

استفاده از نانو حامل‌های غیر ویروسی برای ژن رسانی (مرور سیستماتیک)

سعیده عسکریان^{۱*}، سمانه سردارآبادی^۲، مریم فکری^۳

۱. گروه بیوتکنولوژی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه، تربت حیدریه، ایران

۲. مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه، تربت حیدریه، ایران

۳. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه، تربت حیدریه، ایران

چکیده

پیش زمینه: از چالش‌های مهم در ژن درمانی، فقدان حاملان ژن رسانی کارآمد می‌باشد. نانو حامل‌ها به دو دسته ویروسی و غیر ویروسی تقسیم می‌شوند. با وجود بازدهی انتقال بالا و ژن رسانی سریع توسط حاملان ویروسی، استفاده از آن‌ها به دلیل ظرفیت پایین انتقال، احتمال فعال کردن پرتو آنکوژن‌ها و القا پاسخ‌های ایمنی قوی کاهش یافته است. در مقابل نانو حامل‌های غیر ویروسی با وجود بازدهی کمتر به دلیل مزایایی من جمله قابلیت انتقال قطعات بزرگ ژنی، خطر عفونت‌زایی پایین، ایمنی‌زایی کم، انعطاف‌پذیری ساختار و سهولت طراحی، روند رو به رشدی را در مطالعات ژن رسانی داشته‌اند.

هدف: این مطالعه به بررسی مطالعات ژن رسانی با استفاده از نانو حامل‌های غیر ویروسی، در پژوهش‌های محققین ایرانی پرداخته است.

روش کار: اطلاعات لازم جهت این مطالعه مروری، صرفاً از مقالات پژوهشی چاپ‌شده تا مردادماه سال ۱۳۹۸ و با مراجعه به پایگاه‌های اطلاعاتی من جمله بانک مقالات پزشکی ایران، Scopus، PubMed، Web of Science، SID، Magiran و Science Direct گردآوری گردید.

یافته‌ها: محققان ایرانی در حدود ۵۰۰ پژوهش به فرآیند تولید و بررسی انتقال ژن با استفاده از انواع نانو حامل‌های غیر ویروسی پرداخته‌اند. در بین مطالعات، نانو حامل‌های پلیمری شامل درختواره‌ها (دندریمرها) (حدود ۶۴٪) و لیپوزوم‌ها با نسبت ۱۸٪ و سپس نانو ذرات فلزی و نانولوله کربنی بیشترین سهم از مطالعات ژن رسانی را به خود اختصاص داده‌اند.

نتیجه‌گیری: در مطالعات پژوهشگران ایرانی، سنتز، بهبود کارایی ترانسفکشن و کاهش سمیت سلولی انواع نانو حامل‌های غیر ویروسی مورد ارزیابی قرار گرفته و بیشترین نانو حامل غیر ویروسی بر پایه پلیمرهای کابتوزان و پلی‌اتیلن ایمین می‌باشد. انتقال هدفمند نانو حامل‌ها با انواع مولکول‌ها من جمله آپتامرها نیز در حدود ۳۰ مقاله مورد بررسی شده است که البته توجه بیشتری را می‌طلبد.

کلیدواژه‌ها: ژن رسانی، نانو ذرات، نانو حامل غیر ویروسی، ایران.

تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه محفوظ است.

مقدمه هدف، تغییراتی از جمله تغییر در ساختار کروموزومی

سلول ایجادشده که در نحوه بیان و تولید پروتئین‌های

عملکردی نیز تغییراتی ایجاد می‌کند که می‌تواند موجب

درمان یا جلوگیری از پیشرفت بیماری شود (۱).

ژن رسانی به منظور انتقال ژن خاص به سلول یا بافت

هدف می‌باشد و امروزه در جامعه محققین بسیار

مورد توجه واقع شده است. بعد از انتقال ژن به سلول

*آدرس نویسنده مسئول: گروه بیوتکنولوژی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تربت حیدریه، تربت حیدریه، ایران.

