جلين بيرس:مرحبًا بكم،اسمي جلين بيرس،وأعمل نائبًا لرئيس الاتحاد العالمي للهيموفيليا للشؤون الطبية،وأنا مهتم بالعلاج الجيني لمرض الهيموفيلياومشارك فيه منذ مدّة طويلة.سنتحدّث اليوم عن إستراتيجيات وأهداف أخرى لعلاج مرض الهيموفيليا بالعلاج الجيني، حيث سنتعرّف على طرق أخرى للعلاج الجيني إضافة إلى طريقة العلاج باستخدام الفيروس المرتبط بالفيروس الغُدّي (AAV)،كما سنتعرّف على بعض إيجابيات وسلبيات استخدام هذا الفيروس.

بدأ تصوّر مفهوم العلاج الجيني منذ ما يقرب من 50 عامًا بمقال كتبه «تيد فريدمان» في مجلة «Science» يتساءل فيه عن إمكانية استخدام العلاج الجيني في علاج الأمراض التي تصيب البشر. كان ذلك بعد مدّة ليست بالطويلة من اكتشاف الحمض النووي الريبي منزوع الأكسجين (DNA) والحمض النووي الريبي (RNA) ومعرفة وظائفهما. وأثار تيد في مقاله تساؤلات عن المشكلات العلمية والأخلاقية الصعبة التي تواجه استخدام العلاج الجيني، كالتي نطرحها اليوم حول التحرير الجيني.

والآن وبعد مرور 50 عامًا تقريبًا على مقال تيد،فإنّنا نطرح سؤالًا بشأن سبب استخدامنا لنواقل AAV في العلاج الجيني لمرض الهيموفيليا. حسنًا، السبب الرئيسي لذلك هوأنّها طريقة فعّالة. لكنّ عملية استخدام هذه الفيروسات تطورت على مدار 25 إلى 30 عامًا مع مرورها بالعديد من الإخفاقات طوال تلك الفترة. وبمرور الوقت وصلنا لهذه المرحلة التي أيقنا فيها أنّ استخدام هذه الفيروسات هي الطريقة الأكثر فعالية لإعطاء فائدة علاجية للأفراد المُصابين بمرض الهيموفيليا؛ سواء أكان ناجمًا عن نقص عامل التخثر الثامن (FVIII) أم عامل التخثر التاسع(FIX).

وبشكل عام، فإنّ سجل السلامة لاستخدام هذه الطريقة سجلٌ جيد،إضافة إلى أنّها قد استخدمت في عدد من الحالات المرضية والتجارب السريرية المختلفة. هناك العديد من المشكلات المتعلقة بهذه الطريقة، ومن بينها:تباين الاستجابات المناعية واستمراريتها، وحقيقة أنّه من المحتمل أن يكون لدى نصف البشر مناعة موجودة مسبقًا لأنماط مصلية مختلفة من هذه الفيروسات.والأنماط المصلية لفيروسات AAVهي جسيماتها التي ترتبط ارتباطًا وثيقًا ببعضها البعض ولكنّها تطورت بعيدًا عن الفيروسات الأساسية تطورًا يكفي لإصابة أنسجة مختلفة في الجسم. لذا، فقد استخدمنا عددًا من هذه الأنماط المصلية في العلاج الجيني، وقد أثبتت بعض الأدلة وجود مقاومة مناعية لدى عدد من الأشخاص لهذه الأنماط المصلية تؤدي إلى خلق أجسام مضادة تعيق عمل هذه الأنماط. وهذه الاستجابة المناعية المُسبقة تزيد بدرجة كبيرة بعد إعطاء فيروسAAV لهؤلاء الأشخاص؛ وهو الأمر الذي يحول دون إعطائهم جرعات دوائية مرة أخرى؛ حيث ينجم عن إعطاء العلاج الجيني باستخدام الناقل الفيروسي AAV إنتاج كمية كبيرة جدًا من الأجسام المضادة في جسم المريض.

