

الفصل السادس

العلاج بالجينات فى عالم الحيوان

يستخدم العلماء والباحثون فى مجال العلوم الطبية والصيدلية والبيولوجية الحيوانات فى الكثير من تجاربهم التى تستهدف الإنسان، وذلك تجنباً للمخاطر التى قد يتعرض لها الأفراد من البشر نتيجة هذه التجارب مثل التعرض للإشعاع أو اختبار تأثير العقاقير. وبعد تحقيق قدر معقول من النجاح فى التجارب على الحيوان يقوم الباحثون بتجاربهم على متطوعين من البشر وذلك قبل تعميم التطبيق. كما تفيد التجارب على الحيوانات فى التوصل إلى بعض الضوابط العلمية المطلوبة. ومن أشهر حيوانات التجارب الفئران mice والجرذان rats وخنازير غينيا Guinea pigs وحيوانات الهامستر hamsters والقروود monkeys والخنازير Pigs. وعلى رغم ذلك يلاحظ أنه ليس بالضرورة كل ما ينجح فى حالة الحيوان يصلح تطبيقه على البشر، كما قد لا تتفق النتائج فى الحالتين.

وفى مجال العلاج بالجينات يعتبر اللجوء إلى التجارب على الحيوان أمراً ضرورياً خاصة إذا علمنا أن العلماء لم يسيطروا تماماً على آليات هذه التقنية الجديدة. وكان من ضمن أهداف هذه التجارب التحقق من سيطرة العلماء على التتابعات الملحقة بالجين والمؤثرة فى عمله والتى تخص كلا من التتابعات التنظيمية regulatory sequences، وتتابعات البروموتور promoter، وتتابعات المعجل أو المسرع enhancer.

وقد أجرى الكثير من تجارب العلاج بالجينات على الحيوانات الثديية، وذلك ليتعرف العلماء على أفضل الآليات التى يمكن الأخذ بها عند تطبيق العلاج بالجينات على الإنسان. وقد يتطلب هذا من العلماء تعديل جينات الحيوان لكى يكتسب الحالة المرضية المطلوب التعامل معها. ويوصف الحيوان بأنه knockout animal، وبعد ذلك تجرى محاولات تطبيق تقنية العلاج بالجينات. وعلى سبيل المثال أنتج علماء معمل لورانس بركلى القومية Lawrence Berkeley National Laboratory فى الولايات المتحدة فئران مصابة بمرض الأنيميا المنجلية sickle cell anemia بغرض تطبيق محاولات علاج هذا المرض جينياً.

لقد طبقت أول حالة للعلاج بالجينات فى الحيوانات الثديية فى عام ١٩٨٣ على الفئران المصابة بالقزمة Dwarfism حيث يؤدى وجود الجين المنحى للقزمة *little (lit)* إلى ظهور القزمة بسبب نقص إفراز هرمون النمو growth hormone. وقد استحضرت بويضة مخصبة تحتوى على

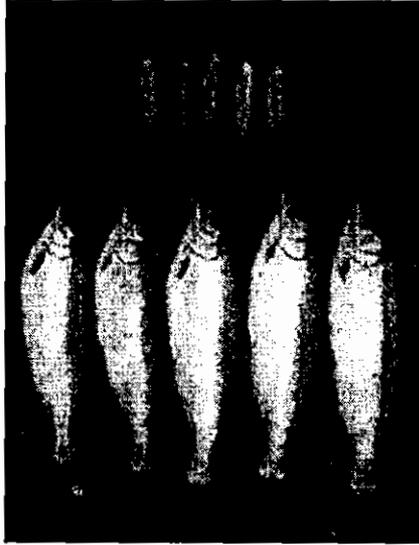
جين القزمة بصورة مزدوجة *lit/lit* (شكل ملون ٥٥) وحقنت بقطعة من حمض DNA قدرها (٥) كيلوبيز تحتوى على الجين التركيبى لهرمون النمو فى الجرذان Rat growth hormone (RGH) مرتبط مع تتابع منظم - بادئ regulator - promoter لجين ميتالوثيونين للفأر mouse metallothionein gene (MP) . ويعمل الميتالوثيونين على إزالة سمية المعادن الثقيلة التى تجد طريقها إلى جسم الفأر. وتعاد البويضات الملقحة المعاملة بقطع الحمض النووى DNA إلى رحم فأرة حتى تتم الولادة. وقد أدت هذه المعاملة إلى وجود عدد محدود من الفئران المولودة تحمل جين هرمون النمو للجرذان. ومن المعروف أن الجرذ (rat) أكبر حجما بكثير من الفأر (mouse).