آدرس پست الکترونیک: askarians1@thums.ac.ir

اما چالش مهم در ژن درمانی، فقدان حاملان ژن رسان کارآمد می باشد. تفنگ ژنی (Gene Gun) از نخستین شیوه ها در زمینه انتقال ژن است اما این روش محدودیت هایی از جمله پایین بودن درصد پذیرش، عدم فعالیت DNA منتقل شده، مرگ سلول ها و هزینه بالایی می باشد؛ بنابراین حاملان انتقال ژن در مطالعات ژن درمانی، مطرح شدند که به دو دسته سیستم های ویروسی و غیر ویروسی دسته بندی می شوند. گرچه حاملان ویروسی کارایی بالا و سریعی در ژن رسانی نشان داده اند اما استفاده از آن ها در سال های اخیر به دلیل بروز اشکالاتی کاهش یافته است. این مشکلات شامل ظرفیت پایین آن ها (قابلیت انتقال ژن های بزرگ برای کاربردهای بالینی ضروری است)، احتمال فعال کردن پرتو آنکوژن ها به دلیل ورود تصادفی شان به ژنوم، القا پاسخ های ایمنی قوی (که تزریق های مکرر را محدود می کند) و مشکلات در تولید انبوه آن ها می باشد (۲).

نگرانی های ایمنی زایی در مورد حاملان ویروسی، سبب مطرح شدن حامل های غیر ویروسی شده است. گرچه کارایی انتقال ژن (ترانسفکشن) حاملان غیر ویروسی در مقایسه با حاملان ویروسی پایین تر است، اما مزایایی من جمله قابلیت انتقال قطعات بزرگ ژنی، خطر عفونت زایی پایین، هزینه تولید اندک، ایمنی زایی کم و قابل قبول را دارا می باشند. برخی از حاملان غیر ویروسی عبارتند از:

پلیمرهای که می توان به پلی اتیلن ایمین و کیتوزان اشاره نمود. پلی اتیلن ایمین (PEI): این نوع پلی اتیلن دارای ساختار پلیمری به دو شکل خطی و شاخه دار می باشد که فرم شاخه دار آن مناسب برای انتقال ژنی است. گروه های آمینی فراوانی در ساختار این پلیمر وجود دارند که نقش بسزایی در فرایند بسته بندی DNA و فرار از تجزیه لیزوزومی دارند. نقص بزرگ این ناقلین، زیست تخریب پذیر نبودن آن ها می باشد که باعث سمیت آن ها می شود. البته مولکول هایی در ابعاد کوچک تر PEI سمیت کمتری دارند، در نتیجه برای خاصیت انتقالی بالای این مولکول ها آن ها را در ابعاد کوچک و وزن مولکولی پایین و دارای پیوندهای زیست تخریب پذیر دی سولفیدی و استری می سازند (۳).

کیتوزان (Chitosan): این ناقل از نوع پلیمر پلی کاتیونی زیست تخریب پذیر با ایمنی زایی پایین که به تنهایی کارایی پایین دارد از این رو ترکیباتی و آرژنین از آن مشتق شده تا کارایی انتقالی افزایش یابد. اتصال لیگاند به این وکتور ها باعث شناسایی بهتر هدف می شود (۴).

لیپوزوم ها (Liposomes): وکتور هایی از نوع وزیکول میکروسکوپی که از دولایه فسفو لیپیدی شده اند که فضایی را احاطه کرده و نیز دارای ویژگی هایی همچون زیست تخریب پذیری، سمیت ذاتی پایین و ایمنی زایی کم موجب شده که از این وکتورها در ژن رسانی استفاده گردد. لیپوزوم ها انواع مختلفی دارند که با توجه

Science Direct و Scopus Web of Science PubMed تا بازه زمانی اوت ۲۰۱۸ گردآوری گردید. معیارهای ورود مطالعات به این مطالعه نگارش مقاله اصلی، نویسنده با آدرس علمی ایران و معیار خروج مطالعات مقالات مروری و انتقال دارو و عدم همخوانی باهدف مطالعه تعیین شد.

