# تشخیص مولکولی و ژن درمانی بیماری دیستروفی عضلانی دوشن ( DMD )

**دکتر کامران قائدی**
استادیار دانشگاه اصفهان
دانشکده علوم
گروه زیست شناسی
بخش ژنتیک و پژوهشکده رویان
پایگاه تحقیقاتی اصفهان
گروه سلول‌های بنیادی
kamranghaedi@yahoo.com

**زهرا رضایی**
دانشجوی کارشناسی ارشد
ژنتیک دانشگاه اصفهان

## Abstract

Duchenne musclar dystrophy (DMD) is an X- linked recessive disease caused by mutation of dystrophin gene. There is no effective treatment for this disorder at present time. Although the molecular defects causing Duchenne/ Becher muscular dystrophy (DMD / BMD) were identified nearly 20 years ago. Development of effective therapeutic strategies has nonetheless remained a daunting challenge. Over several years a variety of different approaches have been explored in an effort to compensate for the lack of the DMD gene product called dystrophin. Mutations in the dystrophin gene result in both Duchenne and Becker muscular dystrophies (DMD and BMD). Approximately two-thirds of the affected patients have large deletions or duplications. Using the multiplex polymerase chain reaction and Southern blotting techniques, the detection of these larger mutations is relatively straightforward. In this article we have reviewed different methods of gene therapy of DMD that is consist usage of different vectors such as adenovirus , adeno-associate virus , retrovirus and plasmid, Also treatment with antibiotics, chimeric RNA\DNA oligonucleotide and several new strategies consisting mini and micro dystrophin, treatment with antisense - induce exon skipping and atrophins .

## چکیده

بیماری دیستروفی عضلانی دوشن یک بیماری وابسته به جنس مغلوب است که بوسیله جهش در ژن دیستروفین ایجاد می‌گردد. ولی در حال حاضر هیچ درمان موثری برای آن وجود ندارد. اگر چه نقص مولکولی ایجاد کننده بیماری دیستروفی عضلانی دوشن و دیستروفی عضلانی بیکر ۲۰ سال قبل شناسایی شده است، با اینحال پیشرفت روش‌های درمانی موثر به عنوان یک چالش باقی‌مانده است. در این سال‌ها راه‌های فراوانی برای جبران فقدان محصول DMD که دیستروفین نامیده می‌شود انجام گرفته است. جهش در ژن دیستروفین منجر به هر دو بیماری DMD و BMD می‌گردد. تقریبا دو سوم بیماران دارای حذف‌های بزرگ یا مضاعف شدگی هستند. با استفاده از تکنیک ساترن بلات و multiplex-PCR تشخیص جهش‌های بزرگ نسبتا آسان است.

در این مقاله روش‌های مختلف ژن درمانی بیماری دوشن را بررسی می‌کنیم که شامل استفاده از وکتورهای مختلف از قبیل آدنوویروس، ویروس‌های همراه با آدنو، رترو و یروس و

استفاده از پلاسمیدها است همچنین درمان با آنتی بیوتیک استفاده از اولیگونوکلئوتید کایمریک، و چندین استراتژی جدید شامل مینی و میکرودستیروفین، درمان با آنتی سنس‌های القا کننده خروج اگزون و اتروفین‌ها است.