وقد عبر جين هرمون النمو للجرذان gene expression عند المعاملة بالمعادن الثقيلة فكانت الفئران الناتجة أكبر حجما (شكل ملون ٥٦). وفى خطوة ثانية أخذ أحد الفئران الناتجة وتم إجراء تزاوج بينه وبين أنثى فأر تحمل جين القزمة بصورة مزدوجة (*lit/lit*) (شكل ملون ٥٥).

ويوضح الشكل أن نصف عدد الفئران الناتجة يحمل جين النمو للجرذان وأن أحجامها ازدادت عن حجم الفئران المصابة بالقزمة بنسبة تتراوح بين ١,٩ - ٢,٧ مرة (شكل ملون ٥٥). ويلاحظ هنا أن الجين المنقول عمل كجين سائد، وأن كل الفئران التى ازدادت أوزانها كانت خليطة heterozygous. كما يلاحظ أن وجود فئران مصابة بالقزمة فى النسل الناتج هنا دليل على أن الفأر الناتج عن حقن البويضة المخصبة كان خليطا، وهذا يعنى أن الحقن لم ينتج عنه وضع الجين بصورة مزدوجة homologous locus. ويوضح الشكل نتيجة تزاوج بين فردين من الجيل الأول ليعطيا جيلا ثانيا من الفئران.

ويرجع الفضل فى هذه التجربة إلى العالم (رالف برنستر) Ralph Brinster من جامعة بنسلفانيا، مع العالم ريتشارد بالميتير Richard Palmiter من جامعة واشنطن.

وقد أجرى العالم دفلن وزملاؤه Devlin *et al.* تجربة مناظرة على أسماك سالمون المحيط الهادى Pacific salmon ونشرت نتائجها فى العدد رقم ٣٧١ لعام ١٩٩٤ فى مجلة Nature. وكانت الزيادة فى وزن الأسماك الناتجة تبلغ (١١) ضعفاً (شكل ٥٧).



شكل (٥٧): إلى أسفل سمك سالمون المحيط الهادى المعدل جينيا، بينما إلى أعلا السمك غير المعامل جينيا. الزيادة فى الوزن بلغت (١١) ضعفا.

وفى جامعة (بايلون) Baylor University فى الولايات المتحدة استخدم العلماء تقنية العلاج بالجينات فى عام ١٩٩٣ لعلاج كلب مصاب بمرض الهيموفيليا (طراز ب) hemophilia B (شكل ٥٨). ومن المعروف أن المصابين بهذا المرض لا يمكنهم تكوين العامل رقم IX اللازم



شكل (٥٨): حسانا تمسك بكلب كان يعانى من مرض الهيموفيليا وعولج بالجينات مما وفر العامل رقم IX الذى كان ينقصه، وبذا اختفت أعراض المرض.

لتجلط الدم. وقد بدأت التجربة باستئصال جزء من الكبد لتحفيز خلايا الجزء الباقي منه على الانقسام، وعند حقن الوريد الكبدي البابي بجين العامل رقم IX محملا على retrovirus، اتجهت الجينات المحقونة إلى الكبد فأخذته الخلايا النشطة انقساميا، مما وفر مادة العامل رقم IX، واختفت أعراض الهيموفيليا.

