

## العلاج بقليلات النيكليوتيد (ASOs Therapy)

د. نعى كامل حسن\*، آية غسان عيسى\*\*

\*(محاضر في كلية الصيدلة، جامعة المنارة، البريد الإلكتروني: [nouma.hasan@manara.edu.sy](mailto:nouma.hasan@manara.edu.sy))\*\*(كلية الصيدلة، جامعة المنارة، البريد الإلكتروني: [aya06365@gmail.com](mailto:aya06365@gmail.com))

## المخلص

ترتبط قليلات النيكليوتيد الـ Antisense (ASOs) بالحمض النووي الريبى (RNA) الهدف بتسلسل نوعي وتعدّل تعبير البروتين من خلال آليات مختلفة عدة. يعد مجال ASO مجالاً ناشئاً لتطوير الأدوية التي تستهدف مصدر المرض على مستوى الرنا (RNA) وتوفر بديلاً واعداً للعلاجات التي تستهدف العمليات النهائية. لترجمة العلاجات المعتمدة على ASO إلى نجاح سريري، من الضروري التغلب على التحديات المرتبطة بالآثار الجانبية خارج الهدف والفعالية البيولوجية غير الكافية. وفي هذا الصدد، تم استكشاف العديد من التعديلات الكيميائية واستراتيجيات التوصيل المتنوعة. ناقش في هذه المقالة، آلية العمل واستراتيجيات التوصيل الأمثل لعدة فئات مختلفة من ASOs مع لمحة عن التعديلات الكيميائية. علاوةً على ذلك، نسلط الضوء على خمسة من أهم الأدوية التي تمت الموافقة عليها من قبل إدارة الغذاء والدواء (FDA) ووكالة الأدوية الأوروبية (EMA) للتطبيقات السريرية.

**كلمات مفتاحية** - ASO، RNA، قليلات النيكليوتيد، تطوير الأدوية.

## ABSTRACT

Antisense oligonucleotides (ASOs) bind to a target RNA by sequence specificity and modulate protein expression through several different mechanisms. The field of ASO is an emerging area of drug development that targets the source of disease at the RNA level and provides a promising alternative to therapies targeting downstream processes. To translate ASO-based therapies into clinical success, it is necessary to overcome challenges associated with off-target side effects and insufficient biological efficacy. In this regard, many chemical modifications and diverse delivery strategies have been explored. In this article, we discuss the mechanism of action and optimal delivery strategies for several different classes of ASOs with an overview of chemical modifications. Furthermore, we highlight five of the most important drugs that have been approved by the Food and Drug Administration (FDA) and the European Medicines Agency (EMA) for clinical applications.

**Keywords** — ASO, RNA, oligonucleotides, drug development.

## 1. مقدمة

جزيئات الحمض النووي الريبى (RNA) (الرنا) ذات البنية البسيطة - الوسيط بين الجينات والبروتينات - مما يوسع نطاق الأهداف المحتملة. إنّ تعدد استخدامات ASO يجعلها مفيدة لمجموعة واسعة من الحالات، بدءاً من الأمراض الشائعة ذات الأسباب متعددة العوامل، وحتى الأمراض النادرة الناجمة عن طفرات فردية في جينات معينة.

تتجمّع العديد من الأمراض عن تغيرات في التعبير الجيني مسببة للأمراض تؤدي إلى وجود كميات كبيرة جداً أو قليلة جداً من

تعمل معظم الأدوية التقليدية من خلال التداخل مع البروتينات المشاركة في تطور المرض. ومع ذلك، تعتبر البروتينات هدفاً دوائياً يمثل تحدياً نظراً لبنيتها المعقدة ومدى تنوع فعاليتها الحيوية، مما يجعل عملية اكتشاف الأدوية عملية طويلة وغير ناجحة في كثير من الأحيان. ومن ناحية أخرى، تستهدف Antisense oligonucleotide therapies (ASOs)

يمكن أن يكون لهذا تأثير مباشر على التعبير الجيني، مما يؤدي إلى إنتاج كمية كبيرة جداً أو قليلة جداً من البروتينات، و/أو بروتينات غير وظيفية يمكن أن تتسبب بالأمراض.

## B. آلية العمل:

قليلات النيكلوتيد Oligonucleotide عبارة عن تسلسلات قصيرة مفردة السلسلة من الرنا أو الدنا. أما Antisense oligonucleotide (ASOs) هي النوع الأكثر شيوعاً من العلاجات المعتمدة على قليلات النيكلوتيدات المصممة صناعياً. وهي مصممة لاستهداف الرنا بشكل انتقائي بطريقة تسلسلية محددة من خلال اقتران قاعدة واتسون-كريك Watson-Crick base pairing حيث ترتبط النيكلوتيدات التكميلية ببعضها بعضاً.

في علم الوراثة (علم الجينات)، يُعرف mRNA بأنه سلسلة المعنى "Sense"، وبالتالي فإن سلسلة المعاكس للمعنى "Antisense" هو تسلسل النيكلوتيدات التكميلي. تعتبر ASOs متعددة الاستخدامات ويمكن تصميمها لاستهداف أي تسلسل RNA تقريباً.

