Journal of Birjand University of Medical Sciences

Birjand University of Medical Sciences

Review Article

Strategies for Hemophilia Treatment, a literature review of current evidence

Fahimeh Ghasemi[1,2], Nafiseh Erfanian[3], Samira Karbasi[4], Alireza Zomorodipour[5]*

ABSTRACT

Hemophilia is an inherited bleeding disorder caused by malfunctioning or lacking blood coagulation factor VIII (hemophilia A) or IX (hemophilia B). Currently, the main treatments for these X-linked diseases are replacement therapy using periodic and regular injections of plasma-derived coagulation factors or their recombinant products. The use of recombinant coagulation factors is due to the need for periodic and regular injections to prevent bleeding in the acute type of hemophilia and in turn imposing a financial burden on patients. On the other hand, this treatment method is not available to all patients, especially those in developing countries. Recently, gene therapy has been proposed as a suitable, cost-effective, and permanent treatment option for hemophilia. This method is expected to solve the problems we currently face in treating hemophilia. Hemophilia is suitable for gene therapy since an abnormal gene is responsible for the disease. During the last two years, successful clinical trials for gene therapy using vectors derived from adeno-associated virus for both hemophilia A and hemophilia B have been conducted and approved for administration. Moreover, new methods based on gene-cell therapy and genome editing are under investigation for the treatment of hemophilia. This review article deals with different approaches for hemophilia treatments from the past to the present, particularly gene therapy methods.

Keywords: Coagulation factors VIII and IX, Gene therapy, Hemophilia A and B, Replacement therapy

Citation: Ghasemi F, Erfanian N, Karbasi S, Zomorodipour A. [Strategies for Hemophilia Treatment, a literature review of current evidence]. J Birjand Univ Med Sci. 2023; 30(3): 204-215. [Persian]

DOI 10.61186/JBUMS.30.3.204

Received: July 14, 2023 **Accepted:** December 22, 2023

[1] Cellular and Molecular Research Center, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran
[2] Department of Medical Biotechnology, School of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran
[3] Student Research Committee, Department of Molecular Medicine, School of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran
[4] Department of Molecular Medicine, School of Medicine, Cardiovascular Diseases Research Center, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran
[5] Department of Molecular Medicine, Institute of Medical Biotechnology, Institute of Genetic Engineering and Biotechnology Tehran, Iran

***Corresponding author:**.
Tel: +982144787348 Fax: +982144787399 E-mail: zomorodi@nigeb.ac.ir

[DOI: 10.61186/JBUMS.30.3.204]

مقاله مروری

روش‌های درمان هموفیلی، مروری بر شواهد موجود

فهیمه قاسمی [1و ۲]، نفیسه عرفانیان [۳]، سمیرا کرباسی [4]، علیرضا زمردی‌پور [5]*

چکیده

بیماری هموفیلی یک بیماری خونریزی‌دهنده ارثی است که در اثر نقص عملکرد یا فقدان فاکتورهای انعقادی ۸ (هموفیلی A) یا ۹ (هموفیلی B) به‌وجود می‌آید. در حال حاضر درمان اصلی این بیماری‌ها جایگزین‌درمانی است که از طریق تزریق دوره‌ای و منظم فاکتورهای انعقادی مشتق شده از پلاسما و یا نوع نوترکیب آن‌ها امکان‌پذیر است. استفاده از فاکتورهای انعقادی نوترکیب به دلیل نیاز به تزریق دوره‌ای و منظم (۲ الی ۳ بار در هفته) به‌منظور پیشگیری از خونریزی، به‌خصوص در مورد بیماران مبتلا به نوع حاد هموفیلی، بار مالی زیادی را برای بیمار به دنبال دارد. از طرفی دیگر این روش درمانی در دسترس همه بیماران به‌ویژه بیماران ساکن در کشورهای درحال‌توسعه نیست. ازاین‌رو اخیراً ژن‌درمانی به‌عنوان گزینه درمانی مناسب و مقرون‌به‌صرفه برای درمان هموفیلی مطرح‌شده است، زیرا این روش می‌تواند به‌عنوان درمان دائمی مدنظر قرار گیرد. پیش‌بینی می‌شود این روش مشکلاتی را که در حال حاضر در درمان هموفیلی با آن مواجه هستیم، برطرف نماید. هموفیلی به دلیل آن‌که یک ژن فاقد عملکرد باعث بروز بیماری می‌شود گزینه مناسبی برای ژن‌درمانی محسوب می‌گردد. اخیراً ژن‌درمانی با استفاده از ناقل‌های مشتق شده از ویروس همراه آدنو (AAV) برای درمان هموفیلی B موفقیت‌آمیز بوده است. همچنین روش‌های جدید مبتنی بر ژن و سلول درمانی و همچنین روش‌های مبتنی بر ویرایش ژنومی نیز برای درمان بیماری‌های هموفیلی در دست بررسی است. در این مقاله مروری انواع روش‌های درمان هموفیلی از گذشته تاکنون به‌ویژه روش‌های ژن‌درمانی ارائه‌شده است.

واژه‌های کلیدی: جایگزین‌درمانی، ژن‌درمانی، فاکتورهای انعقادی ۸ و ۹، هموفیلی A و B

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۴۰۲؛ ۳۰ (۳): ۲۱۵-۲۰۴.

دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۲۳ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۰۱

[1] مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

[۲] گروه زیست فناوری پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

[۳] کمیته تحقیقات دانشجویی، گروه پزشکی مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

[4] گروه پزشکی مولکولی، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات بیماری‌های قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران

[5] گروه پزشکی مولکولی- پژوهشکده زیست فناوری پزشکی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران

***نویسنده مسئول:** گروه پزشکی مولکولی- پژوهشکده زیست فناوری پزشکی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران

آدرس: تهران- پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری

تلفن: ۰۲۱۴۴۷۸۷۳۴۸ نمابر: ۰۲۱۴۴۷۸۷۳۹۹ پست الکترونیکی: zomorodi@nigeb.ac.ir

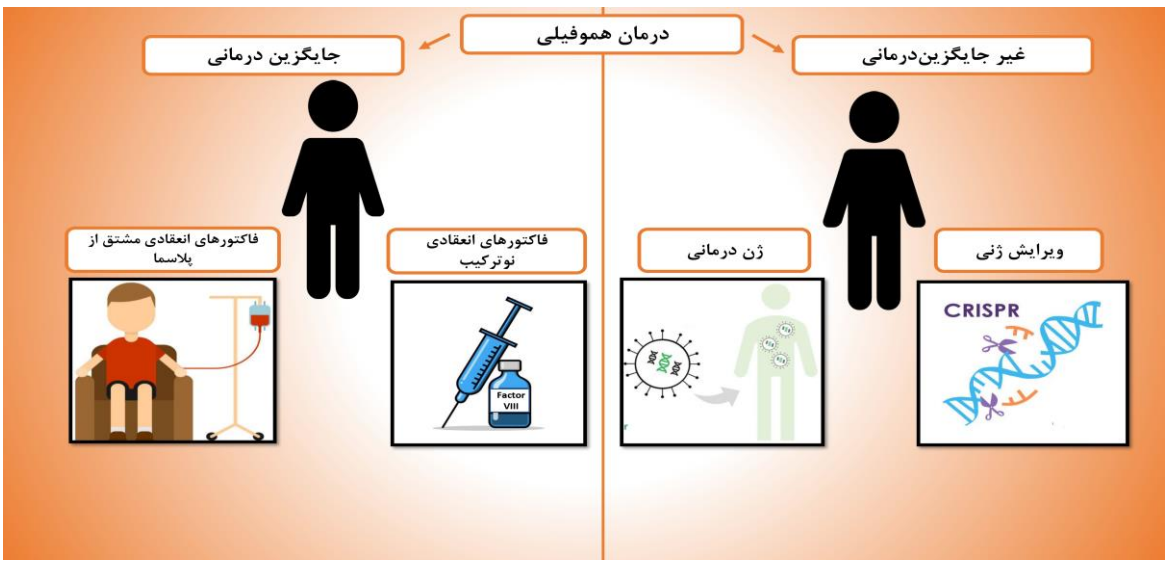
[DOI: 10.61186/JBUMS.30.3.204]

مقدمه

هموفیلی یک بیماری خونریزی‌دهنده ارثی مغلوب است که عمدتاً به دلیل جهش در ژن‌های کدکننده فاکتورهای انعقادی ۸ (هموفیلی A)، ۹ (هموفیلی B) و ۱۱ (هموفیلی C) ایجاد می‌شود (۱-۳). هموفیلی A شایع‌ترین شکل هموفیلی است و شیوع آن یک در هر ۵۰۰۰ تولد زنده مذکر است و حدود ۸۰ الی ۸۵ درصد از بیماران هموفیلی را شامل می‌شود، در حالی‌که هموفیلی B با فراوانی یک در ۳۰۰۰۰ تولد زنده مذکر، حدود ۱۵ الی ۲۰ درصد از بیماران هموفیلی را تشکیل می‌دهد (۶-۴, ۲). هموفیلی C نوع بسیار نادر از هموفیلی است و شیوع آن یک در میلیون می‌باشد. هموفیلی A و B وابسته به کروموزوم X هستند درحالی‌که هموفیلی C اتوزومال مغلوب بوده و فرد باید هر دو الل جهش یافته را از هر والد خود به ارث ببرد (۷).

شدت بیماری هموفیلی‌های A و B با سطوح فاکتورهای انعقادی ۸ و ۹ مرتبط است (۸, ۴). بر این اساس هموفیلی به سه نوع حاد، متوسط و خفیف تقسیم‌بندی می‌شود. در بیماران مبتلا به هموفیلی حاد، یعنی حالتی که فعالیت فاکتور انعقادی کمتر از ۱٪ حد طبیعی است، خونریزی‌های خودبه‌خودی و مکرّر شایع‌ترین علامت است. (۳, ۶). در افراد مبتلا به هموفیلی متوسط، فعالیت فاکتور انعقادی بین ۱ تا ۵٪ است و خونریزی‌ها معمولاً در اثر جراحی یا تروماهای کوچک ایجاد می‌گردند. در نوع خفیف هموفیلی، حالتی که فعالیت فاکتور انعقادی بین ۵ تا ۳۰٪ حد طبیعی است، خونریزی‌های خودبه‌خودی وجود ندارد و بیماران پس از انجام عمل جراحی یا ترومای جدی دچار خونریزی می‌شوند (۸, ۴).

درمان‌های فعلی هموفیلی شامل روش‌های جایگزین‌درمانی و غیرجایگزین درمانی است که هرکدام معایب و مزایایی را به دنبال دارند، که در ادامه به آن‌ها اشاره شده است.



تصویر ۱- روش‌های مورد استفاده در درمان بیماری هموفیلی از گذشته تاکنون

جایگزین‌درمانی

درمان فعلی هموفیلی شامل جایگزین‌درمانی است که از طریق تزریق دوره‌ای و منظم فاکتورهای انعقادی (هر ۲ الی ۳ روز یک‌بار)، به منظور پیشگیری از خونریزی (پروفیلاکسی)، یا برحسب تقاضا و در صورت بروز خونریزی‌های حاد انجام می‌شود (۹, ۸, ۶, ۴, ۲, ۱).