در جستجوی انجام شده با استفاده از کلیدواژه های ذکر شده و استراتژی مناسب جستجو، ۱۱۰۰ عنوان مقاله به دست آمد. به دلیل همپوشانی برخی از پایگاه ها و نمایه شدن هم زمان یک مقاله در چند پایگاه، تعداد زیادی از عناوین تکراری بودند که حذف شدند. از نرم افزار اندنوت نسخه ۷ برای شناسایی اولیه عناوین با معیارهای مطالعه از قبیل کلیدواژه Nanoparticle به همراه کلیدواژه Delivery استفاده شد و ۴۸۲ مقاله باقی ماند. پس از مطالعه چکیده ها و اعمال معیارهای ورود و خروج ۱۷۰ مقاله برای بررسی و آنالیز باقی ماند.



به تناسب هر کدام در انتقال های مختلف از نوع خاصی از لیپوزوم ها بهره گرفته می شود (۵).

دندریمر ها: نام این ناقلین برگرفته شده از دو واژه یونانی دندرون (درخت) و مروس (بخش) می باشد که این نام گذاری به دلیل ساختار درختی شکل آن که به صورت متقارن و منشأ گرفته از یک هسته مرکزی است. سمیت سلولی این ترکیبات متناسب با وزن مولکولی آنها است. این وکتور ها به دلیل ویژگی قابل توجه در حمل DNA و عبور کردن از غشاء و نیز اندازه مناسب در ژن رسانی کاربرد قابل توجهی دارند (۶). امروزه ژن درمانی شکل جدید و مؤثرتری از درمان را برای بیماری های اکتسابی و ژنتیکی به وجود آورده است در این راستا ژن رسانی مقاله به بررسی مطالعات محققین ایرانی درباره حامل های غیر ویروسی و استفاده از آنها در انتقال ژن (اعم از siRNA، اولیگونوکلوئوتیدها خاموشگر، پلاسמיד و قطعات ژنی) پرداخته ایم.

روش کار

این پژوهش یک مطالعه مروری نظام مند است که با جستجوی مقالات فارسی با کلیدواژه ژن رسانی، نانو حامل، غیر ویروسی در پایگاه های اطلاعاتی منابع ایران من جمله بانک مقالات پزشکی ایران، Magiran، SID و مقالات چاپ شده به زبان انگلیسی با استفاده از کلیدواژه های Non-Viral، Nanoparticle و Gene Delivery در پایگاه های معتبر اطلاعاتی

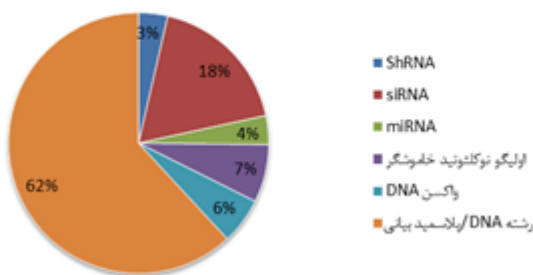
نتایج و بحث

با گسترش فناوری نانو و ورود آن به سایر علوم و نیز اثرپذیری آن از علوم دیگر، انواع نانو ذرات با ساختارهای مختلف و مواد تشکیل دهنده متفاوت معرفی گردیدند که هر یک نقاط قوت و ضعف خاص خود را داشته و توانسته اند گامی مؤثر در بهبود عملکرد ذرات برجای گذارند. از جمله پرکاربردترین زمینه های ورود نانو ذرات، دارو و ژن رسانی است که نانو ذرات توانسته اند در قالب سیستم های مختلف مانند حامل های پلیمری، لیپیدی، فلزی و غیره سهمی بزرگ در بهبود دارو و ژن رسانی در انواع بیماری ها به ویژه بیماری های صعب العلاج نظیر سرطان داشته باشند (۷).

