الفصل السابع

العلاج بالجينات.. وإنجازات تكنولوجيا الحمض النووى فى تشخيص الأمراض فى الإنسان

(إن التكنولوجيا الحيوية ليست هى ما قبل العالمين بوير وكوهين، ولكنها هى ما بعدهما)!!

"Biotechnology is not BBC (before Boyer- Cohen), but it is ABC (after Boyer - Cohen)!!

هذا ما قاله العلماء بعد نجاح العالمان هربرت بوير Herbert Boyer، وستانلى كوهين Stanley Cohen فى فتح الباب أمام نقل جين من كائن حى إلى آخر.

لقد تم الاتفاق بين العالمين الأمريكيين على أرض جزر هاواى فى عام ١٩٧٢.

لقد التقى العالم ذائع الصيت فى دنيا إنزيمات القصر (هربرت بوير) مع العالم ذائع الصيت فى دنيا البلازميدات (ستانلى كوهين) فى مؤتمر علمى عقد فى هاواى فى ذلك العام. وبعد إلقاء العالم الأول لمحاضرته قام العالم الثانى بدعوته إلى طعام الغذاء. وعلى مائدة الطعام تم الاتفاق!

ثم عادا إلى القارة الأم. وبدأت تجاربهما التى أفضت فى عام ١٩٧٣ إلى نجاح ربط بلازميد pSC101 – الذى يحمل جين مقاومة المضاد الحيوى تتراسيكلين tetracycline – مع بلازميد pSC102 – الذى يحمل جين مقاومة المضاد الحيوى كينامايسين kenamycin. وقاما بإدخال البلازميدات إلى البكتيريا التى أصبحت بالتالى مقاومة للطرازين من المضادات الحيوية.

وفى تجربتهما الثانية – التى سجلها لهما التاريخ – نجح العالمان فى ربط جين من الضفدع المعروف باسم *Xenopus laevis* مع البلازميد pSC101 باستخدام إنزيم القصر *Eco*R1 ثم إنزيم الربط DNA ligase، ونتج عن ذلك بلازميد يحتوى على مادة وراثية تخص حيوان الضفدع. وقد أطلق على البلازميد الجديد وصف Chimera وذلك فى إشارة إلى المخلوق الغريب فى الأسطورة اليونانية الذى يمثل جسمه خلطا بين الأسد والماعز والأفعى. وقد نجح العالمان فى إدخال البلازميد المولف إلى بكتيريا *E coli*. وسرعان ما عمل الجين الخاص بالضفدع، وبذلك أصبح من الممكن نقل جين الضفدع إلى أى كائن آخر وضمان إنتاج بروتين خاص بالضفادع فى خلايا هذا الكائن الآخر.

وقد شكل هذا النجاح عملا غير مسبوق وفتح آفاقا واسعة أمام البيوتكنولوجى، وهو ما دعا العلماء إلى ذكر المقولة التى ذكرناها فى بداية هذا الفصل من الكتاب.

وقد حصل العالمان فى عام ١٩٩٦ على جائزة Lemelson-MIT، واقتسما معا قيمة الجائزة وهى نصف مليون دولار، وكان كوهين قد حصل على جائزة نوبل فى عام ١٩٨٦.

وقد فتح نجاح تجربة بوير وكوهين الباب واسعا أمام علاج الجينات المريضة فى الإنسان وهى التى يقدر عددها بالآلاف كما ذكرنا من قبل.

ويعتبر الكشف عن الجينوم البشرى Human genome – أى الكشف عن تتابع الدى أوكسى نيوكليوتيدات فى المادة الوراثية للإنسان وما يتبعه الآن من جهود للكشف عن مغزى هذه التتابعات وكيف تكون الجينات، وهو ما يعرف باسم Annotation – خطوة هامة تدفع بجهود العلاج بالجينات إلى الأمام.

وقد بدأ مشروع الجينوم البشرى The Human Genome Project (HGP) فى أكتوبر عام ١٩٩٠. ولكى ندرك ضخامة الجينوم البشرى نقول إنه لو رصت الأحرف الدالة على هذه التتابعات فى كتاب وحاولنا قراءة كل حرف من هذه الأحرف فى زمن يقدر بثانية واحدة فإننا نحتاج إلى قرن كامل من الزمان لإتمام قراءة هذه الأحرف إذ إن عددها يبلغ حوالى ٣ بلايين! ويقدر العلماء عدد الجينات البشرية بحوالى (٣٨) ألف جين.

وقد شهد يوم الاثنين ٢٦ يوليو ٢٠٠٠ حدثا تاريخيا، ففى هذا اليوم قام الرئيس الأمريكى (بيل كلينتون) من مقره فى البيت الأبيض، ورئيس الوزراء البريطانى (تونى بلير) من مقره فى (١٠) داوننج ستريت بالإعلان عن التوصل إلى كشف الجينوم البشرى وذلك فى اتصال بينهما بالأقمار الصناعية عبر المحيط الأطنطلى. وقد أذاعت جميع وسائل الإعلام فى العالم النبأ المثير. ففى اليوم التالى لهذا الاحتفال كان مانشيت صحيفة The Times البريطانية يقول: (فتح مغاليق كتاب الحياة Opening the book of life)، وظهر مانشيت صحيفة التابلويد البريطانية _ديلى اكسبريس Daily Express يقول: (بلير وكلينتون يكشفان عن اختراق علمى يمكن أن يطيل عمر الإنسان بمقدار ٢٥ عامًا)!

وفى احتفال ٢٦ يونيو التاريخى وصف كلنتون كشف الجينوم البشرى بأنه (أهم خريطة أنتجها العقل البشرى)، كما قال: (لقد تعلمنا اليوم اللغة التى خلق بها الله الحياة).

وفى إشارة إلى مردود هذا الاكتشاف على علاج الأمراض أضاف كلنتون مداعبا: (إن أولاد أولادنا لن يعلموا عن كلمة (سرطان) سوى أنها مجموعة من النجوم الساطعة ببرج السرطان)! أما تونى بلير فقال بأن (تداعيات هذا الكشف تفوق الكشف عن المضادات الحيوية) واستطرد (بلير) مداعبا (سيذكر الجميع أنه فى العام الذى ولد فيه ابنى (ليو) Leo حدث هذا الكشف

العلمى الكبير الذى سيزيد عمره بمقدار ٢٥ عاما!! وفى إشارة إلى الفوائد الإيجابية والمحاذير المتعلقة بهذا الكشف قال بلير (إن علينا أن نطور مكاسبنا من هذا الكشف وأن نعمل على تقليل مخاطره). كما دعى الرئيس الأمريكى كلنتون إلى تعاون دولى لوضع إطار قانونى وأخلاقى للاستفادة من كشف الجينوم البشرى.

ومن المؤسف أن كشف الجينوم ودراسة الجينات البشرية أكدا لنا أن أفراد المجتمع البشرى يولدون وكل منهم قد تحدد سلفا نصيبه من الصحة والمرض، والجمال والقبح، وطول العمر وقصره!! وأن الأفكار المثالية حول قيمة (المساواة) هى محض خيال؟!

وقد قام العلماء أيضا بالكشف عن جينوم عدد من الفيروسات والبكتيريا وعدد محدود من الفطريات والديدان والكائنات العليا.

ومن المأمول أن تساعد دراسات الكشف عن الجينوم فى الكائنات المختلفة على تحقيق فوائد عديد نذكر منها ما يلى:

- تفسير هذا التنوع فى المخلوقات على أساس تنوعات التركيب الجزيئى للمادة الوراثية، فعلى سبيل المثال: ما الذى يجعل الحشرة حشرة، أو الفأر فأرا أو الشجرة شجرة؟.
- يمكن أن تفيد هذه المعلومات فى توجيه دورة حياة الطفيليات التى تصيب الإنسان وكائناته النافعة بحيث يتوقف سلوكها الطفيلى وتصبح غير مؤذية مما يحمى الإنسان من كثير من الأمراض ويزيد من ثروته النباتية والحيوانية.
- يمكن أن تفيد هذه المعلومات فى التسخير الكفؤ لبعض الكائنات الحية لمصلحة الإنسان بحيث تمد الإنسان باحتياجات معينة توفر له الغذاء والدواء والكساء.
- تؤدى هذه الكشوف إلى التوصل إلى النظم التى تتحكم فى آليات عمل الجينات فى الكائنات المختلفة مما يوفر (معلومات مقارنة) ذات أهمية علمية من ناحية، ومن ناحية أخرى يمكن أن توفر فرص التحكم فى كيمياء هذه المخلوقات، ويؤدى ذلك إلى ظهور عالم غير الذى نعرفه اليوم.
- يمكن أن يساعد الكشف عن الجينوم فى الحد من الأمراض التى ترجع إلى أسباب جينية.

وقد يتم العلاج الجينى بإضافة جين سليم أو استبدال جين بجين آخر أو عن طريق إحباط آلية تعبير جين مريض بحيث لا ينتج أثره الضار.

ومن المتفق عليه أن يتم اللجوء إلى هذه التقنية وفق ضوابط معينة منها أن يكون المرض موضوع العلاج مهددا لحياة الشخص المصاب به، وأن تكون المعالجات الروتينية غير فعالة، وأن يكون قد تم للعلماء القيام بعزل الجين الذى تعزى إليه الحالة المرضية وإكثاره معمليا Cloning، وألاّ يكون تنظيم عمل الجين يخضع لآلية معقدة لم يتم السيطرة عليها بعد، وألاّ يكون إدخال الجين إلى موقعه بالجينوم بالخلية أو تعبير Expression الجين عن نشاطه يكتنفهما مصاعب تقنية. وهناك مخاوف من أن إدخال الجين عشوائيا إلى الجينوم فى موقع غير موقعه يمكن أن ينشط بعض الجينات المسرطنة.

وكان من أحد أسباب خطورة الأمراض الوراثية هو أنه لا يمكن تشخيصها قبل ظهور أعراضها، وذلك على رغم أنها تكون مسجلة عبر جينات خلايانا منذ أن كنا أجنة فى أرحام أمهاتنا. وقد خلقت ثورة البيوتكنولوجى تيارا جديدا ليس فقط فى مجال علاج المرض الوراثى بل أيضا فى مجال التشخيص المبكر للمرض قبل ظهور أعراضه.

ويمكن الكشف عن الأمراض الوراثية فى الأجنة وذلك بفحص خلايا السائل الأمنيوتى amniotic fluid المحيط بالجنين حيث إن الخلايا التى تسبح فى هذا السائل تكون فى الأصل من الجنين نفسه، وتعرف هذه التقنية باسم "amniocentesis" (شكل ملون رقم ٦٣ أ) وهى تعتمد على سحب كمية من السائل الأمنيوتى عن طريق حقنه ثم عزل الخلايا منه لفحصها.

وفى أسلوب آخر تؤخذ عينة من غشاء الكوريون المحيط بالجنين Chorionic villus sampling (شكل ملون رقم ٦٣ ب) ويعطى هذا الأسلوب فرصة أفضل لاتخاذ القرار المناسب بالنسبة للجنين حيث إن غشاء الكوريون يتكون فى فترة مبكرة عن تكون الأمنيون.

ويثير تشخيص الأمراض الوراثية قبل الولادة جدلا واسعا فى المجتمعات، فالبعض يرى ضرورة إجهاض الجنين إذا كان المرض على درجة كبيرة من الخطورة. وهنا يثار عدد من الأسئلة منها ما هى الحالات المرضية التى تعتبر خطيرة وتبرر بالتالى إجراء الإجهاض، ومنها ما هو التوقيت من عمر الجنين الذى بعده لا يجوز إجهاضه. ففى المملكة المتحدة على سبيل المثال لا يجوز إنهاء الحمل إذا ما تعدى عمر الجنين ٢٤ أسبوعا.

وكثيرا ما ساعد التشخيص قبل الولادة فى تجنب إصابة الوليد بالحالة المرضية. فعلى سبيل المثال إذا أثبت تحليل الحمض النووى وجود الحالة المرضية المعروفة باسم Congenital adrenal hyper[lasia والتى تؤدى إلى تضخم البظر والشفرين virilization فى الوليدة تعطى الأم جرعات من عقار dexamethasone طوال فترة الحمل مما يحول دون ظهور هذه الأعراض على الوليدة.

وهناك أسلوب ثالث يثبط بالإخصاب فى الزجاج *in vitro* fertilization، حيث يتم الحصول على عدة أجنة ويطبق على كل منها تقنية الفحص اعتمادًا على تكنولوجيا الحمض النووى مثل استخدام المجسات probes. ثم يزرع الجنين المعافى فى رحم الأم، وتدمر بقية الأجنة.

وفى حالة الأمراض الوراثية المتنحية يختار الجنين الذى لا يحتوى على الجين المرض أو الذى يحتوى على نسخة واحدة منه. وفى حالة الأمراض التى جينها سائد يختار الجنين الذى لا يحتوى على الجين المرض.

وبصفة عامة فإن العلاج بالجينات سيعطى فرصا لعلاج الأجنة بدلا من إجهاضها الذى يواجه باعتراضات دينية وأخلاقية.

ومن المؤكد أن نجاح العلاج بالجينات سيدفع الأسر إلى الفحص المبكر Family Screening للكشف عن أية جينات مرضية. وتتصاعد هنا مرة أخرى النداءات بوضع تشريعات لضمان حفظ المؤسسات الطبية لأسرار عملائهم، وألاّ تستغل شركات التأمين وجهات التوظيف لهذه المعلومات ضد الأفراد الحاملين لهذه الجينات. ويفيد الفحص المبكر دون ظهور الحالات المرضية وذلك بالحيلولة دون زواج الأقارب الحاملين للمرض بصورة متنحية. كما أن الفحص المبكر يفيد فى العلاج المبكر لبعض حالات السرطان العائلى، وكذا مرض (زيادة الكولسترول فى الدم العائلى) Familial hypercholesteroaemia. ومن ناحية أخرى فإن الفحص المبكر يؤدى إلى قلق يسيطر على حياة الأفراد الذين يثبت وجود جينات ممرضة لديهم.

والتعامل مع أحد الأمراض لعلاجه جينيا يتطلب من العلماء تحديد موقع الجين ذى العلاقة، والكشف عن التتابعات التى تتحكم فيه وفى تنظيم تعبيره، ثم فصل هذا الجين وتحميله على حامل vector ثم كلونته، ففى أغلب الأحوال يكون هذا الحامل فيروسا virus، كما يقتضى الأمر معاملة الفيروس أولا بحذف بعض جيناته حتى يكون أكثر أمانا عند إدخاله إلى الجسم البشرى محملاً بالجين المطلوب.

وقد أثارت تكنولوجيا الحمض النووى معاد الاتحاد مخاوف البعض من تسرب البكتيريا المعدلة جينيا بالهندسة الوراثية من المعامل وانتشارها العشوائى فى البيئة مما يحمل مخاطر شديدة غير محسوبة على الإنسان مثل نقل جين يزيد القابلية للإصابة بمرض السرطان أو نقل جين يؤدى إلى مقاومة الميكروبات للمضادات الحيوية المعروفة. وقد تنامت مخاوف العامة والساسة والمعنيين بصحة الإنسان من تجارب العلماء فى مجال تكنولوجيا الحمض النووى DNA Technology وتطبيقاتها السريرية، وطالب البعض بتأجيل إرادى voluntary muratorium لها. وقد طالب الكثيرون بضرورة وضع ضوابط لمستخدمى هذه التقنية تحول دون الاستخدام العشوائى لها. كذلك حرص العلماء على معاملة البكتيريا المستخدمة فى تحميل الجينات بهدف جعلها غير قادرة على الحياة خارج معامل الأبحاث مثل بكتيريا *E. coli* K12 strain 1776.

وعند ناحية أهسيلومار Asilomar فى مدينة Pacific Grove على شاطىء كاليفورنيا عقد فى فبراير عام ١٩٧٥ مؤتمر حضره ١٣٩ باحثا من ١٧ دولة لمدة أربعة أيام لوضع أسس تجنب مخاطر بحوث بيوتكنولوجيا الحمض النووى. وكان من أهم معالم طمأنة العامة تقرير أن ما يستخدمه الباحثون من كائنات دقيقة فى تجاربتهم مصممة بحيث تكون عديمة الضرر disarmed، ولا يمكن لها الحياة خارج المعامل. وقد أدى هذا المؤتمر إلى إنشاء لجنة جديدة تتبع معاهد الصحة القومية فى الولايات المتحدة الأمريكية تحت اسم Recombinant DNA Advisory Committee (RAC) لتكون هى الرقيب على تجارب تكنولوجيا الأحماض النووية وتطبيقاتها.

وقد صدر عن مؤتمر (أهسيلومار) توصيات بضوابط صارمة لضمان أقصى ما يمكن من أمان للمريض المعالج وأيضا للأشخاص الآخرين.

ومن الضوابط المقررة فى هذا الشأن أنه لابد لأى فريق من العلماء ينوى الإقدام على علاج أحد المرضى بهذا الأسلوب أن يحصل مسبقًا على تصريح من مدير معاهد الصحة القومية National Institutes of Health (NIH)، ومن اللجنة الاستشارية لحمض DNA معاد الاتحاد التابعة لمعاهد الصحة القومية NIH Recombinant DNA Advisory Committee (RAC) ، ومن اللجنة الفرعية لعلاج الجينات البشرية The Human Gene Therapy Subcommittee of RAC، ومن الإدارة الفيدرالية للأغذية والعقاقير Fedral Food and Drug Administration (FDA).

وفى المملكة المتحدة أنشئت لجنة لأخلاقيات العلاج الجينى Committee on the Ethics of Gene Therapy، والجماعة الاستشارية للمعاملات الجينية Genetic Manipulation Advisory Group (GMAG).

وقد حرص الإعلام فى الدول المتقدمة على توعية العامة بالآثار الإيجابية والسلبية لهذه التقنية، وبالمدى الذى وصلت إليه التجارب العلمية فى هذا الصدد، أذكر من ذلك مقالتين فى عددى ٩ نوفمبر ١٩٩٨، ٢٧ ديسمبر ١٩٩٩ من مجلة نيوزويك Newsweek، كما تناولت هذه القضية مجلة Scientific American فى عددى مارس ويونيو عام ١٩٩٧.

وقد ينشأ المرض عن خلل فى جين واحد، أو عن خلل فى بضعة جينات. وبصفة عامة فإن علاج الخلل الذى ينشأ عن جين واحد يكون أسهل من علاج الخلل الذى يتسبب فيه عدة جينات. ولهذا بدأ العلماء تطبيق تقنية العلاج بالجينات على الأمراض الوراثية التى يتسبب فى حدوث كل منها جينا واحدًا. وهى على أى الأحوال ليست قليلة، فعددها لا يقل عن ألفى مرض.

وتوضح القوائم الموضحة هنا أمثلة من الأمراض الوراثية التى ترجع إلى جين واحد، وأمثلة أخرى من تلك الأمراض التى ترجع إلى عدة جينات، مع ذكر المعالجات التقليدية المتاحة لبعضها.

أمثلة لأمراض يتحكم فى كل منها جين واحد، والمعالجات التقليدية المتاحة لبعضها

Disease	المرض	Therapy	العلاج
Congenital adrenal hyperplasia	زيادة تكاثر خلايا الكظر	Hormone replacement	علاج هرمونى
Phenylketonuria	وجود كيتون الفنيل فى البول	Dietary restriction of phenylalanine	ضوابط للتغذية
Galactosaemia	وجود الجالاكتوز فى الدم	Dietary restriction of galactose	ضوابط للتغذية
Haemophilia	نزف الدم	Factor replacement	عقاقير
SCID	مرض نقص المناعة المركب الشديد	Marrow transplant	زرع النخاع
Cystinuria	وجود السستين فى البول	High fluid intake, D-penicillamine	عقاقير
Polyposis coli	ظهور بوليبات فى القولون	Colectomy	جراحة
Agammaglobulinaemia	نقص المناعة المركب الشديد (طراز سويسرى)	Immunoglobulin replacement	عقاقير
Beta-thalassaemia	بيتا – ثاليسميا	Marrow transplant	زرع نخاع
Methylmalonic aciduria	ظهور حمض ميثيل مالونك فى البول	Vitamin B_{12} – enzyme cofactor	عقاقير
Adult polycysitc disease	مرض ظهور حويصلات متعددة	Renal transplant	زرع كلى
Wilson disease	مرض ولسون	D-penicillamine	عقاقير
Familial hypercholesterolaemia	زيادة الكولسترول فى الدم (العائلى)	Diet, medications	ضبط تغذية – عقاقير
Hereditary spherocytosis	مرض تحول خلايا الدم إلى الشكل الكروى	Splenectomy	جراحة
Haemochromatosis	مرض ترسب الحديد فى أعضاء الجسم	Repeated venesection	فصد دم
Cystic fibrosis	التليف الحويصلى		
Huntington's disease	مرض هنتجتون		
Sickle cell anaemia	الأنيميا المنجلية		
Duchenne muscular dystrophy	ضمور دوتشين للعضلات		
Mucopolysaccharidosis	زيادة المواد عديدة السكر المخاطية		
Glycogen storage disease	مرض إختزان الجليكوجين		
Tay-Sachs disease	مرض تاى ساكس		

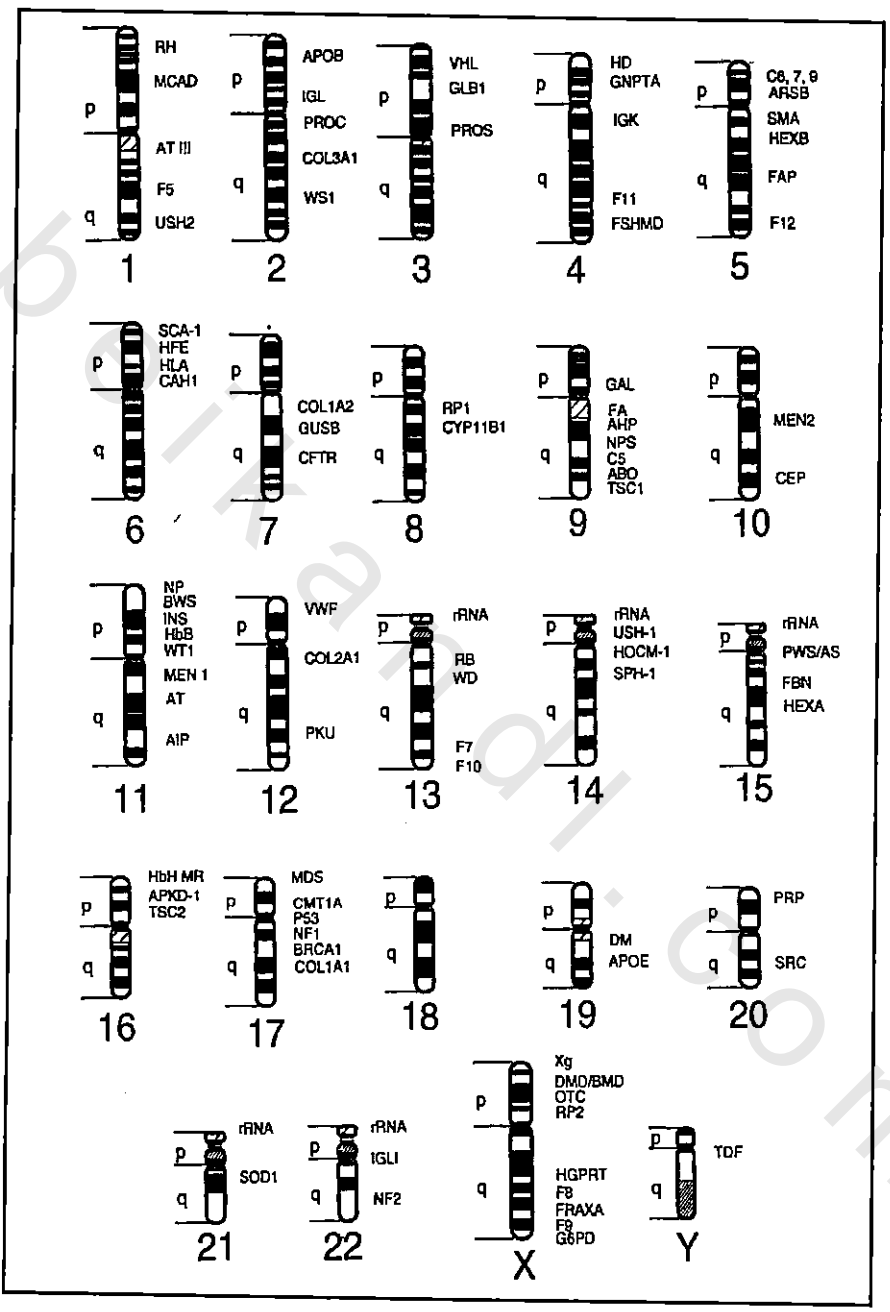
obeikandl.com

نماذج لأمراض يتحكم فى كل منها عدة جينات
والمعالجات التقليدية لبعضها

Therapy	العلاج	Disease	المرض
Surgery	الجراحة	Celft lip and palate	شق الشفة وسقف الحلق
Surgery	الجراحة	Pyloric stenosis	ضيق فتحة البواب
Surgery, medications	الجراحة والعقاقير	Congenital heart disease	أمراض للقلب الخلقية
Surgery, medications	الجراحة والعقاقير	Hydrocephalus	استسقاء الدماغ
Medications	العقاقير	Diabetes mellitus	مرض السكر
Medications	العقاقير	Hypertension	زيادة ضغط الدم
Medication, surgery	العقاقير والجراحة	Peptic ulcer	قرحة معدية
Medications	العقاقير	Epilepsy	صرع
Surgery	الجراحة		خلع خلقى لعظم الحرقفة
		Congenital dislocation of the hip	
Medications – diet	العقاقير والتغذية	Gout	النقرس
Medications	العقاقير	Diabetes mellitus	مرض السكر

ويعتبر (فيكتور مكوسك) Victor Mckusick (شكل ٦٤) الأستاذ بجامعة جونزهوبكنز Johns Hopkins University مؤسس علم الوراثة الطبية Medical Genetics. ولنا أن ندرك أن حجم النمو المتسارع لمعلوماتنا حول مشكلة الأمراض الوراثية إذا علمنا أن (مكوسك) قام فى عام ١٩٦٦ بحصر الأمراض الوراثية التى تصيب الإنسان فى كتاب له بعنوان Mendelian Inheritance in Man وكان عددها فى حدود (١٥٠٠) مرض. وفى الطبعة الحادية عشرة لهذا الكتاب ارتفع رقم الحصر حتى وصل إلى حوالى تسعة آلاف مرض. وقد نال مكوسك (جائزة مؤسسة لاسكر) Lasker Foundation فى عام ١٩٩٧. ويوضح الشكل رقم (٦٥) إحدى الخرائط الجينية التى وضعها العالم (مكوسك) وتوضح عددًا من الأمراض الوراثية التى تصيب الإنسان والتى يرجع كل منها إلى جين واحد.