وقد أجريت دراسة أخرى عن علاج التليف التدميري للكبد والمعروف باسم Cirrhosis عن طريق نقل جين له علاقة ببناء إنزيم Telomerase الذى يحافظ على أطراف الكروموسومات والمسماة (Telomeres) من النقصان مع توالى الانقسامات الخلوية. وتفصيل الأمر أن أربعة من العلماء فى اليابان نشروا فى عام ١٩٩٥ بحثا فى العدد ٢١١ من المجلة العلمية Biochem Biophys Res Commun يقولون فيه: إنهم اكتشفوا أن الخلايا الكبدية فى الكبد المصاب بالتليف التدميرى Cirrhosis تصبح أطراف كروموسوماتها أقصر مما هى الحال فى خلايا الكبد السليم. وقد التقط الخيط مجموعة من العلماء فى أمريكا بقيادة الباحث (دينيهو) Ronald A. Depinho وقاموا بدراسة على أكباد الفئران mice نشرها فى فبراير ٢٠٠٠. وخلاصة التجربة أن العلماء استخدموا فئرانًا ينقصها أحد الجينات الضرورية لبناء إنزيم Telomerase وعرضوها لمؤثرات تسبب حدوث التليف التدميرى Cirrhosis فكانت النتيجة أن الانقسامات الخلوية للخلايا أدت سريعا إلى أن أصبحت كروموسوماتها ذات نهايات Telomeres قصيرة بسبب فقدان إنزيم Telomerase. وعندما حقن العلماء الفئران بالناقل الفيروسي طراز adenovirus الذى يحمل الجين الناقص الذى أشير إليه سابقا والضرورى لبناء إنزيم Telomerase فإن التليف التدميرى بالكبد تحسن كما تحسنت وظائف الكبد.

وقد أكدت هذه الدراسة التجريبية ما توصل إليه علماء اليابان من العلاقة الوثيقة بين التليف التدميرى للكبد Cirrhosis ونقص أطوال أطراف الكروموسومات Telomeres فى الخلايا الكبدية، وبذلك نشأت فكرة علاج التليف التدميرى للكبد فى البشر عن طريق جينات إنزيم Telomerase. ولكن هذا الاتجاه يتعارض مع الحقيقة المعروفة بأن زيادة هذا الإنزيم فى خلايا البشر يسبب السرطان! ولذا فقد عقب أحد العلماء على هذه الدراسة قائلاً: إن هناك كثيرا من التحفظات عليها There is a lot of ifs here. وقال آخر: إن هناك دائما فجوة كبيرة بين الدراسات العملية والتطبيقات السريرية!

There is a huge gap between bench and bedside!

وفى عدد يوليو ١٩٩٧ من مجلة Nature Medicine ينشر تايلور وولف R. Taylor & J. Wolfe بحثا على الفئران عن علاج اختزان المواد عديدة التسكر المخاطية Mucopolysaccharides فى الليزوسومات وعدم هضمها بسبب نقص إنزيمات الهضم hydrolases بداخل الليزوسومات. وقد قام

الباحثان بعملية هندسة وراثية للخلايا الليفية fibroblasts بحيث تنتج كميات وفيرة من إنزيم B-glucuronidase ثم زرعوا هذه الخلايا في أمخاخ الفئران. وقد أدى ذلك إلى هضم المخزن من هذه المواد السكرية داخل الليزوسومات وتحسن صحة الحيوانات نتيجة لذلك. ويعرف المتخصصون أن الحالة المرضية موضوع الدراسة هنا تسمى Mucopolysaccharidosis وهي تؤدي إلى تخلف عقلى وتشوهات فى ملامح الوجه والعظام والمفاصل وصمامات القلب وقرنية العين، وأن الليزوسومات هى أكياس دقيقة توجد فى سيتوبلازم الخلايا وتحتوى على العديد من الإنزيمات الهضمية التى تقوم بهضم ما يصل إليها من مواد - ونقص أى من إنزيماتها يؤدي إلى عدم هضم بعض هذه المواد مما يشكل أضراراً معينة حسب الأحوال.