إنها تغير التعبير الجيني بإحدى الآليتين:

- التحلل Degradation - الارتباط إلى الرنا المرسل المعيب وتعزيز تحلله بواسطة الإنزيمات داخل الخلية، مما يؤدي إلى إيقاف التعبير الجيني (إسكات الجينات Gene silencing).
- الإعاقة الفراغية Steric blockade - الارتباط بطليعة الرنا المرسل أو الرنا المرسل الهدف وحجب التداخلات مع البروتينات المشاركة في التقطيع وإعادة التوصيل splicing فيزيائياً (تعديل التقطيع وإعادة التوصيل splice modulation) أو الترجمة (إسكات الجينات Gene silencing).

يؤدي تعديل التقطيع وإعادة التوصيل splicing إلى تضمين أو استبعاد انتقائي للإكسونات أو الإنترونات من طليعة الرنا المرسل لتكوين mRNA وظيفي.

البروتينات، أو إنتاج بروتينات لا تؤدي الوظيفة التي من المفترض أن تؤديها.

تعمل ASOs عن طريق الارتباط بالجزئيات المستهدفة التي تمتلك تسلسلاً للأحماض النووية مكملاً لتسلسلها، ومن المأمول أن تمهد الموافقة الأخيرة على العديد من أدوية ASO للأمراض الوراثية الطريق لمزيد من الأدوية في السنوات القادمة، يتم أيضاً دراسة ASOs لعلاج الأمراض الشائعة من خلال استهداف التعبير الجيني للبروتينات المعروفة بأنها تلعب دوراً في تطور المرض وتطوره، هناك سلسلة من التحديات التقنية التي يجب التغلب عليها فيما يتعلق بتحسين توصيل الدواء مع ضمان سلامة المرضى.

## II. العلاج بقليلات النيكلوتيد

### :OLIGONUCLEOTIDE

#### A. استهداف التعبير الجيني:

يشير التعبير الجيني إلى المسار البيولوجي من الجينات المشفرة في الدنا (DNA) إلى البروتينات (الجزئيات الوظيفية في الخلايا). أثناء التعبير الجيني، يتم نسخ الدنا إلى شكل من أشكال الرنا يسمى طليعة الرنا المرسل (pre-mRNA) Precursor messenger RNA.

تحتوي طليعة الرنا المرسل على:

- ✓ الإكسونات Exons - الأجزاء التي ترمز لمنتج البروتين.
- ✓ الإنترونات Introns - الأجزاء التي تتم إزالتها (وإعادة توصيل الإكسونات) بواسطة الإنزيمات الخلوية لإنتاج mRNA الناضج.

يحدد تسلسل النيكلوتيدات الدقيق تحت الوحدات هذه لطليعة الرنا المرسل الأجزاء التي سيتم الاحتفاظ بها والتي ستتم إزالتها. جزيء mRNA الناضج عبارة عن تسلسل وحيد السلسلة من النيكلوتيدات تتم ترجمته إلى بروتينات. يمكن أن تخلق الطفرات المسببة للأمراض أخطاء في الدنا تؤثر على عملية التقطيع وإعادة التوصيل Splicing process، والتي بدورها تؤثر على الرنا المرسل المنتج، أو تتسبب في تشغيل أو إيقاف الترجمة.

### C. تحديات التطبيق السريري:

على الرغم من أن علاجات ASO كانت قيد التطوير على مدار الثلاثين عاماً الماضية، إلا أن القليل منها متاح حالياً للمرضى. تشمل الأسباب ما يلي:

#### (1) تحديات إيصال الدواء:

هناك صعوبات في إيصال العامل العلاجي بشكل كافٍ إلى الأعضاء أو الخلايا المستهدفة، وفي ضمان عدم تحللها بسرعة كبيرة قبل أن تتمكن من ممارسة تأثيراتها.

#### (2) مخاوف متعلقة بسلامة وأمان الدواء:

يمكن تعديل ASOs كيميائياً أو تعيئتها في مركبات التوصيل، ولكنها تتسبب بمخاطر مثل السمية أو تحفيز الاستجابة المناعية الالتهابية. هناك أيضاً مخاطر للتأثيرات على الهدف أو خارجه، التأثيرات على الهدف هي عواقب غير مقصودة لتعديل التعبير الجيني للـ RNA المستهدف، في حين أن التأثيرات خارج الهدف هي حيث لا يكون التسلسل المستخدم في ASO محدداً لهدف واحد فقط مما يعني تأثير جينات متعددة.

#### (3) توقيت العلاج:

تكون العديد من الأمراض القابلة لعلاج بواسطة ASO تقدمية Progressive، بحيث يكون التشخيص المبكر والعلاج ضروريين، خاصة قبل ظهور الأعراض غير العكوسة. ومع ذلك، لا يزال التشخيص المبكر يمثل تحدياً في جميع أنواع الأمراض، وخاصة الأمراض النادرة ذات الأسباب الوراثية غير المعروفة.

#### (4) قياس الفائدة:

لا تكون ASOs علاجية دائماً ولكنها قد تبطئ تطور المرض أو تحسن بعض الأعراض، وهذا يمكن أن يجعل إثبات الفعالية أمراً صعباً، لأنه قد لا يكون من المناسب توقع عكس جميع الأعراض السريرية، خاصة إذا تم التشخيص بعد ظهور الأعراض.