شكل (٦٤): فيكتور ماكوسك Victor Mckusick مؤسس علم الوراثة الطبية.



شكل (٦٥): إحدى الخرائط الجينية للكروموسومات البشرية التى قدمها العـالم Mckusick موضحا عليهـا مواقع الجينات الخاصة ببعض الأمراض التى يتسبب فى كل منها جين واحد.

Key to Fig.

ABO—ABO blood group
AHP—Acute hepatic porphyria
AIP—Acute intermittent porphyria
APKD-1—Adult polycystic kidney disease—locus 1
APOB—Apolipoprotein B
APOE—Apolipoprotein E
ARSB—Mucopolysaccharidosis type VI, Maroteaux–Lamy syndrome
AS—Angelman syndrome
AT—Ataxia telangiectasia
AT III—Antithrombin III
BRCA1—Familial breast/ovarian cancer locus-1
BWS—Beckwith-Wiedemann syndrome
C5—Complement factor 5
C6—Complement factor 6
C7—Complement factor 7
C9—Complement factor 9
CAH1—Congenital adrenal hyperplasia, 21-hydroxylase
CEP—Congenital erythropoietic porphyria
CFTR—Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
CMT1A—Charcot–Marie–Tooth disease type 1a
COL1A1—Collagen type 1, alpha-1 chain, osteogenesis imperfecta
COL1A2—Collagen type 1, alpha-2 chain, osteogenesis imperfecta
COL2A1—Collagen type 2, Stickler syndrome
COL3A1—Collagen type 3, alpha-1 chain, Ehlers–Danlos syndrome type IV
CYP11B1—Congenital adrenal hyperplasia, 11-beta hydroxylase
DM—Myotonic dystrophy
DMD/BMD—Dystrophin, Duchenne and Becker muscular dystrophy
F5—Coagulation protein V
F7—Coagulation protein VII
F8—Coagulation protein VIII, Haemophilia A
F9—Coagulation protein IX, Christmas disease, Haemophilia B
F10—Coagulation protein X
F11—Coagulation factor XI
F12—Coagulation factor XII
FA—Friedreich's ataxia
FAP—Familial adenomatous polyposis, polyposis coli, Gardner syndrome
FBN—Fibrillin, Marfan syndrome
FraxA—Fragile X mental retardation
FSHMD—Facio–scapulo–humeral muscular dystrophy
GAL—Galactosaemia
GLB1—GM1 gangliosidosis
G6PD—Glucose-6-phosphate dehydrogenase
GNPTA—Mucopolysaccharidosis type I, Hurler syndrome
GUSB—Mucopolysaccharidosis type VII, Sly syndrome
HbB—Beta globin gene
HbH MR—Alpha-thalassaemia mental retardation
HD—Huntington's disease
HEXA—Hexosaminidase A, Tay–Sachs disease
HEXB—Hexosaminidase B, Sandhoff disease
HFE—Haemochromatosis
HGPRT—Hypoxanthine guanine phosphoribosyl transferase, Lesch–Nyhan syndrome
HLA—Major histocompatibility locus
HOCM-1—Hypertrophic obstructive cardiomyopathy type 1
IGK—Immunoglobulin kappa light chain
IGL—Immunoglobulin lambda light chains, κ on chromosome 2, λ on chromosome 22
INS—Insulin
MCAD—Acyl Co-A dehydrogenase, medium chain
MDS—Miller–Dieker syndrome
MEN1—Multiple endocrine neoplasia syndrome type 1
MEN2—Multiple endocrine neoplasia syndrome type 2
NF1—Neurofibromatosis type 1, von Recklinghausen's disease
NF2—Neurofibromatosis type 2, bilateral acoustic neuroma
NP—Niemann–Pick disease
NPS—Nail–patella syndrome
OTC—Ornithine transcarbamylase
p53—p53 protein, Li–Fraumeni syndrome
PKU—Phenylketonuria
PROC—Protein C, coagulopathy disorder
PROS—Protein S, coagulopathy disorder
PRP—Prion disease protein
PWS—Prader–Willi syndrome
RB—Retinoblastoma
RH—Rhesus null disease, Rhesus blood group
RP1—Retinitis pigmentosa locus 1
RP2—Retinitis pigmentosa locus 2, X-linked
rRNA—Ribosomal RNA
SCA1—Spinocerebellar ataxia locus 1
SPH1—Spherocytosis type 1
SMA—Spinal muscular atrophy
SOD1—Superoxide dismutase, familial motor neurone disease
SRC—Proto-oncogene, Rous sarcoma virus
TDF—Testis determining factor
TSC1—Tuberous sclerosis, locus 1
TSC2—Tuberous sclerosis, locus 2
USH1—Usher syndrome type 1
USH2—Usher syndrome type 2
VHL—von Hippel–Lindau syndrome
VWF—von Willebrand disease
WD—Wilson's disease
WS1—Waardenburg syndrome, type 1
WT1—Wilms' tumour 1 gene
Xg—Xg blood group

وهناك ثلاث استراتيجيات لتطبيق تقنية العلاج بالجينات نوجزها فيما يلى (شكل ملون ٦٦):

١ – حقن البويضة المخصبة بالجين السليم Injection of Fertilized Egg : وقد طبقت هذه الطريقة على أول حالة علاج بالجينات فى الثدييات وذلك بحقن البويضات المخصبة للفئران، وكانت هذه البويضات تحمل جين القزمة Dwarfism بصورة مزدوجة (انظر الفصل السابق).

وهذه التقنية من المتعذر تطبيقها على البشر حيث إن تشخيص وجود الحالة المرضية من عدمه يؤدى إلى الإضرار بالبويضة ذاتها، ولكن من الممكن التحايل على هذه الصعوبة بترك الزيجوت يتفلج، وعندما ينتج عن ذلك عدد محدود من الخلايا تؤخذ إحداها لتستخدم فى عملية التشخيص، وذلك لن يضر بتكوين الجنين. وبصفة عامة فإن التقنيتين الثانية والثالثة هما الأكثر قابلية للتطبيق على الإنسان.

٢ – علاج الجنين المبكر Germ Line Gene Therapy : وتعتمد على حقن الجنين فى مرحلة كيس البلاستيولا بعدد من الخلايا المعالجة جينيا، وتنتظم الخلايا المحقونة مع الخلايا الجنينية الأصلية ليتكون منها معا أنسجة وأعضاء الوليد، ومنها المناسل.. وبذا فإنه من الممكن أن يورث الجين السليم إلى النسل. ولم يطبق هذا الأسلوب على الإنسان، وهناك اتفاق بين المؤسسات العلمية والطبية والقانونية والأخلاقية فى أمريكا وأوربا على عدم تطبيق هذه الطريقة على الإنسان، على أساس عدم تعريض الأجيال القادمة لمخاطر تقنية لم يتمكن العلماء من السيطرة عليها بعد، فضلا على أن النتائج التفصيلية للتقنية لا يمكن التحكم تماما فيها.

٣ – العلاج الجينى للخلايا الجسمية Somatic Gene Therapy : فى هذا الأسلوب يتم إصلاح الشكل الظاهرى phenotype للعضو الذى يظهر فيه الخلل نتيجة للجين غير السوى. ويتم ذلك بالتعامل مع بعض خلايا هذا العضو – وليس خلاياه كلها، وهذا فى الواقع يكفى للتخلص من شواهد الحالة المرضية. وتعتمد هذه الطريقة على أخذ بعض الخلايا من جسم المريض ومعالجتها بالجينات وذلك بإدخال جينات سليمة مكلونة cloned، ثم إعادة الخلايا معدلة الجينات إلى جسم المريض مما يؤدى إلى تعبير الجين السليم Gene expression فى هذا العضو واختفاء مظاهر الحالة المرضية. وقد طبق هذا الأسلوب بالفعل على البشر وتكلل بالنجاح (انظر فيما بعد).

ولا يقتصر العلاج بالجينات على الأمراض الوراثية، بل امتد الأمل إلى استخدام هذه التقنية لعلاج أمراض غير وراثية مثل الإيدز.

وفيما يلى قائمة ببعض الأمراض المأمول علاجها باستخدام الجينات خلال السنوات القليلة القادمة :

اسم المرض	سبب حدوثه
نقص المناعة Immune deficiency	نقص فى إنزيم Adenosine deaminase ونقص فى إنزيم Purine nucleoside phosphorylase
الزيادة الموروثة للكولسترول فى الدم Hypercholesterolaemia	اضطراب فى مستقبلات البروتينات الدهنية منخفضة الكثافة Low density lipoprotein receptor abnormalities
هيموفيليا (نزف الدم) Haemophilia	طراز (A) : نقص العامل رقم VIII طراز (B): نقص العامل رقم IX
مرض جوتشر Gaucher's discase	نقص إنزيم glucocerbrosidase
تراكم المواد عديدة التسكر المخاطية Mucopolysaccharidosis VII	نقص إنزيم *B*-glucuronidase
إمفيزيما Emphysema	نقص مادة α 1-antitrypsin
التليف الحويصلى Cystic fibrosis	طفرة فى الجين CFTR
فينيل كيتون يوريا Phenylketonuria	نقص إنزيم Phenylalanine hydroxylase
اضطرابات فى دورة اليوريا Urea cycle abnormalities (أ) زيادة الأمونيا فى الدم Hyperammonaemia (ب) زيادة سترولين فى الدم Citrullinaemia	نقص إنزيم Ornithine transcarbamylase نقص إنزيم argininosuccinale synthetase
ضمور عضلى Muscular dystrophy	طفرات فى مركب Dystrophin
ثالسميا / الأنيميا المنجلية Thalassaemia/Sickle-cell disease	طفرات فى جلوبين ألفا وجلوبين بيتا α and β globin mutations
السرطان Cancer سرطان الجلد Malignant melanoma سرطان المبيض Ovarian cancer أورام المخ Brain tumours ورم نخاع الكظر والعقد السمبثاوية Neuroblastoma سرطان الكلى Renal cancer سرطان الرئة Lung cancer	
عرض نقص المناعة المكتسب (الإيدز) Acquired immunodeficiency syndrome (AIDS)	
أمراض القلب والأوعية الدموية Cardiovascular diseases	
الالتهاب المفصلى الروماتويدى Rheumatoid arthritis	

وتختلف الخلايا الهدف Target cells التى تحتاج إلى العلاج الجينى حسب طبيعة المرض، ففى مرض ألفاثالسميا alpha-Thalassemia يكون الهدف هو خلايا الدم فى الجنين، وفى مرض Tyrosinemia type I يكون الهدف هو الخلايا الكبدية، وفى مرض الضمور العضلى Muscular dystrophy يكون الهدف هو الخلايا العضلية، وفى المرض المسمى Ornithine transamylase deficiency تكون الخلايا الكبدية هى الهدف.

ومن الأمور التى يجب مراعاتها عند إجراء إضافة الجين أن تظل الخلايا المعاملة حية لفترة معقولة تتناسب مع هذا الطراز مع الخلايا، وأن يعبر الجين المنقول عن نفسه بإنتاج المادة المطلوبة، وألا يتفاعل الجسم بصورة مضادة مع المادة الناتجة كأن يكوِّن أجسامًا مضادة لها، وألا يكون للجين المنقول تداعيات ضارة كأن يسبب حدوث طفرة أو ورما سرطانيا.

وقد يتم إدخال المادة الوراثية المطلوبة إلى بعض خلايا الفرد وذلك خارج جسمه أى فى الأطباق المعملية فيما يعرف باسم *ex vivo* ثم تحقن الخلايا المعاملة إلى جسم الفرد، وقد يتم ذلك بحقن المادة الوراثية مباشرة إلى داخل جسم الفرد – فيما يعرف باسم *in vivo*.

ويعيب طريقة إضافة Addition جين إلى جينوم الكائن الحى أن مكان ارتباطه بهذا الجينوم يحدث عشوائيا مما يؤدى إلى إرباك المجموع الجينى ويسفر عن مشاكل عند تعبير Expression الجينات عن وظائفها – ولذا يفضل العلماء ما يسمى العلاج الجينى بالإحلال أو الاستبدال Replacement gene therapy حيث يستبدل جين سليم بالجين المعطوب فى الموقع نفسه.

لقد وجهت كثير من مراكز البحوث فى الدول المتقدمة جهود كثير من علمائها ورصدت الكثير من أموالها فى سبيل تدعيم تجارب علاج الأمراض الوراثية التى تصيب الإنسان عن طريق العلاج بالجينات. وكانت ثورة العلوم البيولوجية المعتمدة على إنجازات البيولوجيا الجزيئية هى المرتكز الذى استعان به العلماء فى هذا الاختراق الجديد. وقد واجه العلماء العديد من المصاعب والعديد من حالات الفشل إلاَّ أنه بالإصرار والعزيمة حقق العلماء عددًا من النجاحات فى شفاء أمراض استعصيت على الشفاء عشرات ومئات السنين وأدت إلى وفاة الآلاف من البشر وشوهت أجساد وعقول آلاف آخرين منذ فجر التاريخ البشرى. ولا زال الطريق طويلا طويلا أمام العلماء ليحققوا للبشرية حياة ترفرف عليها الصحة والسلامة.. حياة تبرأ من أمراض طالما وقف الإنسان أمامها عاجزا.

وكما ذكرنا من قبل فهناك الآلاف من الأمراض التى تصيب الإنسان والتى يقف خلفها خلل فى الجينات.

وفيما يلى بعض الأمراض التى تصيب الإنسان وترجع إلى خلل فى الجينات والتى نجح العلماء فى علاجها باتباع تقنية العلاج بالجينات:

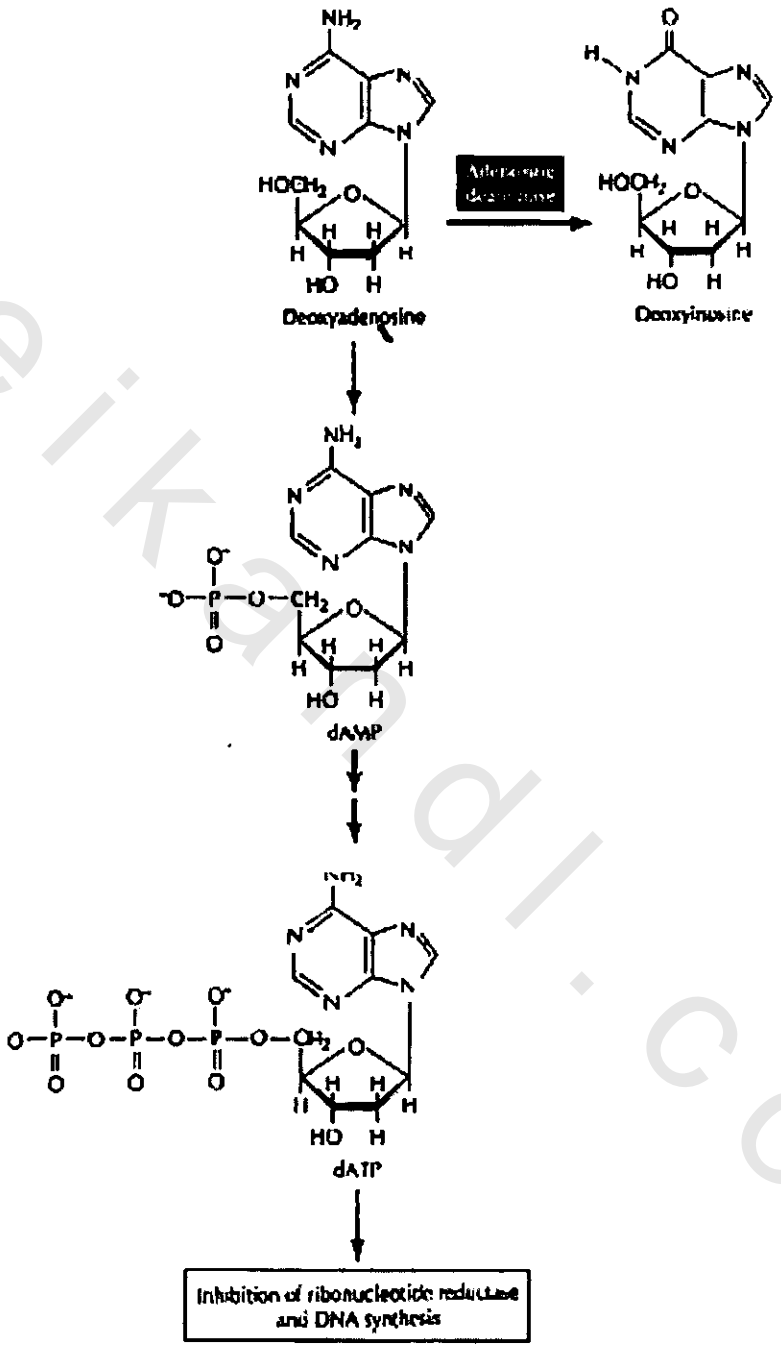
مرض نقص المناعة المركب الشديد

Severe Combined Immunodeficiency Disease (SCID)

عند ظهور يوم ١٤ سبتمبر ١٩٩٠ سجل التاريخ حدثا فريدا، وذلك عندما بدأت أول تجربة للعلاج بالجينات وذلك على طفلة فى الولايات المتحدة الأمريكية عمرها ٤ سنوات اسمها Ashanti de Silva مصابة بمرض فى الجهاز المناعى نشأ عن نقص إنزيم يعرف باسم Adenosine deaminase (ADA). والسبب فى نقص هذا الإنزيم هو خلل فى الجين المسئول عن إنتاجه. ويقع هذا الجين على الكروموسوم رقم (٢٠)، ويتكون من ٣٢,٠٠٠ زوج من القواعد النيتروجينية، بالإضافة إلى (٢١) إكسون. وفى الولايات المتحدة الأمريكية يولد حوالى (٤٠) طفلا سنويا مصابون بهذه الحالة المرضية. ويؤدى نقص هذا الإنزيم إلى فقد القدرة على بناء الحمض النووى DNA اللازم لتكوين الخلايا اللمفية Lymphocytes مما يؤدى إلى خلل بالجهاز المناعى للفرد ويجعله عرضة للإصابة بالفيروسات والبكتيريا والفطريات وطفيليات الحيوانات الأولية. وتفصيل الأمر أن الشخص المصاب بهذا المرض يكون لديه خلل فى الجين المسئول عن إنتاج إنزيم يعرف باسم أدينوزين دى أمينيز Adenosine deaminase (ADA)، ويقوم هذا الإنزيم فى الأحوال العادية بالتفاعل الآتى:

Deoxyadenosine ⟶ Deoxyinosine

أما فى حالة نقص هذا الإنزيم فإن مادة Deoxyadenosine تتخذ مسارًا آخر (انظر المعادلات) لتتحول فى النهاية إلى مادة تعرف باسم deoxyadenosine triphosphate (dATP) التى يؤدى تراكمها فى الخلايا إلى تثبيط إنزيم ribonucleotide reductase الضرورى لتخليق الوحدات البنائية للمادة الوراثية DNA. وهذا يعنى أن غياب أدينوزين دى أمينيز Adenosine deaminase فى الخلايا اللمفية يؤدى إلى زيادة مركب (dATP)، وبالتالى فقدان قدرة المادة الوراثية DNA على مضاعفة نفسها. أما خلايا الجسم الأخرى فهى تحتوى على إنزيمات تقوم بتكسير مركب (dATP) مما يؤدى إلى حماية هذه الخلايا.



Metabolism of deoxyadenosine.

obeikandl.com

وكانت قد صدرت فى صيف عام ١٩٩٠ تصاريح من عدة جهات مسئولة فى أمريكا لتطبيق تقنية العلاج بالجينات الجديدة على هذه الحالة المرضية. وقد قاد الفريق المعالج العالمان ذائعا الصيت W. French Anderson و B. Mechael Blaese من معاهد الصحة القومية The National Institutes of Health بالولايات المتحدة الأمريكية (الشكل رقم ١).

وتفصيل العلاج أنه بدأ بسحب كمية من دم الفتاة، وتم فصل الخلايا اللمفية lymphocytes ثم زرعت فى أطباق زجاجية. ثم أجرى تحميل جين الإنزيم الناقص - (أدينوزين دى أمينيز Adenosine deaminase) - على ناقل vector فيروسى من الطراز المعروف باسم retrovirus وعرضت الخلايا اللمفية له - ثم أعيدت الخلايا اللمفية المحملة بجين الإنزيم الناقص إلى الأوعية الدموية للطفلة المريضة. وقد تكررت هذه العملية (١١) مرة على مدى عامين. وقد أدى هذا إلى زيادة أعداد الكرات اللمفية بدم الطفلة، وكذلك إلى تحسن أداء الجهاز المناعى بها وتحسن صحة الطفلة بوجه عام. ولما كانت الخلايا اللمفية ذات أعمار قصيرة نسبيا فإن الأمر اقتضى تكرار العلاج على فترات محددة.

وقد أجريت التجربة بنجاح مرة ثانية فى مطلع عام ١٩٩١ على طفلة عمرها ٩ سنوات مصابة بالمرض نفسه وتدعى Cynthia (الشكل رقم ٢).

وكان لنجاح علاج هاتين الطفلتين أثر عظيم الشأن فى تعظيم الآمال فى علاج طرز الخلل المختلفة التى تصيب الجينات البشرية.

وعلى الجانب الآخر فإننا لا يمكن أن نتحدث عن مرض نقص المناعة المركب الشديد (SCID)، دون ذكر قصة فشل مؤلة سجلها لنا تاريخ الطب!

ففى عام ١٩٧١، وفى ولاية تكساس الأمريكية، ولد الطفل (ديفيد)، ولم يكن ديفيد ككل الأطفال، لقد كان مصابا بهذا المرض الذى جعله فريسة للميكروبات من كل نوع. وكان لابد من البحث عن وسيلة لحماية الطفل ديفيد.