این روش درمانی شامل تزریق فاکتورهای انعقادی مشتق شده از پلاسمای انسانی یا نوع نوترکیب آن‌ها می‌باشد که در سلول‌های پستانداران تولید شده است (۱۰). این رویکرد اگرچه به‌طور چشمگیری کیفیت زندگی بیماران هموفیلی را افزایش داده است، اما به دلیل نیمه‌عمر کوتاه فاکتورهای انعقادی، لازم است که بیماران

[DOI: 10.61186/JBUMS.30.3.204]

به‌طور مداوم این فاکتورها را دریافت نمایند (۴, ۲). نیاز به تزریق مکرر درون وریدی، علاوه بر هزینه مالی، بار روانی زیادی به‌ویژه در دوران کودکی بر بیماران و خانواده‌های آن‌ها و درمجموع تأثیر منفی بر کیفیت زندگی بیماران تحمیل می‌کند. بعلاوه با افزایش سن بیمار و ورود آن‌ها به دوران پیری، به‌تنهایی قادر به تزریق فاکتورهای انعقادی نیستند. همچنین به دلیل ماهیت ارثی بودن این بیماری، افراد حامل ژن معیوب در خصوص ازدواج و فرزندآوری دچار نگرانی و وحشت می‌شوند که این خود یک مشکل اجتماعی محسوب می‌گردد (۵, ۲). دو رویکرد مهم در روش جایگزین درمانی وجود دارد که شامل استفاده از فاکتورهای انعقادی مشتق از پلاسما و فاکتورهای انعقادی نوترکیب می‌باشد.

فاکتورهای انعقادی مشتق از پلاسما

پلاسمای انسانی منبع مهمی از فاکتورهای انعقادی محسوب می‌شود که به‌منظور درمان اختلالات انعقادی از قبیل هموفیلی A و B و بیماری فون ویلبراند و همچنین اختلالات نادرتر انعقادی مانند کمبود فیبرینوژن، کمبود فاکتورهای انعقادی ۱۳ و ۱۰ و برخی اختلالات خونریزی دهنده اکتسابی استفاده می‌شود (۱۱, ۹). استفاده از این ترکیبات در طول ۴۰ سال گذشته دستخوش تغییرات و پیشرفت‌های چشمگیری شده است، به‌طوری‌که جایگزین‌درمانی نه‌تنها در بیمارستان‌ها بلکه در منازل نیز امکان‌پذیرشده است. امروزه علیرغم ظهور محصولات انعقادی نوترکیب، فاکتورهای انعقادی مشتق شده از پلاسمای انسانی همچنان منبع مهمی برای جایگزین‌درمانی هموفیلی محسوب می‌گردند. در کشورهای توسعه‌یافته، درمان‌های ترجیحی برای هموفیلی A و B استفاده از انواع نوترکیب فاکتورهای انعقادی می‌باشد، درحالی‌که در کشورهای درحال‌توسعه به دلیل محدودیت دسترسی به فاکتورهای انعقادی نوترکیب، استفاده از ترکیبات مشتق شده از پلاسما، درمان اصلی برای این بیماری به شمار می‌رود (۱۱, ۹).

در تولید فاکتورهای انعقادی مشتق شده از پلاسما علاوه بر خلوص مناسب، خواص زیستی پروتئین نیز باید حفظ گردد. همچنین به دلیل اینکه این قبیل ترکیبات از منابع خونی و پلاسمای انسانی تهیه می‌شوند، استفاده از آن‌ها همواره خطر انتقال عوامل بیماری‌زای خطرناک و نوظهور را به همراه دارد؛ بنابراین به‌منظور اطمینان از ایمن بودن محصولات مشتق از پلاسما علاوه بر غربالگری‌های اولیه، لازم است محصولات دارویی برگرفته از پلاسما تحت پاتوژن‌زدایی نیز قرار گیرند (۱۲, ۱۰).

باوجود فرآیند دقیق انتخاب اهداکننده و انجام آزمایش‌های لازم بر روی خون و پلاسمای جمع‌آوری‌شده، احتمال انتقال عوامل عفونی همچنان از طریق تزریق محصولات مشتق از پلاسما وجود دارد. البته این خطر تا حد زیادی با کمک تکنیک‌های پیشرفته ویروس‌زدایی کاهش‌یافته است به‌طوری‌که این ترکیبات به‌مرور زمان ایمن‌تر و خالص‌تر شده‌اند و معادل سایر داروها در نظر گرفته می‌شوند. اما همچنان این موضوع برای کشورهای درحال‌توسعه می‌تواند یک چالش مهم به شمار آید (۱۳, ۱۲, ۹).

فاکتورهای انعقادی نوترکیب

طی دو دهۀ گذشته در اکثر کشورهای دنیا استفاده از فاکتورهای انعقادی نوترکیب به‌سرعت به یک گزینۀ درمانی جدید به‌منظور درمان بیماری هموفیلی A و B تبدیل‌شده است؛ زیرا این ترکیبات نسبت به محصولات مشتق شده از پلاسما خطر انتقال پاتوژن‌ها و عوامل عفونی را کاهش داده‌اند (۱۴). استفاده از فاکتورهای انعقادی نوترکیب علیرغم بی‌خطری و اثربخشی چشمگیری که دارند، در برخی افراد منجر به تولید آنتی‌بادی علیه فاکتور تزریق‌شده می‌شوند و درنتیجه فعالیت انعقادی آن‌ها را خنثی می‌کنند. این آنتی‌بادی‌های بازدارنده در ۲۵ الی ۳۰ درصد از بیماران مبتلا به نوع حاد هموفیلی A و ۳ الی ۵ درصد از بیماران مبتلا به هموفیلی B حاد تولید می‌شوند (۱۵). امروزه پیشرفت‌هایی که در فناوری DNA نوترکیب صورت گرفته است، اصلاح فاکتورهای انعقادی نوترکیب را به‌منظور افزایش خواص فارماکوکینتیک، فعالیت زیستی و یا سایر ویژگی‌های آن‌ها امکان پذیر کرده است. یکی از این موفقیت‌های اصلی افزایش پایداری و نیمه‌عمر فاکتورهای انعقادی در خون اخیراً از طریق اتصال پلی‌اتیلن گلیکول (PEG) به آن‌ها و یا فیوژن کردن این پروتئین‌ها به بخش Fc آنتی‌بادی یا