تمثل ASOs المصممة للمرضى الأفراد تحديات إضافية نظراً لأن مسار المرض غالباً ما يكون غير معروف، لذلك من الصعب معرفة ما إذا كان الدواء يعمل على تحسين المرض، أو ليس له أي تأثير أو يزيد الأمر سوءاً. وتتجسد هذه التحديات في

عقار Milasen، حيث تلقت المريضة ميلا Mila العلاج بمجرد تقدم المرض بشكل ملحوظ. على الرغم من أن الدواء بدا في البداية وكأنه يعكس بعض الأعراض ويبطئ التقدم، إلا أنه مع مرور الوقت انخفضت التأثيرات، وللأسف توفيت المريضة بعد عامين من العلاج.

#### (5) التداخلات الدوائية والتنافس:

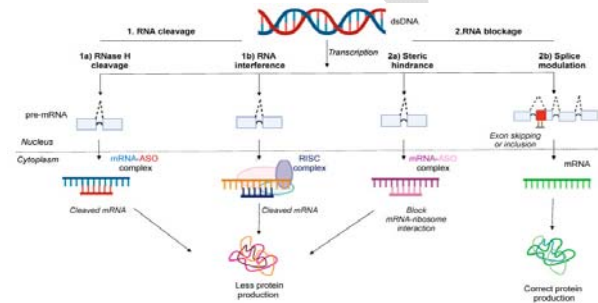
يمكن أن تكون مدى جودة امتصاص ASOs وإيصالها إلى الأنسجة الهدف وتأثيرات تعديل التعبير الجيني معقدة بسبب الأدوية أو التدخلات الأخرى التي يتلقاها المريض.

على سبيل المثال، قد تكون التجارب السريرية التي تبحث في ASOs للسرطان معقدة بسبب المرضى الذين يخضعون للعلاج الكيميائي.

### III. آلية تأثير الـ ANTISENSE:

منذ حوالي أربعة عقود، أفاد زاميكينك وستيفينسون لأول مرة أن مركبات ASOs الصناعية مفردة السلسلة المكونة من 13 زوج نيكلوتيدي (13-mer) يمكن أن تسبب توقفاً انتقالياً عن طريق استهداف الرنا المرسال لفيروس ساركوما روس Rous sarcoma virus mRNA.

بعد عدة دراسات، ثبت جيداً أن ASOs الفعالة يبلغ طولها عموماً 15-20 نيكلوتيدي ويمكنها استهداف الحمض النووي الريبي التكميلي عن طريق اقتران قاعدة Watson-Crick دون التسبب في أي سمية كبيرة خارج الهدف. بالإضافة إلى ذلك، أثبتت الدراسات الشاملة أن آلية ASOs الاصطناعية يمكن أن تكون من نوعين: (1) شطر الحمض النووي الريبي (RNA) و(2) إعاقة (حجب) الحمض النووي الريبي (الشكل 1).



الشكل 1 . آلية تأثير ASOs

**A. التحلل بواسطة RNase H1:**

الريبوزومية 40S أو 60S (الشكل 1). لا تقوم ASOs المستندة إلى عائق فراغي بتنشيط الانقسام بواسطة RNase H1؛ ولذلك، يتم الاحتفاظ ببنية pre-mRNA. يرتبط العائق الفراغي مباشرة باللفة الارتباط إلى ASOs.

تؤدي الزيادة في إلفة الارتباط إلى تهجين فائق مع الرنا المستهدف، مما يؤدي إلى توقف الترجمة. بالإضافة إلى ذلك، تم تصميم قليلات نيكليوتيد صناعية مفردة السلسلة بطول 20-25 نيكليوتيد لربط miRNA ومنع تداخله مع mRNA بواسطة آلية قائمة على الإعاقة الفراغية، مما يزيد من التحكم في التعبير الجيني. أفادت بعض الدراسات أيضاً أن ASOs يمكن أن ترتبط بـ pre-miRNA في النواة وتمارس إعاقة فراغية.

**(2) تعديل التقطيع وإعادة التوصيل أو آلية تعتمد على تبديل التقطيع وإعادة التوصيل *Splice Modulation or Splice Switching-Based Mechanism***

يمكن لـ ASOs أيضاً ممارسة تأثيراتها عن طريق الربط البديل. يمكن أن يكون تعديل التوصيل من نوعين: (1) تخطي الإكسون و(2) تضمين الإكسون.

تعمل طفرات Frameshift على تغيير أنماط ربط pre-mRNA التي تؤدي إلى إنتاج بروتين غير طبيعي أو توقف ترجمة البروتينات الوظيفية كاملة الطول. في تخطي الإكسون، ترتبط ASOs بنسخ pre-mRNA، وتصحح إطار القراءة المعطل وتنتج بروتين قصير ولكن وظيفي. بينما في تضمين الإكسون، ترتبط ASOs بموقع pre-mRNA وتمنع عوامل التضفير والربط من الوصول إلى مواقع النسخ (الشكل 1).