وفى عدد أكتوبر ١٩٩٨ من مجلة Nature Medicine نشر مجموعة من العلماء من نيوزلندا والولايات المتحدة الأمريكية بقيادة (ديورنج) M.J. During بحثاً حول التغلب على معاناة البعض من عدم توفر إنزيم اللاكتيز Lactase فى أمعائهم الرفيعة مما يترتب عليه عدم استطاعتهم هضم لبن اللاكتوز Lactose، ويسبب ذلك لهم إسهالاً شديداً وانتفاخاً فى البطن. وقد أمكنهم التغلب على هذه الحالة بإعطاء المصاب ناقل فيروسى يحمل جينا لإنزيم بيتا جالاكتوزيداز Beta-galactosidase عن طريق الفم. وقد استخدمت الجرذان rats كنموذج فى هذا البحث.

وفى بحث نشر فى عدد ١٨ سبتمبر ١٩٩٨ من مجلة Science وجد ثلاثة باحثين بقيادة الباحثة جنفر براسى Jennifer Bracy حلاً لرفض الجسم زراعة الأجسام الغريبة Xenograft وإفرازه لأجسام مضادة antibodies، وذلك عن طريق نقل جين معين إلى نخاع العظم باستخدام فيروس من الطراز retrovirus. وقد استخدمت الفئران mic كنموذج فى هذا البحث.

وفى بحث نشر فى عدد ٢٥ نوفمبر ١٩٩٨ مجلة Cell استطاعت مجموعة من الباحثين من جامعة شيكاغو بقيادة الباحثة فوكس (Elaine Fuchs) إيجاد حل لمشكلة الصلع Baldness عن طريق العلاج بالجينات. وقد استخدمت الفئران mice كنموذج فى الدراسة. وقد اعتمدت هذه الطريقة على تزويد الحيوان بجين يجعل خلايا الجلد تكون بوفرة مادة تعرف باسم بيتا كاتينين B-Catenin. وهذه المادة تساعد على تكوين بصيلات شعر جديدة!

وقد امتدت تجارب العلاج بالجينات لعلاج أمراض القلب، ففي عدد فبراير ١٩٩٩ من مجلة Nature Medicine بحث أجراه مجموعة من الباحثين من كندا واليابان بقيادة ماسون C.A.Mason، واعتمد على العلاج بالجينات لخلل فى قلب الجنين. ويتمثل العيب فى أن قناة تتصل بقلب الجنين تسمى Ductus arteriosus تنغلق بسبب تكاثر العضلات الإرادية وتجمعها

بصورة تؤدي إلى انسداد هذه القناة. وقد أدركت هذه المجموعة البحثية أن تكاثر العضلات اللاإرادية يحدث تحت تأثير مادة تعرف باسم (فيبرونكتن Fibronectin). واعتمدت الطريقة التي اتبعت في البحث على استخدام جين يعمل على إحباط تأثير مادة (الفيبرونكتن) وحقن هذا الجين موضعيا Local في هذه القناة في عملية جراحية اقتضت إخراج الجنين - البالغ من العمر ٩٠ يوما - من الرحم ثم إعادته بعد إجراء العملية ليستكمل نموه حتى تتم ولادته تلقائيا بعد ١٤٥ يوما من الحمل. وقد أجريت هذه التجربة على الشياه.