[DOI: 10.61186/JBUMS.30.3.204]

آلبومین حاصل شده است (جدول ۱) (۱۸-۱۶). همچنین تولید آنتی‌بادی IgG4 دو-ویژهٔ[1] انسانی شده با نام امی‌سیزوماب[2] که دارای تمایل اتصال به فاکتورهای انعقادی ۹ و ۱۰ فعال می‌باشد و عملکرد فاکتور ۸ را در آبشار انعقادی تقلید می‌کند، دیگر پیشرفتی است که در این زمینه به‌دست آمده است (۱۷). در اولین کار آزمایی بالینی امی_سیزوماب به‌صورت زیر جلدی به مدت ۱۲ هفته به بیماران تزریق شد. نتایج نشان دادند که میزان خونریزی به‌طور چشمگیری هم در افراد مبتلابه هموفیلی A که دارای آنتی‌بادی‌های مهارکننده بودند و هم در افراد مبتلای بدون مهارکننده کاهش پیدا کرده است. هرچند استفاده از فاکتورهای نوترکیب به بهبود مدیریت بیماران مبتلا به هموفیلی بسیار کمک کننده می‌باشد؛ اما در این روش بیماران همچنان نیازمند تزریق مکرر محصولات گران‌قیمت هستند و از طرفی دیگر عوارض طولانی‌مدت آن‌ها ازجمله تولید آنتی‌بادی علیه این محصولات، این روش را نیازمند ارزیابی و مطالعات بیشتری نموده است.

روش‌های غیر جایگزین‌درمانی

در درمان هموفیلی، علاوه بر درمان‌های جایگزینی، روش‌های غیر جایگزین‌درمانی نیز می‌توانند در بهبود کیفیت زندگی افراد مبتلا به هموفیلی مؤثر باشند. روش‌های غیرجایگزین‌درمانی نیز به عنوان یک پیشنهاد تکمیلی مطرح می‌شوند که به جلوگیری از خونریزی‌ها یا بهبود لخته شدن فرد مبتلا از طریق روش‌های نوین در بدن کمک می‌کنند. در ادامه، به توضیح و گسترش اطلاعات موجود پیرامون این روش‌های غیر جایگزین‌درمانی خواهیم پرداخت.

پیوند کبد

یک رویکرد نسبتاً قدیمی برای درمان هموفیلی به‌منظور دستیابی به سطح قابل‌قبول فاکتور ۸ پیوند کبد است (۱۹). اگرچه در این روش خونریزی حاد متوقف می‌شود و بیماران از نیاز به فاکتور خونی رها می‌شوند لیکن آرتروپاتی مفصلی و خونریزی مکرر ادامه می‌یابد (۲۰).

[1] Bispecific
[2] *Emicizumab*

ژن‌درمانی هموفیلی

امروزه با تکیه بر پیشرفت‌ها در حوزهٔ فناوری مولکولی و سلولی، توسعه روش‌های انتقال ژن، روش‌های ژن- و سلول-درمانی به‌صورت درون تنی[3] و برون تنی[4] آیندهٔ امیدوارکننده‌ای را برای بیماران هموفیلی ایجاد و ترسیم کرده است تا بتوانند با یک‌بار درمان بر بیماری فائق شوند. هم‌اکنون در رابطه با برخی از بیماری‌های تک ژنی به‌ویژه هموفیلی، کارایی روش‌های ژن‌درمانی اثبات‌شده است و پژوهشگران تمرکز خود را بر این معطوف داشته‌اند تا آن را به‌صورت یک روش درمانی متداول در اختیار گیرند. هموفیلی‌های A و B اهداف مناسبی برای مطالعات ژن‌درمانی به شمار می‌روند زیرا جهش فقط در یک ژن، مسئول فنوتیپ بیماری است، بعلاوه افزایش اندک در فعالیت فاکتورهای انعقادی بهبود چشمگیری را در کیفیت زندگی بیماران ایجاد می‌کند. مضاف بر اینکه فاکتورهای انعقادی در سلول‌های کبدی بیان می‌شوند که میزان تقسیم سلولی کمی دارند (۲۱, ۲۲).

بر اساس منابع موجود، ژن‌درمانی با دو رویکرد استفاده از ناقل‌های غیر ویروسی و ویروسی انجام می‌گیرد. فن‌آوری‌های مختلفی برای انتقال مؤثر و ایمن cDNA فاکتورهای ۸ و ۹ به سلول‌های بیماران مورداستفاده قرارگرفته است که در ادامه مختصراً به آن‌ها پرداخته می‌شود.