**IV. توصيل ASOs (DELIVERY OF ASOs):**

في حين أن توصيل ASOs كان دائماً عقبة كبيرة أمام تطبيقاتها السريرية الواسعة، فقد تم استخدام استراتيجيات مختلفة لتوصيلها:

**A. التوصيل القائم على كيمياء التثبيت المحسنة:**

تستخدم شركة Alnylam على نطاق واسع كيمياء التثبيت المحسنة (ESC) لتوصيل siRNA. في ESC، يتم ربط

تستهدف ASOs الرنا، وتشكل جزيء مزدوج متغاير ASO-RNA، والتي تعمل كركائز لإنزيمات RNase الموجودة في السيتوبلازما (الشكل 1). تفكك أنزيمات RNases الرنا في الجزء المزدوج المتغاير. يحتوي تصميم Gapmer على منطقة مركزية من النيكليوتيدات غير المعدلة التي تساعد في فعالية RNase H1 والنيكليوتيدات المعدلة المحيطة بها تزيد من إلفة الارتباط ومن خصائص المقاومة الأنزيمية. معظم الأدوية التي تمت الموافقة عليها من قبل FDA تمارس تأثيرها الـ Antisense عن طريق RNases.

**B. التداخل في الرنا (RNA Interference (RNAi):**

جزيئات الرنا الخارجية الصغيرة المتداخلة (siRNAs) Exogenous small interfering RNAs عبارة عن تسلسلات مزدوجة من الرنا مكونة من 22 نيكليوتيد مع تراكم 2 نيكليوتيد على الطرف 3' من أي من السلسلتين.

يرتبط هذا التسلسل مع إنزيم Ago 2 (Argonaute 2) لتكوين المعقد المحفز لإسكات الرنا RNA induced silencing complex (RISC) حيث يتحلل الشريط غير المدمج Passenger strand

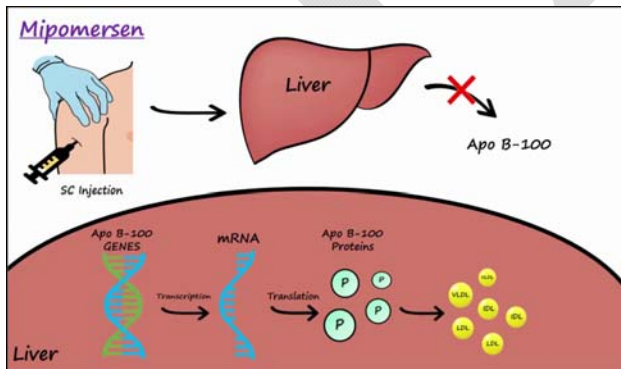
يوجه الشريط الدليلي المتبقي الـ RISC إلى منطقة الرنا المرسل التكميلي حيث يشطر إنزيم Ago 2 الرنا المرسل ويمارس تأثير إسكات الجينات (الشكل 1). يعمل RNAi بآلية مشابهة للآلية المعتمدة على RNase H.

الفرق المعنوي بالمقارنة مع التحلل القائم على RNase هو أن siRNA يرتبط ببروتين الانقسام قبل التداخل مع الموقع المستهدف.

**C. الحجب الفراغي:****(1) توقف الترجمة بسبب العائق الفراغي:**

ترتبط هذه الفئات من ASOs بتسلسل الرنا الهدف وتتسبب في توقف الترجمة عن طريق تثبيط تفاعلها مع تحت الوحدة الريبوزومية 40S أو منع تجميعها على الوحدة الفرعية

إن فرط كوليسترول الدم العائلي متماثل الزيجوت (HoFH) هو Homozygous familial hypercholesterolemia اضطراب وراثي جسدي سائد يؤدي إلى ارتفاع مستويات البروتين الشحمي منخفض الكثافة (LDL). يحدث HoFH بسبب طفرة في الجين الخاص بمستقبلات LDL أو بروتين Pro-protein PCSK9 (PCSK9) convertase subtilisin/kexin 9 أو الأبولوبروتين ب (Apolipoprotein B (apo B). تؤدي مستويات LDL المرتفعة إلى زيادة خطر الإصابة بأمراض القلب الإكليلية أو التصلب العصيدي في سن مبكرة. يستهدف Mipomersen، وهو ASO طورته شركة Genzyme، الرنا المرسال الذي يشفر apo-B-100 mRNA ويثبط اصطناع Apolipoprotein B-100 (الشكل 2). يحتوي على تعديلات قائمة على PS طوال التسلسل وخمسة نيوكليوتيدات قائمة على 2'-O-MOE على كلا الطرفين النهائيين. يتم إعطاء Mipomersen تحت الجلد بجرعة 200 ملغ مرة واحدة أسبوعياً ويستخدم أيضاً بالمشاركة مع أدوية خفض الكوليسترول مع تغيير العادات الحياتية الموصى بها. في دراسة تجريبية سريرية مضبوطة بالدواء الوهمي Placebo، شملت مرضى HoFH الذين يتناولون بالفعل دواء خافض للشحوم، خفض Mipomersen مستويات LDL بنسبة 25% مقارنةً بمجموعة الدواء الوهمي. بالإضافة إلى ذلك، أظهر المرضى الذين عولجوا بدواء Mipomersen انخفاضاً في تراكيز VLDL و LDL والبروتين الشحمي (a).



الشكل 2. آلية تأثير دواء Mipomersen

اقتران) siRNAs ب N-Acetyl galactosamine ((GalNAc)). يستهدف GalNAc بشكل انتقائي مستقبل asialoglycoprotein (ASGPR) الذي يتم التعبير عنه بشكل كبير في خلايا الكبد. يعمل GalNAc أيضاً على ثبات اقترانات siRNA في الخلايا الكبدية والبلازما، وكذلك الجهاز اللمفاوي، ويقلل من التحفيز المناعي.