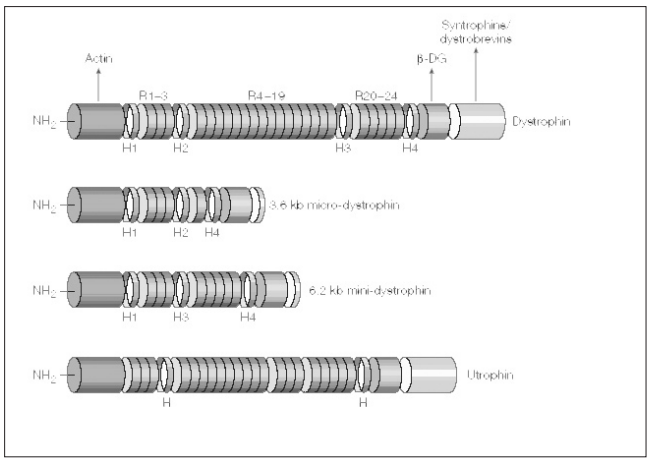
**پیش گفتار**

تکنولوژی DNA نوترکیب این امکان را ایجاد کرده که در بنیادی‌ترین سطح یعنی ژن‌ها به فکر اصلاح بیماری‌های ژنتیکی باشیم درمان با انتقال ژن بوسیله وارد کردن یک ژن به درون یک سلول برای دستیابی به یک اثر درمانی است. اگر چه هنوز حتی یک مورد موفق در زمینه درمان دائمی بیماری‌های ارثی انسان از این راه نداشتیم اما برای ارزیابی ایمنی و کارایی درمان با انتقال ژن آزمایشات زیادی در دست اقدام است بر اساس نتایج بدست آمده نشان داده که پیشرفت در این زمینه کند بوده و ژن درمانی برای درمان بیماری انسان در دراز مدت نوید بخش است. مطالعات اولیه بر روی حیوانات و آزمایشات اولیه در انسان نشان می‌دهد که ژن درمانی نهایتاً در بسیاری از بیماری‌های انسان موفقیت پذیر خواهد بود ولی بایستی بتوان بر مشکلات در این راه فائق آمد. حداقل احتیاجات برای ژن درمانی ناهنجاری ارثی، شناسایی لوکوس مبتلا، کلون کردن cDNA ژن، دانش کافی از اساس مولکولی بیماری، اجزاء تنظیمی مناسب برای ژن انتقال یافته، سلول هدف مناسب با طول عمر و تکثیر پذیری خوب در محیط آزمایشگاه و در نظر گرفتن سودمندی این روش در قیاس با روش‌های درمانی دیگر است. تعداد زیادی از ناهنجاری‌های تک‌ژنی کاندیدهای بالقوه برای اصلاح توسط ژن درمانی هستند عبارتند از بیماری‌های تالاسمی، هموفیلی، اختلالات چرخه اوره و دیستروفی عضلانی دوشن است (۶).

**بیماری دیستروفی عضلانی دوشن ( DMD) و محصولات ژن دیستروفین:**

بیماری DMD [1] یک اختلال شدید تحلیل رونده ماهیچه اسکلتی است که ناشی از نقص در کروموزم X است، به همین جهت در جنس مذکر دیده شده و در هر ۳۵۰۰ تولد مرد رخ می دهد. این بیماری درآغاز بچگی بوجود می‌اید این کودکان اولین آثار بیماری را هنگام راه رفتن و بویژه در سن ۴ تا ۵ سالگی نشان می‌دهند و بعد ستون فقرات آن‌ها خم می‌شود، اردکی راه می‌روند، در سن ۱۰-۱۲ سالگی محتاج به صندلی چرخ‌دار می‌شوند و حداکثر تا سال‌های اول دهه بیست زنده می‌مانند. البته نوع ملایم آن بنام دیستروفی عضلانی بیکر ( BMD)[2] هم شناخته شده است که فنوتیپ‌های متنوع‌تری دارد و شدت آن کمتر است (۹و۱) . ژن دیستروفین جز بزرگترین ژن‌های شناسایی شده است که ۷۹ اگزون و ۲/۶ میلیون جفت باز دارد و این اندازه بزرگ ژن آن را آماده انواع بازآرایابی و نوترکیبی‌ها می‌کند. موتاسیون‌هایی که در این ژن رخ می‌دهد شامل حذف[3] در یک یا تعداد بیشتر اگزون است ( ۶۰٪ )، مضاعف[4] شدن ۶٪ جهش را شامل می‌شود البته جهش‌های نقطه‌ای[5] و ترانس لوکیشن[6] هم رخ می‌دهد. موتاسیون‌هایی که فرم خواندن رونویسی دیستروفین را از بین می‌برد منجر به سنتز دیستروفین ناقص و سبب DMD می‌گردد ولی جهش‌هایی که در فرم خواندن رونویسی تغییری ایجاد نمی‌کنند منجر به BMD می‌گردد. ( ۲ ). تمام طول دیستروفین از ۴ دامنه ساختاری تشکیل شده است ۱- در سمت N ترمینال دامنه متصل به اکتین ۲- دامنه های میله‌ای در وسط که شامل تکراری‌های شبیه اسپکترین است ۳- دامنه متصل به اکتین ۴- دامنه C ترمینال است. ژن بزرگ DMD بواسطه تغییر پروموتری و برش mRNA چندین محصول ایزوفرم ایجاد می‌کند، بزرگترین آن که دیستروفین غالب است ۴۲۷ KD وزن دارد و کوتاهترین فرم آن فاقد دامنه اتصال به اکتین است (۱۱و۱۰و۱) (شکل۱).