در این مطالعه به بررسی استفاده از نانو حامل های غیر ویروسی به منظور انتقال ژن در مطالعات ایرانیان به منظور دستیابی به چشم اندازی از مبحث ژن رسانی در ایران پرداخته شده است. ماده ژنتیکی برای اهداف ژن رسانی می تواند DNA پلاسمیدی، یا اولیگو نوکلئوتیدهای خاموشگر در غالب siRNA یا miRNA و یا حتی به صورت رشته های DNA (مورد استفاده در DNA واکسن ها) باشد (۸). همان طور که در شکل ۱ نشان داده شده است اکثر مطالعات از DNA پلاسمیدی برای اهداف ژن رسانی استفاده نموده اند، علت می تواند پایداری بالاتر DNA حلقوی پلاسمیدی، امکان درج ژن های نشانگر مثل ژن کد کننده پروتئین فلورسنت GFP و یا ژن های مقاومت به آنتی بیوتیک ها در ساختار

پلاسمید باشد، بدین ترتیب مطالعه و حتی جداسازی سلول هایی که ژن رسانی به آنها صورت گرفته آسان تر می باشد. مطالعات بر روی خاموشگرهای ژن، من جمله siRNA و miRNA ها به دلیل امکان بررسی عمیق تر از فعالیت ژن ها، در مطالعات ایرانی ها رو به افزایش است.

مواد ژنتیکی منتقل شده

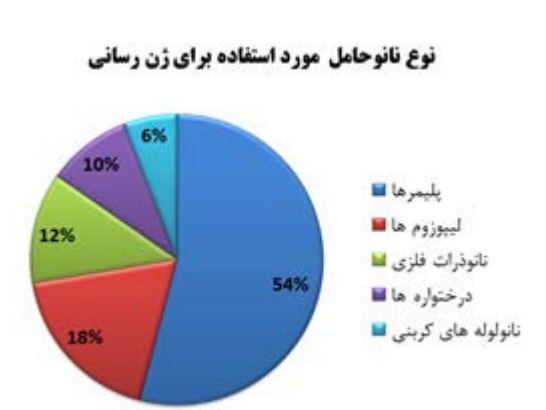


شکل ۱- استفاده از نانو حامل ها برای انتقال انواع اسید نوکلئیک به سلول ها

اسیدهای نوکلئیک به دلیل حضور گروه های فسفات در ساختارشان دارای بار منفی هستند بنابراین به راحتی با حامل هایی که بار مثبت دارند برهمکنش های الکتروستاتیک داده و متصل می شوند، از این رو پلیمرها و فسفو لیپیدهای کاتیونی در میان نانو حامل های غیر ویروسی بیش از بقیه مورد بررسی و استفاده قرار گرفته اند. نانو حامل های لیپیدی با وجودی که سمیت کمتری دارند اما در انتقال ژن به سلول کارایی کمتری نسبت به پلیمرهای کاتیونی نشان می دهند بنابراین بیشتر در انتقال دارو از آنها استفاده می شود. نانو حامل های پلیمری پایداری هستند و قابلیت دست ورزی

در مطالعه حاضر نیز نشان داده است که بیشتر مقالات از نانو ذرات پلیمری با بیش از ۵۰ درصد سهم از کل مطالعات به منظور اهداف ژن رسانی استفاده شده است (شکل ۲).