كما أنّ فيروس AAV يُعتبر من أصغر الفيروسات التي تصيب البشر، وبالتالي فحتى بعد إزالة جينات فيروس AAV، لا تكون هناك مساحة كافية لإدخال جينات جديدة، فعلى سبيل المثال، هذا الفيروس يتسع بالكاد لجين عامل التخثر الثامن محذوف النطاق ب (B-domain-deleted FVIII).لذا، فهناك أيضًا قيود تتعلق بحجم الجينات التي يمكن نقلها باستخدام الفيروس. كما أنّ فيروس AAV يمكنه دمج الجينات المنقولة عشوائيًا بشكل محدود نسبيًا، وهذا الأمر غير واضح وغير مدروس بشكل جيد،كما أنّه يثير تساؤلات بشأن السلامة على المدى الطويل.

والمشكلة الأخيرة بشأن فيروس AAV هو أنّنا نعطي تريليونات من الجينومات الفيروسية للمرضى ولكن في نهاية الأمر فإنّ جزءًا صغيرًا جدًا من هذه الجينومات هو الذي ينتج البروتينات التي يتم إفرازها وتكون مفيدة علاجيًا.وبالرغم من جميع ما ذكرته، فإنّ فيروس AAV يُعدّ ناقلًا فيروسيًا فعّالًا يمكن أن يحقق أثرًا علاجيًا في علاج مرض الهيموفيليا.

ماذا عن الحلول المتاحة لتحسين النواقل الفيروسيةAAV؟ على الرغم من جميع المشكلات التي تكتنف استخدام فيروسAAV، إلا إنّه قد تم اقتراح العديد من الحلول لهذه المشكلات، ولكنّ معظم هذه الحلول المقترحة لم تُختبر بعد. وهذه نقطة مهمّة،فالتجارب السريرية التي تُجرى باستخدام هذه النواقل الفيروسية تتقدّم نحو المرحلة الثالثة،وهناك تجارب سريرية جديدة حالية قد تمكّن من إدخال تحسينات عل هذه النواقل، مثل كفاءة نقلها للجينات، وغير ذلك. لذا، فجميع هذه الحلول المحتملة يجري دراستها حاليًا؛ولكنّها لا تتقدّم بالسرعة المطلوبة لاستخدام الجيل الأول للعلاج الجيني باستخدام نواقلAAV؛والذي قد يتم اعتماده بحلول عام 2020 أو 2021.