در فیبرهای اسکلت ماهیچه‌ای دیستروفین غالباً در



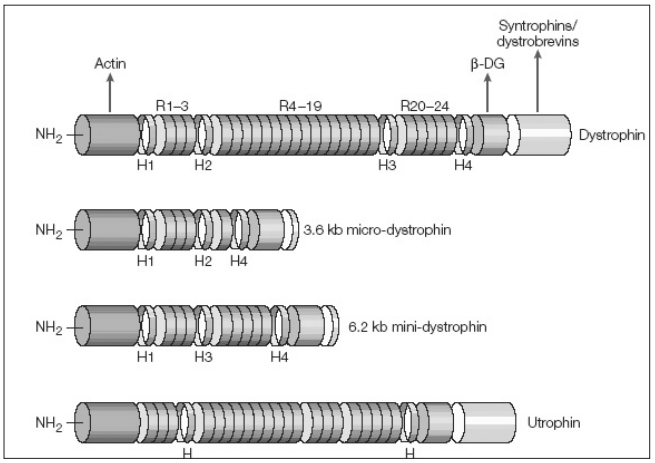

شکل۱:دامنه های ساختاری دیستروفین،مینی- میکرو دیستروفین واتروفین(اقتباس از منبع ۲).

طرف سیتوپلاسمی سارکولما جمع می‌شود و بخشی از ماکرومولکول‌های پروتئینی(DAP)[7] است که باعث ارتباط شبکه میکرو فیلامنتی اکتین به ماتریکس خارج سلولی می‌شود، نبود دیستروفین سبب تغییر در سطح قرار گیری DAP می‌گردد و ارتباط بیرون و درون سلول‌های ماهیچه‌ای از بین می‌رود که



انوار دانش
کارشناسی - کارشناسی ارشد - دکترای تخصصی

این منجر به شکننده شدن سارکولما می‌شود (۵) (شکل۲).




شکل ۲

**تشخیص مولکولی DMD:**

بیشتر نقایص مولکولی در بیماران DMD از نوع حذف‌اند و در ۲ ناحیه، در نیمه ۵ ژن و ناحیه مرکزی‌ان متمرکزاند که حذف‌های مرکزی ناشی از صف آرایی اشتباه می‌باشد، حذف در قسمت ۵ ژن جهش‌های وراثتی را نشان می‌دهد در حالی که حذف در قسمت مرکزی اغلب تک مورد است. جش‌های نقطه‌ای نیز به طور تصادفی در ژنوم پراکنده‌اند. آنالیز جهش‌های ژن به طور افزاینده‌ای تشخیص،تعیین ناقل و مشاوره ژنتیکی را بهبود بخشیده است. با استفاده از تست‌های مستقیم DNA توانایی تشخیص حذف و مضاعف شدن را در ۷۰٪ از بیماران داریم. حذف‌ها بسادگی بوسیله آزمایشات ساترن بلات برای حضور و غیاب هراگزون که با پروپ cDNA هیبرید می‌شود تشخیص داده می‌شود. DNA هضم شده را لکه گذاری می‌کنند و به طور مداوم با ۷ تا ۹ پروب cDNA هیبرید می‌کنند، که ۱۴kb رونوشت را به طور کامل می‌پوشاند. مضاعف شدگی بوسیله افزایش شدت هیبرید شدن یک یا تعداد بیشتر قطعات در مقایسه با شاهد آشکار می‌شود. آنزیم محدود کننده عمومی برای آنالیز DMD ، HindIII است البته از BglII و EcoRI نیز استفاده می‌شود و الگوی محدود کننده برای ۷۹ اگزون ژن DMD شناخته شده است(۷).

از آنجایی که تکنیک ساترن بلات به میزان بالایی از DNA نیازمند است و همچنین کسالت بار و وقت‌گیر است برای بررسی سریع و کارامد حذف‌ها از PCR[۸] استفاده می‌گردد که سبب تکثیر اگزون‌های مستعد حذف، درون ژن DMD می‌گردد.

