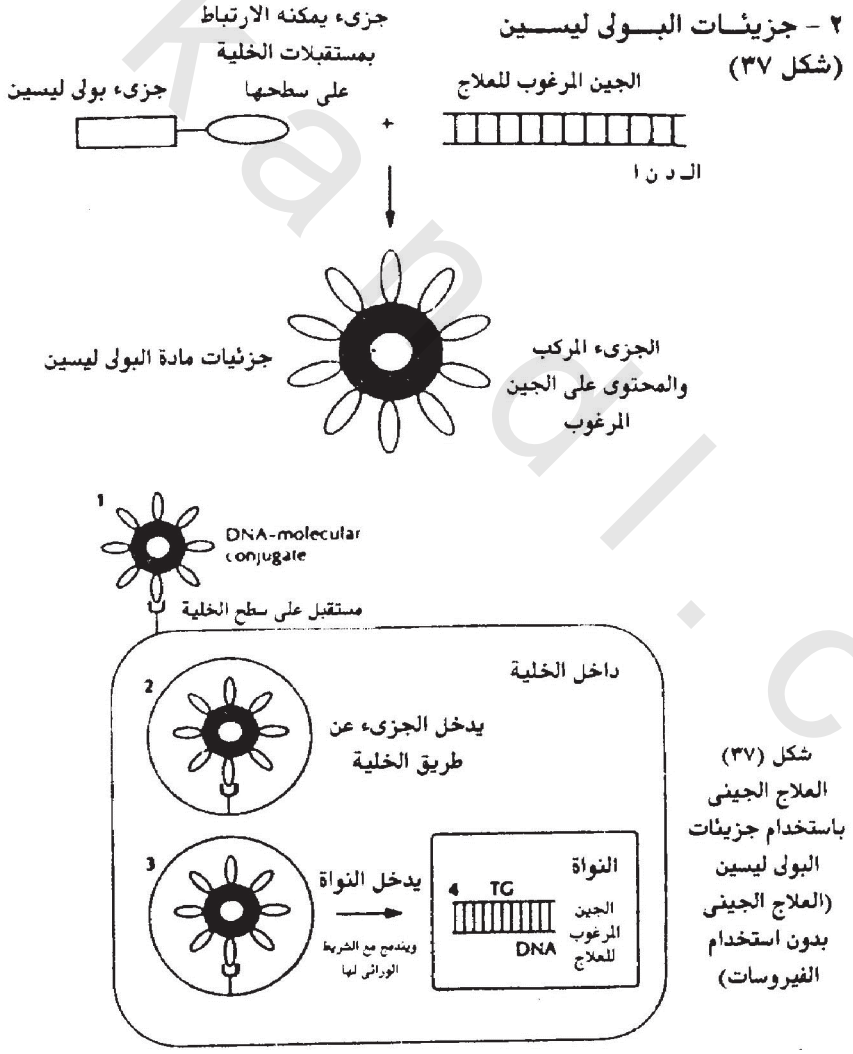
شكل (٣٦) : الطرق المختلفة للعلاج الجينى فى الإنسان العلاج الجينى يمكن إعطاؤه فى بعض الحالات عن طريق الحقن العضلى، خلايا الجلد، المفاصل، أو الحقن الموجه فى الوريد أو إدخاله فى نخاع العظم

العلاج الجينى بدون استخدام الفيروسات :

العلاج الجينى بدون استخدام الفيروسات:

١ – الليبوسومات (Liposomes):

وهى تراكيب كروية الشكل لا يتعدى قطرها بضع نانوميترات (النانوميتر = ١٠$^{-٨}$ من المتر) ويتكون جدارها من جزيئات الدهون وداخلها سائل. ويستخدمها العلماء لحمل الجين المراد إدخاله للخلية ويتم دخوله إلى الخلية عن طريق التحام جدارها بالغشاء الخلوى للخلية وبذلك يدخل الجين الذى تحمله إلى سيتوبلازم الخلية. وقد استخدمت هذه الطريقة لعلاج مرض التليف الحوصلى. وتحضر هذه الليبوسومات من معلق من الدهون الفسفورية فى وسط مائى ثم تعرض إلى موجات صوتية خاصة فتتكون هذه الليبوسومات.



شكل (٣٧)
العلاج الجينى
باستخدام جزيئات
البولى ليسين
(العلاج الجينى
بدون استخدام
الفيروسات)

obeikandl.com

أهم المشاكل أو العقبات التى تعترض العلاج الجينى:

- كيفية إيلاج أو إدخال هذه المعلومات أو الجينات الوراثية إلى الخلايا المعيبة.
- ليس مؤكداً أن هذا الجين الجين الذى تم إدخاله سوف يعبر عن نفسه أو يؤدى الوظيفة المطلوبة منه.
- الجينات الجديدة (المضافة) يتعين عليها أن تعبر عن نفسها (تؤدى الوظيفة المرجوة) بصورة تتمشى مع التوازن الأيضى الدقيق داخل الخلية ويجب أن يرتبط هذا الجين بوجود جين آخر ينظم عمله ويعرف بالجين المنظم.

obeikandl.com