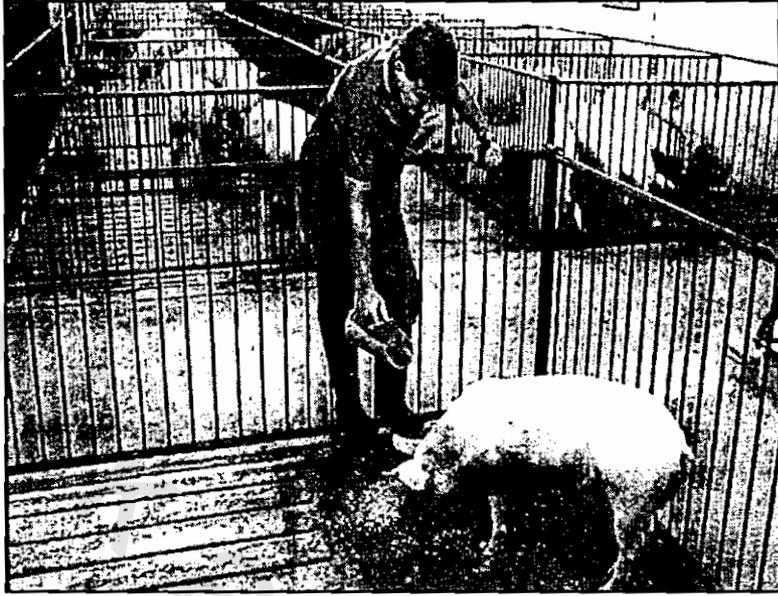
وفي إسرائيل قام (١١) باحثا بدراسة مثيرة استخدمت فيها الفئران ونشرت في عدد مايو ٢٠٠٠ من مجلة Nature Medicine. وخلاصة هذه الدراسة أنهم جعلوا الخلايا الكبدية قادرة على إفراز هرمون الإنسولين الذي تفرزه عادة خلايا جزر لانجرهانز في البنكرياس. وقد تحقق لهم ما أرادوا عن طريق نقل جينات باستخدام فيروس adenovirus. وقد قام الإنسولين الذي أفرزه الكبد بضبط مستوى السكر في الدم. وترجع أهمية هذه الدراسة إلى أنها تشكل أملا أمام مرضى السكر وتتجنب الرفض المناعي الذي تحدثه عمليات نقل البنكرياس، كما أنها تريح المريض من عبء الحقن بالإنسولين يوميا.

وتجدر الإشارة هنا إلى تقنية الحصول على حيوانات معدلة الجينات Transgenic animals، استهدفت في معظم الأحوال نقل جين بشري معين إلى حيوان ثديي. ففي هذه الحالة يحقن الجين البشري في البويضة المخصبة للحيوان، وينقل الزيجوت إلى الرحم ويترك حتى الولادة، وبذلك ينتج لدينا حيوان تحمل كل خلاياه جينا بشريا. ويعبر هذا الجين عن نفسه في العضو المناسب ويقوم بوظيفته. وقد استهدف العلماء من مثل هذه التجارب إنتاج بروتين بشري معين من ألبان الحيوانات حيث يتم استخراجه من اللبن والاستفادة به، والبروتينات المستهدفة هنا لا ينتجها الجسم البشري سوى بكميات غاية في الضآلة. كما أن إنتاجها عن طريق خلايا معدلة جينيا ومزروعة في الأطباق يكون ذا تكلفة باهظة جدا. وتستغل البروتينات البشرية الناتجة لأغراض طبية. وقد وصفت الحيوانات المعدلة جينيا بغرض الحصول على مواد بروتينية معينة باسم Bioreactor or pharm animals.

ومن أمثلة النجاحات التي تمت في مجال تعديل جينات الحيوانات الثديية للحصول على بروتينات ذات أهمية طبية نذكر ما يلي:

* في عام ١٩٩١ أمكن في نيوجيرسي الحصول على خنزير ينتج هيموجلوبينا بشريا (شكل

٥٩).



شكل (٥٩): خنزير معدل جينيا لينتج الهيموجلوبين البشرى.



شكل (٦٠): ثور معدل جينيا ونسله يحملون جين إنتاج مركب lactoferrin البشرى.

* فى بداية التسعينات أمكن لشركة Pharming Group N.V الأمريكية الحصول على أبقار تنتج مادة lactoferrin بشرية (شكل ٦٠).

* تمكنت شركة للبيوتكنولوجى فى ماساشوستس من الحصول على ماعز ينتج مادة Tissue



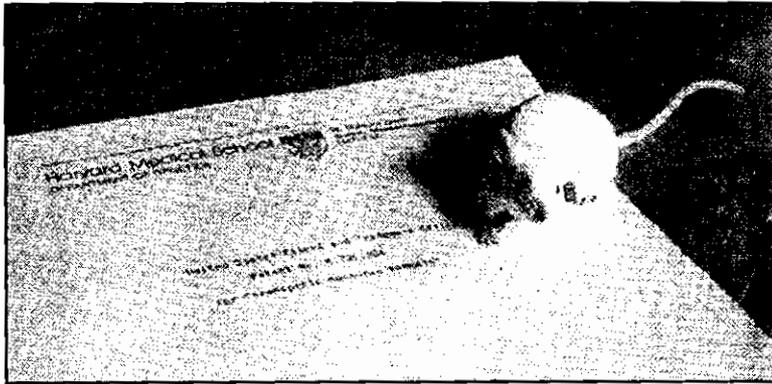
شكل (٦١): ماعز معدل الجينات ينتج لبنا يحتوى على بروتين بشرى Tissue plasminogen Activator (TPA)

plasminogen activator (TPA)، وهى بروتين مذيّب للجلطة (شكل ٦١).