فكان على الطفل (ديفيد) أن يعيش فى ظروف غاية فى الغرابة حيث حفظه الأطباء داخل عباءة خاصة من البلاستيك تحيط بجسمه إحاطة كاملة وتوفر له هواء معقما على الدوام - وقد مرت الشهور والسنوات ظل فيها (ديفيد) تحت الرعاية الطبية والنفسية - كما كان يتم تغيير العباءة مع اضطراد نمو جسمه. ولم يكن (ديفيد) راضيا عن حياة العزلة التى يعيشها، فألح هو وأسرته على إجراء عملية زرع نخاع عظم له لعلها تبنى فيه جهازًا مناعيا يحميه ليصبح شخصا طبيعيا مثل كل البشر، وإزاء ذلك أجرى الأطباء عملية زرع نخاع له نقل إليه من

أخته- وللأسف أصيب (ديفيد) بطراز من سرطان الدم قبل أن يقوى جهازه المناعى، فأدى ذلك إلى وفاته عقب العملية بأسابيع قليلة، وكان ذلك فى عام ١٩٨٤.

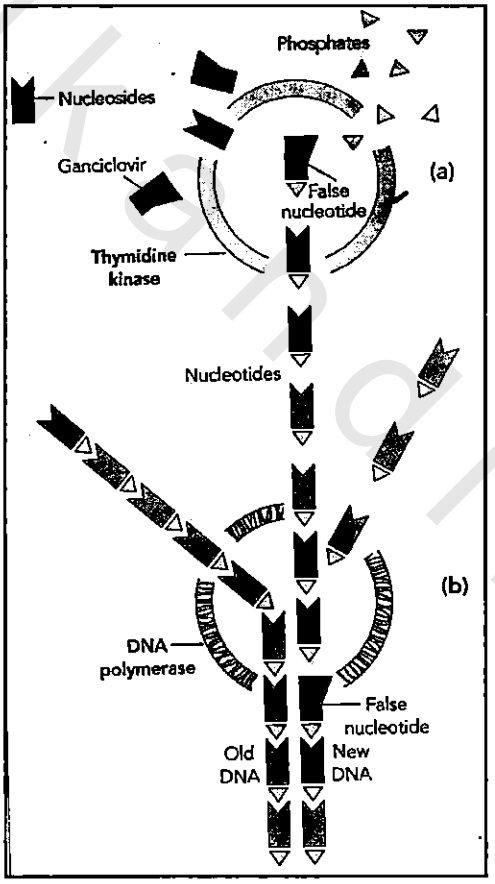
سرطان الجلد Malignant Melanoma

كان المرض الثانى الذى تمت محاولة علاجه جينيا هو سرطان الجلد المعروف باسم Malignant Melanoma. وقد قاد فريق العلاج العالم ذائع الصيت Steven Rosenberg (شكل رقم ٦٧) بالتعاون مع W. French Anderson. فمن المعلوم أن مقاومة الجسم للسرطان تعتمد على طراز معين من خلايا الدم البيضاء يعرف باسم tumour-infilterating lymphocytes (TILS) التى تقوم بتخلل الورم السرطانى وتحطيم خلاياه، كما تعتمد مقاومة الجسم للسرطان - بدرجة أقل - على إفراز الخلايا الأكولة Macrophages لبروتين يعرف باسم Tumour Necrosis Factor (TNF). وتعتمد التقنية التى اتبعها العلماء على فصل جزء من النسيج السرطانى للمريض وكذا عدد من خلايا (TILS) من دم المريض، ثم زراعة النسيج السرطانى مع هذا الطراز من خلايا الدم معًا فى أطباق زجاجية - ويعمل ذلك على زيادة تحفيز خلايا (TILS) ضد خلايا هذا الطراز من السرطان على وجه الخصوص - مع بروتين يعرف باسم Interleukin-2 لتحفيز خلايا (TILS) على التكاثر. وفى مرحلة تالية تخلط خلايا (TILS) مع فيروس ناقل من الطراز Retroviral vector يحمل الشفرة الوراثية للبروتين (TNF)، وعندئذ يغزو الفيروس سيتوبلازم خلايا (TILS) وينتقل جين (TNF) من الفيروس إلى كروموسومات هذه الخلايا لتصبح بذلك خلايا معدلة جينيا، وتزرع هذه الخلايا فى الزجاج لتنتج مزرعة من خلايا (TILS) منتجة بوفرة لمادة (TNF) المقاومة للسرطان. وقد قام فريق العالم Rosenberg بإدخال هذه الخلايا إلى الدورة الدموية للمريض عن طريق التنقيط (التشرب) infusion، ذلك أن هذه الخلايا المعاملة تتميز بخاصيتين هما أنها محفزة ضد خلايا سرطان الجلد على وجه الخصوص، وأنها تفرز البروتين (TNF) المضاد للخلايا السرطانية. وقد قام فريق العالم Rosenberg بتطبيق هذه الطريقة على تسعة من المرضى بسرطان الجلد.

شكل (٦٧): العالم ستيفن روزنبرج Steven Rosenberg قام بتجارب رائدة عن علاج السرطان جينيا.

خلايا أورام المخ Brain Tumour Cells

فى عام ١٩٩٣ أجريت فى مدينة Iowa الأمريكية محاولة لعلاج خلايا المخ السرطانية brain tumour cells – التى تتكاثر وذلك على عكس خلايا المخ السليمة – أجراها العالمان Michael Blaese and Kenneth Culver، حيث أدخلوا الجين المنتج لإنزيم thymidine kinase إلى هذه الخلايا *(in vivo)* فجعلها تعتمد عليه كليا فى ربط النيوكليوسيد مع الفوسفات لإنتاج النيوكليوتيد اللازم لبناء DNA اللازم قبيل عملية التكاثر الخلوى، ثم يحقن مركب Ganciclovir – الذى يشبه النيوكليوسيدات فى التركيب – إلى الخلايا، فيقوم إنزيم thymidine kinase بإدخالها فى بناء نيوكليوتيدات (شكل ٦٨)، وعندما تشرع الخلية فى مضاعفة



شكل (٦٨): آلية استخدام مركب Ganciclovir لإحباط تضاعف الحمض النووى DNA، وبالتالى إحباط التكاثر الخلوى مما يؤدى إلى إيقاف النمو السرطانى (راجع المتن).

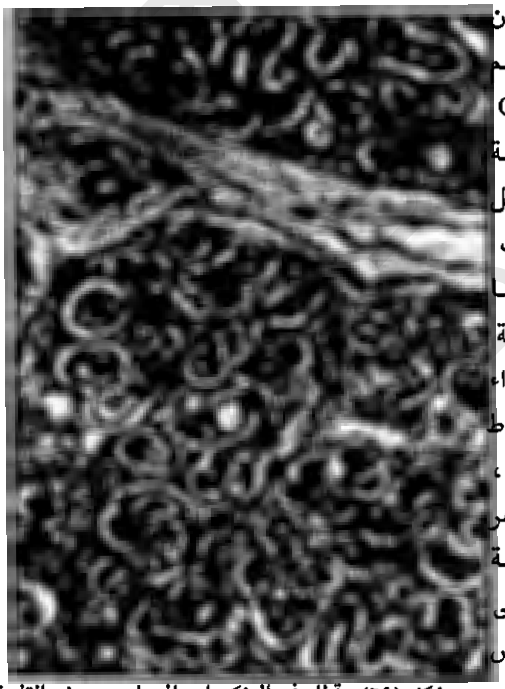
حمض DNA باستخدام إنزيم DNA polymerase فإن النيوكليوتيد المحتوى على مركب Ganciclovir يدخل فى بناء شريط حمض DNA، ولكن تفشل بعد ذلك عملية استكمال بناء الشريط بسبب عدم إمكانية ارتباط أى نيوكليوتيد آخر بالنيوكليوتيد المحتوى على مركب Ganciclovir مما يؤدى إلى عدم حدوث تكاثر خلوى، وأيضا إلى موت الخلية السرطانية. ويطلق على جين إنزيم thymidine kinase اسم جين الانتحار "Suicide gene".

أورام خلايا الغراء العصبى Glioblastomas

فى عام ١٩٩٨ أجرى علاج بالجينات لهذا المرض فى حوالى خمسين مستشفى فى الولايات المتحدة وخارجها اعتمادا على تقنية استخدام نقل جين thymidine kinase ومركب Ganciclovir.

التليف الحوصلى Cystic Fibrosis

يصيب هذا المرض الخلايا المبطنة للقنوات فى الرئة والبنكرياس حيث تتراكم أيونات الكلور داخل الخلايا – بسبب غياب الجين المسئول عن إنتاج البروتين المعروف باسم Cystic transmembrane conduct regulator potein (CTCR) الذى يكون ممرات دقيقة خاصة بخروج أيونات الكلور من داخل الخلايا إلى خارجها – مما يؤدى إلى سحب الماء من المخاط الموجود على أسطح الخلايا إلى داخل الخلايا، ويؤدى بالتالى إلى لزوجة هذا المخاط بحيث يصبح معوقا لأداء الأهداب لوظائفها، كما يؤدى تراكم المخاط عالى اللزوجة إلى زيادة فرص العدوى، وتؤدى إصابة الرئة إلى سعال مستمر وصعوبة فى التنفس، وتؤدى إصابة البنكرياس (شكل ٦٩) إلى سوء هضم وبالتالى إلى مشاكل سوء التغذية. كما يؤدى مرض التليف الحوصلى إلى زيادة ملوحة العرق. وغالبا يموت المصابون بهذه الحالة قبل بلوغهم سن الثلاثين.



شكل (٦٩): قطاع فى البنكرياس المصاب بمرض التليف الحوصلى Cystic fibrosis. المخاط يملأ القنوات البنكرياسية، بينما الخلايا الغدية أصيبت بالضمور.

ويعرف الجين غير السوى المسبب للتليف الحوصلى بالرمز *cftr*، وهو يقع على الكروموسوم رقم ٧ (7q31.3) (شكل ٦٥، ٩ جـ). وقد اكتشف الجين الذى يسبب هذا المرض فى عام ١٩٨٩ على يد العالم الأمريكى فرانسيس كولنز Francis Collins من جامعة متشجان وأيضا بفضل العالم لاب تشى تسو Lap-Chee Tsui فى مستشفى تورنتو. وفى غضون عام نجح فريق من جامعة Iowa بالولايات المتحدة الأمريكية فى نقل الجين المطلوب باستخدام ناقل فيروسى إلى خلايا رئات مرضى مزروعة فى أطباق معملية، مما جعل الخلايا تنجح فى إطلاق الزائد من أيونات الكلور إلى خارجها. كما نجح فريق آخر فى جامعة متشجان Michigan University فى تحقيق نجاح مماثل، ولكن باستخدام خلايا البنكرياس. وتفتح هذه التجارب المعملية فى الأطباق الزجاجية أبواب الأمل فى علاج مرضى التليف الحوصلى عن طريق العلاج بالجينات.

وفى المملكة المتحدة والولايات المتحدة أجريت تجارب لعلاج التليف الحوصلى باستخدام جين محمل على ليبوسوم، وكذا باستخدام جين محمل على فيروس Adenovirus يستخدم على هيئة سائل رش فى الأنف nasal spray.

ويمكن التنبؤ بما إذا كان الجنين سيصاب بهذا المرض أم لا عن طرق التعرف على الجين المسبب للمرض من خلال فحص خلايا مصدرها هذا الجنين. ويتم ذلك عن طريق أخذ عينة من خملات الكوريون Chorionic Villi أو عينة من السائل الأمنيوتى Amniotic Fluid – والمحتوى على خلايا – الذى يحيط بالجنين. ولأن أغشية الكوريون تتكون قبل الأمنيون، فإن الأولى تعطى فرصة أفضل للتشخيص المبكر.

التهاب المفاصل الروماتويدى Rheumatoid Arthritis

تعتبر الإنترولیوكينات interleukines من الإفرازات الخلوية المناعية التى تعرف باسم سيتوكينات Cytokines. ويعرف حتى الآن ثمانية إنترولیوكينات تلعب دورًا تنظيميا regulatory فى الجهاز المناعى، ولكل منها مستقبلات خاصة على سطح الخلايا المستهدفة target cells.

ويتم إفراز معظم إنترلبيوكين (١) interleukin-1 (IL-1) بواسطة الخلايا الدموية موناسايت Monocytes المنشطة وكذلك بواسطة الخلايا الأكولة الكبيرة macrophages.

ويلعب interleukin-1 (IL-1) دورا هاما فى آلية الالتهاب المفصلى الحادث فى حالة الإصابة بمرض الروماتويد.

ويعتمد العلاج الجينى للروماتويد على إدخال جين ينتج بروتينا يحبط المستقبلات receptors الواقعة على خلايا المفاصل Synovial cells والخاصة بإنترليوكين (1) interleukin-1 مما يؤدى إلى وقف سلسلة الخطوات التى تنتهى بحدوث الالتهاب.

عرض نقص المناعة المكتسب (الإيدز)

Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS)

تم تجريب عدة أساليب لعلاج مرضى الإيدز باستخدام الجينات. وعلى سبيل المثال قام الباحثون فى جامعة كاليفورنيا فى سان ديجو San Diego باستنباط سلالة طافرة من فيروس الإيدز HIV – المسبب للمرض – تحتوى على الجينين *rev & env* بصورة غير سوية مما يجعل الفيروس غير قادر على التكاثر. وتعتمد التقنية على الحصول على خلايا T-lymphocytes من المريض بالإيدز وإدخال الفيروس إلى داخل هذه الخلايا ثم إكثار هذه الخلايا فى الأطباق الزجاجية وإعادة حقنها إلى دم المريض. وبالطبع فإن الفيروس لن يتكاثر داخل المريض، ولكنه سيحفز جسم المريض على إنتاج خلايا لمفية من الطراز killer lymphocytes CD_8 مبرمجة لمواجهة الخلايا المصابة بالفيروس وتحطيمها.

وفى أسلوب آخر يتم إدخال جينات بروتينات فيروس HIV إلى DNA of mouse viruses، وحقن الفيروس المعدل فى دم المريض بالإيدز مما يحفز خلايا المريض إلى إنتاج بروتينات فيروس الإيدز، وبالتالى تحفيز الجهاز المناعى للمريض لإفراز أجسام مضادة ضد فيروس الإيدز anti-HIV antibodies. وتعمل الأجسام المضادة على منع تضاعف فيروس الإيدز داخل جسم المريض، كما تحول دون تحطم الخلايا اللمفية من طراز T-lymphocytes.

ومن المعروف أن غلاف فيروس HIV يبرز منه نتوء spike من مادة جليكوبروتينية يرمز له (gp 120) يقع أسفله طراز آخر من الجيلكوبروتينات يرمز له (gp 41). وعند ارتباط الفيروس بالخلية اللمفية T-lymphocyte داخل الجسم يرتبط (gp 120) مع مستقبلات خاصة على سطح الخلية اللمفية تعرف باسم CD_8 receptors (شكل ٧٠ أ). ويعقب ذلك ارتباط الجليكوبروتين (gp 41) مع الغشاء الخلوى للخلية اللمفية مما يساعد على دفع الفيروس بأكمله إلى داخل الخلية الهدف (شكل ٧٠ ب).

ولمقاومة فيروس الإيدز باستخدام تكنولوجيا الحمض النووى DNA قام العلماء بتحديد الجين الخاص بكل من (gp 41) و (gp 120) ونجحوا فى هندسة بكتيريا إشيرشياكولاى عن طريق إضافة هذه الجينات إليها، وبذا بدأت البكتيريا فى إنتاج كميات كبيرة من (gp 41) و(gp 120). ويأمل العلماء فى نجاح استخدام هذه الجليكوبروتينات

كلقاحات vaccines تحفز الجهاز المناعى للإنسان ضد الإصابة بفيروس الإيدز عن طريق تكوين الجسم لأجسام مضادة antibodies ترتبط بالجليكوبروتينات (gp 41) و (gp 120) على سطح غلاف الفيروس وتحول دون ارتباط الفيروس بالخلايا اللمفية والدخول فيها (شكل ٧٠ جـ، د). وقد تم بالفعل تطعيم أكثر من ٢٠ مليون شخص يعيشون فى الولايات المتحدة ضد الإيدز بهذه التقنية. ويقلل من الطموحات هنا عدة اعتبارات منها الطفرات التى تعترى الفيروس.

وفى أسلوب آخر اتبعه علماء معهد سرطان (دانا فاربر) فى بوسطون Boston's Dana Farber Cancer Institute مع حيوانات التجارب، حيث قاموا بتخليق جين جسم مضاد يعرف باسم F105 وحملوه على بلازميد وأدخلوه إلى الخلايا المصابة بفيروس الإيدز لأحد حيوانات التجارب لينتج بذلك الجسم المضاد المطلوب. ويثبط هذا الجسم المضاد من إنتاج المادة الجليكوبروتينية (gp 120) التى توجد عادة فى غلاف فيروس الإيدز والضرورية لارتباطه بخلايا العائل. وقد عمد العلماء إلى معالجة الجين بحيث يتم إنتاج جزيئات الجسم المضاد فى الموقع بالشبكة الإندوبلازمية الذى يخلق عنده الجليكوبروتين (gp 120)، وبذلك تخلق الخلية المصابة بفيروس الإيدز جسمًا مضادًا لأحد مكونات الفيروس المصابة به. والمهم هنا أن تخليق الجليكوبروتين (gp 120) يقل إلى حد بعيد، وبالتالى يقل تخليق فيروسات HIV. ويعرف هذا الأسلوب من الاستحثاث المناعى باسم (المناعة داخل خلوية) Intracellular immunization. وقد أطلق على الأجسام المضادة الناتجة فى هذه الحالة مصطلح (الأجسام الداخلية) "Intrabodies" ولا شك أنه مصطلح مبهم ومؤقت، ويقصد به أن تنتج الخلية أجساما مضادة لأحد المكونات الموجودة بداخلها.

الزيادة العائلية (الموروثة) للكولسترول فى الدم

Familial hypercholesterolemia

فى الشخص السوى توجد جزيئات من البروتينات على أسطح الخلايا الكبدية تعمل كمستقبلات للكولسترول حيث تقوم باصطياد جزيئات الكولسترول من الدم وتخلص مجرى الدم منها، مما يحول دون زيادة مستواها فى الدم، حيث إن الزيادة من هذه الجزيئات تترسب على بطانة الشعيرات والأوعية الدموية مما يقلل من سعتها، ويؤدى إلى أعراض خطيرة منها زيادة ضغط الدم وحدوث أزمة قلبية heart attack وعدم وصول الدم بالقدر الكافى إلى خلايا الجسم. ويطلق على جزيئات البروتينات التى تقع على أغشية الخلايا الكبدية وتقوم بالإرتباط بجزيئات الكولسترول اسم (مستقبلات الكولسترول) Cholesterol receptors. ويرجع عدم وجود هذه المستقبلات إلى عدم توفر الجين المسئول عن تكوينها.

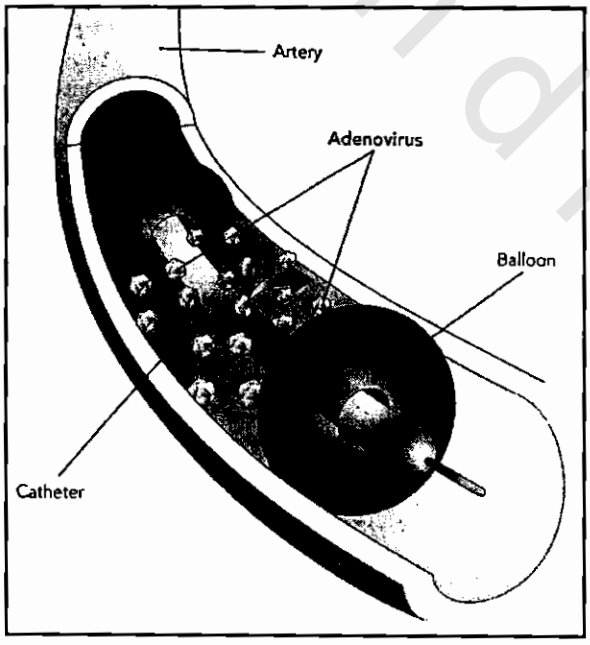
وقد استطاع علماء جامعة متشجان فى عام ١٩٩٣ معالجة هذه الحالة المرضية عن طريق العلاج بالجينات حيث زودوا حوالى ٣,٢ بلايين خلية كبدية (حوالى ١٥٪ من الكبد) بفيروس

من طراز retrovirus يحمل الجين السليم المنتج لبروتين مستقبلات الكولسترول مما أدى إلى انخفاض معدل الكولسترول فى الدم.

إنسداد الشرايين الطرفية Peripheral Artery Disease

تعالج أمراض انسداد الشرايين فى أطراف الجسم عادة بجراحة الممر البديل bypass surgery، إلاّ أنه قد ينتج عن هذه الجراحة عدد من المشاكل.

وكان علماء جامعة هارفارد قد لاحظوا فى السبعينيات أن خلايا الأورام تدفع الأوعية الدموية القريبة منها إلى لتكاثر والنمو تجاه الورم لتمده بالمواد الغذائية والأوكسجين، وأن هذا النمو لشبكة الأوعية الدموية يرجع إلى مادة بروتينية تفرزها خلايا الورم تعرف باسم Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF). وقد أمكن لعلماء جامعة تفتس Tufts University بالولايات المتحدة من فصل الجين المسئول عن تكوين هذه المادة البروتينية وتحميله على بلازميد، ثم تحقن البلازميدات معادة الاتحاد إلى دم المريض، أو توضع على أسطح البالونات Balloons التى توضع جراحيا فى داخل الشريان لتعمل على بقائه مفتوحا، أو توضع داخل أنبوبة القسطرة Catheter (شكل رقم ٧١) التى تزود بثقب يسمح بخروج البلازميدات المحمل عليها الجين. وفى جميع الحالات أدى وصول الجين إلى خلايا جدار الشريان إلى حث الأوعية الدموية على النمو عن طريق تكون البروتين (VEGF). وبذا يتم التغلب على انسداد الشرايين الطرفية.



شكل (٧١): علاج انسداد الشرايين الطرفية جينيا. تدخل القسطرة الحاوية على بلازميدات تحمل جين المادة البروتينية (VEGF) – التى تساعد على نمو الأوعية الدموية – إلى داخل الشريان، ثم تدخل بالونتين إلى داخل الشريان لضمان فتح تجويفه، ثم يسمح للبلازميدات بالخروج من فتحات القسطرة. تدخل البلازميدات المحملة بالجين إلى خلايا جدار الشريان فتدفعها إلى التكاثر. وبذا تنمو شبكة الأوعية الدموية.

الأنيميا المنجلية Sickle Cell Anaemia

يتكون بروتين الهيموجلوبين الطبيعى الموجود بداخل خلايا الدم الحمراء من سلسلة من ١٤٦ من الأحماض الأمينية المعينة المرتبة وفق نظام ثابت. إلاَّ أنه فى بعض الأشخاص وبسبب طفرة فى موقع نيوكليوتيد واحد (من A إلى T) فى شفرة واحدة هى الشفرة رقم (٦) يضطرب بناء الهيموجلوبين وتنتج الحالة المرضية (شكل رقم ٧٢). وتوصف الطفرة بأنها (طفرة نقطية) point mutation، حيث طفرت الشفرة GAG فى جين سلسلة الجلوبين *B* الدالة على الحمض الأمينى glutamate إلى الشفرة GTG الدالة على الحمض الأمينى valine. ويؤثر هذا التغير الذى يبدو بسيطا على هيئة خلية الدم الحمراء، فيصبح شكلها مشوهًا غير منتظم وأقرب إلى الشكل المنجلى بدلاً من كونها قرصية الشكل ومقعرة الوجهين، والأهم من ذلك أن كفاءتها فى حمل الأوكسجين تقل، كما تصبح سهلة التكسر وتسد حطامها الشعيرات الدموية، وتؤدى هذه الحالة إلى وفاة الشخص المصاب. ويحاول العلماء تطبيق تقنية العلاج بالجينات على هذه الحالة المرضية.