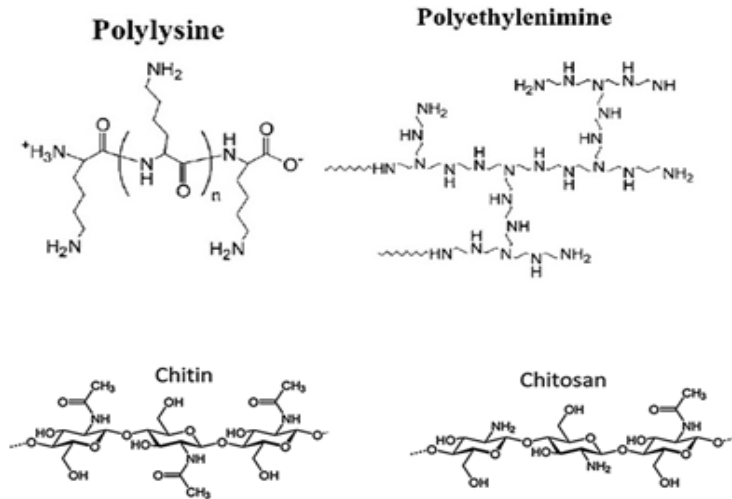
و اصلاح ساختار زیادی برای دستیابی به حاملی با سمیت کمتر و کارایی بیشتر در آن ها مقدور است. گرچه مطالعات اخیر استفاده از نانو حامل هایی ماحصل ترکیب لیپوزوم و پلیمر را برای اهداف ژن رسانی پیشنهاد کرده است (۹).



شکل ۲- درصد نانو حامل های مورد استفاده در ژن رسانی به سلوله

کایتوزان، ویژگی های زیست سازگار و غیر سمی بودن آن ها برای ژن رسانی نیز مناسب می سازد (شکل ۳).

کایتوزان فرم داستیلاسیون کیتین در شرایط قلیایی است، پلیمری است که به طور عمده برای دارورسانی استفاده می گردد، علاوه بر قابلیت حفاظت DNA توسط

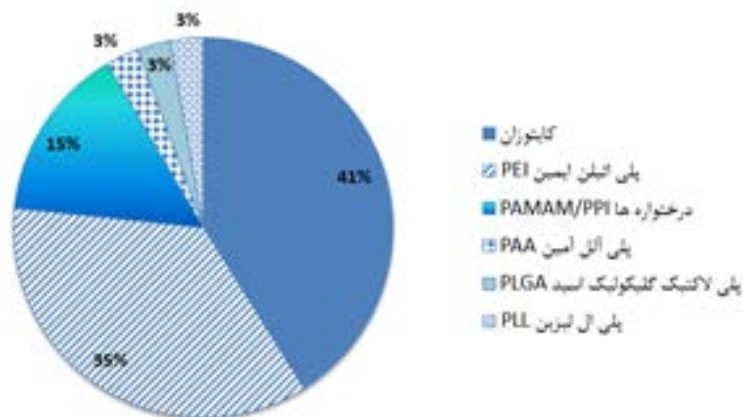


شکل ۳- فرمول برخی پلیمرهای مورد استفاده در ژن رسانی به سلولها.

تلفیق این دو پلیمر برای انتقال ژن ها استفاده نموده اند (۱۱، ۱۲). در مطالعات ایرانی نیز این دو پلیمر نسبت به دیگر انواع پلیمرهای بیشتر مورد استفاده قرار گرفته اند (شکل ۴).

از طرف دیگر پلی اتیلن ایمین نخستین پلیمری است که برای ژن رسانی معرفی شده است و مطالعات بسیاری بر روی افزایش قابلیت های ژن رسانی و کاهش سمیت این نانوذره صورت گرفته است (۱۰). حتی برخی مطالعات از

نسبت نانوحامل های پلیمری و درختواره در انتقال ژن



شکل ۴- درصد نانو حامل های پلیمری مورد استفاده در ژن رسانی به سلولها.

به سلول های هدف امید می رود مطالعات هدفمندسازی نانو حامل ها و همچنین مطالعات درون تنی افزایش یابد. در این مطالعه انتقال دارو مورد بررسی قرار نگرفته است و پیشنهاد می شود روند دارورسانی با استفاده از حامل های غیر ویروسی نیز در مطالعات ایرانیان مورد رصد قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل قسمتی از فعالیت مربوط به پروژه درس زیست شناسی سلولی و مولکولی دانشجویان کارشناسی علوم آزمایشگاهی می باشد. بدین وسیله از کلیه پژوهشگرانی که در جمع آوری و تهیه مطالب، همراهی نمودند، تشکر می نمایم.