- *ناقل‌های غیرویروسی*

ناقل‌های غیرویروسی به‌طور خاص به انتقال DNA با روش‌های فیزیکی و شیمیایی متکی هستند. اگرچه ناقل‌های غیرویروسی برخلاف ناقل‌های ویروسی پاسخ‌های ایمنی ضعیفی را در شرایط درون‌تنی تحریک می‌کنند ولی در این روش بازدهی انتقال ژن به‌طورکلی پایین‌تر از روش‌های انتقال ویروسی است (۲۳). همچنین انتقال کاست‌های بیانی[5] فاکتورهای ۸ یا ۹ به‌صورت غیرویروسی معمولاً به بیان کوتاه‌مدت این محصولات ژنی منجر می‌شود، مگر اینکه انتخاب سلول‌های ترانسفکت شده به‌صورت

[3] In vivo
[4] Ex vivo
[5] Expression cassette

[DOI: 10.61186/JBUMS.30.3.204]

برون‌تنی انجام شود (۲۴). یک کار آزمایی بالینی فاز یک برای هموفیلی A با استفاده از فیبروبلاست‌های اتولوگ و پلاسمیدهای بیان‌کننده فاکتور ۸ انجام شد (۲۵). پس از انتقال فیبروبلاست‌های ترانسفکت شده به شرایط درون‌تنی اگرچه هیچ عوارض ناخواسته آشکار نشد، ولی اثربخشی درمانی آن کم بود و بیان پایدار فاکتور ۸ میسر نشد. البته نشان داده‌شده است که انتقال ژن‌های فاکتورهای ۸ و ۹ با استفاده از ترانسپوزون به داخل ژنوم میزبان می‌تواند به سطح قابل قبولی از بیان فاکتور ۸ یا ۹ و اصلاح پایدار فنوتیپ خونریزی در موش‌های هموفیل منجر شود (۲۷, ۲۶). انتقال DNA پلاسمیدی (pDNA)با روش‌های غیرویروسی به‌صورت تزریق داخل سلولی و همچنین تزریق سیستمیک (داخل وریدی) گزارش‌شده است (۳۱-۲۸).

- ناقل‌های ویروسی

از اواخر دهه ۹۰ تاکنون تلاش‌های متعددی برای بهره‌گیری از ناقل‌های ویروسی برای انتقال ژن‌های بیان‌کننده فاکتورهای انعقادی ۸ و ۹ شده است (۳۲). از ویروس[1] MoMLV جهت انتقال ژن فاکتور ۸ استفاده شد. اگرچه با این روش سطح فاکتور ۸ در خون افزایش یافت؛ ولی به خاطر وجود نشانه‌هایی مانند تب شدید و آنفلوانزا این پروژه نیز متوقف شد (۳۳).

با وجود شکست‌های متعدد، اما همچنان تلاش‌ها برای انتقال ژن فاکتور ۸ با استفاده از ناقل‌های مختلف ادامه یافت. در همین راستا در مدل‌های حیوانی انتقال ناقل‌های ویروس همراه آدنو (AAV)[2] و لنتی ویروسی (LV)[3] حاوی هر یک از ژن‌های فاکتور ۸ یا ۹ انعقادی مورد ارزیابی قرارگرفتند که در ادامه به برخی از مهم‌ترین این پژوهش‌ها پرداخته‌شده است.

ناقل‌های گاما-رتروویروس و لنتی ویروسی: ناقل‌های گاما-رتروویروسی[4] (RV) و لنتی‌ویروسی ازجمله ناقل‌هایی هستند که برای ژن‌درمانی موردتوجه بسیار قرار گرفته‌اند.

VandenDriessche و همکاران برای اولین بار با استفاده از ناقل RV درمان دائمی هموفیلی A را در موش مبتلا نشان دادند (۳۴). ناقل‌های RV برای ورود به سلول، نیاز به تقسیمات سلولی میزبان دارند (۳۵, ۳۳). برای رفع این مشکل، ناقل‌های LV که توانایی آلوده‌سازی سلول‌های غیرتقسیم شونده هپاتوسیت را دارند، پیشنهاد شده‌اند در نتیجه امکان بیان دائمی پروتئین هدف در بافت کبدی میسر می‌گردد. نکته‌ی دیگر در رابطه با ناقل‌های RV این است که این ناقل‌ها از نوع وارد شونده به ژنوم میزبان هستند، در نتیجه خطر سرطان‌زایی ناشی از ورود DNA در سلول میزبان وجود دارد. البته این خطر تحت تأثیر طراحی ناقل و توالی‌های تکراری بلند انتهایی[5] (LTR) ویروسی است و می‌تواند با دست‌کاری ساختار ژنوم ویروس و موقعیت پروموتر در ناقل کاسته شود. همچنین می‌توان با استفاده از ویروس‌های فاقد توانایی ورود به ژنوم این خطر را رفع نمود (۳۶).

LVها که یک زیرگروه از RV ها هستند، با کارایی بالاتری سلول‌های غیرتقسیم شونده را آلوده می‌کنند. ازآنجایی‌که پرووِیروس‌ها می‌توانند در DNA کروموزومی سلول‌های میزبان ادغام شوند، به بیان دائمی ژن منجر می‌شوند (۳۷). ژن‌درمانی به‌واسطه ناقل LV کارایی بالاتر و بیان طولانی‌مدت ژن را به همراه دارد. ناقل‌های LV می‌توانند طیف وسیعی از انواع سلول‌ها را آلوده کنند و در ژنوم سلول‌های در حال تقسیم و پس از تقسیم میتوزی ادغام شوند که منجر به بیان طولانی‌مدت ژن هم در شرایط آزمایشگاهی و هم در داخل بدن می‌شوند. ناقل‌های LV ویژگی‌های جذابی برای انتقال ژن دارند که می‌توان به انتقال پایدار ژن از طریق ادغام آن در ژنوم میزبان، قابلیت آلوده کردن سلول‌های تقسیم شونده و غیرتقسیم شونده، عدم بیان پروتئین‌های ویروسی پس از ورود به داخل سلول میزبان و همچنین فناوری نسبتاً ساده‌تر برای دست‌کاری و تولید این ناقل‌ها اشاره کرد. بر این اساس، فناوری‌های LV در حال حاضر در مطالعات زیست‌شناسی پایه، بیان بالا و پایدار ژن، خاموش کردن ژن، تولید حیوانات تراریخته، القای سلول‌های پرتوان، اصلاح سلول‌های بنیادی، یا ویرایش ژن مورداستفاده قرارگرفته است (۳۹, ۳۸).