الضمور العضلى Muscular Dystrophy

يرتبط الضمور العضلى بجين يقع على كروموسوم الجنس (X)، ويشيع هذا المرض فى الذكور أكثر منه فى الإناث. ويعرف طرازان من هذا المرض هما:

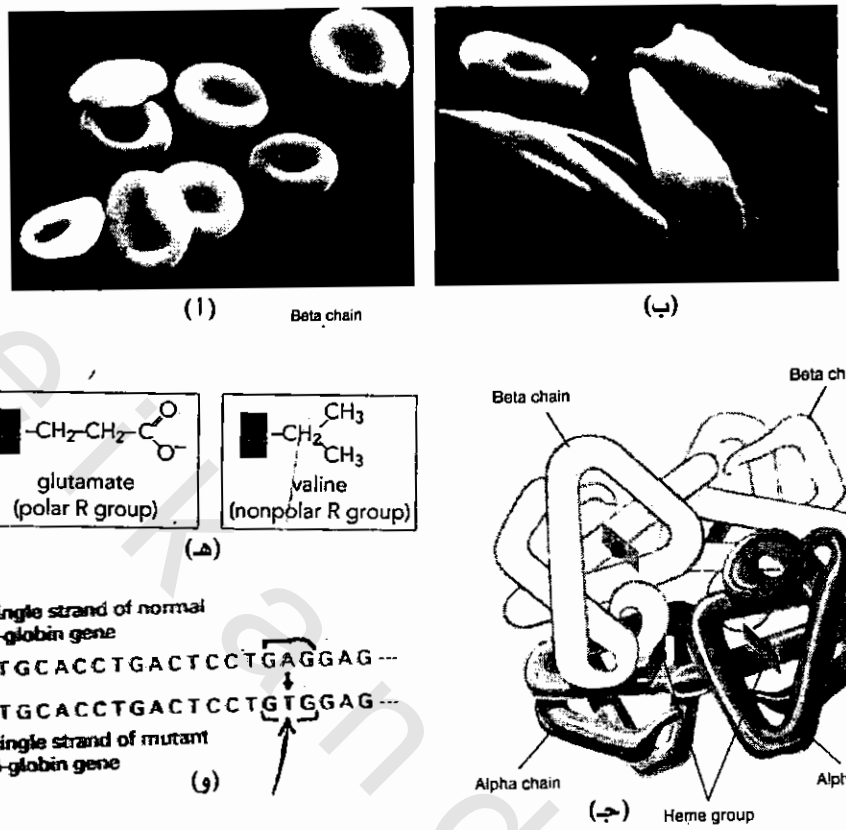
- ضمور عضلى دوتشين: Duchenne's Muscular Dystrophy (DMD)

وهو الأكثر شيوعا والأشد قسوة، ويظهر على الطفل فى الفترة من ٣ – ٥ سنوات وتزداد شدته مع مرور الشهور حتى يصبح الطفل أسيرًا للكرسى المزود بالعجلات عندما يصل عمره إلى حوالى (١٢) عاما. وعادة يتوفى المصاب وهو فى أوائل العشرينيات نتيجة ضمور عضلات التنفس.

- ضمور عضلى بيكر: Becker's Muscular Dystrophy (BMD)

وهو أقل قسوة، ويمكن للمصاب أن يستمر فى حياته دون أن يتعرض للخطر.

ويتحدد مرض الضمور العضلى فى طراز من البروتين يعرف باسم (دستروفين) Dystrophin. يربط بين مادة الأكتين التى تشكل الهيكل الخلوى للعضلة ومركب آخر يعبر غشاء الليفة العضلية ليرتبط بمركبات تقع فى الحيزات بين الألياف العضلية (شكل ملون ٧٣). وفى (ضمور عضلى دوتشين) يؤدى الخلل الجينى إلى غياب البروتين (دستروفين)، أما فى حالة (ضمور عضلى بيكر) فإن الخلل الجينى يتسبب عنه تكون دستروفين غير سوى.



شكل (٧٢)

(أ) خلايا الدم الحمراء الطبيعية

(ب) خلايا دم حمراء شكلها غير طبيعى (منجلى) بسبب خلل فى الجين.

(جـ) تركيب الهيموجلوبين من أربع سلاسل من عديد الببتيدات (سلسلتين طراز ألفا، وسلسلتين طراز بيتا، بالإضافة إلى أربع مجموعات من الهيم).

(د) تسلسل الأحماض فى سلسلة بيتا الطبيعية Hb^A مقارنة بالتسلسل فى سلسلة بيتا المصابة بالمرض Hb^S حيث نجد فى الموقع رقم (٦) الحمض الأمينى فالين بدلا من الحمض الأمينى جلوتامين فى السلسلة السوية.

(هـ) الحمض الأمينى جلوتامين يحمل مجموعة قطبية polar، بينما الحمض الأمينى فالين يحمل مجموعة غير قطبية nonpolar.

(و) شفرة الحمض الأمينى رقم (٦) طفرت من GAG إلى GTG ، فهى طفرة فى نيوكليوتيد واحد فقط.

وقد تمكن العالمان Lou Kunkel and Ron Worton فى عام ١٩٨٦ من عزل الجين المسبب لمرض ضمور العضلات، وهو من أكبر الجينات التى عرفت حتى الآن حجما. ويبلغ حجم بروتين دستروفين الذى يكونه ٤٢٧ كيلو دالتون. ويعمل العلماء الآن على التوصل إلى علاج هذا الجين لجعله قادرا على تخليق البروتين دستروفين بصورة سوية.

مرض ليش - نيهان Lesch-Nyhan Disease

يصاب بهذا المرض حوالى ٢٠٠٠ فرد كل عام فى الولايات المتحدة، وهو ينتج عن نقص جين يتسبب فى عدم توفر الإنزيم المعروف باسم hypoxanthine – guanine phosphoribosyl transferase مما يؤدى إلى اضطراب فى التحولات الغذائية لكل من guanine و hypoxanthine وتكون حمض اليوريك uric acid. ويترتب على ذلك ظهور أعراض مرض النقرس gout، واضطراب الكلى. وفى الأطفال تؤدى هذه الحالة إلى تخلف عقلى وسلوكيات غير سوية مثل الميل للبصق وقضم الشفاه والأصابع، وضرب الرأس فى الحائط والتحدث بطريقة غير مقبولة. ويحاول العلماء استخدام العلاج بالجينات لهذه الحالة المرضية.

مرض هيموفيليا (ب) Hemophilia B

وفيه يصعب تجلط الدم النازف وذلك بسب عدم توفر العامل رقم IX من المركبات اللازمة لتجلط الدم مما يعرض حياة المريض للخطر. ويحاول العلماء تطبيق العلاج بالجينات مع هذه الحالة المرضية. وتجدر الإشارة إلى أن هناك حالة مرضية أخرى تعرف باسم هيموفيليا (أ) (hemophilia A) تنتج عن عدم توفر العامل رقم VIII من المركبات اللازمة لحدوث تجلط الدم وتوقف النزيف. ويوضح (شكل ملون رقم ٧٤) خريطة أنساب توضح توريث مرض الهيموفيليا من الملكة فيكتوريا (١٧٨٦ – ١٨٦١) ملكة بريطانيا لعدة أجيال من بعدها، وانتشاره فى العائلات الملكية الأوروبية عن طريق الزواج.

استخدام اللقاحات

من المعروف أن إحدى وسائل مقاومة الطفيليات التى تغزو الجسم وتسبب له الأمراض هو استخدام لقاحات، أى الدفع داخل الجسم بطفيلى ضعيف – أو أحد مكوناته – لجعل الجسم يفرز أجسامًا مضادة لهذا الطفيلى وبذلك يصبح الجسم مجهزا بهذه الأجسام المضادة سلفا مما يسهل التعامل مع الطفيلى فيما لو هاجم الجسم.

وقد نجحت شركة للبيوتكنولوجى فى تكساس فى وضع جين مرض الالتهاب الكبدى (ب) Hepatitis B genes فى خلايا نبات الطماطم، وبهذا أصبح نبات الطماطم منتجا لأنتجنات

فيروس الالتهاب الكبدى من طراز B مما يحفز الجهاز المناعى لتناولى الطماطم فى الغذاء ضد الإصابة بهذا الفيروس. ومن المأمول أن يدخل أسلوب المناعة المأكولة edible immunity مجال التطبيق العملى فى المستقبل القريب.

وقد اتجهت بعض البحوث إلى استخدام المادة الوراثية DNA كلقاح Vaccine ضد الجراثيم مسببة الأمراض، مثال ما نشرته مجموعة من الباحثين فى عدد أغسطس ١٩٩٨ من مجلة Nature Medicine حول نجاح هذا الأسلوب فى دراسة أجريت على قردة الماكاكا *Macaca* ضد فيروس السعار rabies، وما نشرته مجموعة من الباحثين من المملكة المتحدة والبرازيل فى عدد ١٥ يوليو ١٩٩٩ من مجلة Nature حول استخدام هذه الطريقة مع الفئران ضد بكتيريا الدرن (السل). وفى تجربة نشرت فى العدد ٩١ لسنة ١٩٩٧ من مجلة Cell قام (دارجى) Darji وزملاؤه فى ألمانيا باستخدام الجينات لعمل لقاح ضد الجرثومة *Listeria mocytogenes* فى الفئران وقد اعتمدت التجربة على نقل جين اللقاح إلى طراز طافر mutant من بكتيريا *Salmonella typhimurium* ثم أطعموا الفئران بهذه البكتيريا التى انتقلت عبر جدار الأمعاء إلى العقد اللمفية حيث تصيب الخلايا الأكولة macrophages – ولكن البكتيريا تموت بعد ذلك بسبب كونها طافرة فتخرج منها المادة الوراثية للقاح، وفى النهاية تقوم الخلايا الأكولة بإطلاق اللقاح إلى خارجها مما يسبب استثارة مناعية تحد من الإصابة بالجرثومة المذكورة.

وقد لقى استخدام لقاحات من المادة الوراثية DNA التأييد من الكثير من الجهات ذات العلاقة نظرًا لرخص ثمن إعدادها ولأنها ثابتة Stable ولا تحتاج إلى استخدام الثلاجات للتبريد على عكس اللقاحات التقليدية – وهى صفات تلائم ظروف الدول النامية. إلاَّ أن هناك من يعترض عليها ويراها تقنية محفوفة بالمخاطر. وأذكر هنا مقالة كتبها اثنان من الباحثين من المملكة المتحدة فى عدد فبراير ١٩٩٩ من مجلة Nature Medicine استعرضا فيها بعضا من هذه الأخطار.

وفى ضوء ما سبق يمكن تعريف العلاج الجينى بأنه استخدام الأحماض النووية فى علاج أو تجنب الإصابة بأمراض معينة، ويتم ذلك عن طريق إضافة جين أو استبدال جين أو إحباط آلية تعبير الجين أو باستخدام لقاحات DNA.

تقنية Antisense لإحباط تأثير الجينات الممرضة

وفى اتجاه آخر يأمل العلماء استخدام تقنية تعرف باسم Antisense Technology فى إحباط تأثير الجينات الضارة وذلك عن طريق منع الحامض النووى الريبوزى m-RNA – الذى تخلقه هذه الجينات – من تأدية عمله وهو تخليق البروتين والتعبير عن ذلك الجين، وتتم عملية الإحباط هذه عن طريق استخدام حامض نووى ريبوزى m-RNA يحمل قواعد نيتروجينية تقابل

الحامض النووى المراد إحباطه، ويوصف الحمض المستخدم بأنه antisense – وهو يرتبط بالحمض النووى الريبوزى m-RNA الناتج عن الجين الضار، وبذلك يمنعه من القيام بعمله والتعبير Expression (الشكلين الملونين ٧٥، ٧٦).

ويعتبر – العالم (زامشك) Paul C. Zamecnik (شكل ٧٧) – الحاصل على جائزة البرت لاسكر Albert Lasker فى العلوم الطبية عام ١٩٩٦ – هو رائد هذه التقنية التى ابتكرها فى الثمانينيات. وقد أنشأ (زامشك) مؤسسة Hybridon Inc قامت فى عام ١٩٩٧ بابتكار عقار عرف باسم GEM 91 يهدف إلى علاج الإيدز اعتمادًا على تقنية Antisense. ولكن ثبت أن للعقار مشاكله.

شكل (٧٧): العالم (بول زامشك) Paul C. Zamecnik رائد تكنولوجيا Antisense.

وفى بريطانيا استخدم العلماء التقنية نفسها لتثبيط تعرض الطماطم Tomatoes للفعص وذلك عن طريق تثبيط نشاط الجين الذى يعمل على طراوتها.

وفى عام ١٩٨٩ قام العلماء فى جامعة Georgetown University باستخدام تقنية Antisense technology لتثبيط الجينات المسرطنة Oncogenes.

وفى التسعينيات تمكن علماء التكنولوجيا الحيوية فى شركة إيزيس للعقاقير Isis Pharmaceuticals من استخدام هذه التقنية فى إحباط مرض يصيب الأمعاء يعرف باسم Crohn's disease. وقد أوضحت دراسة أجريت فى عام ١٩٩٧ أن النتائج كانت مشجعة إلى حد ما.

إزدواج العلاج بالجينات مع الاستنساخ:

وفى عدد يونيو ١٩٩٧ من مجلة Scientific American مقالة تشرح تقنية ازدواج الاستنساخ مع العلاج بالجينات، حيث يمكن زراعة الخلايا المصابة بالمرض الوراثى للجنين المبكر وعلاجها بالجينات ثم دمج نواة إحدى هذه الخلايا فى بويضة منزوعة النواة وإعادة الجنين إلى رحم الأم ليستكمل تكوينه حتى الولادة. والمولود هنا يكون خاليا من المرض الوراثى ويعتبر مستنسخًا للمولود الذى كان يمكن أن يتكون من خلايا الجنين المبكر الذى استخدمت إحدى خلاياه وعولجت جينيا. وتجدر الإشارة إلى أننا بهذه التقنية نضحى بجنين بشرى مريض من أجل الحصول على جنين سليم.

إحباطات من أريزونا

وكما ذكرنا من قبل فإن العلاج بالجينات تقنية لم يسيطر العلماء على مختلف جوانبها. وقد حدث فى خريف (١٩٩٩) أن توفى شاب من أريزونا يدعى Jesse Gelsinger بعد أربعة أيام من معالجته بهذه التقنية من مرض يعرف باسم نقص إنزيم Ornithine transcarbamylase (OTC) deficiency وذلك فى معهد العلاج الجينى البشرى Institute for Human gene therapy فى جامعة بنسلفانيا، مما دعا معارضو هذه التقنية للتنديد بها. وقد أحيل (جيمس ولسون) James Wilson مدير المعهد فى بنسلفانيا إلى التحقيق بسبب هذه الحادثة. فاعترف بوجود أخطاء فى تطبيق التقنية، ولكنه أنكر أن تكون هذه الأخطاء هى سبب وفاة الشاب. وقد اعتبر البعض أن الفيروس المستخدم فى نقل الجين السليم – وهو من طراز Adenovirus – هو السبب وراء وفاة الشاب.

وقد أشار (فيرما) Inder Verma أستاذ الوراثة فى (معهد سواك) فى كاليفورنيا بأن (نواقل الجين) gene vectors هى نقطة الضعف (أو كعب أخيلس[1] Achilles heel) فى تقنية العلاج بالجينات.

وقد أثارت الضجة التى أعقبت وفاة هذا الشاب متأثرا بالعلاج الجينى موضوعا آخر فى الولايات المتحدة، حيث تبن أن هناك ٦٥٢ ملاحظة سلبية من مجمل ٦٩١ صاحبت العلاج الجينى ولم تبلغ فى حينه إلى معاهد الصحة القومية (NIH) مما دعا عضو الكونجرس هنرى

---

(١) تقول محلمة الإلياذة The Iliad لهوميروس Homer أن أخيلس Achilles هو ابن الملك (بيلوس) Peleus وحورية البحر (ثيتس) Thetis، وأن الأم سعت بكل السبل لحماية ابنها من الأعداء وعزمت فى سبيل ذلك على إكسابه مناعة أبدية ضد الموت وذلك بغمر جسمه فى ماء نهر ستيكس Styx، فأمسكت بالصبى من عقبى قدميه وغمرت جسمه فى ماء النهر وعاشت الأم قلقة من مخاطر حرب طروادة Trojan war على ابنها الذى ظل تحت حماية المياه المباركة إلى أن جاء يوم وجه فيه (باريس Paris) سهمه المسموم إلى كعب أخيلس الذى لم تلمسه مياه النهر المبارك فقتله. وكان كعب أخيلس هو نقطة الضعف!!

واكسمان Henry Waxman إلى الكتابة في ١٠ يناير ٢٠٠٠ إلى (روث كريستاين) Ruth Kirschstein المديرة بالنيابة لهذه المعاهد يعبر عن استيائه ويطلب نقل صلاحيات مراعاة اعتبارات السلامة فى العلاج الجينى إلى مكتب وزير الصحة والخدمات الإنسانية.

Office of the Secretary of Health and Human Services (HHS)

وفى ديسمبر ١٩٩٩ عقدت معاهد الصحة القومية (NIH) هناك جلسات استماع Hearings لمناقشة قضية العلاج الجينى. وفى فبراير ٢٠٠٠ عقد الكونجرس جلسات استماع حول القضية ذاتها، وطالب الأعضاء بفرض قيود على ممارسة العلاج الجينى. وقد كتب (فردمان) Theodore Friedman مدير برنامج العلاج الجينى فى جامعة كاليفورنيا مقالة فى مارس ٢٠٠٠ طالب فيها بضرورة أخذ موافقة صريحة من المريض قبل العلاج وذلك بعد إحاطته تماما بخطوات العلاج وبما يحمله من مخاطر وفوائد محتملة.

وعلق العالم الشهير فرنسيس كولنز رئيس المعهد القومى لأبحاث الجينوم البشرى (NHGRI) على حادث وفاة الشاب (جيسى جلسنجر) قائلا: (إن المأساة قد هزت الأوساط العلمية حتى إخمص القدم).

This tragedy has rocked the field down to its toes.

إلاَّ أن الآمال سرعان ما تصاعدت مرة أخرى، ففى أبريل ٢٠٠٠ أعلن فى فرنسا نجاح العلاج بالجينات لطفلين عمرهما (٨)، (١١) شهرا بطراز من مرض نقص المناعة المركب الشديد (SCID) مرتبط بالكروموسوم (X) ويعرف بالرموز (SCID-XI). وقد قاد هذه التجربة كافازانا كالفو Cavazzana Calvo بإحدى مستشفيات باريس. وينشأ المرض عن طفرات فى الجين الخاص بأحد مكونات بعض المستقبلات الضرورية لتميز بعض خلايا الجهاز المناعى وهى الخلايا المعروفة باسم الخلايا اللمفية طراز T (T-lymphocytes) والخلايا القاتلة الطبيعية Natrual Killer cells (NK) ، وبالتالى فإن المريض تعوزه هذه الخلايا. وقد اعتمد العلاج على أخذ خلايا أساس من نخاع العظم من تلك المنوط بها إنتاج خلايا الدم hematopoietic stem cells ومعاملتها خارج جسم المريض *ex vivo* بناقل فيروسى من الطراز retroviral vector يحمل الجين السليم المطلوب. وفى النهاية تعاد الخلايا إلى جسم المريض. وقد قام هذا الفريق بمتابعة الطفلين على مدى عشرة شهور وكانت النتائج مبشرة للغاية.

وقد عبر فرنش أندرسون French Anderson رائد العلاج الجينى عن سعادته بهذا النجاح وقال إنه متأكد فى النهاية من نجاح تقنية العلاج الجينى، ولكن المسألة تحتاج للوقت وإعادة المحاولات، ونظرة واحدة إلى الخلف لتأمل نجاحات التوصل إلى المضادات الحيوية والأجسام

المضادة وحيدة النشأة وزراعة الأعضاء تؤكد لنا هذا المعنى. وأضاف فرنش أندرسون قائلا: من المهم أن تنجح تقنية العلاج بالجينات حيث إنه لا يوجد أى اتجاه آخر يحمل آمالا للشفاء من الكثير من الأمراض المدمرة التى تهدد البشرية الآن.

مخاطر العلاج الجينى للأجنة وميزاته:

ويلقى العلاج بالجينات فى الخلايا الجسمية قبولا أكثر من تطبيق هذه التقنية على الجنين فى الرحم *in utero* أو على الخلايا التناسلية germline. وفى هذا الشأن قال (متشل جلوبس) Mitchell Globus أستاذ أمراض النساء والولادة بجامعة كاليفورنيا (إننى لا أدرى كيف نتحدث عن تسويق هذه التقنية للجنين بينما ليس لدينا حتى الآن ما نقدمه له فى هذا الشأن بعد ولادته؟) مشيرًا بذلك إلى عدم تمكن العلماء بعد من تطبيق هذه التقنية على الخلايا الجسمية بعد الولادة.

وفى مقالة كتبها (سنيدر وكوتيل) H, Schneuder & Ch. Coutelle من الإمبريال كولدج فى لندن نشرها فى مجلة Nature Medicine فى مارس ١٩٩٩ حذر من العدوى infection التى يمكن أن تصيب الأم والجنين عند تطبيق هذه التقنية، وأن الجين المنقول قد يتسرب إلى بعض الأنسجة سريعة الانقسام مثل نخاع عظم الطفل أو الغدد الثديية للأم مما قد يحمل أضرارًا لهذه الأعضاء نتيجة دخول الجين الغريب. وقد عقد فى يناير ١٩٩٩ مؤتمر فى معاهد الصحة القومية (NIH) فى الولايات المتحدة الأمريكية هاجم فيه النشطون Activists تقنية العلاج الجينى ووصفها أحدهم بأنها (هستريا جينية) genetic hysteria. وقد اعترض البعض على تطبيق هذه التقنية على الخلايا التناسلية أو خلايا الجنين من منطلق أن الجين المنقول يتم توريثه إلى الأجيال اللاحقة، مما يعنى تغيير (المجموع الجينى) gene pool لبنى البشر، ويحملة معه مخاطر غير معروفة وغير متوقعة أشبه بما يحمله صندوق باندورا Pandora box فى الأسطورة الإغريقية، بينما العلاج الجينى للخلايا الجسمية ينحصر تأثيره على الشخص نفسه فقط وقد أعلن النشطون فى المؤتمر المشار إليه تخوفهم من استغلال هذه التقنية لتهيئة ظروف غير متكافئة لتمييز سلالات بشرية فيما يعرف باسم (اليوجينيا Eugenics). فهناك مخاوف من التمييز discrimination بين البشر على أساس تفضيل الأفراد المعالجين جينيا. وقد أشار عدد ٢٧ ديسمبر ١٩٩٩ من مجلة نيوزويك Newsweek إلى فيلم سينمائى عرض فى عام ١٩٩٧ بعنوان GATTACA اعتمد على عرض تداعيات التمييز بين البشر على أساس الصفات التى اكتسبها البعض بفضل هذه التقنية. وعلى الجانب الآخر أعلن فرنش أندرسون French Anderson رائد العلاج الجينى البشرى، أعلن فى المؤتمر الذى أشير إليه عزمه على علاج الأجنة البشرية بالجينات من مرض نقص المناعة المركب الشديد (SCID) ومرض ألفا ثالسميا alpha-thalassaemia. كما أشارت (جانيت لارسون) Janet Larson العاملة فى إحدى

المؤسسات الطبية فى لويزيانا إلى نجاح علاج الفئران المعطوبة Knockout وهى لا زالت فى الرحم من مرض التليف الحوصلى Cystic fibrosis. وفى مقالة نشرها (أندرسون) مع الباحث إسماعيل زانجانى Ismail Zanjani من جامعة نيفادا ونشرت فى مجلة Science فى عدد ٢٤ سبتمبر ١٩٩٩ أوضحا الأسباب التى من أجلها تبدو ممارسة تقنية العلاج بالجينات فى الأجنة على درجة كبيرة من الأهمية. ومن هذه الأسباب أن علاج الجنين يجنب ظهور الأعراض المرضية وما يصاحبها من متاعب بعد الولادة، وأن نقل الجين إلى الجنين يتم بكفاءة أكبر مما لو نقل إلى شخص يافع، فضلا على أن إدخال الناقل الفيروسى إلى جسم الجنين لا يلقى رفضا مناعيا كبيرا ولا يحتاج إلى إعطاء عقاقير مثبطة للرفض المناعى على عكس ما يحدث عند إدخال الناقل الفيروسى إلى شخص يافع. وفى مقالة (لى روى وولتر) التى سبق الإشارة إليها لفت النظر إلى جانب هام فى قضية العلاج الجينى للأجنة. ذلك أن العلاج بعد الولادة للخلايا الجسمية سيسمح بامتداد أعمار المرضى بعد علاجهم –مما يعطى لهم فرصة التزاوج وإنجاب أطفال مصابين بالمرض نفسه، وهكذا يكون من المطلوب علاج خلاياهم جينيا مرة أخرى – وهكذا يزداد العبء على المجتمع لأن علاج الخلايا الجسمية لا يستتبعه علاج للخلايا التناسلية، أما العلاج الجينى للخلايا التناسلية germline فإنه يعطى أفرادًا لا تحمل خلاياهم التناسلية جينات المرض مما يعنى الحصول على أجيال سليمة. ومن ناحية أخرى أشار الكاتب إلى ضرورة أخرى لاستخدام العلاج الجينى مع الأجنة، وذلك فى حالة ما إذا كان الخلل موجودا فى الخلايا العصبية بالمخ، فهناك ما يسمى (الحاجز الدموى – المخى) Blood – brain barrier الذى يمنع مرور الأجسام من الدم إلى الخلايا العصبية بالمخ – مما يعنى عدم إمكانية مرور الأجسام العلاجية المحقونة بالدم إلى هذه الخلايا. وبالتالى يعتبر إصلاح الخلايا التناسلية هو الحل البديل.