تضاد منافع

در این پژوهش هیچ گونه تعارض منافی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

انتقال هدفمند نانو ذرات و داروها به سلول های سرطانی می تواند کارایی ژن درمانی و شیمی درمانی را ارتقا بخشد، بنابراین استفاده از مولکول هایی مثل آنتی بادی ها، لیگاند های مختلف، پپتیدها و آپتامر های یکی از راهکارهایی است که بدین منظور می تواند مورد استفاده قرار گیرد (۱۳)، حدود ۳۰ مقاله از آپتامر ها برای انتقال هدفمند نانو حامل ها به سلول و افزایش کارایی نانو ذرات استفاده نموده بودند و در حدود همین تعداد مطالعه به بررسی انتقال ژن در شرایط درون تنی پرداخته اند (۱۴).

نتیجه گیری

ژن درمانی راهکارهای درمانی بسیاری برای طیف وسیعی از بیماری ها من جمله سرطان پیشنهاد نموده است اما مهم ترین چالش در این مسیر فقدان حامل ژن رسان کارآمد است؛ بنابراین رویکردهای بسیاری برای انتقال ژن به سلول ها بررسی شده که می توان به حامل های ویروسی و غیر ویروسی اشاره نمود. در کشور ما نیز مطالعات بسیاری در این دو زمینه صورت گرفته و مقاله حاضر به بررسی حامل های غیر ویروسی در مطالعات ایرانیان پرداخته است. بیشترین نانو حامل های مورد استفاده بر پایه پلیمر و به خصوص پلیمرهای کایتوزانی و پلی اتیلن ایمین می باشد که عمدتاً برای انتقال DNA پلاسمیدی مورد استفاده قرار گرفته است. با توجه به اهمیت انتقال اختصاصی ماده ژنتیکی

References

- Lambricht L, Lopes A, Kos S, Sersa G, Pr at V, Vandermeulen G. Clinical potential of electroporation for gene therapy and DNA vaccine delivery. *Expert opinion on drug delivery*. 2016;13(2):295-310.
- Baltimore D, Wang P, Yang L. Method of targeting gene delivery using viral vectors. Google Patents; 2018.
- Virgen-Ort z JJ, Dos Santos JC, Berenguer-Murcia  , Barbosa O, Rodrigues RC, Fernandez-Lafuente R. Polyethylenimine: a very useful ionic polymer in the design of immobilized enzyme biocatalysts. *Journal of Materials Chemistry B*. 2017;5(36):7461-90.
- Dowaidar M, Nasser Abdelhamid H, H llbrink M, Langel  , Zou X. Chitosan enhances gene delivery of oligonucleotide complexes with magnetic nanoparticles–cell-penetrating peptide. *Journal of biomaterials applications*. 2018;33(3):392-401.
- Majzoub RN, Ewert KK, Safinya CR. Cationic liposome–nucleic acid nanoparticle assemblies with applications in gene delivery and gene silencing. *Phil Trans R Soc A*. 2016;374(2072):20150129.
- Hu J, Hu K, Cheng Y. Tailoring the dendrimer core for efficient gene delivery. *Acta biomaterialia*. 2016;35:1-11.
- Hayat SMG, Farahani N, Safdarian E, Roointan A, Sahebkar A. Gene delivery using lipoplexes and polyplexes: principles, limitations and solutions. *Critical Reviews™ in Eukaryotic Gene Expression*. 2019;29(1).
- Cole G, Ali AA, McCrudden CM, McBride JW, McCaffrey J, Robson T, et al. DNA vaccination for cervical cancer: Strategic optimisation of RALA mediated gene delivery from a biodegradable microneedle system. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2018;127:288-97.
- Rideau E, Dimova R, Schwille P, Wurm FR, Landfester K. Liposomes and polymersomes: A comparative review towards cell mimicking. *Chemical Society Reviews*. 2018;47(23):8572-610.
- Yao W, Fu S, Yang G, Wang J, Wang X, Tang R. Low molecular weight PEI-grafted carboxyl-modified soybean protein as gene carriers with reduced cytotoxicity and greatly improved transfection in vitro. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*. 2019;68(11):617-27.
- Wu D, Zhang Y, Xu X, Guo T, Xie D, Zhu R, et al. RGD/TAT-functionalized chitosan-graft-PEI-PEG gene nanovector for sustained delivery of NT-3 for potential application in neural regeneration. *Acta biomaterialia*. 2018;72:266-77.
- Lee MC, Seonwoo H, Garg P, Jang KJ, Pandey S, Park SB, et al. Chitosan/PEI patch releasing EGF and the EGFR gene for the regeneration of the tympanic membrane after perforation. *Biomaterials science*. 2018;6(2):364-71.
- Belfiore L, Saunders DN, Ranson M, Thurecht KJ, Storm G, Vine KL. Towards clinical translation of ligand-functionalized liposomes in targeted cancer therapy: Challenges and opportunities. *Journal of controlled release*. 2018;277:1-13.
- Jalalian SH, Ramezani M, Abnous K, Taghdisi SM. Targeted co-delivery of epirubicin and NAS-24 aptamer to cancer cells using selenium nanoparticles for enhancing tumor response in vitro and in vivo. *Cancer Letters*. 2018;416:87-93.