إذا نظرنا إلى نقل فيروس AAV للجينات المنقولة إلى خلايا الكبد (يُرجى النظر إلى الصورة التوضيحية رقم 1)، سنلاحظ أنّه في حالة وجود أجسام مضادة -ناتجة عن عدوى طبيعية موجودة مسبقًا- لفيروسAAVفي الخلية المستهدفة،فستمنع هذه الأجسام المضادة الفيروس من الوصول إلى الخلية المستهدفة؛ وبالتالي، لن يحقق العلاج الجيني أيّ تأثير. إلا إنّه في حالة عدم وجود أجسام مضادة (يُرجى النظر إلى الصورة التوضيحية رقم 2)، فيمكن للفيروس أن يرتبط بمستقبلات محددة بسطح الخلية المضيفة ويندمج داخلها من خلال الآليات المعتادة للنقل عبر الخلوي بواسطة المستقبلات. وعند دخول الفيروس إلى الخلية، فقدي واجه بعض المناعة الفطرية لأنّ خلايانا في النهاية مُصمّمة لحمايتنا من العدوى الفيروسية. وهذا ما قد يبدو عليه الحال عند استخدام الفيروس في العلاج. ولكن بعد ذلك قد يُفلت ما يكفي من جينوم الفيروس بحيث يتحرّر من القفيصة. في سيتوبلازم الخلية، ينتقل الحمض النووي إلى النواة حيث يشكّل في النهاية يصابيغ (episomes)، وهي حلقات مستقرة ومغلقة يمكنها استخدام آلية الخلية المضيفة لنسخ وترجمة البروتين الذي يمكن إفرازه بعد ذلك. يمكن أن تدخل القفيصة إلى الشبكة البلازمية الداخلية أو تواجه مستضدات التوافق الرئيسي من الفئة الأولى (MHC-1)، والتي قد تتمكن من الارتباط ببيتيدات القفيصة على وجه التحديد، وفي هذه الحالة يتم توزيعها على سطح الخلية حيث يمكنها تحفيز الخلايا التائية السامة للخلايا؛وهو ما قد يؤدي إلى تدمير الخلية التي تحتوي على الجينات المنقولة. ولذلك، فنحن نواجه 0مشكلات تتعلق بالفعالية والتباين والاستمرارية بسبب جميع هذه الخطوات المعقدة التي تحدث داخل الخلية. ماذا يمكننا أن نفعل حيال المناعة المسبقة؟ حسنًا، بعض المجموعات البحثية تدرس حاليًا إمكانية استخدام تقنية الامتزاز المناعي في نماذج حيوانية للقضاء على الأجسام المضادة لفيروس AAV. وتتضمن هذه العملية استخدام عمود مثل عمود بروتين (ج) أو بروتين (أ) يمكنه امتصاص الجلوبيولين المناعي (IgG) من المريض الذي قد يحتوي جسمه على كمية كبيرة من الأجسام المضادة لفيروسAAV. وتأثير هذه العملية تأثير مؤقت،فهو لا يستمر لمدّة طويلة جدًا؛ لكنّه مع ذلك قد يستمر بما يكفي لتقليل عدد الأجسام المضادة بدرجة مناسبة بحيث يمكن إعطاء فيروسAAVللمريض وتوصيل الجينات المنقولة إلى الخلايا المستهدفة. يجري العمل حاليًا لبحث فعالية كفاءات إزالة الجلوبيولين المناعي؛ لأنّ الأمر سيستلزم إزالة كميات كبيرة منه في عدد من المرضى لتمكين الناقل الفيروسي من استهداف خلايا الكبد.

والمسألة الأخرى هي حدوث سُمّية داخل الخلايا بعد توصيل فيروس AAV. ما ندركه هو أنّه في عدد من المرضى، يُلاحظ حدوث ارتفاعات في مستويات إنزيمات ناقلات الأمين داخل الكبد، وهذه الارتفاعات تكون مؤقتة، ولا تكون مرتفعة جدًا في معظم الحالات، حيث قد تبلغ مرة ونصف أو مرتين ضعف مستوياتها الطبيعية في معظم الحالات. ومع ذلك، فهذا الأمر يثير بعض المخاوف؛ لأنّ ارتفاع مستوى هذه الإنزيمات يدل على موت خلايا كبدية.

ما هي الأسباب المحتملة لارتفاع إنزيمات الكبد؟ حسنًا، هناك ثلاث فرضيات لذلك؛ وقد يكون لفرضية منها أو أكثر تأثير على خلايا الكبد لدى بعض المرضى. الفرضية الأولى هي انحلال حمولة كبيرة جدًا من قفيصة فيروس AAV،فالجزء الأكبر من القفيصة يذهب إلى خلايا الكبد نظرًا لتسريبها عن طريق الوريد. وعلى الخلية أن تحلل تلك القفيصة مرة أخرى إلى الأحماض الأمينية المكونة لها لكي تتمكن من هضمها،وهو ما يستهلك قدرًا كبيرًا من طاقة الخلية. والفرضية الثانية هي مشكلة الخلايا التائية السامة للخلايا التي سبق الحديث عنها. أمّا الفرضية الثالثة فهي ما يعرف باستجابة البروتين غير المطوي (UPR)؛ وهذه المشكلة تتعلق تحديدًا بالعامل الثامن. وقد اتضح منذ عدّة سنوات أنّه من الصعب للغاية على الخلايا إنتاج بروتين هذا العامل؛ فهذاالبروتين معقد وهو أحد أكبر البروتينات في الجسم.