[1] Moloney murine leukaemia virus
[2] Adeno associated virus
[3] Lentivirus
[4] γ-Retrovirus (RV)
[5] Long Terminal Repeat (LTR)

[DOI: 10.61186/JBUMS.30.3.204]

ناقل‌های مشتق شده از ویروس همراه آدنو[1] (AAV): AAV یک ویروس DNA دار تک‌رشته‌ای و غیر بیماری‌زا از خانواده پارووویروس‌ها است. ژنوم نوع وحشی AAV دارای ساختارهای سنجاق سری و دارای تکرارهای انتهایی معکوس[2] (ITR) در هر دو انتهای توالی Rep-Cap است که برای بسته‌بندی ویروس ضروری است. برای بیان پروتئین هدف با استفاده از سامانه ناقلی AAV، توالی پروموتور و ژن موردنظر به‌جای توالی Rep وCap قرار می‌گیرند (۴۰).

ویروس AAV برای همانندسازی نیازمند یک ویروس کمکی (مثل آدنوویروس) می‌باشد، بنابراین فاقد توانایی همانندسازی در شرایط درون‌تنی است. بعلاوه، انتقال ژن توسط AAV منجر به حفظ ژن انتقال‌یافته به‌صورت خارج کروموزومی (اپی‌زومال) می‌گردد و غالباً توانایی الحاق به درون ژنوم را ندارد؛ بنابراین ناقل‌های AAV حداقل میزان خطر جهش در اثر الحاق ژن به درون ژنوم را دارند و در مقایسه با ناقل‌های LV سمیت ژنی و جهش‌زایی کمتری دارند. ولی نسخه‌های خارج کروموزومی AAV طی تقسیم‌های متعدد سلولی در داخل سلول رقیق‌شده و از دست می‌روند؛ بنابراین ژن‌درمانی به‌واسطه AAV به سلول‌های خاموش یا غیرتقسیم شونده محدود می‌شود. ناقل‌های AAV می‌توانند سلول‌های غیر تقسیم شونده مثل هپاتوسیت‌ها را آلوده کنند (۴۲, ۴۱, ۲). ناقل‌های AAV معایبی نیز دارند که از آن جمله می‌توان به محدودیت حمل ژن خارجی تا حدود ۴/۵ تا ۵ کیلوبازی که باید بین ITRs آن درج گردد، اشاره نمود. چنانچه برعلیه ویروس آنتی‌بادی خنثی‌کننده در بدن انسان وجود داشته باشد، امکان استفاده از این ناقل برای انتقال ژن وجود ندارد. لذا به‌واسطه وجود ایمنی قبلی به ویروس والد در ۲۰ الی ۳۰ درصد از بیماران نیاز به یک سیستم سرکوب ایمنی برای یک دوره زمانی پس از ژن‌درمانی است (۲۱, ۲). اگرچه اولین محصولات ناقل‌های AAV برای ژن‌درمانی هموفیلی A و B ممکن است به‌زودی وارد بازار شوند، اما فقط گروه خاصی از بیماران واجد شرایط خواهند بود زیرا در این افراد باید تیتر آنتی‌بادی خنثی‌کننده AAV پایین‌تر از یک حد مشخص باشد و هپاتیت فعال یا عفونت HIV [3] یا سایر بیماری‌های کبدی نداشته باشند (۲۲).

سازمان غذا و داروی آمریکا در نوامبر ۲۰۲۲ اولین ژن‌درمانی برای هموفیلی B (مبتنی بر ناقل ویروسی AAV) را تأیید کرد. به‌این‌ترتیب به افراد مبتلا به اختلال ارثی فاکتور ۹ یک گزینه درمانی را ارائه داد که به‌طور بالقوه می‌تواند خونریزی آن‌ها را برای سال‌ها بدون نیاز به تزریق‌های مکرر کنترل کنند. این داروی ژن‌درمانی Hemgenix نام دارد و توسط شرکت بیوتکنولوژی هلندی UniQure و با مشارکت CSL Behring توسعه داده‌شده است (۴۵-۴۳).

ژن‌درمانی هموفیلی B بعد از دو دهه تلاش، امروزه به یک گزینه درمانی در دسترس برای بیماران مبتلا به هموفیلی B تبدیل شده است و نشان‌دهنده پیشرفت مهم در توسعه درمان‌های نوآورانه برای بیماران هموفیلی B است. اگرچه هزینه ۳/۵ میلیون دلاری که برای به‌کارگیری این روش درمانی پیش‌بینی‌شده بالا به نظر می‌رسد اما شرکت سازنده اظهار اطمینان کرده که این قیمت صرفه‌جویی قابل‌توجهی در هزینه‌ها برای سیستم کلی مراقبت‌های بهداشتی ایجاد می‌کند و بار اقتصادی هموفیلی B را به میزان قابل‌توجهی کاهش می‌دهد (۴۶). همچنین در ۲۹ ژانویه ۲۰۲۳ ,Roctavian که یک روش ژن درمانی هموفیلی A مبتنی بر AAV و ساخت شرکت بیوتکنولوژی BioMarin می باشد توسط سازمان غذا و داروی آمریکا مورد تأیید قرار گرفت (۴۷).