محصولات اگزونی بر روی ژل الکتروفرز بر اساس سایز جدا می‌شوند و فقدان تکثیر قطعه یا قطعات نشانی از حذف آن‌ها است، برخلاف ساترن بلات در یک روز انجام می‌شود و آن را یک تکنیک ایده‌آل برای تشخیص قبل از تولد می‌کند.(۸). وسترن بلات پروتئین دیستروفین بر روی بافت زنده نمونه ماهیچه‌ای می‌تواند این تشخیص را تایید کند(۷).

**تشخیص ناقلین:**

شناسایی حذف‌ها در بیماران DMD نه تنها سبب تشخیص بیماری می‌گردد که در تشخیص حامل‌ها نیز موثر است. حالت ناقلی به وسیله میزان ژنی تعیین می‌شود. تعیین این میزان به وسیله ساترن بلات یا PCR انجام می‌گردد، تکنیک FISH[۹] هم برای تشخیص حاملین استفاده می‌شود .تعیین مقدار ژنی اجازه انالیز مستقیم جامل‌ها را می‌دهد و مشکلات حاصل از طول قطعات محدود شده را از بین می‌برد. زنان هتروزیگوت به طور کلی بدون نشانه هستند ولی کراتین کیناز در ۶۰٪ تا ۷۰٪ از حاملین افزایش را نشان می‌دهد، زمانی که انالیز میزان ژنی نشانگر نبود حذف ژن است به علت موزایسم سلول‌های زایشی که وجود دارد هنوز مشکوک به ناقل بودن است. در خانواده‌ها با جهش‌های تعریف نشده، تعیین حامل‌ها و تشخیص قبل از تولد بواسطه مطالعات پیوستگی است. بنابراین حتی زمانی که زن مسئول جهش ناشناخته باشد تکنیک پیوستگی اجازه بررسی جهش را در خانواده می‌دهد. توالی‌های میکرو ساتلایت در چندین ناحیه از ژن DMD یافت شده که مطالعات پیوستگی را بهبود می‌بخشد و براحتی بوسیله PCR تست می‌گردد.(۷و۲۱).

**شناسایی جهش های نقطه‌ای:**

جهش‌های حذفی و مضاعف شدگی بوسیله تکنیک PCR وساترن بلات قابل شناسایی است ولی دیگر جهش‌ها در ژن دیستروفین نیازمند روش‌هایی بر پایه تعیین توالی ژن است، که بسیار پرزحمت و گران قیمت است.

شناسایی این جهش‌ها در مطالعات قبل از تولد و شناسایی حاملین با اهمیت است. ابتدا هر اگزون DMD را بوسیله کروماتوگرافی دناتوراسیون مایع بررسی می‌نمایند و فقط اگزون‌هایی که پیک‌های منحرف را نشان می‌دهند تعیین توالی می‌کنند. یا اینکه از آنجا که اکثریت جهش‌ها، منجر به سنتز دیستروفین ناقص می‌گردد. تست پروتئین نیز برای تعیین

جهش‌هـای نقطه‌ای در ژن DMD مورد اسـتفاده قرار می‌گیرد. اخیرا از تکنیک تعیین توالی amplification/internal primer sequencing technique برای آشکارسازی جهش‌های نقطه‌ای در ژن دیستروفین استفاده می‌شود(۷و۲۲).