العلاج الجينى والأخلاقيات:

يثير العلاج بالجينات بعض القضايا فى مجال الأخلاقيات. وقد كتب (لى روى وولتر) Le Roy Walter من جامعة جورج تاون فى واشنطن مقالا فى ٢٠ مارس ١٩٨٦ تحت عنوان (أخلاقيات علاج البشر بالجينات) The ethics of human gene therapy يناقش فيه الجوانب المختلفة لهذه القضية. وقد تساءل البعض هل يمكن أن تستغل هذه التقنية بهدف التجميل Consmetic؟ وإذا كانت هذه التقنية ستستخدم يوما فى علاج الصلع، فهل تستخدم أيضا فى تحديد لون الشعر؟ وهل تستخدم فى تحديد لون البشرة؟ وهل يمكن لهذه التقنية أن تستخدم فى جعل فتاة زنجية تكتسب شعرًا ناعما وعيونًا ملونة وأنفًا دقيقا وشفتين ورديتين؟

وهل يجوز أن تستخدم هذه التقنية من أجل الحصول على أبطال رياضيين. وهل يجوز استخدام هذه التقنية للحصول على بشر متميزين عمن عداهم؟

فالسؤال الذى يطرح نفسه هو أين نضع الحدود الفاصلة؟ وقد هاجم البعض هذه التقنية على أساس أنها ستوجه عملية التطور البشرى Human Evolution فى اتجاه غير محسوب. وردًا على هذا النمط من التخوف كتب جون جوردون Jon. W. Gordon أستاذ علم الشيخوخة Geriatrics فى نيويورك مقالة فى ٢٦ مارس ١٩٩٩ يفند فيها هذا القول.

وعلى رغم إغراءات العلاج بالجينات فقد حذر عدد ٩ نوفمبر ١٩٩٨ من مجلة نيوزويك Newsweek الأمريكية من خطورة استطاعتنا الحصول على أطفال بالتفصيل Designing babies واختيار الجينات حسب الطلب made – to – order genes وهو ما وصفته بأنه Playing God!

ثم يأتى السؤال: هل سيكرس العلاج بالجينات الفروق بين الأغنياء والفقراء حين يقتصر العلاج بالجينات على الأغنياء ويصبح المرض قصرًا على الفقراء؟

بيوتكنولوجيا الحمض النووى DNA وتشخيص الأمراض:

تفيد تكنولوجيا الحمض النووى DNA Biotechnology فى تشخيص بعض الأمراض الطفيلية وذلك عن طريق الكشف عن المادة الوراثية للطفيلى. وقد حقق هذا الاتجاه نجاحات فى حالات مرض الإيدز والتدرن ومرض (لايم) وإصابة القنوات التناسلية للإناث بفيروس بابلوما Human Papilloma virus.

ويمثل الكشف عن أمراض الجينات هدفا أساسيا فى استراتيجية التعامل مع الأمراض الوراثية خاصة أن أعراض معظم هذه الأمراض لا تظهر عند الولادة بل تظهر فى مراحل متأخرة من العمر. وقد أسهمت تكنولوجيا الحمض النووى DNA Technology فى تصميم مجسات الحمض النووى DNA Probes للكشف عن الجينات غير السوية، وقد يفيد العلم المبكر بالمرض الوراثى فى اتخاذ القرارات المناسبة من ناحية اختيار الزوج أو الزوجة أو اتباع نظام غذائى معين أو تجنب ظروف بيئية معينة تساعد على ظهور المرض. وبالتأكيد فإن العلم المبكر بالإصابة بالمرض الوراثى يثير القلق، ولكن من المؤكد أيضا أن الجهل بالإصابة قد تكون له تداعيات أكثر سوءًا.

ومن الجدير بالذكر أن تصميم هذه المجسات ليس عملا سهلا، ولم يتم بالفعل إلاّ لعدد محدود من الجينات التى تقف خلف الأمراض.

وفى الدول المتقدمة أنشئت (بنوك الجينات gene banks) التى تقوم بتشخيص المرض الوراثى عن طريق مجسات الحمض النووى DNA probes بالاستعانة بالمادة الوراثية للشخص موضوع الدراسة ولجيلين من أقربائه. وفى عام ١٩٩٦ – على سبيل المثال – أعلن المركز الصحى

فى تكساس عن استعداده لاستقبال مسحه swab من بطانة الفم من الأشخاص للتعامل معها وحفظها لمدة (٢٥) سنة مقابل (١٧٥) دولارا للشخص ولأقربائه أملا فى الاستفادة بهذه العينات فى الوقت الذى يمكن فيها تصميم مجس probe لمرض وراثى معين فى المستقبل أو مجس لجين مميت lethal gene. وقد اعتمد التشخيص على تصميم مجسات الحمض النووى DNA Probes.

فعلى سبيل المثال فى حالة مرض هنتنجتون Huntington's disease يحاول العلماء استخدام تكنولوجيا الحمض النووى فى تشخيصه وعلاجه. وكان المرض سابقا يعرف باسم (هنتنجتون كوريا) Huntington's chorea وكلمه chorea فى اليونانية تعنى (رقص) فى إشارة إلى ما يصيب جسم المريض من حركات والتواءات غير إرادية. أما كلمة Huntington فتعزى إلى الطبيب الأمريكى جورج هنتنجتون George Huntington الذى قام بدراسة المرض فى مطلع القرن العشرين. ومن مساوىء هذا المرض أن أعراضه لا تظهر إلاّ بعد منتصف العمر، بعد أن يكون الجين – فى أغلب الأحوال – قد تم توريثه إلى الجيل التالى.

وجين هذا المرض سائد ويقع قرب طرف الكروموسوم رقم (٤). والجين السوى يحتوى على التتابع CAG (الذى يدل على الحمض الأمينى glutamine من ١١ – ٣٤ مرة، أما فى جين المرض فنجد أن هذه الشفرة تتكرر من ٤٢–٦٦ مرة، وكلما زاد تكرار هذه التتابعات ظهرت أعراض المرض مبكرًا. ويؤدى هذا الخلل إلى إنتاج بروتين غير سوى يُؤدى إلى موت الخلايا العصبية فى الأنوية القاعدية Basal ganglia فى المخ مما يؤدى إلى الخلل فى الحركة، كما يصاب الفرد بالخبل وينتهى الأمر بالوفاة.

وهناك حالة من الأمراض الوراثية تعرف باسم (عرض تكسر الكروموسوم X) Fragile X Syndrome وفيها يتكسر طرف كروموسوم الجنس X ، ويمكن الكشف عن ذلك فى مزرعة من خلايا الدم البيضاء. وتؤدى هذه الحالة إلى تخلف عقلى. وقد استطاع العلماء فى عام ١٩٩١ الكشف عن الجين المسبب لهذه الحالة وأعطى الاسم FMR-1، واكتشف عنده تتابع CGG متكررًا لمرات عديدة trinucleotide repeats وذلك فى الحالة غير السوية، أما فى الحالة الطبيعية فإن تكرار هذه النيوكليوتيدات الثلاثة يكون محدودًا.

وبعد شهر واحد من اكتشاف الجين أعلنت شركة تعمل فى مجال البيوتكنولوجى إنتاجها لمجس حمض نووى DNA Probe يمكن توظيفه معمليا فى الكشف عن الجين بدلا من الاعتماد على مزارع خلايا الدم البيضاء.

أما مرض سرطان الشبكية Retinoblastoma فهو يرجع إلى غياب مزدوج للجين الطبيعى من الموقع ١٤ على الذراع الطويل (q^{14}) للكروموسوم رقم ١٣، حيث إن الجين الطبيعى مضاد للسرطان anticancer. وقد استطاع العلماء فى بداية الثمانينيات بناء مجس نووى DNA Probe لهذا الجين مما يسهل الكشف عن وجود الحالة المرضية، كما استطاع العلماء فى عام ١٩٨٦ فصل الجين، ولعل الخطوة التالية تكون هى معاملة المصابين بالعلاج الجينى.

وقد امتدت إنجازات البيوتكنولوجى إلى مجال تشخيص الأمراض المعدية عن طريق التعامل مع المادة الوراثية للطفيلى. وقد حقق الطب بذلك نقلة نوعية عظيمة الشأن فى تاريخ صراع الإنسان مع المرض.

فعل سبيل المثال فإن تشخيص الإصابة بمرض الإيدز يمكن أن يعتمد على تحديد ما إذا كان دم الشخص موضوع الدراسة يحتوى على أجسام مضادة antibodies لفيروس الإيدز أم لا، ذلك أن الجسم بعد فترة من الإصابة بالفيروس يخلق مركبات بروتينية ذات خصائص معينة مضادة لهذا الفيروس يطلق عليها اسم أجسام مضادة. إلاّ أنه يعيب هذه الطريقة أن هناك فترة بعد دخول الفيروس إلى الجسم تمر قبل أن يكون الجسم فيها الأجسام المضادة مما يضلل التشخيص خلال هذه الفترة، وبالتالى يحرم فيها الشخص من العلاج إذا كان مريضا، كما أن هذا المصاب خلال هذه الفترة يصبح بذلك مصدرًا للعدوى دون أن يخضع لضوابط طبية. ومن ناحية أخرى فهناك مأزق آخر فى هذا الصدد يخص حديثى الولادة، فقد تنتقل الأجسام المضادة عبر المشيمة من دم الأم إلى دم الجنين، وبذا فإن التشخيص المعملى المعتمد على الأجسام المضادة يدل فقط على ما إذا كانت الأم مصابة بالفيروس أم لا.. ولا يعطى معلومات قاطعة على ما إذا كان الوليد مصابا بالفيروس أم لا. ونستخلص من كل ما سبق أن التحليل المعملى المعتمد على الأجسام المضادة ليس حاسما فى معرفة ما إذا كان الشخص مصابا بفيروس الإيدز أم لا. وقد أفادت تكنولوجيا الحمض النووى DNA technology فى هذا المجال عن طريق ابتكار تقنية يمكن بها تشخيص وجود المادة الوراثية للفيروس فى دم الشخص من عدمه.

وفى مثال آخر تواجه معامل التحاليل فى مجال تشخيص بكتيريا مرض التدرن tuberculosis مشكلة أن هذا النوع من البكتيريا المسمى *Mycobacterium tuberculosis* يتكاثر ببطء (مرة كل ٢٤ ساعة) مما يجعل التوصل إلى التشخيص يستغرق وقتا طويلا ينعكس بالسلب على التعجيل بعلاج المريض، كما يعطى فرصة لنقل العدوى دون اتخاذ الاحتياطات الواجبة. وقد أفادت تكنولوجيا الحمض النووى DNA technology فى هذا الصدد. وتفصيل ذلك أن تتم هندسة وراثية للفيروس الذى يصيب هذا الطراز من البكتيريا، وذلك بنقل جين

إنزيم luciferase إليه من ذبابة النار fire fly التى يصدر عنها إضاءة ذاتية. وبتعريض البكتيريا المستمدة من الشخص لهذا الفيروس المعدل وراثيا فإن الفيروس سيرتبط ببكتيريا التدرن – إن وجدت – ثم يقوم بحقن مادته الوراثية (المعدلة) إلى داخل البكتيريا. وكالعادة ترتبط المادة الوراثية للفيروس مع المادة الوراثية للبكتيريا. ويبدأ جين إنزيم luciferase فى التعبير عن نفسه، وتنتج البكتيريا بذلك إنزيم luciferase. ومن المعروف أن ضوءًا ينتج إذا ما عمل إنزيم luciferase على مادة luciferin. ولهذا يضاف إلى مزرعة البكتيريا مادة luciferin، فإذا نتج ضوء فإن ذلك يدلل على أن بكتيريا التدرن موجودة، وبالتالى يعنى أن الشخص موضوع الدراسة مصاب بهذه البكتيريا المرضة. وإذا لم ينتج ضوء فهذا يعنى أن الفيروس المهندس وراثيا لم يجد بكتيريا التدرن ليعلق بها ويحقن فيها مادته الوراثية المشتملة على جين إنزيم luciferase.

ومن ناحية أخرى هناك سلالات من هذه البكتيريا تقاوم بعض العقاقير. ويمكن تجربة عدد من العقاقير لاختيار الأنسب منها للقضاء على سلالة بالذات. وذلك بإضافة العقار إلى مزرعة البكتيريا. فإذا كان العقار فعالا قتلت البكتيريا وانعدمت الاستضاءة، والعكس بالعكس. وهذا يعطى الطبيب المعالج ميزة التعامل مع العقار الأكثر فعالية فى شفاء المريض والقضاء على البكتيريا المسببة للتدرن. وقد توصل إلى تقنية هندسة الفيروس الذى يصيب بكتيريا التدرن عن طريق تحميله بجين إنزيم luciferase مجموعة من علماء كلية طب البرت أينشتاين فى نيويورك New York's Albert Einstein College of Medicine وجامعة بطسبرح Pittsburg، وقاموا بنشر دراستهم فى مجلة Science فى عام ١٩٩٣.

وهناك مرض ينتقل عن طريق القراد ticks يعرف باسم (مرض لايم) Lyme disease نسبة إلى منطقة (لايم) فى ولاية كونكتكوت Connecticut الأمريكية وتتسبب فيه بكتيريا حلزونية Spirochete اسمها العلمى *Borrelia burgdorferi*. ويعتمد تشخيص الإصابة عادة على الكشف عن الأجسام المضادة التى يخلقها الجسم الشخصى المصاب. وقد استطاع علماء Federal Rocky Mountain Laboratory in Montana فى أمريكا تخليق مجس حمض نووى DNA Probe ذى حساسية فائقة للكشف عن وجود هذا النوع من البكتيريا، وهى تقنية تعتمد على وجود المادة الوراثية للطفيلى نفسه بدلا من تقنية الاعتماد على الأجسام المضادة.

ومن الجدير بالذكر أن هذا الطفيلى يسبب للمصاب حمى وطفحًا جلديًا skin rash، ويحتاج المصاب إلى العلاج المكثف – تحت إشراف طبى دقيق باستخدام المضادات الحيوية، وقد تتفاقم الأعراض إلى خلل بالجهاز العصبى والتهاب مفاصل مما يؤدى إلى الوفاة.

ومما يعظم قيمة الاستعانة بتكنولوجيا الحمض النووى DNA Technology فى تشخيص الإصابة بهذه البكتيريا أن هذا الطراز من البكتيريا لا يمكن رؤيته بالمجهر الضوئى، كما أن عمل مزارع معملية منه يكاد يكون مستحيلاً.

وإذا انتقلنا إلى الأمراض الفيروسية فإن التشخيص المبكر للإصابة بالفيروس أصبح ذا أهمية بالغة بعد أن تم التوصل إلى عقاقير مضادة للفيروسات مثل عقار أسيكلوفير acyclovir وعقار جانسيكلوفير ganciclovir. ومن هنا فإن تسخير تكنولوجيا الحمض النووى DNA technology للكشف المبكر عن الإصابة بالفيروسات يعتبر إنجازا طبيا رائعا. ومثال ذلك موافقة إدارة الأغذية والعقاقير Food and Drug Administration فى الولايات المتحدة الأمريكية على استخدام مجس الحمض النووى DNA Probe فى الكشف عن فيروس Human Papilloma Virus (HPV) الذى يصيب عنق الرحم فى السيدات.

obeikandl.com

obeikandl.com

نبذة عن المؤلف

الأستاذ الدكتور منير على عز الدين الجنزورى

- رئيس قسم علم الحيوان وأستاذ بيولوجيا الخلية بكلية العلوم جامعة عين شمس.
- قام بتأليف ثلاثة كتب تتناول ثورة العلوم البيولوجية.
- شارك فى تأليف خمسة كتب جامعية متخصصة.
- ألف ٢٢ كتابا علميا للطلائع.
- سافر إلى بريطانيا عدة مرات للمشاركة فى دراسات علمية وفى كليات ومستشفيات جامعة لندن.
- عمل عميدا بالوكالة لكلية التربية للمعلمات فى عبرى بسلطنة عمان.
- له أكثر من ٧٠ تسجيلا تليفزيونيا وإذاعيا.
- كتب حوالى (٥٠) مقالة علمية فى الصحف اليومية والمجلات الأسبوعية.
- حصل على جائزة أحسن كتاب فى مصر فى التطبيقات العلمية عام ١٩٩٨.
- حصل على شهادة تقدير من السيدة الفاضلة سوزان مبارك عن أحد مؤلفاته فى عام ١٩٩٩.
- حصل على جائزة تبسيط العلوم من أكاديمية البحث العلمى والتكنولوجيا فى عام ٢٠٠١.
- أشرف على أكثر من خمس وعشرين رسالة جامعية للماجستير والدكتوراه.
- شارك فى لجان تحكيم حوالى خمس وعشرين رسالة جامعية (أخرى) للماجستير والدكتوراه.
- شارك فى أكثر من خمس وعشرين لجنة للترقيات إلى درجة أستاذ ودرجة أستاذ مساعد بالجامعات المصرية.
- قام بفحص حالات المتقدمين إلى منح علمية مقدمة من هيئة فولبرايت الأمريكية لسنوات عدة.
- عضو لجنة الهندسة الوراثية بالمجالس القومية المتخصصة التابعة لرئاسة الجمهورية.
- عضو لجنة تاريخ وفلسفة العلوم فى أكاديمية البحث العلمى والتكنولوجيا.
- أمين اللجنة العلمية الدائمة للترقيات لعلم الحيوان والاقيانوغرافيا البيولوجية التابعة للمجلس الأعلى للجامعات (وظائف الأساتذة).
- سافر إلى السعودية للتدريس، وإلى سوريا وليبيا فى مؤتمرات علمية.

obeikandl.com

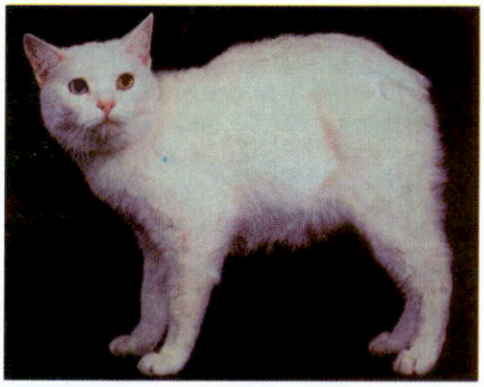
obeikandl.com

المحتويات

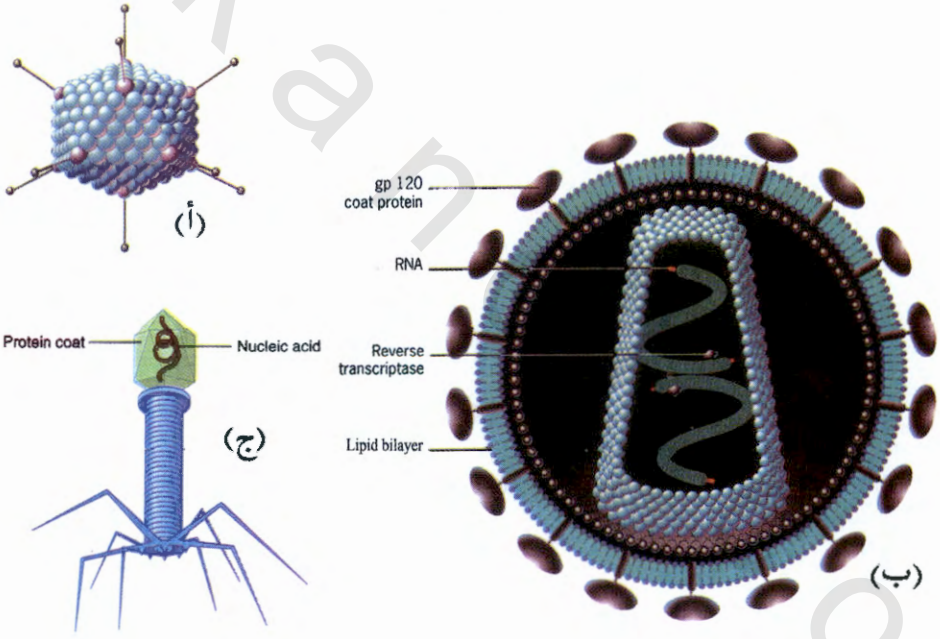
الموضـــوع	صفحة
مقدمة	٣
الفصـــل الأول: أسماء ومسميات فى العلوم البيولوجية	٩
الفصـــل الثـانى: المادة الوراثية – تخليق البروتينات – البروتيوم	٢٣
الفصـــل الثـالث: تقنيات بيولوجية	٤٧
الفصـــل الرابـع: خصائص الجينات وآليات عملها – نماذج من الأمراض الوراثية	٥٩
الفصل الخامس: نواقل الجينات المستخدمة فى العلاج الجينى – كلونة الجين	٧٧
الفصل السادس: العلاج بالجينات فى عالم الحيوان	٨٥
الفصل الســابع: العلاج بالجينات وإنجازات تكنولوجيـا الحمض النووى فى تشخيص الأمراض فى الإنسان	٩٥

obeikandl.com

obeikandl.com

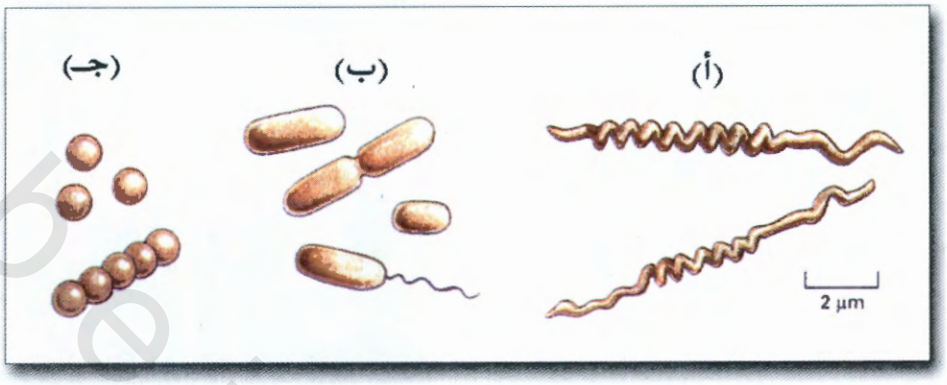


شكل (٣): الجينات هى التى تتحكم فى صفات الكائنات. قطة (مانكس) Manx Cat بلا ذيل.
القطة خليطة فى هذه الصفة، حيث إن ازدواج الجين مميت Lethal.
لاحظ أن لون قرنية عينها اليسرى أصفر، بينما لون قرنية عينها اليمنى أزرق.