#### B. التوصيل القائم على الصياغة النانوية:

تم استخدام العديد من أنظمة التوصيل القائمة على الجسيمات البوليميرية النانوية مثل PLGA و PBAE و PEI لتوصيل ASOs. تمارس PBAE و PEI تأثير "إسفنجة البروتون" الذي يقلل من احتباس ASOs بالجسيمات الداخلية endosomes ويزيد من توصيلها. ومع ذلك، فإن تقدم أنظمة التوصيل هذه سريراً كان محدوداً بسبب السمية الناجمة عن الشحنة الكاتيونية المفرطة بالإضافة إلى التفاعلات المتعددة غير النوعية مع البروتينات المصلية والنسجية.

على العكس من ذلك، فإن PLGA متوافق حيوياً وبوليمر معتمد من FDA، وقد تم استخدامه على نطاق واسع لصياغة الجسيمات النانوية وتوصيل ASOs.

#### C. أنظمة التوصيل القائمة على الليبيدات:

تم استخدام العديد من أنظمة التوصيل المعتمدة على الشحوم، والليبوبليكسات، والجسيمات الشحمية، والجسيمات النانوية الشحمية (LNPs) على نطاق واسع لتوصيل ASOs و siRNAs. عادةً ما تكون LNPs مغلفة بالبولي إيثيلين غليكول (PEG)، مما يزيد من وقت الدوران الدموي. تُظهر LNPs أيضاً تراكمًا في البيئة الدقيقة للورم من خلال تأثير النفوذية والاحتباس المعزز (EPR) The enhanced permeability and retention. يحتوي دواء Patisiran على صيغة siRNA القائمة على LNP.

#### V. المركبات الدوائية المعتمدة من قبل FDA:

A. المركبات المستخدمة في علاج فرط شحوم الدم:

(1) دواء Mipomersen:



## (2) دواء Volanesorsen:

تحدث متلازمة فرط الكيلوميكرون الدم العائلية (FCS) Familial chylomicronemia syndrome بسبب طفرات في جين أنزيم الليبوبروتين ليباز (LPL). تؤدي هذه الحالة إلى إعاقة التفكك المعتاد للشحوم مما يؤدي إلى زيادة تراكم الشحوم في الدم. يعد الألم البطني والورم الأصفر الجلدي الطفحي Eruptive xanthomas، والتهاب البنكرياس، وتضخم الكبد والطحال، وفرط شحميات الدم في شبكية العين Lipemia retinalis من المظاهر الخطيرة لمتلازمة FCS.

يعمل عقار Volanesorsen، الذي طورته شركة Ionis Pharmaceuticals، على تثبيط mRNA APOC3 الكبدي، مما يؤدي إلى انخفاض مستويات الشحوم الثلاثية في البلازما ومستويات APO CIII. في تجربة سريرية مضبوطة بالعلاج الوهمي مدتها 53 أسبوعاً، تم إعطاء Volanesorsen مرة واحدة أسبوعياً تحت الجلد لـ 66 مريضاً يعانون من FCS. انخفض إجمالي مستويات الشحوم الثلاثية بنسبة 76.5%، وانخفضت مستويات APO C-III بنسبة 84.2% عن المستويات القاعدية خلال ثلاثة أشهر لدى المرضى الذين عولجوا بدواء Volanesorsen.

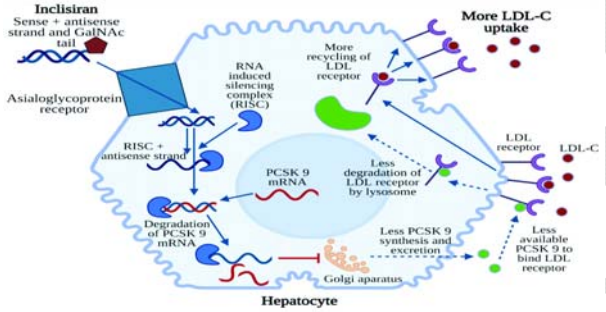
نظراً لإمكانية خفض الشحوم الهامة إحصائياً، حصل Volanesorsen على ترخيص تسويق مشروط في أوروبا لعلاج المرضى الذين يعانون من FCS الوراثي والمرضى المعرضين لخطر كبير للإصابة بالتهاب البنكرياس الحاد والذين لم يكن علاج خفض الشحوم فعالاً لديهم. ويبقى التأثير الجانبي thrombocytopenia، والتي يجب مراقبتها ومعالجتها وفقاً لذلك.

## (3) دواء Inclisiran:

المرضى الذين يعانون من فرط كوليسترول الدم العائلي متغاير الزيجوت Heterozygous familial (HeFH) hypercholesterolemia لديهم مستويات عالية من LDL في الدم، مما يعرضهم للإصابة بالأمراض القلبية الوعائية المتعلقة بالتصلب العصيدي. على الرغم من أن الأضداد وحيدة النسيلة التي تستهدف PCSK9 تقلل مستويات LDL بنسبة 50%، إلا

أن هذه الأضداد تتطلب تناولاً أسبوعياً وتستهدف فقط PCSK9 الجائل.