وحيث إن الألبان لا تنتجها إلا الإناث البالغة، ولأن استخلاص المادة البروتينية المطلوبة من اللبن عمل ليس سهلاً، فقد اتجه العلماء إلى إنتاج البروتين المطلوب فى بول الحيوان حيث يكون فصل البروتين عن مادة البول أسهل، فضلاً على أن البول تنتجه كل من الذكور والإناث وذلك منذ الولادة وعلى مدى طول العمر. وفى عام

١٩٩٥ تمكن العالم Tung-Tien Sun من جامعة نيويورك من الحصول على بروتينات عرفت باسم uroplakins بهذه الطريقة.

ومن ناحية أخرى تمكن العالم (فيليب ليدر Philip Leder) من جامعة هارفارد من الحصول على فأر فى عام ١٩٨٨ له قابلية مؤكدة للإصابة بسرطان الثدي، أطلق عليه اسم الفأر المسرطن Oncomouse بهدف استخدامه فى الأبحاث العلمية المتعلقة بمرض السرطان (شكل ٦٢). وفى



شكل (٦٢): أول حيوان ثديى تصدر به براءة اختراع. هذا الفأر معدل جينيا ليصاب بمرض السرطان. براءة الاختراع منحت لجامعة هارفارد فى عام ١٩٨٨ تحت رقم ٤٧٣٦٨٦٦.

١٢ أبريل ١٩٨٨ أصدر مكتب براءات الاختراع الأمريكي U.S. Patent Office براءة اختراع لهذا الفأر لصالح جامعة هارفارد، وتعتبر هذه أول براءة اختراع حيوان فى التاريخ وقد صدرت البراءة للفأر ولنسله من بعده وذلك تحت رقم ٤٧٣٦٨٦٦. ومما يذكر أن أول براءة اختراع لكائن حى معدل الجينات كانت تخص البكتيريا وصدرت فى عام ١٩٨٠. وفى عام ١٩٩١ حصل العالم فيليب ليدر على براءة اختراع أخرى عن فأر له قابلية لمرض سرطان البروستاتا prostate mouse.

وفى تجربة الفأر المسرطن قام العالم (ليدر) بتخليق بلازميد خليط من الجين المسرطن *c-myc* وفيروس يعرف باسم MMT Virus (mouse mammary tumour) وقام بحقنه فى نواة بويضة pronucleus أخصبت، ونقلت البويضة إلى الجهاز التناسلى لأم بديلة Surrogate mother. وقد ظهر السرطان على النسل عند البلوغ وورث أيضا إلى الجيل اللاحق.

وفى تقنية أخرى استهدف العلماء مساعدة مربى الأغنام فى جمع صوف الغنم بطريقة غير مكلفة وفى زمن وجيز. ومن أجل ذلك عدلوا جينوم البكتيريا بإضافة جين يعرف باسم عامل نمو بشرة الأغنام (EGF) Sheep epidermal growth factor. وبذلك تم الحصول على هذا العامل (الهرمون) بكميات كبيرة. وقبل وقت جمع الصوف بأسبوع تحقن الأغنام بهذا الهرمون، ثم يحاط كل حيوان بملاء لتجميع الصوف الذى يتساقط تلقائيا بعد الحقن بأسبوع دون أى جهد وكذلك دون أية معاناة يتكبدها الحيوان. وفى عام ١٩٩٨ قامت شركة أسترالية بتسويق الهرمون المنتج بالهندسة الوراثية للبكتيريا تحت اسم Bioclip.