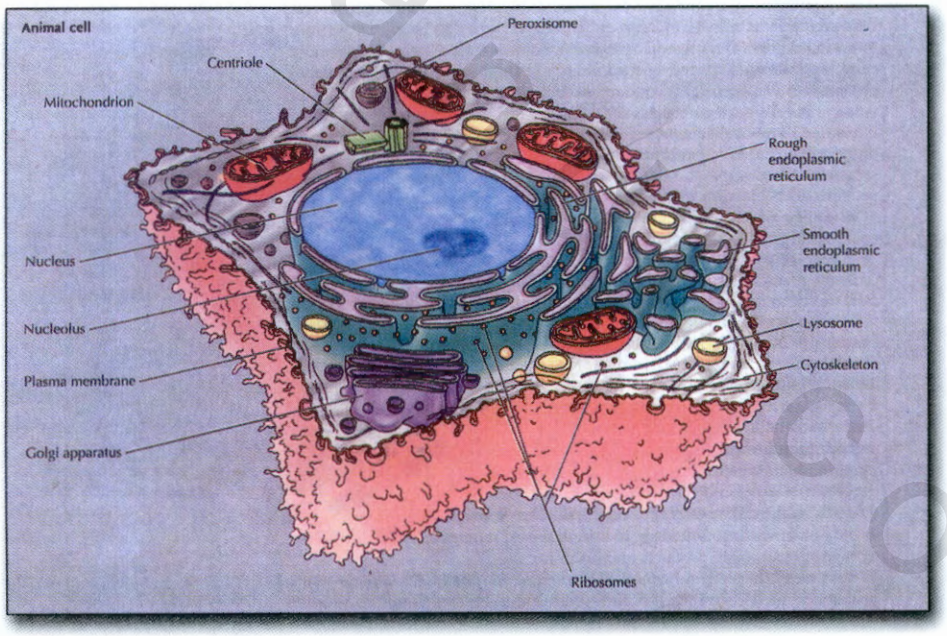


شكل (٨): تنوع أشكال الفيروسات
(أ) Adenovirus
(ب) فيروس الإيدز
(ج) فيروس يصيب البكتيريا

obeikandl.com

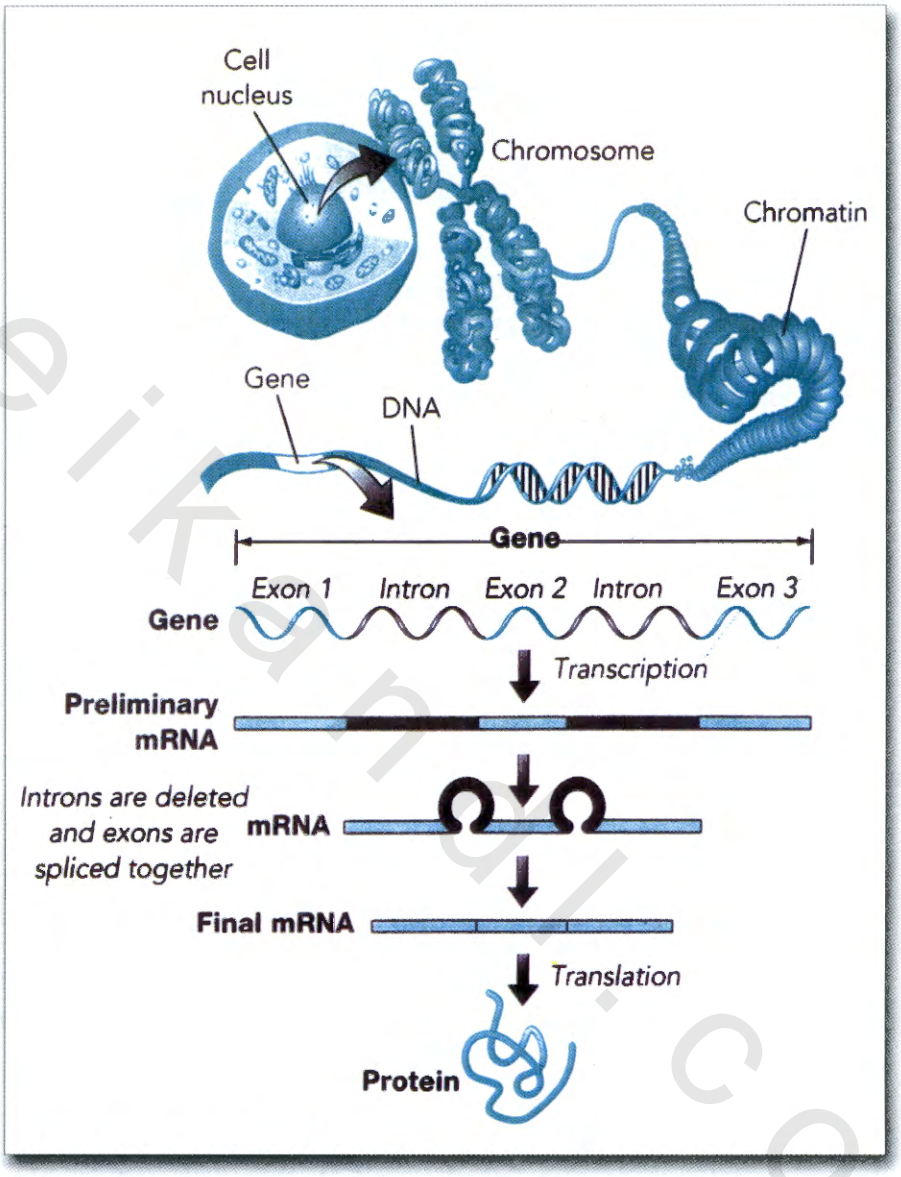


شكل (١٠): بعض أشكال البكتيريا (أ) حلزونية (ب) عصوية (جـ) كُرية



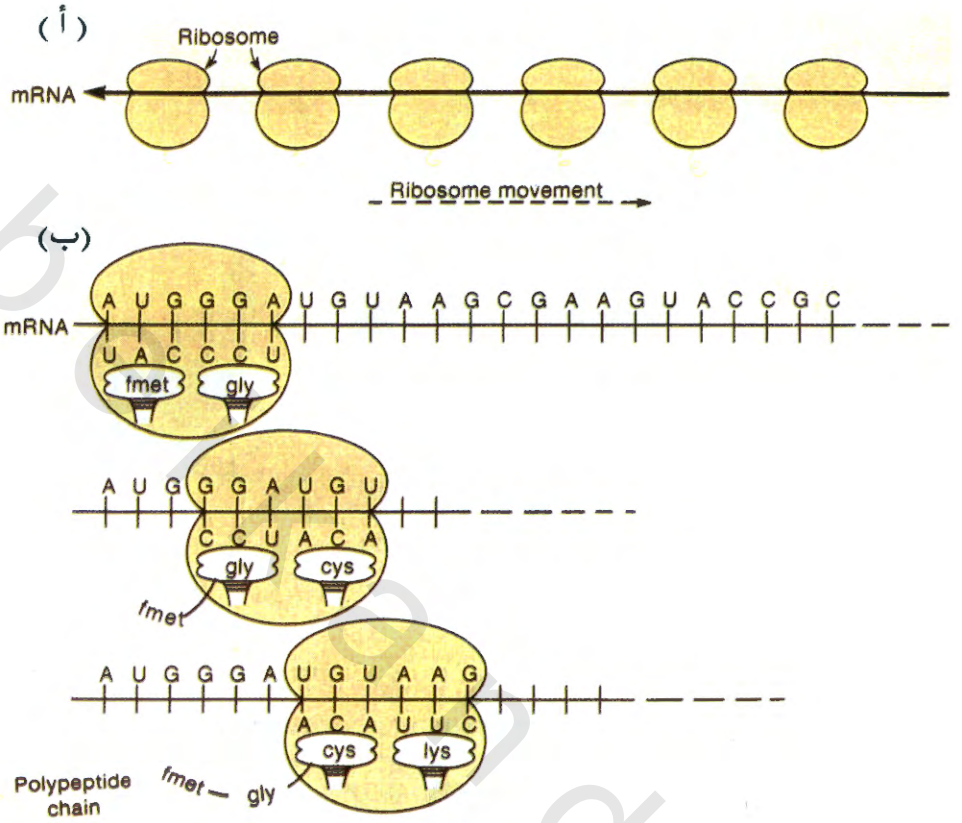
شكل (١١): رسم لقطاع مجسم فى خلية حيوانية كما تبدو بالمجهر الإلكترونى النافذ

obeikandl.com



شكل ٢٢ : نواة الخلية تحتوى على الكروموسومات، ومادة الكروموسوم هى كروماتين يحتوى على المادة الوراثية DNA .حمضDNA يحمل الجينات تنسخ الجينات لتكون m-RNA أولى يتكون من إنترونات وإكسونات. تحذف الإنترونات ويخرج m-RNA النهائى إلى السيتوبلازم حيث يترجم إلى بروتين.

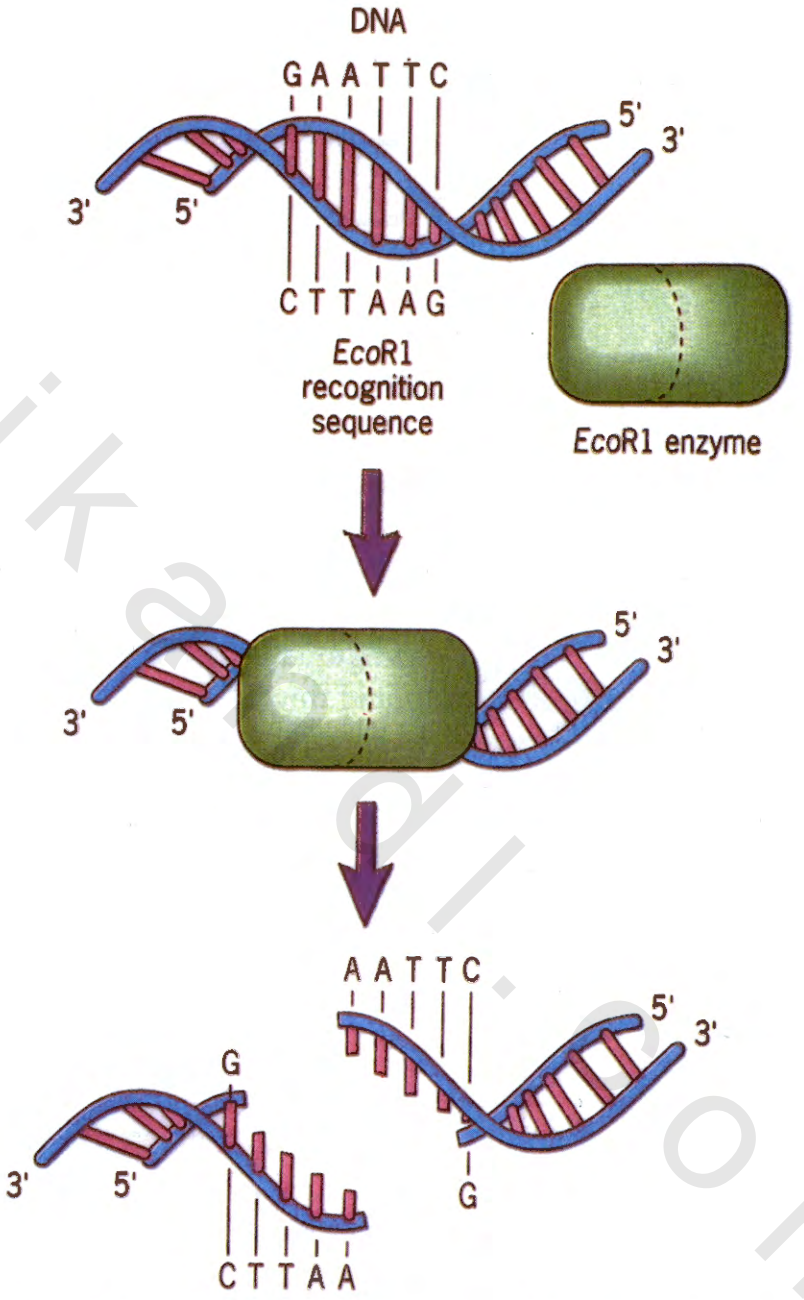
obeikandl.com



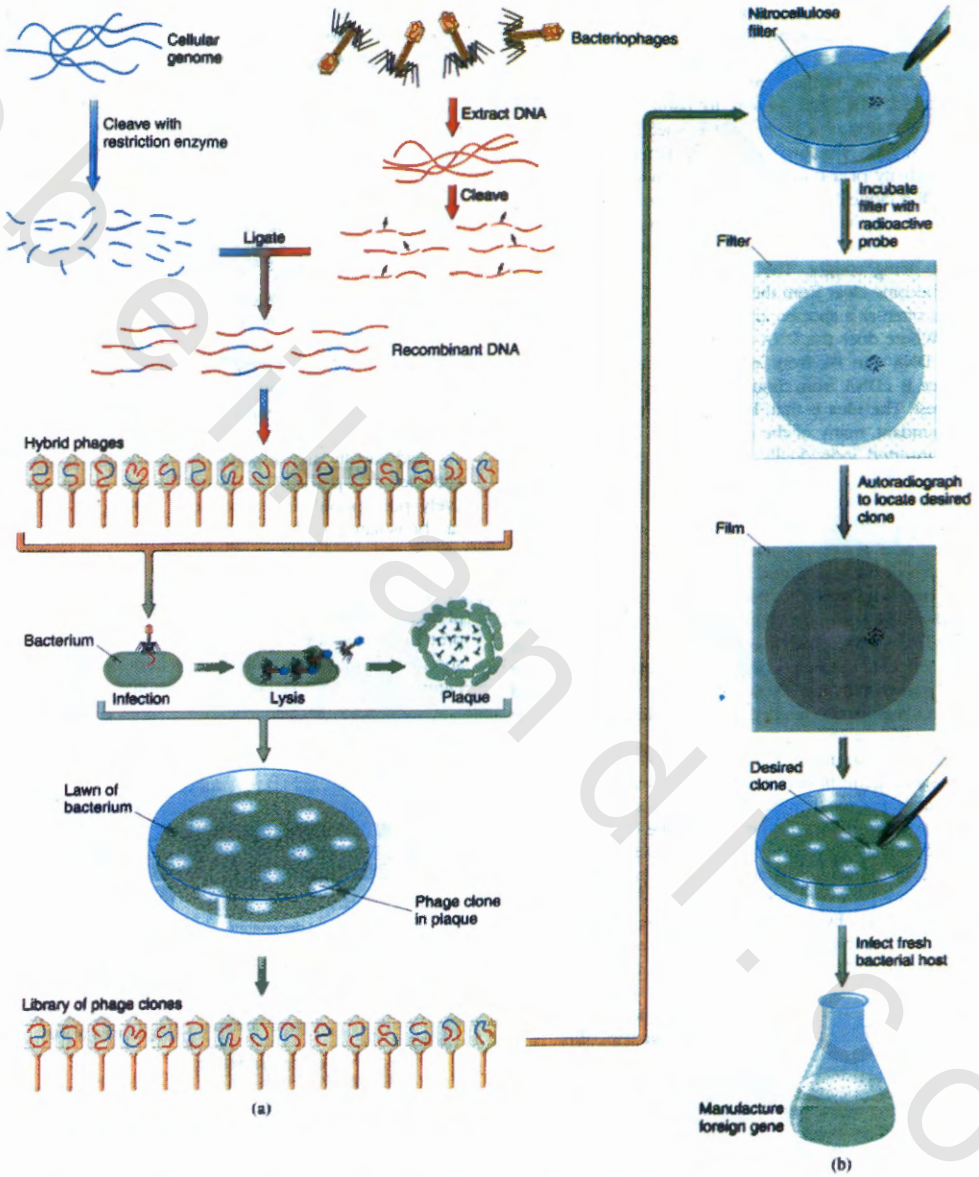
شكل (٢٥) خطوات ترجمة m-RNA إلى سلسلة من الأحماض الأمينيه

(أ) إيضاح لاتجاه حركة الريبوسومه عبر جزئ m-RNA

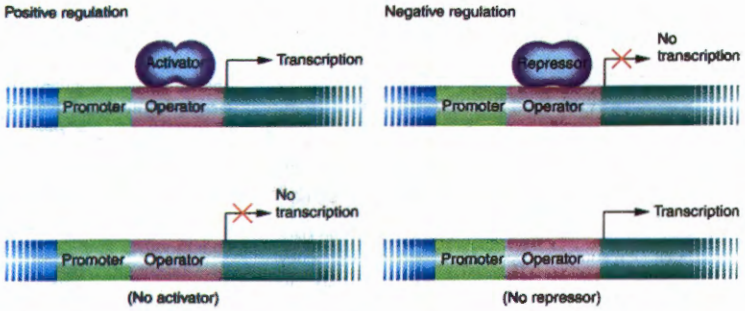
(ب) ارتباط الريبوسومة بطرف جزئ m-RNA ، وإتمام ترجمة أول شفرتين إلى أول حمضين أمينيين ثم تحرك الريبوسومة مسافة شفرة واحدة لتستوعب شفرة جديدة ليتم ترجمتها هى الأخرى إلى حمض أمينى ثالث.. وتستمر العملية لتنمو سلسلة عديد الببتيد.



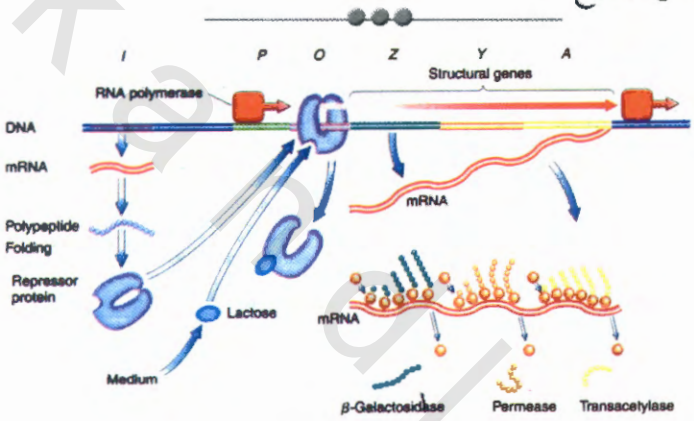
شكل (٢٦): إنزيم القصر يقطع حمض DNA عند تتابع معين من النيوكليوتيدات .



شكل (٣١) : إختيار جين "وكلونته" (راجع المتن)



شكل (٣٢): ارتباط المنشط Activator بمنطقة operator يؤدى إلى نسخ الجين، عدم وجود المنشط يبطل عملية النسخ. وعلى العكس من ذلك فإن ارتباط الكابح Repressor بمنطقة operator يبطل نسخ الجين، بينما عدم وجوده الكابح يؤدى إلى نسخ الجين. وتختلف آليات عمل الجينات فقد تعتمد على المنشط أو الكابح.



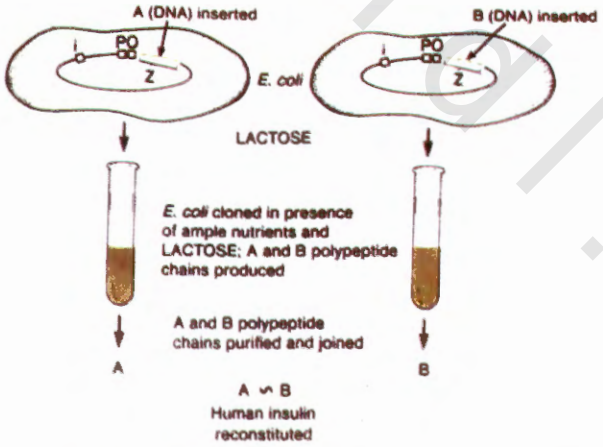
شكل (٣٣): آلية (لاك أوبيرون) فى عمل الجين

- الجين I يخلق بروتينا كابحا
- يرتبط الكابح بـ Operator (O) فيؤدى ذلك إلى عدم وصول إنزيم RNA Polymerase الموجود عند الموقع Promoter (P) إلى الجينات الثلاثة (Z,Y,A) ليقوم بنسخها.
- فى وجود اللاكتوز فإنه يرتبط بالكابح مما يؤدى إلى تغيير هيئة الكابح. وبالتالى لايمكنه التواجد مرتبطا عند الموقع (O). يؤدى عدم وجود الكابح عند الموقع (O) إلى تمكن إنزيم RNA Polymerase من التحرك نحو الجينات التركيبية الثلاثة لنسخها. ينتهى الأمر بتخليق الإنزيمات الثلاثة

B-Galactosidase- Permease- Transacetylase

obeikandi.com

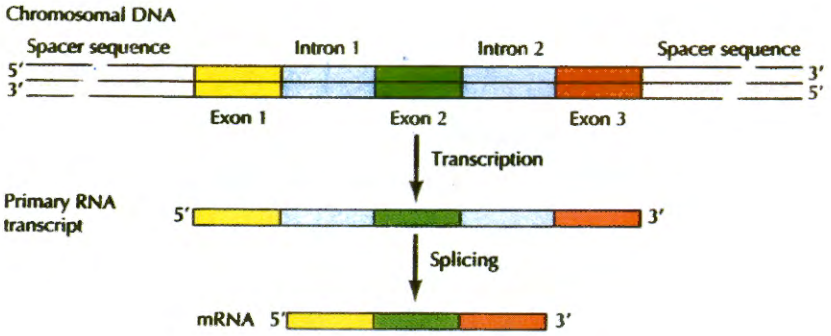
شكل (٣٥) : الإنسولين البشرى عبارة عن جزئ بروتين يتكون من سلسلتين من عديد الببتيد،السلسلة (A) تتكون من (٢١) حمضا أمينيا، والسلسلة (B) تتكون من (٣٠) حمضا أمينيا. وترتبط السلسلتان معا بروابط من الكبريت .
الإنسولين البقرى يختلف عن الإنسولين البشرى حيث عند الموقع (*) يوجد الحمض الأمينى Alanin ، وعند الموقع (**) يوجد الحمض الأمينى Valine.



شكل (٣٦): تحضير الإنسولين البشرى عن طريق الهندسة الوراثية لبكتيريا *E.coli*

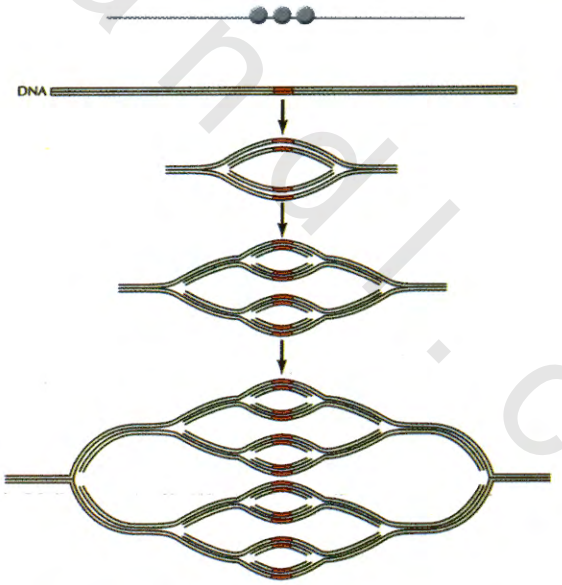
- كل من مزرعتى البكتريا منقول إليها جين من أحد سلسلتى الإنسولين البشرى، وبالتالى يتم تجميع كل سلسلة عديد ببتيد على حده ثم – فى مرحلة لاحقة– يتم ربط السلسلتين معا ليتكون بذلك إنسولين بشرى.

obeikandl.com



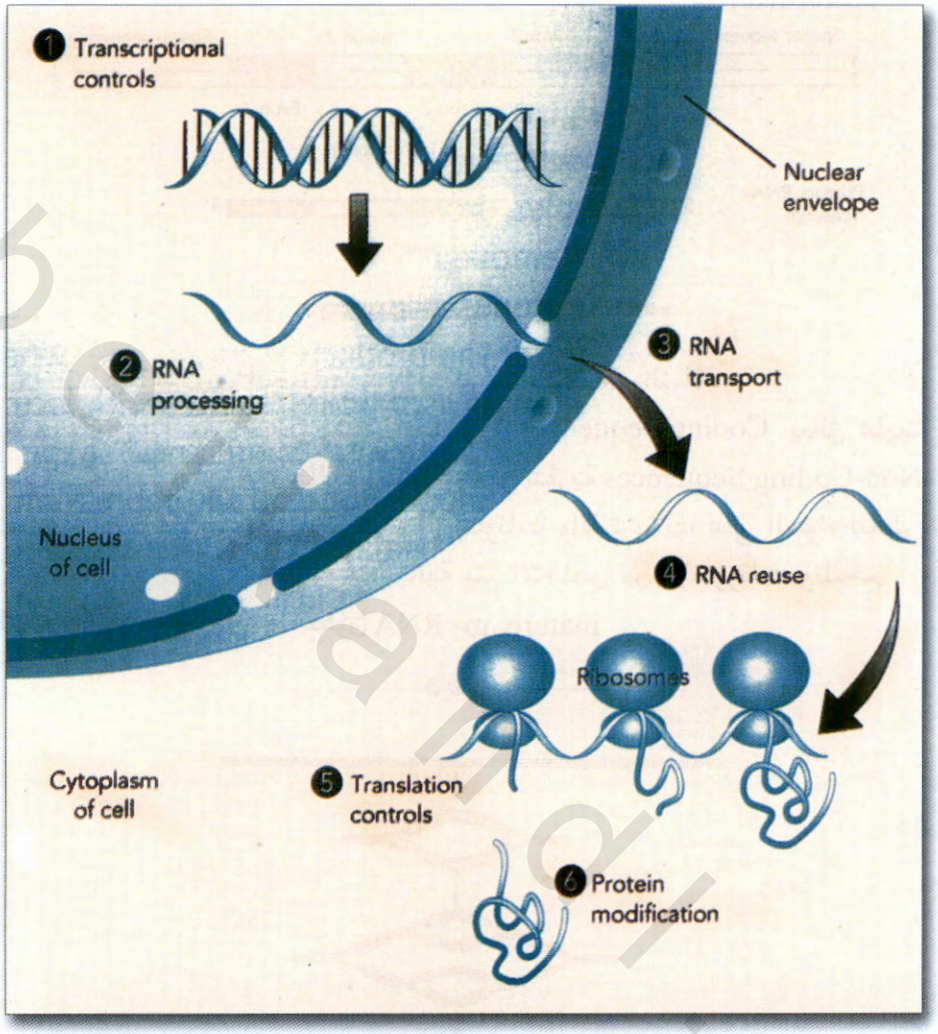
شكل (٤٠): تركيب الجينات فى الكائنات حقيقيات النواة.