## روش‌های ژن درمانی ماهیچه‌های عضلانی

استفاده از وکتورها برای تحویل دیستروفین به ماهیچه‌ها:
وکتورهـای آدنوویـروس ( Ad )[۱۰] ظرفیت نسـبتاً بزرگی برای کلونینـگ دارند و برای تحویل ژن مینی دیسـتروفین به موش تراریخته( mdx )[۱۱] و سگ تراریخته ( cxmd)[۱۲] استفاده می‌شود. اولیـن وکتوری کـه تحویـل cDNA دیسـتروفین را به موش تراریخته mdx بـا موفقیت انجام داد یـک وکتور آدنوویروس بود، ولی این وکتورها پاسـخ‌های ایمنی سـلولی و اکتسـابی بزرگی ایجاد می‌کنند و از آن جایی که نمی‌توانند به ژنوم میزبان وارد شـوند، توانایی پایداری بـرای زمان‌های طولانی را ندارند، بنابراین برای اسـتفاده از وکتورهای Ad نیازمند تکرار تحویل وکتور به بیماران یا توسـعه متدهایی اسـت که ورود وکتور به ژنوم میزبان را قادر می‌سازد.
برای غلبه بر مشکل پاسخ‌های ایمنی از چندین روش استفاده می‌شود یکی استفاده از وکتورهای hdAd[۱۳] است که فاقد همه ژن‌های ویروسـی است و با حذف این ژن‌ها ظرفیت کلونینگ بالایـی ایجاد می‌گردد، دیگـری اسـتفاده از پروموترهای ویژه ماهیچـه‌ای اسـت که پاسـخ CTL[۱۴] را بر علیـه ترانس ژن‌ها بلوکه می‌کند. در وکتورهای hdAd از پروموتور MCk[۱۵] استفاده می‌شود( ۱و۲و۵).
وکتور دیگری که اسـتفاده می‌شـود کلاس‌هـای مختلف رترو ویروس اسـت کـه ظرفیت کلونینـگ بین ۷ تـا ۱۱ Kb دارند بنابراین برای حمل مینی و میکرو دیسـتروفین می‌باشند. رترو ویروس‌ها در مقدار زیاد رشد می‌کنند و از انتقال ماهیچه‌ای به وسـیله تزریق مستقیم وکتور ممانعت می‌کنند. همه انواع رترو ویروس به طور کار آمد به درون ژنوم میزبان وارد شده و اجازه انتقـال دائمی ژن را می‌دهنـد. وکتورهای لنتی ویروس برای تحویل ژن به سلول‌های بنیادی به کار می‌رود(۵). وکتور دیگری کـه بعدهـا مورد توجه قـرار گرفت ویروس‌های همـراه با آدنو (AAV)[۱۶] اسـت که انتقال موثرتری را انجام می‌دهد. در مقایسه با آدنو ویروس‌ها پاسـخ‌های ایمونوژنتیکی کمتری ایجاد کرده ولـی دارای ظرفیت کلونینگ پایینی هسـتند، برای حمل مینی و میکرودیستروفین استفاده شده و حاوی پروتئین‌های MCK اسـت (۱۲،۱). بر خـلاف آدنو ویروس‌ها هرپس سـیمپلکس تیـپ[۱۷] (HSV1) بـه طـور طبیعـی قطعات ویروسـی بزرگی را حمـل می‌کنند ولـی این ویروس‌هـا نیـز دارای خاصیت ایمونوژنتیکی و کشـندگی اسـت. پروتئیـن VP22 ویروس هرپس سـیمپلکس ظرفیت گسـترش از سـلول‌های تغییر یافته به سـلول‌های اطراف را دارد و سبب بهبود انتقال ژن دیستروفین می‌گردد(۲و۴). پلاسمید لخت توانایی قابل توجهی بـرای انتقال ژن به ماهیچه‌ها دارند سـمیت کمی دارند ولی ظرفیت کلونینگ بالایی دارند. ولی عیب پلاسمید این است که تحویل آن در بافت‌ها طی روش‌های معمولی ناکار آمد است بنابراین از روش‌های تزریق تحت فشار بالا[۱۸] یا الکتروپوریشن[۱۹] برای بهبود انتقال استفاده می‌کنند. استفاده از پلاسمیدها برای مـوش mdx منجر به بیان دیسـتروفین در بـالای ۱۰٪ فیبرهای ماهیچه‌ای شـدند (۲و۵و۱۳و۱۴) . مطالعات نشـان داده که ژن درمانی به واسـطه استفاده از وکتورها در درمان DMD امیدوار کننده است و طرح وکتورها یا تحویل موفقیت‌آمیز آن منجر به جایگزینی ژن درمانی است(۱).

### روش‌مینی و میکرو دیستروفین:

تمام طول دیستروفین درون وکتورهای ویروسی قرار نمی‌گیرد، با مطالعه بر روی بیماران BMD که موتاسیون‌های حذفی دارند و بخش‌های بزرگی از ژن حذف شـده متوجه شدند که ۲ ناحیه بزرگ دسـیتروفین کـه تاثیر کمی بر روی عملکـرد آن دارد را می‌تـوان حذف کرد، یکی دامنه مرکـزی میله‌ای و دیگری دامنه C ترمینال از ۲۷۷ اسـید آمینه تشـکیل شـده است که به طور کمی برای عملکرد دیسـتروفین نیازمند است و دومین میله‌ای حدود ۸۰ درصد پروتئین را تشکیل می‌دهد و شامل ۲۴ تکرار و ۴ ناحیه لولا است که می‌توان تعداد تکرارها را کاهش داد(۲و۵). سـاختار مینی شامل ۸ تکرار و نواحی لولا ۱و۳و۴ است (با تقلید از حذف اگزون ۴۸-۱۷ در بیماران BMD سـاخته شـده است) که دارای عملکرد کامل است . ساختار میکرو دارای ۴ تکرار و نواحی لولا ۱و۲و۴ را دارند (۲) (شکل۱).