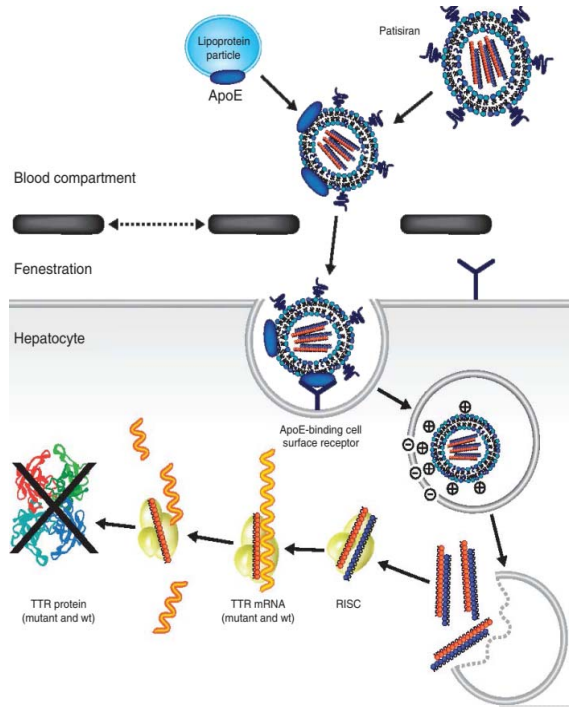
Inclisiran هو دواء siRNA تم تطويره من قبل شركة The Medicines Company لاستهداف PCSK9 mRNA لعلاج HeFH لدى المرضى. في المرحلة الثالثة من التجارب السريرية، تم إعطاء Inclisiran لـ 242 مريضاً، مقارنة بـ 240 مريضاً تلقوا العلاج الوهمي تحت الجلد في الأيام 1 و 90 و 270 و 450. أظهر المرضى الذين تلقوا Inclisiran انخفاضاً بنسبة 39.7% في LDL، في حين أظهرت مجموعة الدواء الوهمي زيادة بمقدار 8.2% بعد 16 شهراً من العلاج. كانت مستويات LDL أقل من 100 ملغ/دل في حوالي 65% من المرضى الذين عولجوا بـ Inclisiran. يتطلب الدواء جرعتين فقط في السنة، وهو ما يمثل ميزة مقارنةً بالعلاج الأسبوعي بالأضداد وحيدة النسيلة. وبعد النتائج الواعدة التي حققها Inclisiran في المرحلة الثالثة من التجارب السريرية، استحوذت "Novartis" على حقوق "The Medicines Company" و "Inclisiran" في كانون الثاني 2020.



الشكل 3. آلية عمل Inclisiran المستخدم في خفض الشحوم.

## B. علاج الداء النشواني:

الترانسثريتين (TTR) Transthyretin هو بروتين رباعي الجزيء يشارك في نقل التيوكسين ومعدن فيتامين A البروتين الرابط للريتينول retinol-binding protein vitamin A complex. في الأفراد الأصحاء، يوجد بروتين TTR في السائل الدماغي الشوكي والمصل. ومع ذلك، فإن الطفرات النقطية في جين TTR تنتج بروتينات TTR شاذة تكون أكثر عرضة للاختلال وتترسب على شكل ألياف أميلويد TTR في



الشكل 4. آلية عمل دواء Patisiran

#### C. الدواء الفردي Milasen:

Milasen هو ASO مخصص لشخص، تم تصميمه خصيصاً لعلاج طفلة تدعى "ميلا" تبلغ من العمر 6 سنوات تعاني من داء (CLN7) Neuronal ceroid lipofuscinosis 7 الذي يؤثر على الجهاز العصبي المركزي. تؤدي هذه الحالة التكتسية العصبية النادرة والمميتة، والمعروفة أيضاً باسم مرض Batten، إلى فقدان الرؤية والتلعثم وعسر البلع. بين تسلسل الجينوم الكامل للمريضة إدخال الناقل الرجعي Retrotransposon والذي هو (SINE-VNTR-Alu) SVA في جين MFSD8 (المعروف أيضاً باسم CLN7) الذي يغير تقطيع وإعادة توصيل النسخ. تم اختبار سلسلة من ASOs في الخلايا الليفية للمريضة لاستهداف مواقع التقطيع وإعادة التوصيل المشفرة في MFSD8 pre-mRNA واستعادة توصيل (الإكسونات 6-7) الطبيعي.

المساحات خارج الخلوية في الكبد والقلب والأعصاب والجهاز الهضمي، مما يؤدي في النهاية إلى خلل وظيفي في الأعضاء. تُعرف الحالة المرضية المذكورة أعلاه باسم الداء النشواني الوراثي المتواسط بالتراستيريئين Hereditary Transthyretin-Mediated Amyloidosis (hATTR) وتتجلى بأعراض حادة من الغثيان والألم والضعف الجسدي. يقدر عدد المصابين بـ hATTR بحوالي 50 ألف مريض حول العالم. Patisiran هو أول دواء قائم على siRNA طورته شركة Alnylam لعلاج hATTR. Patisiran عبارة عن صيغة قائمة على LNP ويتم حقنه عن طريق الوريد بتركيز 2 ملغ/مل. على وجه الخصوص، D-Lin-MC3-DMA عبارة عن وسيلة توصيل ليبيدية موجبة الشحنة مستخدمة لتغليف siRNA. يحتوي D-Lin-MC3-DMA على ثابت تشتد حمضي (pKa) يبلغ 6.4 ضروري للحفاظ على شحنة سطحية منخفضة لمنع التصفية المبكرة لـ siRNA من الجسم. عند pKa بقيمة 6.4، تكون المجموعة الليبيدية المتشردة مشحونة بشحنة موجبة، مما يساعد في الهروب من الجسيمات البالعة endosomal escape بعد الالتقام الخلوي، بعد ذلك، يتم إطلاق siRNA في سيتوبلازما الخلية حيث يتفاعل مع TTR mRNA، مما يقلل من ترجمة بروتين TTR، وبالتالي تثبيط تكوين وترسب لويحات الأميلويد. في المرحلة الثالثة من دراسة عشوائية ثنائية التعمية مضبوطة بالدواء الوهمي، أظهر المرضى الذين عولجوا باستخدام Patisiran انخفاضاً بنسبة 80% في مستويات TTR في المصل عند جرعات تتراوح بين 0.15-0.5 ملغ/كغ.