وحتى إذا كنّا نستخدم عامل التخثر الثامن محذوف النطاق ب، فقد تبيّن في عمليات زراعة الخلايا أنّه من الصعب للغاية على الخلايا أن تنتج هذا العامل،كما يمكن أن يتسبّب ذلك في حدوث سُمّية داخل تلك الخلايا. وهذه السمّية يمكن أن تؤدي إلى موت الخلايا وكذلك، بطبيعة الحال، فقدان التعبيرعن بروتين العامل الثامن. لذا، ينبغي دراسة جميع هذه المجالات، لكنّها -حتى الآن-لم تُدرس بشكل كافٍ لمساعدتنا في الوصول إلى بعض الإجابات عن هذه الأسئلة وتطوير حلول ممكنة لهذه المشاكل المحتملة.

يعرض الرسم البياني الذي يظهر على الجانب الأيسر العلوي من هذه الشريحة مثالًا على ارتفاع مستويات إنزيمات ناقلات الأمين داخل الكبد. ويُظهر هذا الرسم البياني التطور المتزامن للخلايا التائية السامة للخلايا CD8+ T-cells()الخاصة بقفيصة فيروس AAV، والتي تتسبّب في موت الخلايا وتدميرها. وتظهر أسفل هذا الرسم البياني الاستجابات المناعية المختلفة التي يمكن أن تحدث في مواجهة إدخال الجينات المنقولة بواسطة الفيروس إلى خلايا الكبد والتعبير الجيني لها؛ حيث نرى الخلايا التائية (CD8+ T-cells) التي يمكنها مهاجمة خلايا الكبد التي تحتوي على الجينات المنقولة. كما نلاحظ أنّ الخلايا التائية المساعدة(CD4+ T cells) يمكن تنشيطها؛ وهذه الخلايا تقوم بدور مهم في إحداث استجابة كبيرة للأجسام المضادة لقفيصة

فيروسAAVتمنع إعادة إعطاء الفيروس بعد ذلك. وتقريبًا، لا يوجد أيّ جهد بحثي مبذول لدراسة هذه المسائل الثلاثة الحاسمة والمتعلقة بقفيصة فيروس AAV، والخلايا التائية السامة، واستجابة البروتين غير المطوي (UPR). ولذلك، فهناك حاجة إلى القيام بمزيد من العمل لتوضيح هذه المسائل المهمة بشكل أفضل عند علاج كل مريض على حدة وكذلك مجموعات المرضى.

ما هي البدائل المحتملة لفيروس AAV؟ في الواقع، لقد بُذلت جهود مضنية لاستخدام بدائل فيروسية وغير فيروسية؛ والفيروسات الأكثر تطورًا المستخدمة حاليًا في العلاج الجيني لمرض الهيموفيليا هي الفيروسات البطيئة (Lentiviruses). وهذه الفيروسات مشتقة من فيروس العوز المناعي البشري (HIV)، ولكنّها لا تحتوي على جميع جينات فيروس HIV، ويمكنهاتوصيل جينات العامل الثامن أو التاسع إلى الخلايا المستهدفة؛ تمامًا كما هو الحال مع فيروساتAAV. وتُجرى حاليًا تجارب قبل سريرية على استخدام هذه الفيروسات في نقل هذه الجينات إلى الخلايا الجذعية المكونة للدم (خارج الجسم)،وإلى خلايا الكبد (داخل الجسم)في نماذج حيوانية، من بينها حيوانات كبيرة.