يحتو ى DNA على مناطق تتابعات شفرية Coding Sequences يطلق عليها اسم إكسونات Exons يتخللها تتابعات غير شفرية Non-Coding Sequences تسمى إنترونات introns . يتم نسخ الإكسونات والإنترونات على السواء لتعطى Primary m-RNA . فى مرحلة تالية يتم التخلص من الإنترونات وتلتحم Spliced الإكسونات معا لتكون mature m- RNA



شكل (٤١): يتم تضخيم (الجين) عن طريق دورات من تضاعف DNA للحصول على نسخ عديدة من جين معين.

obeikandl.com



شكل (٤٢): مستويات تنظيم الجين

(١) التحكم فى النسخ

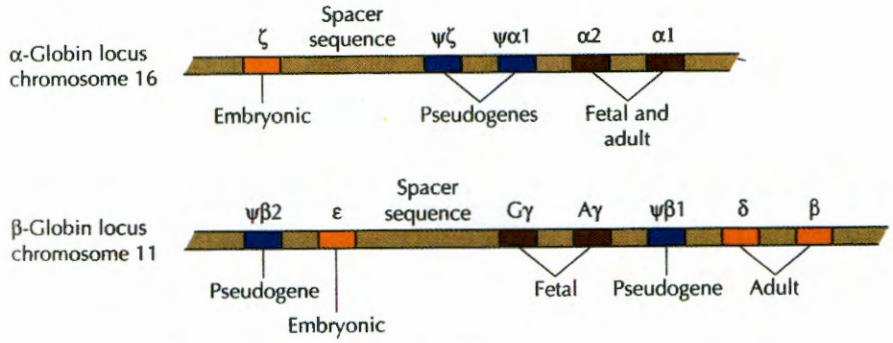
(٢) معاملة m-RNA ليصبح ناضجا

(٣) نقل m-RNA من النواة إلى السيتوبلازم

(٤) إمكانية إعادة استخدام وحدات m-RNA البنائية

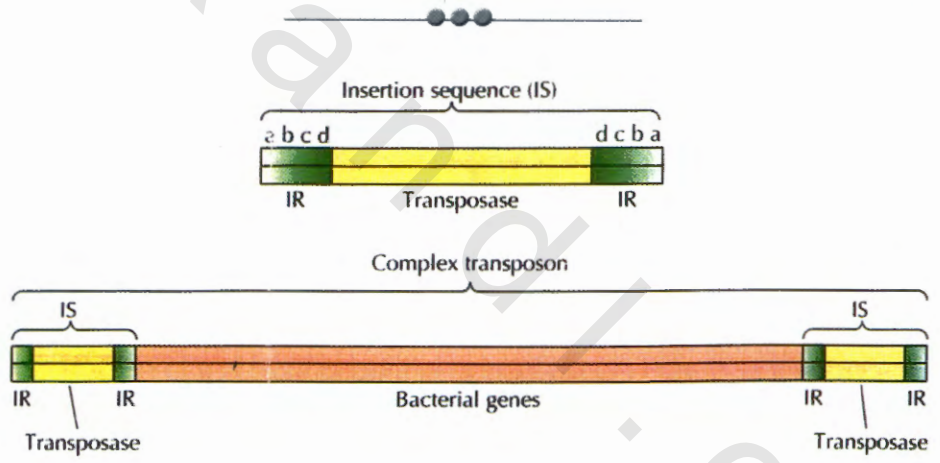
(٥) التحكم فى عملية الترجمة

(٦) التحكم فى بناء البروتين



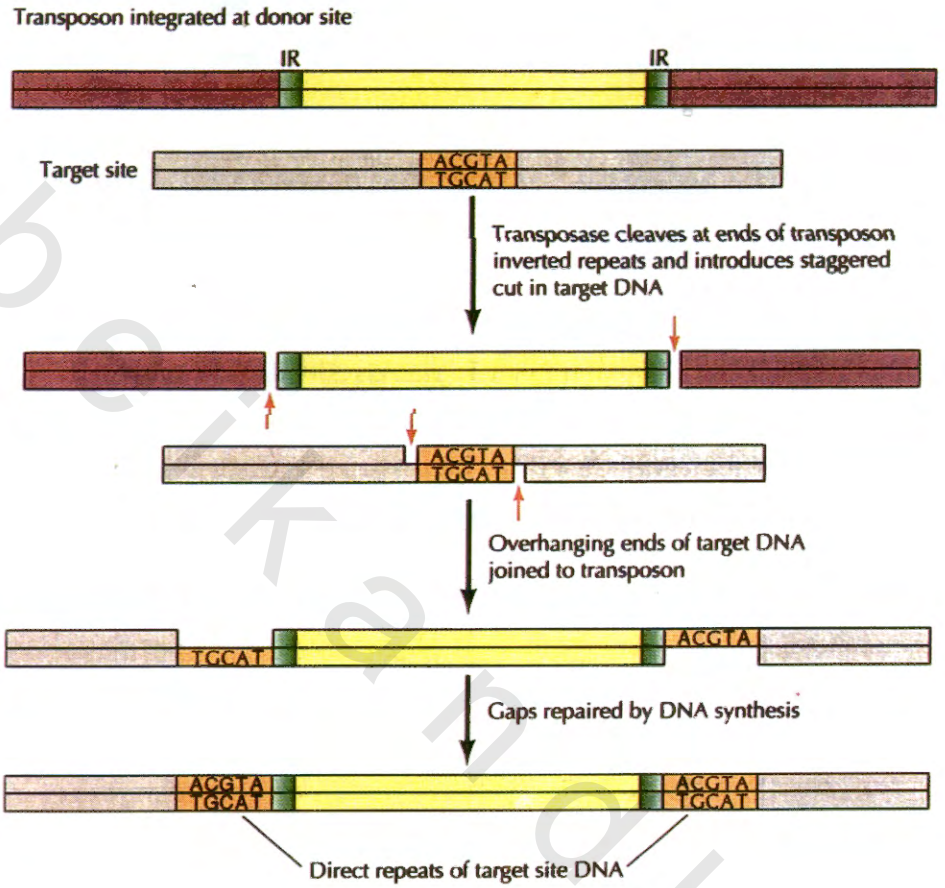
شكل (٤٣): عائلات جين جلوبين ألفا تقع على الكروموسوم رقم (١٦)، وعائلات جين جلوبين بيتا تقع على الكروموسوم رقم (١١) .

● كل عائلة تشمل جينات تعمل وتعبر عن نفسها فى المراحل الجنينية المبكرة embryonic، أو الجنينية المتأخرة fetal أو اليافعة adult ، بالإضافة إلى جينات غير فعالة non- functional تسمى pseudogenes جينات كاذبة



شكل (٤٤) الجينات المتنقلة فى البكتيريا

الوحدة المتنقلة يتراوح حجمها بين ٨٠٠ – ٢٠٠٠ نيوكليوتيد وتشمل جين إنزيم Transponase يحاط من الجانبين بتتابع معكوس (IR) من حوالى (٢٠) نيوكليوتيد، ويطلق على الوحدة كلها اسم Insersion Sequence (IS) الوحدة المتنقلة المركبة Complex تتكون من وحدتين (IS) يفصل بينهما عدد من جينات البكتيريا، ويتراوح حجم الوحدة المتنقلة المركبة بين ٥–٢٠ كيلوبيز.



شكل (٤٥): آلية إدخال الوحدة المتنقلة إلى موقعها الجديد
(انظر المتن)

obeikandl.com

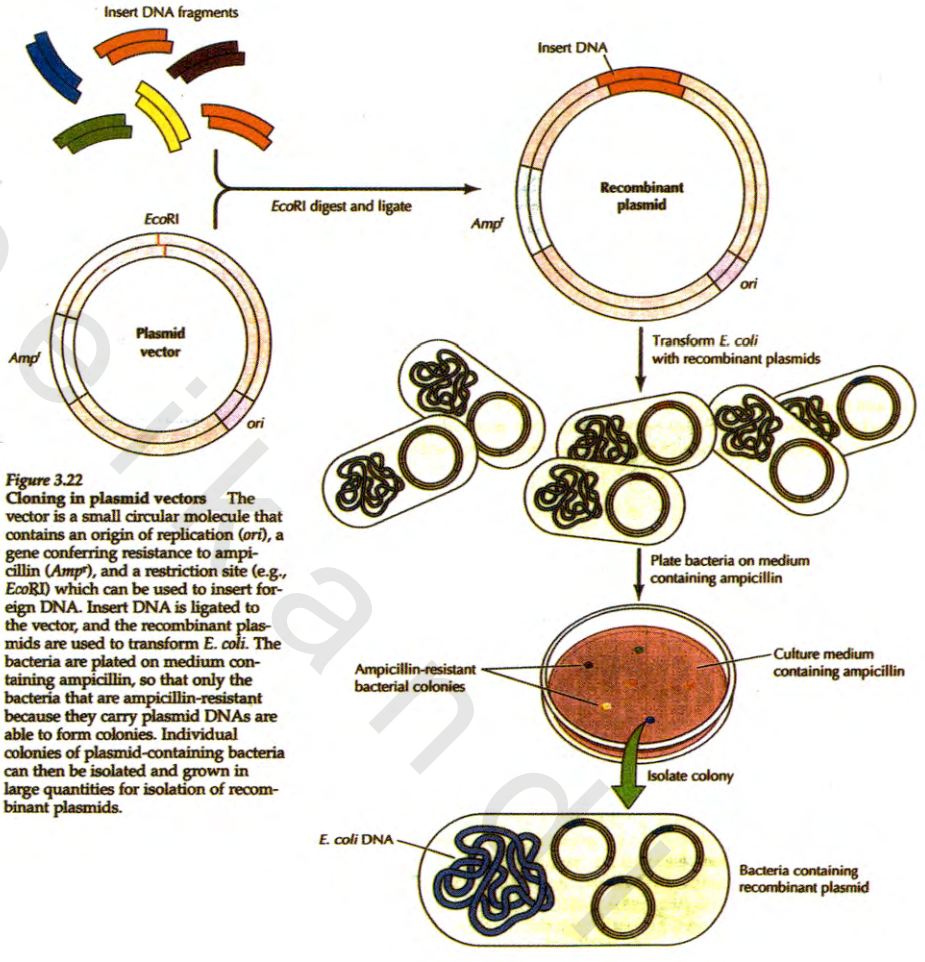
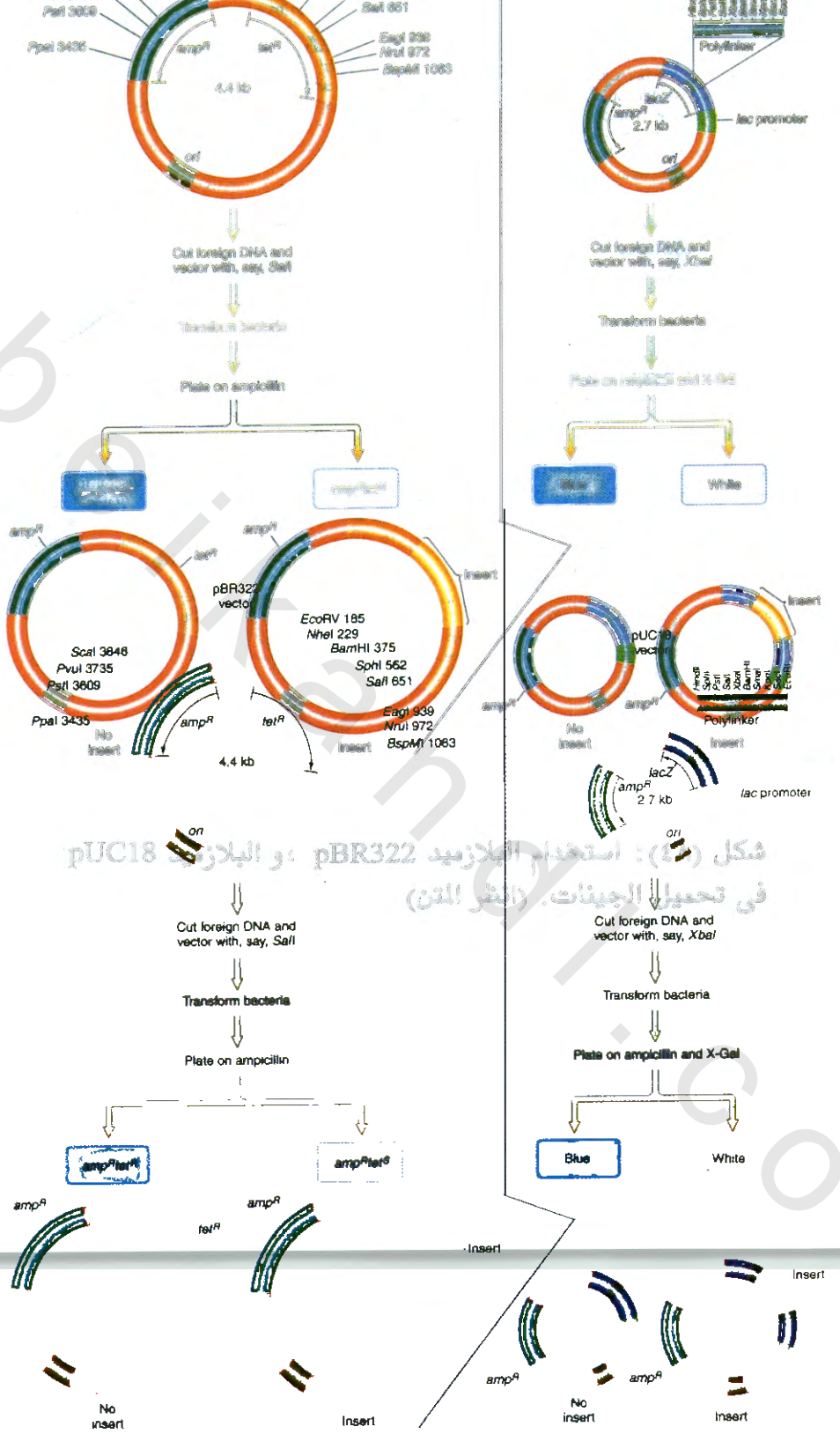
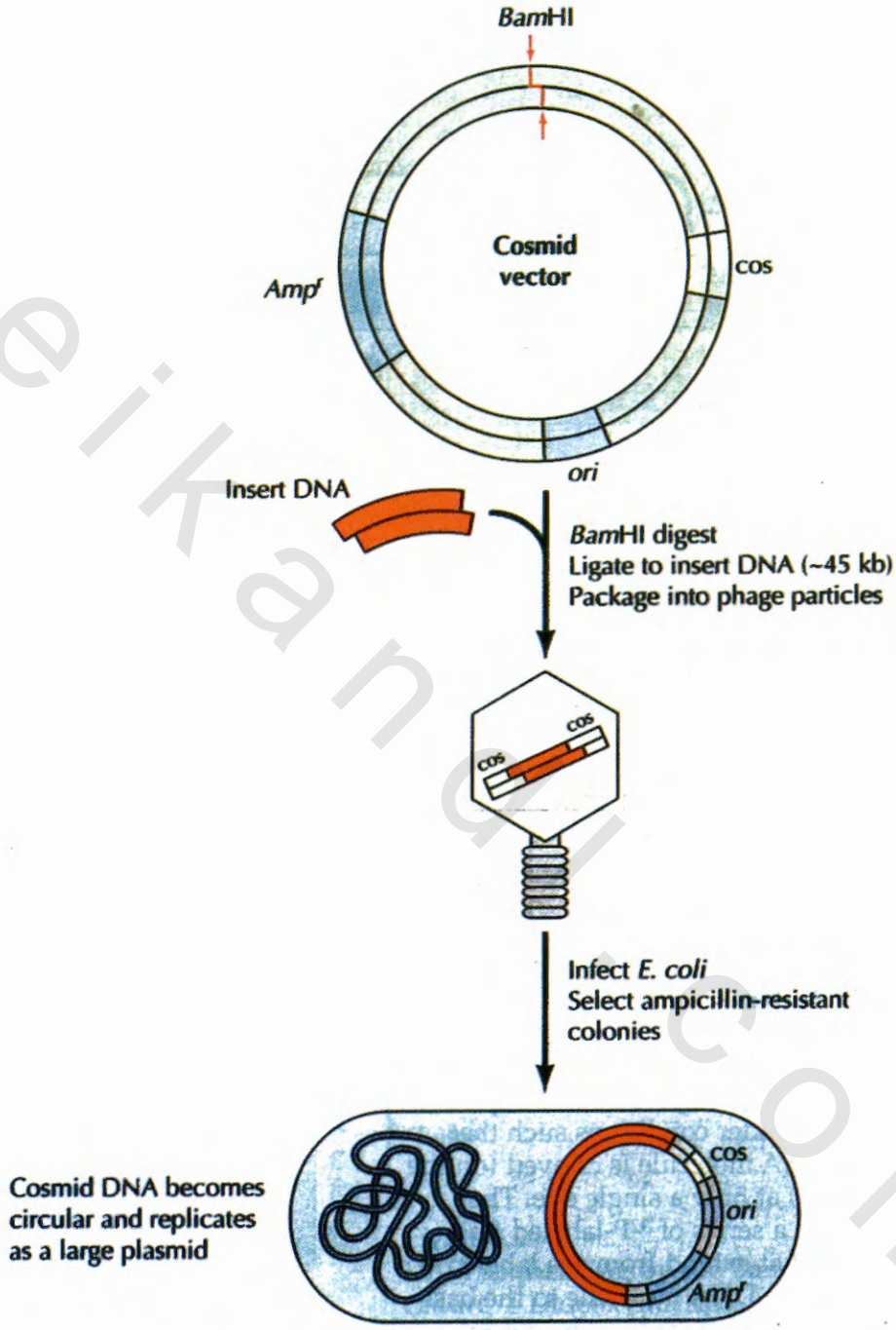


Figure 3.22
Cloning in plasmid vectors The vector is a small circular molecule that contains an origin of replication (*ori*), a gene conferring resistance to ampicillin (*Amp*^{r}), and a restriction site (e.g., *Eco*RI) which can be used to insert foreign DNA. Insert DNA is ligated to the vector, and the recombinant plasmids are used to transform *E. coli*. The bacteria are plated on medium containing ampicillin, so that only the bacteria that are ampicillin-resistant because they carry plasmid DNAs are able to form colonies. Individual colonies of plasmid-containing bacteria can then be isolated and grown in large quantities for isolation of recombinant plasmids.

(انظر الـ

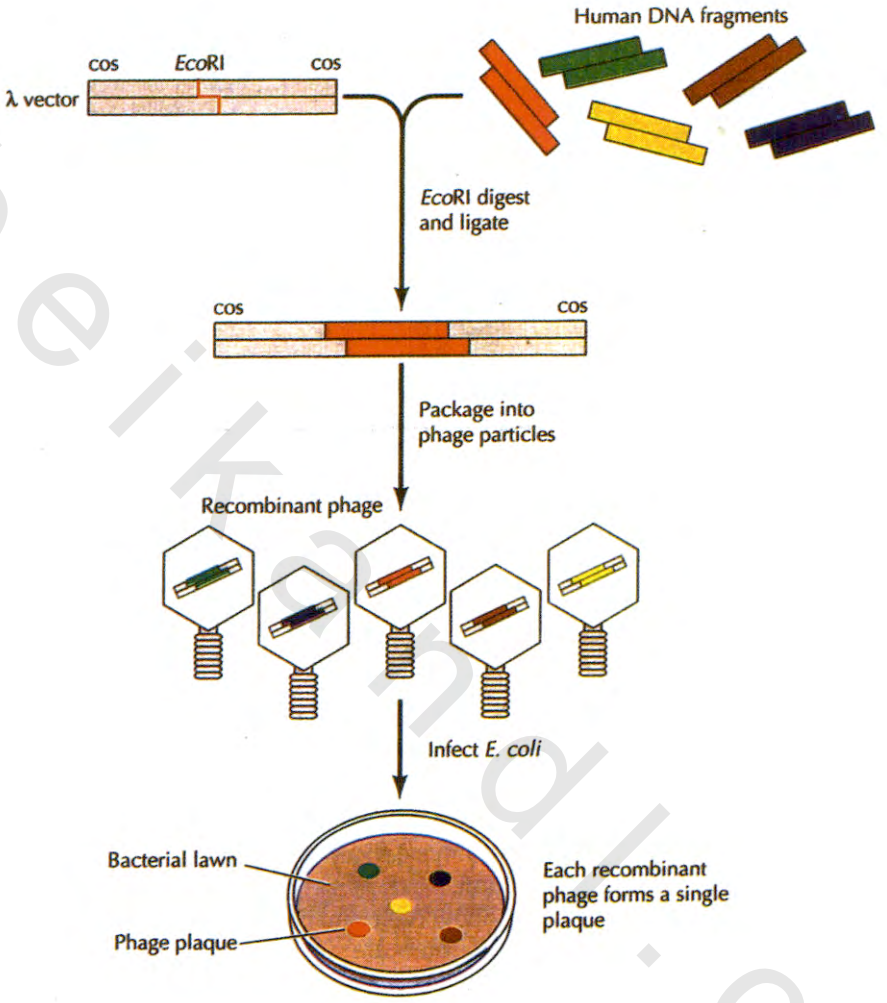


شكل (٤٨): استخدام البلازميد pBR322 ،و البلازميد pUC18 في تحميل الجينات. (انظر المتن)