بالإضافة إلى ذلك، يتم اختبار فئات مختلفة من ASOs بنجاح لاستهداف المرض نفسه (يتم استخدام Patisiran و Inotersen لعلاج hATTR، و Golodirsen و Eteplirsen لعلاج DMD) لتوسيع نطاق تطبيقها السريري بناءً على تاريخ المريض والنتائج السريرية.

بشكل عام، تمتلك الأدوية القائمة على ASO التي يتم استقصادها فوائد عديدة؛ المرونة في التصميم بسبب التعرف على قاعدة Watson-Crick وبروتوكولات الاصطناع المحسنة بالإضافة إلى مراقبة الجودة على نطاق واسع أثناء مرحلة التطوير. نظراً لأن الأدوية القائمة على ASO تستهدف السبب الجذري للأمراض معينة، فيجب إعطاؤها أسبوعياً (Mipomersen) أو مرة كل أربعة أشهر (Nusinersen) لتحديد فعاليتها مقارنة بالأدوية المستندة إلى الجزيئات الصغيرة، والتي يجب إعطاؤها يومياً في أغلب الحالات.

ومن المثير للاهتمام أن هذا المجال قد اكتسب زخماً في السنوات القليلة الماضية حيث حصلت الأدوية القائمة على ASO على موافقة FDA و EMA للتطبيقات السريرية. بالإضافة إلى ذلك، تعد الترجمة السريعة لدواء Milasen من مجرد إثبات مبدئي للمفهوم إلى الاستخدام السريري في غضون أشهر مثلاً استثنائياً وحماسياً لتطوير الطب الدقيق القائم على ASO والذي يمكنه تحسين نوعية حياة المريض عن طريق تخفيف شدة المرض.

بشكل عام، يمكن استخدام ASOs كطب فردي (Milasen)، وكذلك لعلاج عدد كبير من المرضى (Inclisiran).

ومع ذلك، هناك العديد من التحديات التي يجب التغلب عليها لتوسيع الاستخدام السريري لـ ASOs، ومن أهمها توصيلها. تتراكم ASOs عادةً في أعضاء مثل الكلى والكبد والطحال، مما يؤدي إلى السمية. منذ أن تم تطوير العديد من منصات التوصيل، يلزم بذل جهود وتضافر أكثر لاستكشاف استراتيجيات التوصيل التي يمكنها توصيل ASOs بأقصى جرعة فعالة إلى الأعضاء المستهدفة دون تراكم خارج الهدف. ستساعد منصات التوصيل المحسنة على تقليل جرعة ASO، وزيادة الفعالية، والسماح باستهداف الأنسجة المحددة فقط مما يمكن أن يقلل من سميتها.



الشكل 5. الطفلة ميلا، التي تم تصميم دواء Milasen من أجلها

مركب ASO القائد، كان Milasen، بطول 22 نيكليوتيداً، وتم تطويره باستخدام نفس التعديلات الكيميائية الموجودة في Nusinersen. لم يُظهر Milasen أي سمية خلال الدراسات ما قبل السريرية على الفئران. واستناداً إلى النتائج الأولية قبل السريرية الواعدة، تم منح Milasen موافقة سريعة على استخدامه لدى هذه المريضة، ومن المثير أن Milasen قلل من تكرار النوبات وحسن نوعية حياة المريضة بشكل فعال. يعد تطوير Milasen لاستهداف مرض Batten لدى مريض واحد مثلاً واعداً للطب الشخصي القائم على RNA.

## VI. الخلاصة:

كانت الإثارة المحيطة باكتشاف وتطوير الأدوية المعتمدة على قلیلات النيكليوتيد الـ Antisense قد تضاءلت سابقاً بسبب نقص الفعالية السريرية حتى عند تعاطي جرعات عالية من ASO. ومع ذلك، فقد تم بذل جهود بحثية مذهلة عند الدمج بين الكيمياء والبيولوجيا لتحسين السمات الفيزيائية الحيوية والبيولوجية لـ ASOs. أدى هذا إلى تطوير فعاليتها في العضوية الحية بأقل قدر من التأثيرات غير المستهدفة، مما أدى إلى حصول العديد من الأدوية القائمة على ASO على موافقات من FDA و EMA. كما أدى الكشف عن أهداف جزيئية جديدة إلى تنشيط العلوم الطبية والبيولوجية لاستغلال فئات مختلفة من ASOs لعلاج الاضطرابات النادرة والوراثية التي كانت تعتبر في السابق غير قابلة للعلاج عن طريق العلاجات التقليدية القائمة على الجزيئات الصغيرة.