كما أنّ هناك نهجًا مختلفً اقائمًا على عدم استخدام نواقل فيروسية في العلاج الجيني؛وهذا النهج يمكن أن يصبح نهجًا مثاليًا في العلاج.وهناك دراسات تُجرى منذ أكثر من ثلاثين عامًا على استخدام جسيمات نانوية شحمية لنقل أحماض نووية (مثل حمض DNA) إلى الخلايا المستهدفة. وبالرغم من أنّ هذه الجسيمات أقل كفاءة من فيروسات AAV في نقل الجينات إلى الخلايا المستهدفة (تحدثت آنفًا عن مدى كفاءة فيروسات AAV في نقل الجينات)، إلا أنّها لا تواجه مقاومة مناعية في الجسم، وبالتالي فقد يكون تكرار حقنها في المريض أمرًا ممكنًا. فإذا لم يكن لدى المريض مستوى عالٍ كافٍ من العامل الثامن أو العامل التاسع، فقد يكون من الممكن تكرار حقن المريض بهذه الجسيمات حتى يتحقق المستوى العلاجي المطلوب.

وهناك نهج آخر يبشر بمستقبل واعد للعلاج الجيني؛ وهو التحرير الجيني. تتضمّن عملية التحرير الجيني إضافة جين سليم إلى صبغيات (كروموسومات) الخلية مباشرة؛ليحل هذا الجين محل الجين التالف الموجود داخل الخلية. وفي حالة الهيموفيليا، ليس من الضروري القيام بذلك، حيث يمكن فقط إضافة الجين إلى الكروموسومات.

في بعض حالات العلاج بالتحرير الجيني لمرض الهيموفيليا، يمكن استخدام تقنيات معينة لتعديل الجينات الداخلية. وكما ذكرت آنفًا، يبشرالتحرير الجيني بمستقبل واعد للعلاج الجيني لأنّه يتيح إجراء تصحيح دائم للنمط الظاهري للخلية؛ فعند وجود جينات سليمة في الكروموسومات، سيستمر التعبير الجيني طوال فترة حياة الخلية. وإذا انقسمت الخلية، فسيستمر وجود الجينات السليمة في الخلايا الوليدة (الناتجة عن انقسام الخلية الأم). لذا،يُعدّ التحرير الجيني -الذي يجري تجربته حاليًا على نماذج حيوانية- نهجًا متميزًا لعلاج مرض الهيموفيليا؛ ولكنّه ليس جاهزًا حتى الآن لتجربته على البشر.

والنهج الأخير للعلاج الجيني هو العلاج بالخلايا. وفي هذا النوع من العلاج، استُخدمت أنواع مختلفة من الخلايا الجذعية وخلايا الكبد لتوصيل جينات العامل الثامن أو العامل التاسع مباشرة إلى الأفراد المُصابين بالهيموفيليا. تعرض هذه الشريحة مخططًا لجسيمات نانوية شحمية تنقل الأحماض النووية إلى الجينات المستهدفة.

تتم معظم هذه العملية باستخدام جزيئات الحمض النووي الريبي الصغير (Small RNAs) مثل جزيئات الحمض النووي الريبي المثبط،ومن الممكن أيضًا دمج الجينات في الجسيمات النانوية الشحمية. وقد بُذلت جهود مضنية لجعل هذه الجسيمات غير سامة للخلايا وتمكينها من استهداف خلايا الكبد على سبيل المثال. ونحن نتطلع إلى بذل المزيد من الجهود لتطوير هذا النهج من العلاج الجيني؛ فهذاالنهج لم يُجرّب سريريًا حتى الآن، لكنّ الأمور تمضي في هذا الاتجاه. كما أنّنا بحاجة إلى أن نحدد طرقًا لزيادة كفاءة التعبير الجيني باستخدام هذه الجزيئات؛ فهي توفّر عددًا من المزايا التي لا توفّرها النواقل الفيروسية.