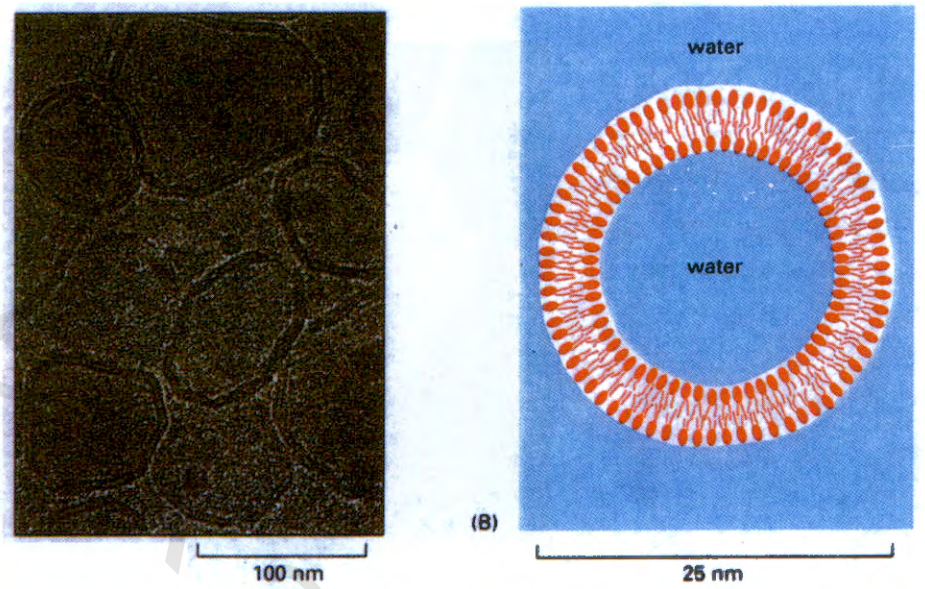
شكل (٤٩) : كلونة الجين باستخدام الكوزميد (انظر المتن)

obeikandl.com

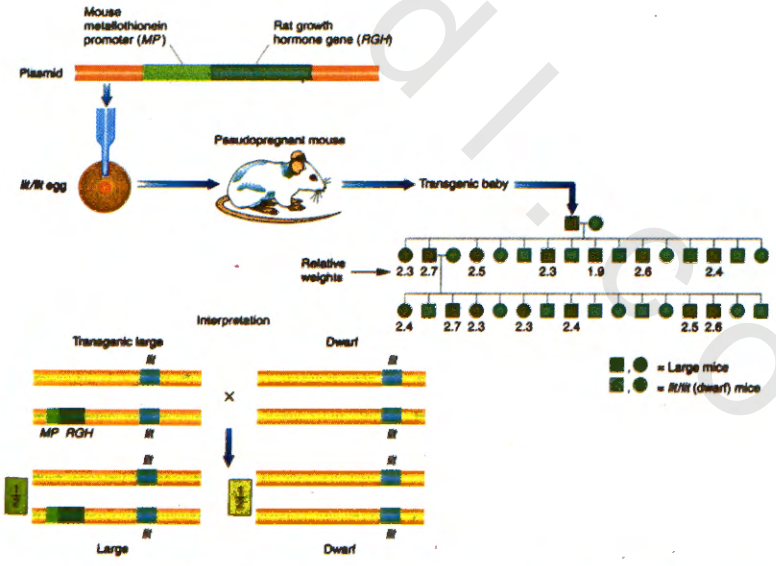


شكل (٥٠): كلونة الجين باستخدام الفيروس (انظر المتن)

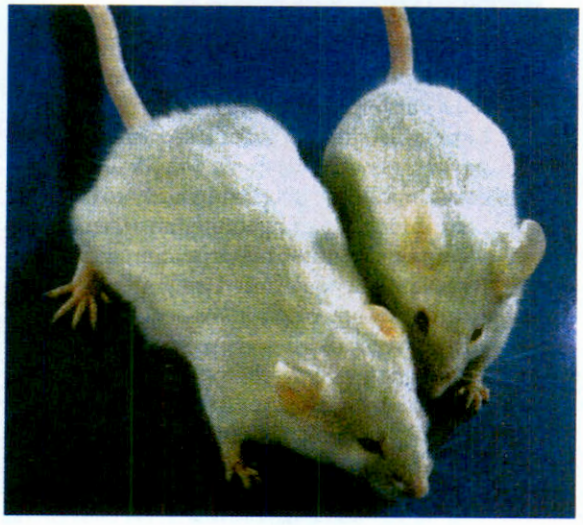
obeikandl.com



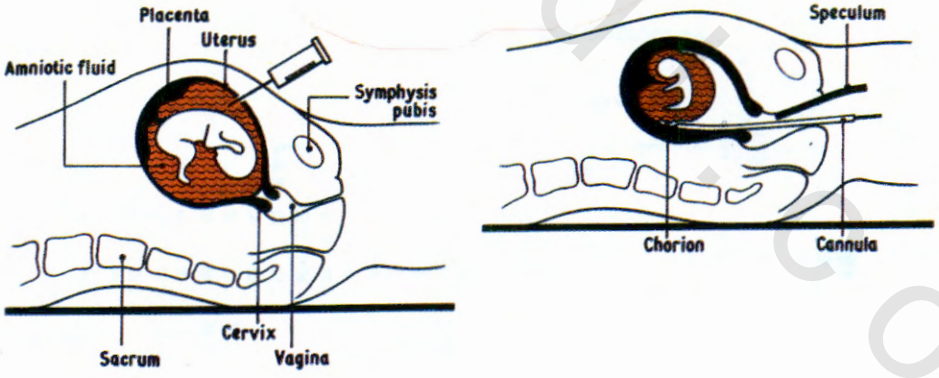
شكل (٥٤) : الليبوسوم: (أ) صورة لمجموعة من الليبوسومات
(ب) رسم يوضح تركيب الليبوسوم فى قطاع عرضى .



شكل (٥٥): علاج القزمة لدى الفئران بإضافة جين هرمون النمو للجرذان .
الزيادة فى وزن الفئران تراوحت بين ١,٩ مرة إلى ٢,٧ مرة

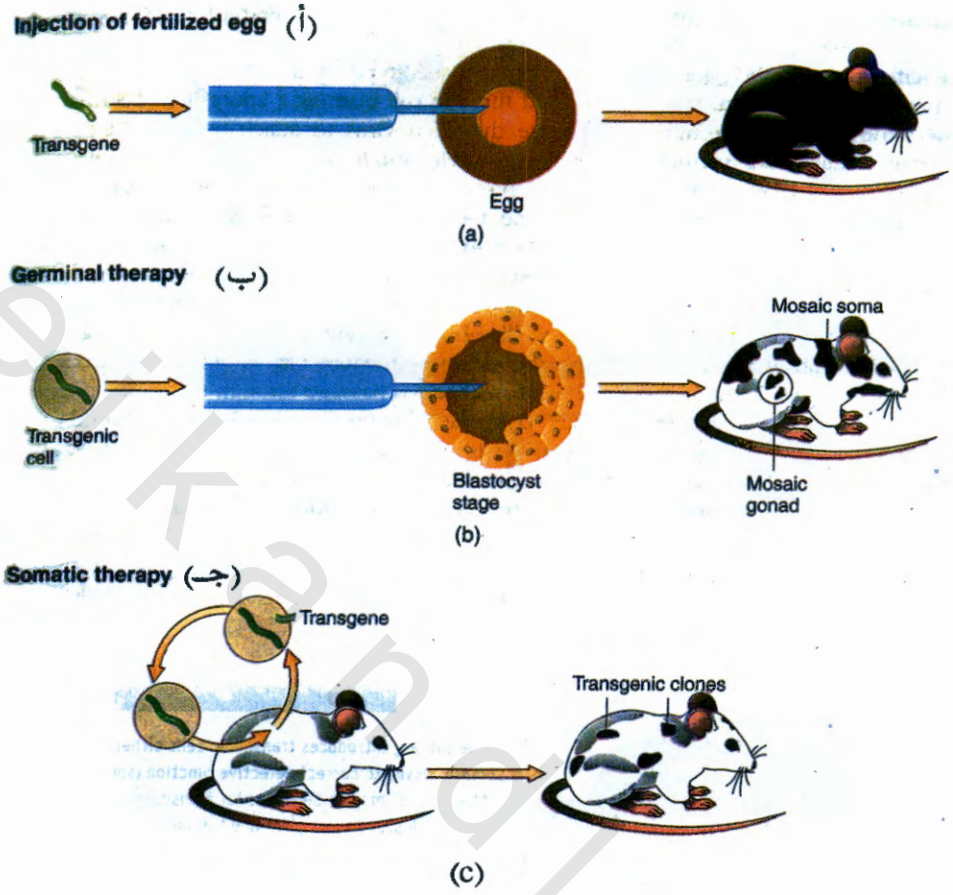


شكل (٥٦): الفأر الكبير معدل الجينات حسب الطريقة الموضحة فى شكل (٥٥) ويزن ٤٤ جراما، أما الفأر الأصغر حجما فيبلغ وزنه ٢٩ جرامًا.



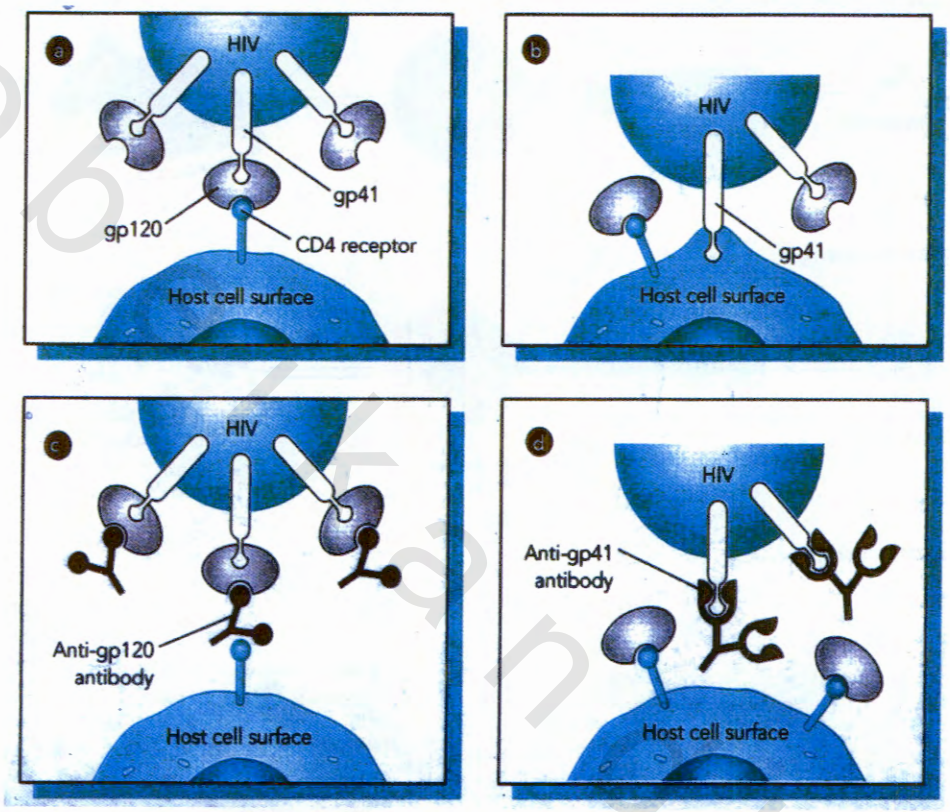
شكل (٦٣) : أخذ عينات للتشخيص المبكر للأمراض الوراثية
(أ) أخذ عينة من السائل الأمنيوتى فى مرحلة متأخرة من الحمل
(ب) أخذ عينة من خملات الكوريون فى مرحلة مبكرة من الحمل

obeikandi.com

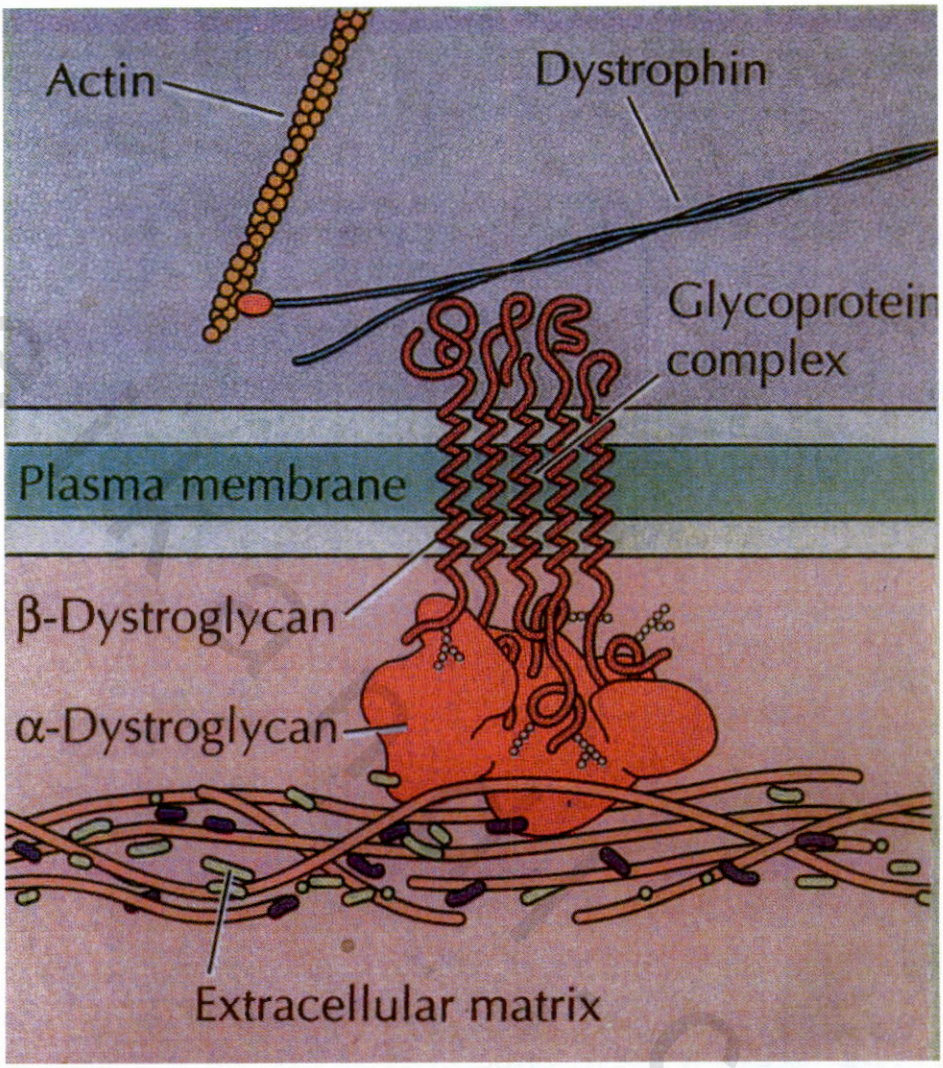


شكل (٦٦): استراتيجيات العلاج الجينى
(أ) حقن البويضة المخصبة
(ب) حقن الطور الجنينى المبكر
(جـ) علاج الخلايا الجسمية

obeikandl.com



شكل (٧٠): آلية استخدام أجسام مضادة للجليكوبروتينات (gp41) و (gp120) فى مقاومة فيروس مرض الإيدز (انظر المتن)



شكل (٧٣) : الجزء العلوى من الرسم يمثل سيتوبلازم الخلية، بينما الجزء السفلى يمثل النسيج خارج خلوى. الشريط الممتد باللون الأخضر يمثل غشاء الخلية. الرسم يوضح دور مركب Dystrophin فى ربط الهيكل الخلوى مع تراكيب Dystroglycan التى تمتد عبر الغشاء الخلوى لترتبط مع عناصر النسيج خارج خلوى.

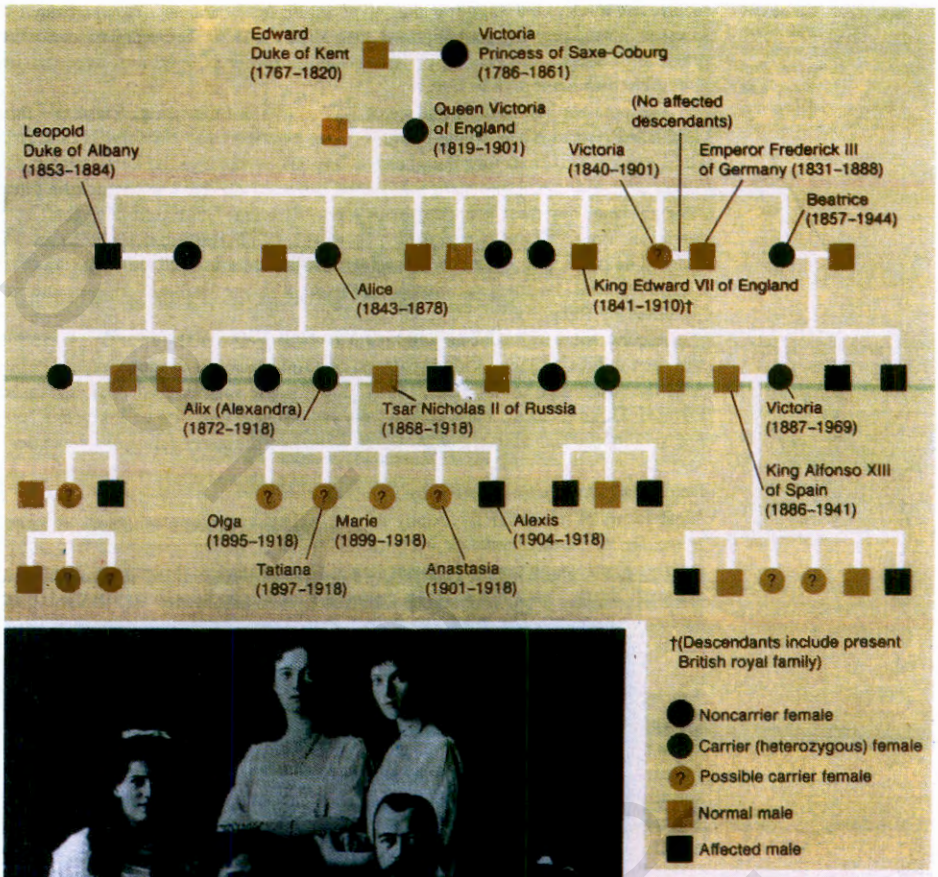
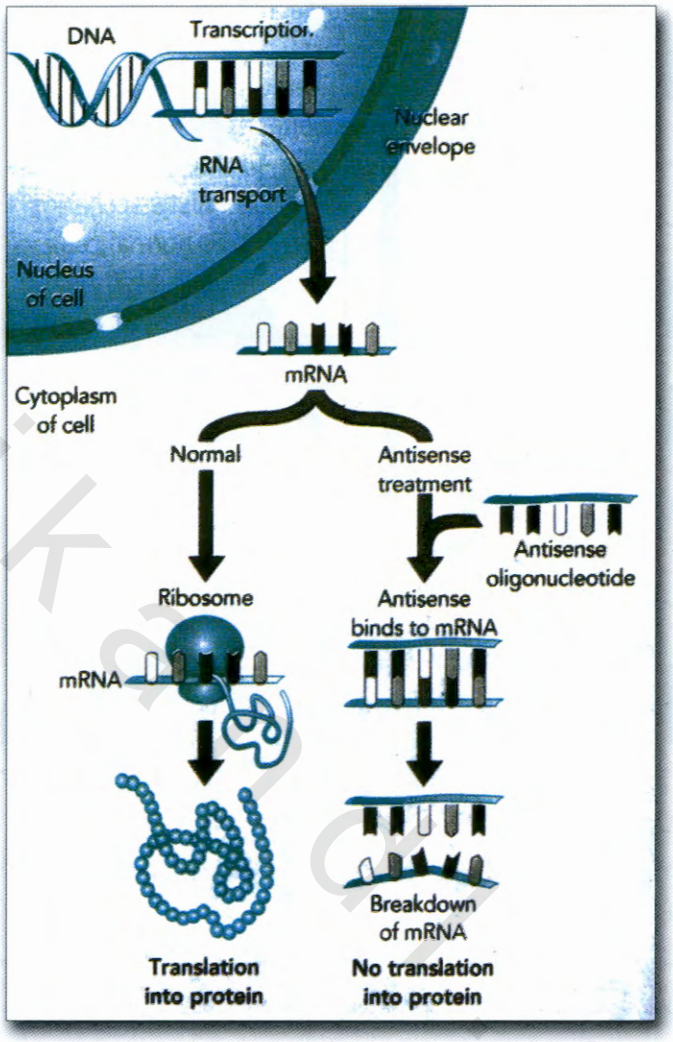


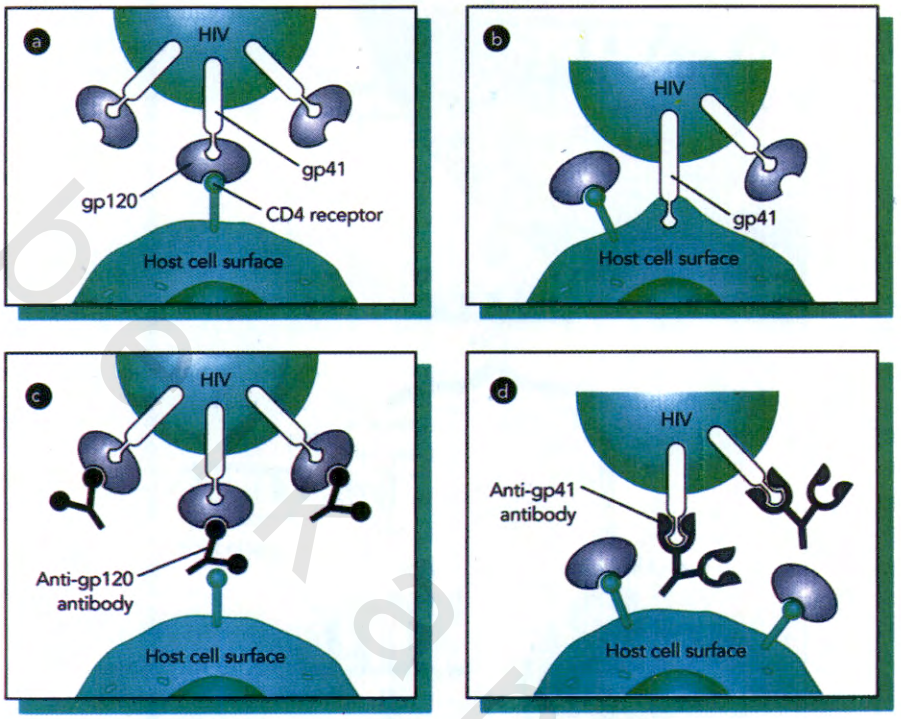
Figure 6.6 The Royal Hemophilia. Partial pedigree of the descendants of Queen Victoria showing carriers and hemophiliacs, as well as normals and possible carriers. The present royal family of Great Britain is free of the hemophiliac allele. The photograph is of Czar Nicholas II, the Czarina Alexandra, their four daughters, and their son Alexis, who had hemophilia.

شكل (٧٤): "خريطة عائلة" تمثل توريث مرض الهيموفيليا فى العائلة المالكة البريطانية وبعض العائلات الحاكمة فى أوروبا. الصورة تمثل "نيكولاس الثانى" قيصر Czar روسيا، وقيصرة Czarina "روسيا الكساندرا" وبناتهما الأربع وابنهما "ألكسيس" وكلهم مصابون بالهيموفيليا .



شكل (٧٥): ألية عمل تقنية Antisense فى العلاج الجينى. الرسم يوضح خروج m-RNA من النواة إلى السيتوبلازم. فى الجانب الأيسر يرتبط هذا الحمض مع الريبوسومة لتتم ترجمته إلى سلسلة الأحماض الأمينية. فى الجانب الأيمن يتم تخليق Antisense RNA بهدف إحباط تكوين سلسلة الأحماض الأمينية هذه، حيث يرتبط مع m-RNA ويحبط ترجمته، وفى النهاية يتكسر m-RNA .

obeikan.com



شكل (٧٦): استخدام تقنية Antisense فى إحباط تكاثر فيروس الإيدز داخل الخلايا . فى الرسم العلوى ترتبط المادة الوراثية للفيروس مع المادة الوراثية للخلية، وتعرف المادة الوراثية للفيروس عندئذ باسم provirus. يتم نسخ المادة الوراثية للفيروس إلى m-RNA يخرج إلى سيتوبلازم الخلية ليترجم إلى بروتينات تبنى غلاف الفيروسات الجديدة التى سيتم تخليقها. فى الرسم السفلى يدخل إلى الخلية Antisense RNA يرتبط مع m-RNA الناتج عن نسخ إلـ provirus وبذا تحبط عملية ترجمة m-RNA الفيروسى وبذا لا تنتج الأغلفة البروتينية المطلوبة لجيل جديد من الفيروسات.