- [2]. <https://www.phgfoundation.org/media/504/download/WYNG%20foundation%20briefing%20%20Antisense%20oligonucleotide%20therapies.pdf?v=1&inline=1>
- [3]. Kolovou G, Kolovou V, Katsiki N. Volanesorsen: A New Era in the Treatment of Severe Hypertriglyceridemia. J Clin Med. 2022 Feb 13;11(4):982. doi: 10.3390/jcm11040982. PMID: 35207255; PMCID: PMC8880470
- [4]. <https://www.pharmacytimes.com/view/fda-expands-label-for-inclisiran-to-include-adults-with-high-ldl-c-increased-risk-of-heart-disease>
- [5]. 8 Inhibitors. Transfus Med Hemother. 2009;36(6):437-448. PMID: 21245974; PMCID: PMC2997298.
- [6]. Leqvio prescribing information. East Hanover, NJ: Novartis Pharmaceuticals Corp; 2023.
- [7]. <https://www.dicardiology.com/content/fda-approves-expanded-indicationleqvio#:~:text=July%2010%2C%202023%20%E2%80%94%20Novartis%20announced,diet%20and%20statin%20therapy1>
- [8]. <https://drugs.ncats.io/drug/J8435V445B>
- [9]. Dhuri K, Bechtold C, Quijano E, Pham H, Gupta A, Vikram A, Bahal R. Antisense Oligonucleotides: An Emerging Area in Drug Discovery and Development. J Clin Med. 2020 Jun 26;9(6):2004. doi: 10.3390/jcm9062004. PMID: 32604776; PMCID: PMC7355792.
- [10]. <https://www.phgfoundation.org/media/504/download/WYNG%20foundation%20briefing%20%20Antisense%20oligonucleotide%20therapies.pdf?v=1&inline=1>
- [11]. Kolovou G, Kolovou V, Katsiki N. Volanesorsen: A New Era in the Treatment of Severe Hypertriglyceridemia. J Clin Med. 2022 Feb 13;11(4):982. doi: 10.3390/jcm11040982. PMID: 35207255; PMCID: PMC8880470
- [12]. <https://www.pharmacytimes.com/view/fda-expands-label-for-inclisiran-to-include-adults-with-high-ldl-c-increased-risk-of-heart-disease>
- [13]. 8 Inhibitors. Transfus Med Hemother. 2009;36(6):437-448. PMID: 21245974; PMCID: PMC2997298.
- [14]. Leqvio prescribing information. East Hanover, NJ: Novartis Pharmaceuticals Corp; 2023.
- [15]. <https://www.dicardiology.com/content/fda-approves-expanded-indicationleqvio#:~:text=July%2010%2C%202023%20%E2%80%94%20Novartis%20announced,diet%20and%20statin%20therapy1>
- [16]. <https://drugs.ncats.io/drug/J8435V445B>

مع أخذ منصات التوصيل بالاعتبار، من المهم أيضاً أن نأخذ في الاعتبار قابلية التوسع وتكرار الإنتاجية على المستوى الصناعي. يجب توخي حذر مماثل عند تصميم ASOs نظراً لقدرتها على التهجين الذاتي والربط خارج الهدف. بالإضافة إلى الأمراض النادرة والوراثية، تم إجراء عدة محاولات في الماضي لتطوير أدوية ASO جديدة مضادة للفيروسات. شهد العالم جائحة مدمرة لمرض فيروس كورونا 2019 (كوفيد-19) الناجم عن فيروس كورونا الجديد، SARS-CoV-2. تخضع العديد من الأدوية القائمة على ASO للتقييم من قبل الشركات المعتمدة على RNA مثل شركة Alnylam Pharmaceuticals لاستهداف SARS-CoV-2. نظراً لأن الجينوم الفيروسي معروف، يمكن تصميم واختبار ASOs متعددة لاستهداف مناطق فيروسية مختلفة؛ بروتين السنبلة (S)، بروتين الغشاء (M)، بروتين الغلاف (E)، والكابسيد النووي (N) لإضعاف الوظيفة الفيروسية. بالإضافة إلى ذلك، فإن علاجات ASO قيد التنفيذ لتوفير تخفيف الأعراض عن طريق كبح السيوكينات. تتمحور بعض الدراسات حول تطوير ASOs الجديدة لاستهداف مستقبل الخلية التائية (TLR) وتحفيز إنتاج الإنترفيرونات الوقائية لمكافحة الفيروس.

باختصار، شهدت ASOs تقدماً هائلاً في السنوات الأخيرة واكتسبت مكانة في سوق الأدوية بالتوازي مع الأدوية القائمة على الجزيئات الصغيرة. ومن ثم، ليس من السابق لأوانه أن نتصور أنه في المستقبل، جنباً إلى جنب مع منصات التوصيل الجديدة، سيتم استخدام الأدوية القائمة على ASO لعلاج الأمراض والاضطرابات المنتشرة بأقصى قدر من الفعالية وبأقل قدر من السمية.

## المراجع

- [1]. Dhuri K, Bechtold C, Quijano E, Pham H, Gupta A, Vikram A, Bahal R. Antisense Oligonucleotides: An Emerging Area in Drug Discovery and Development. J Clin Med. 2020 Jun 26;9(6):2004. doi: 10.3390/jcm9062004. PMID: 32604776; PMCID: PMC7355792.