ما هي الاختلافات الرئيسية بين فيروسات Lentivirus وفيروسات AAV؟

الاختلافات الرئيسية بينهما موضّحة في هذا الجدول البياني. تنتمي هذه الفيروسات لعائلتين فيروسيتين مختلفتين. فيروسات Lentivirus مغلّفة بغلاف شحمي، أمّا فيروسات AAV فهي غير مغلّفة ولكن تحيط بها قشرة بروتينية يمكنها التفاعل مع المستقبلات الموجودة على أسطح الخلايا المضيفة. سعة تعبئة فيروسات Lentivirus للجينات العلاجية تعادل ضعف سعة تعبئة فيروسات AAV. وكما ذكرت آنفًا، يمكن للجينات

المنقولة بفيروسات Lentivirus الاندماج في الحمض النووي (DNA) للخلية المضيفة؛ في حين لا يحدث ذلك غالبًا مع الجينات المنقولة بفيروسات AAV؛ حيث يبقى الجزء الأكبر منها خارج كروموسوم النواة. ويمكن لكلا النوعين من هذه الفيروسات نقل جينات علاجية إلى كل من الخلايا الانقسامية والخلايا غير الانقسامية.

وكما أوضحت سابقًا، تتيح الجينات المنقولة بفيروساتLentivirusإجراء تصحيح دائم للنمط الظاهري للخلية المضيفة، بينما يمكن أن تفقد اليصابيغ (التي تشكّلها الجينات المنقولة بفيروسات AVV) عند انقسام الخلية المضيفة. وإذا ما قارنا بين عملية نقل الجينات بواسطة فيروساتLentivirusوAAV، فيمكننا القول أنّ هذه العملية متماثلة للغاية؛ فكلا الفيروسين يدخلان إلى الخلية المضيفة من خلال مستقبلات معينة، ثم يدخل الحمض النووي إلى داخل النواة (حمض DNA في حالة فيروساتAAV، وحمض RNA في حالة فيروساتLentivirus)؛ حيث يستخدم كلا الفيروسين آلية عمل الخلية المضيفة. وتستخدم فيروساتLentivirusهذه الآلية لإنتاج حمض DNA باستخدام حمض RNA، ثمّ تدمج هذا الحمض في كروموسوم الخلية. أمّا فيروسات AAV فتعمل على تحويل حمض DNA من حمض مفرد الشريط إلى مزدوج الشريط، وتشكّل منه بعد ذلك يصابيغ أو قطعًا دائرية،بحيث يمكن بعد ذلك نسخ حمض RNA لإنتاج البروتين.

لذا، فاستخدام كلا الفيروسين في الحيوانات يمكن أن يكون فعّالًا، ويوفر مستويات علاجية من العامل الثامن؛ والأمر نفسه يمكن أن يحدث عند استخدام فيروس AAV في البشر.

هل تُجرى عمليات التحرير الجيني لعلاج مرض الهيموفيليا خارج الجسم أم داخله؟
لننظر عن كثب في تقنية التحرير الجيني. يمكّننا التحرير الجيني -وهي تقنية تكنولوجية جديدة نسبيًا تطورت على مدار الخمس إلى الثماني سنوات الماضية- من إدخال جين جديد إلى الكروموسومات مباشرة باستخدام إنزيمات بكتيرية محدّدة يمكنها إدماج هذا الجين في الحمض النووي الريبي منزوع الأكسجين (DNA). وهذه العملية تتيح إجراء تصحيح دائم للجينات الموجودة داخل الكروموسوم. إذا نظرنا في تقنية واحدة محدّدة للتحرير الجيني مثل تقنية كريسبركاس (CRISPR-Cas9)، يمكننا أن نرى على هذه الشريحة ملخصًا من عرض تقديمي قدّمه «آلان بروكس» في مؤتمر الجمعية الدولية للتخثر والركود الدموي (ISTH) الذي انعقد في يوليو 2019، ويظهر هذا الملخص تمكّن «آلان بروكس» من قطع الحمض النووي (DNA) للخلايا المضيفة؛ وهي في هذه الحالة خلايا الكبد، وإدماج جين العامل الثامن محذوف النطاق في الكروموسومات داخل خلايا الكبد وإنتاج الحمض النووي الريبي المرسال (mRNA) والعامل الثامن، وقد أجريت هذه العملية في نماذج حيوانية، وأظهرت تحقيق مستوى علاجي جيد للعامل الثامن.