Application of non-viral nanocarriers for gene delivery (Systematic Review)

Saeedeh Askarian^{1,2*}, Samaneh Sardar Abadi³, Maryam Fekri³

1. Department of Medical Biotechnology, School of Paramedical Sciences, Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences, Torbat Heydariyeh, Iran

2. Neuroscience Research Center, School of Medicine, Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences, Torbat Heydariyeh, Iran

3. Student Research Committee, Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences, Torbat Heydariyeh, Iran

Corresponding author: askarians1@thums.ac.ir

Abstract

Background & Aim: One of the most important challenges in gene therapy is the lack of efficient gene delivery systems. Nanocarriers are placed in two viral and non-viral categories. Despite the high transfer efficiency and fast gene delivery offered by viral carriers, their application has been decreased due to low transfer capacity, the possibility of activating proto-oncogenes, and the induction of potent immune responses. In contrast and despite lower efficiency, non-viral nanocarriers have had a growing usage in gene delivery studies due to advantages such as the capability of transferring big gene pieces, lower infection risk, low immunogenicity, structural flexibility, and ease of design.

Objective: This study assessed the studies published by Iranian researchers who deal with gene delivery using non-viral nanocarriers.

Methods: The necessary data for this review were obtained solely from the research articles published by May 2018 based on databases including, Iran Research Information System, SID, PubMed, Web of Science, Scopus and Science Direct.

Results: Iranian researchers have dealt with the production of non-viral nanocarriers and assessment of gene delivery using them in about 500 research articles. Among them, polymeric nanoparticles, including dendrimers (about 64%), liposomes (about 18%), metallic nanoparticles, and carbon nanotubes, were the most frequently used in gene delivery studies.

Conclusion: In studies by Iranian researchers, synthesis, improvement of transfection efficiency, and reduction of cytotoxicity of non-viral nanocarriers have been evaluated, and most of the non-viral nanocarriers are based on chitosan and polyethylene imine polymers. Targeted transfer of nanocarriers using different molecules such as Aptamers is about 30 articles, which requires more consideration.

Keywords: Gene delivery, Nanoparticles, Non-viral vector

How to cite this article: Askarian S, Sardar Abadi S, Fekri M. Application of non-viral nanocarriers for gene delivery (Systematic Review). Journal of Student Research Committee (JSRC) of Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences. 2019; 1(2):36-44.