- ویرایش ژن با استفاده از ابزارهای تصحیح یا درج ژن

رویکرد ویرایش ژنی با بهره‌گیری از سیستم‌های طبیعی ترمیم DNA توسعه‌یافته است. ژن درج‌شده حاصل در طول تقسیم سلولی رقیق نمی‌شود و بیان دائمی ژن و درمان موفقیت‌آمیز در کودکان خردسال را امکان‌پذیر می‌سازد. درحالی‌که خطرات ناشی از جهش DNA خارج از ژن هدف و همچنین سمیت ژنی هنوز به بررسی بیشتر نیاز دارد، اولین کارآزمایی بالینی برای هموفیلی با استفاده از فناوری نوکلئاز انگشت روی (zinc finger) انجام شد

[1] Adeno-associate Virus (AAV)
[2] Inverted Terminal Repeat (ITR)
[3] Human Immunodeficiency Virus (HIV)

[DOI: 10.61186/JBUMS.30.3.204]

(ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02695160) (۴۸).

روش دوم که احتمالاً روش کارآمدتری است ویرایش ژن با استفاده از سیستم CRISPR/Cas9 می‌باشد که هنوز به مرحله ارزیابی بالینی نرسیده است (۲۲, ۳۷, ۴۹). ازآنجایی‌که فناوری‌های ویرایش ژنوم به‌طور قابل‌توجهی در حال بهبود هستند، پیش‌بینی می‌شود در آینده این فناوری کاربردهای وسیعی پیدا کند. ویرایش ژنوم به‌طور نظری می‌تواند در مرحله جنینی انجام شود، اما در حال حاضر به دلیل نگرانی‌های اخلاقی و ایمنی پذیرفته نیست؛ بنابراین به‌منظور درمان بیماری‌های ژنتیکی اجزای ویرایش ژنوم باید به سلول‌های سوماتیک انتقال داده شوند (۵۰, ۴۱).

- انتقال ژن به‌صورت برون‌تنی

از اواخر دهه ۱۹۹۰ تلاش‌هایی با روش برون‌تنی جهت انتقال ژن فاکتور ۸ با استفاده از ناقل‌های ویروسی و غیرویروسی انجام گرفت (۳۲). انتقال ژن به‌صورت برون تنی با استفاده از ناقل‌های مشتق شده از لنتی ویروس‌ها از طریق ترانسداکشن و پیوند مجدد سلول‌های بنیادی خون‌ساز اتولوگ می‌تواند cDNA موردنظر را وارد ژنوم کرده و بیان طولانی‌مدت آن را فراهم کند. کارآزمایی بالینی در ایالات‌متحده و چین پیشنهادشده است (۲۲).

سلول درمانی هموفیلی

سلول درمانی به‌عنوان یک روش برون‌تنی از راهکارهای مهم و امیدوارکننده در درمان هموفیلی به‌منظور تولید درون‌زاد و دائمی فاکتورهای ۸ و ۹ توسط سلول‌های خود بیمار به شمار می‌رود. مزیت سلول درمانی اجتناب از انتشار سیستمیک ناقل می‌باشد، ازاین‌رو عوارض جانبی مرتبط با ناقل کاهش می‌یابد. موفقیت سلول درمانی به نوع سلول‌های اهداکننده، در دسترس بودن آن‌ها، سن میزبان، روش پیوند، سطح پیوند و تولید فاکتور موردنظر توسط سلول‌های پیوند زده‌شده بستگی دارد. مشکل اصلی در سلول درمانی حفظ طولانی مدت سلول‌های پیوند زده به‌منظور بیان فاکتورهای انعقادی و همچنین پاسخ‌های ایمنی در برابر ناقل‌های انتقال ژن است؛ بنابراین امروزه تلاش‌ها بر روی شناسایی نوع سلولی بهینه و توسعه تکنیک‌های پیوند سلولی متمرکزشده است. در این میان منابع سلولی بالقوه‌ای به‌منظور تولید فاکتور ۸ معرفی شده‌اند که شامل سلول‌های اندوتلیال سینوسی کبد[1] (LSECs)، سلول‌های بنیادی مشتق شده از مغز استخوان[2] (BMSCs)، سلول‌های اندوتلیال خون[3] (BOECs) و سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیال که از تمایز سلول‌های بنیادی پرتوان القایی[4] (iPSCs) و سلول‌های بنیادی جنینی[5] (ESCs) به دست می‌آیند (۵۱). اولین کارآزمایی سلول درمانی بالینی توسط Roth و همکاران در سال ۲۰۰۱ صورت گرفت. آن‌ها فیبروبلاست‌هایی که ژن فاکتور ۸ را با استفاده از یک ناقل پلاسمیدی بیان کردند را به صفاق بیمار پیوند زدند. در آن مطالعه هر یک از شش بیمار مبتلابه نوع حاد هموفیلی A فعالیت افزایش‌یافته فاکتور ۸ را نشان دادند اما در هیچ‌کدام بیان طولانی‌مدتی شناسایی نشد (۲۵). از منظر حفظ طولانی‌مدت سلول‌ها، امروزه استفاده از سلول‌های بنیادی پرتوان القایی (iPS) موردتوجه قرارگرفته است. Xu و همکاران اولین شواهد درمان هموفیلی توسط سلول‌های iPS را گزارش کردند. تزریق داخل پورتال سلول‌های iPS پس از تمایز آن‌ها به سلول‌های اندوتلیال، تمایل به خونریزی موش‌های هموفیلی Aرا بهبود بخشید. آن‌ها با موفقیت سلول‌های iPS را به‌منظور بیان فاکتور ۸ تولید کردند و سپس مشاهده کردند که پیوند زیر جلدی این سلول‌ها به موش منجر به تولید یک طیف درمانی فاکتور ۸ گردیده است (۵۲, ۵۳). Ramaswamy و همکاران در سال ۲۰۱۸ استفاده از سلول درمانی را به‌عنوان روش درمانی طولانی‌مدت بالقوه برای درمان هموفیلی B در مدل موش دارای کمبود فاکتور ۹ نشان دادند. آن‌ها ثابت کردند که سلول‌های کبدی انسان پیوند داده شده برای بیش از یک سال عملکردی باقی می‌مانند و فاکتور ۹ را در سطوح درمانی ترشح می‌کنند (۵۴).