إذا انتقلنا الآن إلى طرق العلاج بالخلايا، نجد أنّ بعض المجموعات البحثية قد استخدمت كل من الخلايا الجذعية والخلايا الكبدية الناضجة لنقل جينات العامل الثامن أو التاسع إلى الخلايا المستهدفة. وفي الحالة الموضحة في هذا الرسم التوضيحي، يُوضع جين العامل الثامن في ناقل Lentivirusفيروسي. وهذا الناقل الفيروسي يمكنه نقل الجينات للخلايا الجذعية الوسيطة التي تؤخذ من المُضيف.

ويمكن تحفيز الخلايا الجذعية المتوسطة لتتمايز إلى أنواع مختلفة من الخلايا؛ من بينها خلايا النخاع العظمي، والخلايا الكبدية. وبالتالي يمكن وضع العامل الثامن داخل تلك الأنواع المتمايزة من الخلايا. يمكن القيام بذلك بطريقة ذاتية المنشأ، ويعني هذا أخذ الخلايا الجذعية من المريض وتعديلها خارج الجسم ثمّ إعادتها مع جين العامل الثامن إلى المريض حيث يمكنها إفراز بروتين العامل الثامن.

وقد جُرّبت هذه الطريقة على الحيوانات، وكذلك على البشر لكنّها لم تنجح نجاحًا تامًا، غير أنّ ورقة بحثية أصدرها د. روث وزملاؤه منذ حوالي 20 عامًا أظهرت تمكّنهم من نزع خلايا الليفية من خزعة جلد، وإنمائها في المختبر، ثمّ إضافة جين العامل الثامن إليها، وإعادة زرعها في التجويف البريتوني. وقد لاحظوا وجود نشاط محدود للعامل الثامن في الدورة الدموية استمر لمدّة زمنية قصيرة، لكنّهم لم يواصلوا بحثهم إلى حد تحقيق فائدة علاجية للمرضى. وباستخدام الطريقة التالية، يمكن للخلايا البطانية التعبير عن عامل التخثر الثامن. والخلايا البطانية الجيبية للكبد هي الخلايا الطبيعية التي تعبّر عن العامل الثامن. وما يمكن فعله في هذه الطريقة هو سحب الخلايا الجذعية ذاتية المنشأ والخلايا الجذعية المستحثة متعدّدة الكوامن من الدورة الدموية للمريض، ونقل جين العامل الثامن باستخدام ناقل Lentivirus فيروسي، ثم يمكن أن تتمايز تلك الخلايا إلى خلايا بطانية، وتُنقل مرة أخرى إلى المريض، ومن ثمّ يمكن تصحيح النمط الظاهري للهيموفيليا. وهذه الطريقة واضحة جدًا من الناحية النظرية وفي غاية البساطة؛ لكنّها تصبح أكثر صعوبة عند تطبيقها أو محاولة

تطبيقها. ومع ذلك، فقد جُرّبت هذه الطريقة في الحيوانات ووفرت مستويات علاجية للعامل الثامن عندما نُقلت هذه الخلايا الجديدة إلى الحيوانات.