### درمان با آنتی بیوتیک:

بر خی جهش‌های ایجاد کننده DMD ناشی از تشکیل زودرس کدون ختم در توالی‌های کد کننده دیستروفین است و مطالعات اخیر نشان داد که القا خواندن کدون ختم سبب بیان دیستروفین می‌شـود. آمینو گلوکلوزید ها[۲۰] در سـلول‌های کشت شده سبب



انوار دانش
کارشناسی - کارشناسی ارشد - دکترای تخصصی

مهار کدون‌های ختم، بوسیله خواندن اشتباه کدون های RNA می‌شود و اسید آمینه‌های متغیری در مکان کدون ختم وارد می‌شود.

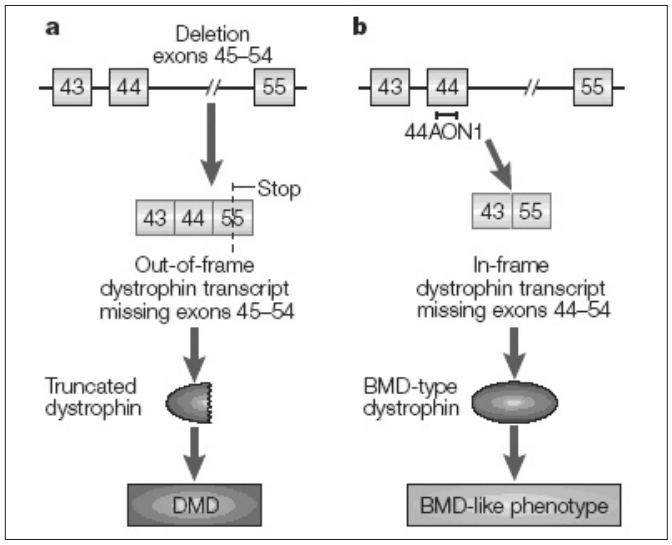
استفاده از آنتی‌بیوتیک جنتا مایسین[۲۱] در موش mdx باعث افزایش بیان دیستروفین سارکولما می‌شود. در انسان گزارشی از درمان با جنتامایسین نشده است (۱و۲و۱۵و۱۶) .

**درمان با کایمر و بلاست :**

الیگونوکلئوتید RNA/DNA کایمریک که بطور مستقیم اصلاح موتاسیون‌ها را بوسیله تغییر ژن از فرم موتان به الل‌های عملکردی انجام می‌دهد، این الیگو نوکلئوتیدها با ژن هدفی مکمل است که شامل یک باز اشتباه[۲۲] بوده واتصال الیگو نوکلئوتید به ژن مو تانت سیسم تعمیری[۲۳] سلول را تحریک می کند و باعث تصحیح الل مو تانت می شود.تزریق الیگو نوکلوتید کایمریک برای تصحیح جهش نقطه‌ای که سبب نقص ژن در موش‌های mdx می‌شود منجر به بیان دیستر وفین در ماهیچه‌هایی که در محل تزریق بودند می‌گردد. البته این متدها هنوز نا کار آمد است زیرا وابستگی بالایی به فعالیت سیستم تعمیری درسلول‌های میزبان دارند( ۱و۲و۱۷) .

**استفاده از آنتی‌سنس برای القا خروج اگزون:**

این روش سبب فرار اگزون در طول برش Pre – m RNA می‌شود که سبب گسترش خدف‌ها در بیماران DMD می‌گردد و آن را به رو نوشت با فرم صحیح[۲۴] در بیماران BMD نزدیک می‌کند. آنتی‌سنس‌های کوچک الیگو نو کلئوتیدی[۲۵] (AON) را درون RNA کوچک هسته‌ای کلون کرده و بوسیله رتر و ویروس‌ها به محیط کشت سلول‌های ماهیچه‌ای تحویل می‌دهند. این AONها توالی ERS[۲۶] (که سبب افزایش برش اگزون می‌شود) را بلوکه می‌کند و خروج اگزون را القا می‌کنند. خدف در اگزون‌های ۵۴-۴۵ سبب ایجاد یک کدون ختم زودرس می‌گردد و باعث از بین رفتن فرم باز خواندن می‌شود در نتیجه پروتئین دیستروفین ناقص ایجاد می‌گردد. ولی با استفاده از AON خروج اگزون را نیز القا می‌کند وسبب ایجاد فرم خواندن رونویسی می‌شود و دیستروفینی ایجاد می‌شود که تا حدی عملکرد دارد و سبب ایجاد فنوتیپ BMD می‌گردد. البته مشکلی که وجود داد این است که این روش تنها برای بیمارانی استفاده می‌شود که شامل جهش در ناحیه‌ای از ژن هستند که اگر خارج شود نتواند عمل پروتئین دیستروفین را