بعد ذلك أجريت مجموعة أخيرة من التجارب، ومن خلالها تمكّن الباحثون من إنتاج خلايا شبيهة بالخلايا الكبدية من خلايا جذعية مستحثة متعدّدة الكوامن. والطريقة المتبعة في ذلك هي سحب خلايا دم محيطي أحادية النواة من المريض، وإعادة برمجتها -باستخدام عوامل استنساخ؛يمكن أن تكون جزيئات صغيرة- إلى خلايا جذعية مستحثة متعدّدة الكوامن، واستخدام تقنية تحرير جيني لإدخال جين عامل التخثر التاسع لتوجيه الخلية المخلّقة نحو خلايا شبيهة بالخلايا الكبدية(HLCs)، ثمّ إعادة زرعها في المريض حيث تستقرفي الكبد أو التجويف البريتوني وتنتج كميات كبيرة من العامل التاسع العلاجي. وقد نُفذت هذه التجارب بنجاح في الفئران. وبتجربة جميع هذه الطرق للعلاج بالخلايا على نماذج حيوانية، حصلنا على بعض النتائج المعقولة؛ والمسألة التي تحتاج إلى بحث هي مدى إمكانية تطبيق هذه الطرق في دراسات سريرية على البشر.في هذه المرحلة، لا توجد دراسات سريرية مخطّط لإجرائها على البشر لتطبيق هذه الطرق على المدى القصير؛فهناك الكثير من العمل الذي ينبغي إنجازه.

تم إجراء تجربة سريرية واحدة مفتوحة على استخدام الخلايا الجذعية المكوّنة للدم (HSCs)في العلاج الجيني باستخدام الناقل الفيروسي «Lentivirus»،وتتضمّن هذه التجربة التعبير عن جين عامل التخثر الثامن في الصفائح الدموية على وجه التحديد. ويتم استخدام فيروسات «Lentivirus» في نقل جينات عامل التخثر الثامن إلى خلايا HSCs،وتمكين هذه الخلايا من التمايز إلى مجموعة متنوعة من الخلايا، ولكن مع وضع محفز على جين العامل الثامن لتمكين إنتاجه داخل الصفائح الدموية الناضجة فقط. وقد نجحت تلك الطريقة في عدد من النماذج الحيوانية، ويوجدحاليًا دواء تجريبي جديد لهذا النوع من العلاج. ولسوء الحظ، مع استخدام مثل هذه الطرق، ينبغي توفير مساحة في النخاع العظمي لخلايا الجينات المنقولة المحرّرة.

وهذا يعني أنّه يجب استخدام دواء خلايا سام مثل بوسولفان لإزالة جزء من النخاع العظمي. إلا أنّ هناك مخاوف بشأن ذلك من حيث نسبة الفوائد المتوقعة والمخاطر المحتملة، ولذا يجب التخطيط لذلك بحذر وببطء شديدين للتأكّد من عدم تضرُّر المريض من إزالة جزء من نخاعه العظمي. وإذا عدنا للحديث عن فيروسات AAVونظرنا في بعض أوجه القصور فيها، فقد أوضحتُ أنّ هناك حاجة إلى إدخال تحسينات على هذه النواقل الفيروسية لمعالجة المشكلات المتعلقة بمدى فعاليتها في العلاج الجيني ومدى دوامها وكذلك تباين الاستجابات المناعية لها. كما سبق لي الحديث عن الوسائل البديلة لنقل الجينات؛ عن طريق نواقل فيروسية أخرى بخلاف فيروسات AAVمثل الجسيمات النانوية الشحمية وفيروسات Lentivirus الآخذة في الظهور. وينبغي البدء في إجراء تجارب سريرية على هذه البدائل؛ على الأقل بالنسبة لفيروسات Lentivirus. وبعد ذلك هناك العلاج بالخلايا مع العلاج الجيني، إلى جانب التحرير الجيني الذي يبدو أنّه يمكن أن يكون فعّالًا للغاية في توفير مصانع خلوية جديدة لإنتاج عامل التخثر الثامن أو التاسع؛ لكنّه لم ينتقل بعد من مرحلة التجارب السريرية على النماذج الحيوانية إلى مرحلة دراسة تطبيقه نظريًا على البشر.

أشكركم على اهتمامكم.