شکل(۳):متد خروج اگزون(اقتباس از منبع ۲).

شدیداً به خطر بیاندازد (۱و۲و۱۸) (شکل ۳).

البته فرار اگزون علاوه بر جهش‌های حذفی در جهش‌های مضاعف شدگی هم عملکردی است و ۶٪ از بیمارانی که دارای جهش‌های مضاعف شدگی هستند با استفاده از این AON می‌توان سبب خروج اگزون شد و آن را به فرم باز خواندن برگرداند.(۳)

**استفاده از آتروفین:**

اتروفین همولوگ دیستروفین است ژن اتروفین بر روی کروموزم ۶ قرار دارد و شامل ۷۴ اگزون که در بالا 1 mb پراکنده است (شکل۱)، و تفاوت آشکار اتروفین با دیستروفین در فقدان تکرارای شبیه اسپکترین ۵۱، ۹۱ و ۲ ناحیه لولای دیستروفین است با مشاهده موش‌هایی که هم در دیستروفین و هم اتروفین نقص دارد و ضعف ماهیچه‌ای بیشتری دارند این فرضیه بیان شد که اتروفین نقش تکمیل کنندگی در ماهیچه‌های دیستروفیک دارد. بیان اتروفین ناقص در سارکولما باعث کاهش آسیب دیستروفیک و بهبود عملکرد مکانیسم ماهیچه‌ای می‌شود و بیان طول کامل mRNA آتروفین در موش mdx نتایج بهتری را در بر داشت. ۲ پروموتر A و B ظاهراً بیان تمام طول اتروفین راکنترل می‌کند، در پروموتر A ناحیه‌ای بنام N-box وجود دارد و یکسری مولکول‌های کوچک مثل آگرین[۲۷]، نیتریک اسید، ال – آرژینین[۲۸] و گلوکوکوتیکوئیدها با تاثیر بر روی این ناحیه سبب افزایش بیان اتروفین می‌شود (۱و۲و۱۹و۲۰).

**آینده ژن درمانی :**

با شناسایی ژن مسئول بیماری DMD امید واری‌های زیاد برای درمان آن بسرعت گسترش یافت. از کشف‌ژن DMD، ۲۰ سال می‌گذرد ولی متاسفانه هنوز درمان موثری بر آن پیدا نکرده‌ایم، اگر چه راهای متعددی اخیراً کشف شده‌اند ولی دارای موانع زیادی هستند که تنها با مطالعات و آزمایشات گوناگون است که می‌توان به این موانع غلبه کرد و منجر به پیشرفت روش‌های درمانی موثر در DMD شویم و ممکن است درمان DMD بواسطه ترکیبی از این راه‌ها محقق گردد. با توجه به کارایی و سادگی نسبی، آنتی‌سنس‌ها کاندیدهایی بعدی برای درمان بالینی است.

**References** :

1-Chakkalakal JV, Thompson J, Parks JR, Jasmin BJ. Molecular, cellular and pharmacological therapies for Duchenne/ Becker muscular dystrophies. FASEB 2005;19: 880-90.

2-Deutekom JCT, Ommen GJD. Advancesin Duchenne muscular dystrophy gene therapy. Nature 2003; 4: 774-82.

3-Aartsma-Rus A, Janson AA, Deutekom JCT, Ommen GJD. Antisense-induced exon skipping for duplication in Duchenne muscular dystrophy. BMC Neuroscience 2007; 1-9.

4-Xiong F, Xiao S, Yu M, Li W, Zheng H, Shang Y, et al. Enhanced effect of microdystrophin gene transfection by HSV-VP22 mediate intracellular protein transport. BMC Neuroscience 2007; 1-9.

5-Chamberlain JS. Gene therapy of muscular dystrophy. Human molecular genetics 2002; 11: 2355-62.

6-Nussbaum RL, Mclnnes RR, Willard HF.Thompson and Thompson genetics in medicine (eds).Saunders Elsevier 2007; pp410-13.

7-Prior T W, Bridgeman S J. Experience and Strategy for the Molecular Testing of Duchenne Muscular Dystrophy. Molecular Diagnostics 2005; 7: 317-26

8-Buzin CH, Wen CY, Nguyen VQ, Nozari G, Mengos A, Li X, Chen JS, Liu Q, Gatti RA, Fujimura FK, Sommer SS. Biotechniques. 2000; 28(4):746-50

9. Jennekens F G, ten Kate L P, de Visser M, Wintzen A R. Diagnostic criteria for Duchenne and Becker muscular dystrophy and myotonic dystrophy. Neuromuscul. Disord. 1991; 1: 389–391

10- Davison M D, and Critchley D R. alpha-Actinins and the DMD protein contain spectrin-like repeats. Cell 1988 ; 52: 159–160

11- Wang B, Li J, Xiao X. Adeno-associated virus vector carrying human minidystrophin genes effectively ameliorates muscular dystrophy in mdx mouse model. Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2000 ; 97: 13714–13719.

12- Murakami T et al. Full-length dystrophin cDNA transfer into skeletal muscle of adult mdx mice by electroporation. Muscle Nerve 2003; 27: 237–241.

13-Gollins H, McMahon J, Wells K E, Wells D J. High-efficiency plasmid gene transfer into dystrophic muscle. Gene Ther. 2003; 10: 504–512.

14-Dunant P, Walter M C, Karpati G, Lochmuller H. Gentamicin fails to increase



انوار دانش
کارشناسی - کارشناسی ارشد - دکترای تخصصی

dystrophin expression in dystrophin-deficient muscle.Muscle Nerve 2003; 27: 624–62.

15- Barton-Davis E R, Cordier L, Shoturma D I, Leland S E, and Sweeney H L. Aminoglycoside antibiotics restore dystrophin function to skeletal muscles of mdx mice. J. Clin Invest. 1999 ; 104: 375–381.1.

17-Santana E, Peritz A E, Iyer S, Uitto J, and Yoon K. Different frequency of gene targeting events by the RNA-DNA oligonucleotide among epithelial cells. J. Invest. Dermatol. 1998 ; 111: 1172–1177.1.

18- Rafael J A et al. Forced expression of dystrophin deletion constructs reveals structure–function correlations. J. Cell Biol. 1996; 134: 93–102.

19- Courdier-Fruh, I, Barman L, Briguet A, Meier T. Glucocorticoid-mediated regulation of utrophin levels in human muscle fibers. Neuromuscul. Disord. 2002; 12: 95–104.

20- Winder S J, Gibson T J, Kendrick-Jones J. Dystrophin and utrophin: the missing links! FEBS Lett. 1995; 369: 27–33

21- Calvano S, Memeo E, Piemontese MR, Melchionda S, Bisceglia L,Gasparini P, Zelante L: Detection of dystrophin deletion carriers using FISH analysis. Clin Genet 1997; 52: 17–22

22-Roest PAM, Roberts RG, Sugino S, van Ommen GJB, den Dunnen JT:Protein truncation test (PTT) for rapid detection of translation-terminatingmutations. Hum Mol Genet 1993; 2: 1719–1721.

**Footnotes**

۱-Duchenne muscular dystrophy
۲-Beaker muscular dystrophy
۳-deletion
٤-Duplication
٥-point mutation
٦-Translocation
۷-Dystrophin-associated protein
۸- polymerase chain reaction
۹- Fluorescence in situ hybridization
۱۰- adenovirus
۱۱- muscles of dystrophin-deficient
۱۲- canine x-linked muscular dystrophy
۱۳- helper-dependent Ad
۱٤- cytotoxic T-lymphocyte
۱٥- muscle creatine kinase
۱٦- Adeno-associated viral
۱۷-Herpes simplex virus
۱۸-Pressurized-limb perfusion
۱۹-Electroporation
۲۰-Aminoglycoside
۲۱-Gentamicin
۲۲-Mis-match
۲۳-Repair
۲٤-In-frame
۲٥-Antisense oligonucleotide
۲٦-Exon-recognition site
۲۷-Agrin
۲۸-L-arginine