[1] Liver Sinusoidal Endothelial Cells (LSECs)
[2] Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells (BMSCs)
[3] Blood Outgrowth Endothelial Cells (BOECs)
[4] Induced Pluripotent Stem Cells (iPSCs)
[5] Embryonic Stem Cells (ESCs)

[DOI: 10.61186/JBUMS.30.3.204]

جدول ۱- لیست محصولات نوترکیب مورد استفاده در درمان هموفیلی A و B

نام محصول	شرکت تولید کننده	سال تأیید توسط غذا و داروی آمریکا	نوع محصول	بیماری
ADVATE	Takeda Pharmaceutical	۲۰۰۳	فاکتور انعقادی ۸	هموفیلی A
Adynovate	Baxalta	۲۰۱۵	فاکتور ۸ انعقادی پگیله شده	هموفیلی A
Afstyla	Baxalta	۲۰۱۶	فاکتور انعقادی ۸	هموفیلی A
Altuviiio	sanofi	۲۰۲۳	فاکتور انعقادی ۸ فیوژن با Fc-VWF-XTEN	هموفیلی A
Eloctate	Biogen	۲۰۱۴	فاکتور انعقادی ۸ فیوژن با Fc	هموفیلی A
Esperoct	Novo Nordisk	۲۰۱۹	فاکتور انعقادی ۸ پگیله شده	هموفیلی A
Jivi	Bayer	۲۰۱۸	فاکتور انعقادی ۸ پگیله شده	هموفیلی A
Kogenate FS	Bayer	۱۹۹۳		هموفیلی A
BeneFIX	pFizer	۱۹۹۷	فاکتور انعقادی ۹	هموفیلی B
Rixubis,	Boxster	۲۰۱۳	فاکتور انعقادی ۹	هموفیلی B
Alprolix	Biogen	۲۰۱۴	فاکتور انعقادی ۹ فیوژن با Fc	هموفیلی B
Ixinity	Aptevo	۲۰۱۵	فاکتور انعقادی ۹	هموفیلی B
Rebinyn	Novo Nordisk	۲۰۱۷	فاکتور انعقادی ۹ پگیله شده	هموفیلی B

نتیجه‌گیری

پیشرفت در حوزه درمان هموفیلی با گزارش خالص‌سازی محصولات پلاسمایی در سال ۱۹۴۶ آغاز گردید و در چند دهۀ گذشته بسیار چشمگیر بوده است و در طی سالیان گذشته امید به زندگی و کیفیت زندگی بیماران مبتلابه هموفیلی را به‌طور قابل‌توجهی بهبود داده است. روش‌های غربالگری برای پاتوژن‌های ویروسی آلوده‌کننده خون و فراورده‌های خونی همراه با تکنیک‌های پیشرفته ویروس کشی برای از بین بردن پاتوژن‌ها، ترکیبات مشتق شده از پلاسما را ایمن‌تر ساخته است. کلونینگ ژن فاکتور ۸ و سپس فاکتور ۹ راه را برای تولید فاکتورهای انعقادی با استفاده از تکنولوژی DNA نوترکیب هموار ساخت. امروزه نیمه‌عمر کوتاه فاکتورهای انعقادی ۸ و ۹ با استفاده از فناوری‌های نوآورانه افزایش‌یافته است. استفاده از ترکیبات انعقادی نوترکیب به‌منظور درمان جایگزینی علیرغم بی‌خطری و اثربخشی چشمگیری که ایجاد می‌کند، منجر به تولید آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده علیه فاکتور انعقادی تزریق‌شده می‌شود و درنتیجه فعالیت انعقادی آن‌ها را خنثی می‌کند. بعلاوه جایگزین‌درمانی یک روش درمان دائمی نبوده و فرد بیمار باید تا آخر عمر دارو دریافت نماید که این امر بار مالی فراوانی به بیمار و همچنین نظام سلامت کشور تحمیل می‌کند که به لحاظ روانی نیز برای بیمار مشکل‌آفرین خواهد شد. استفاده از روش‌های غیرجایگزین‌درمانی از جمله ژن‌درمانی توسط ناقل‌های ویروسی و غیر ویروسی می‌تواند مشکلات مربوط به جایگزین‌درمانی را مرتفع نماید. در طول دو سال اخیر آزمون‌های بالینی موفقیت آمیز برای ژن‌درمانی با استفاده از ناقل‌های مشتق شده از ویروس همراه آدنو (AAV) هم برای درمان هموفیلی A و هم برای هموفیلی B به انجام رسیده و برای تجویز مورد تأیید قرار گرفته‌اند. همچنین روش‌های جدید مبتنی بر ژن- و سلول درمانی و همچنین روش‌های مبتنی بر ویرایش ژنومی نیز برای درمان هموفیلی در دست بررسی است.

تقدیر و تشکّر

بدین‌وسیله از همکاری دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات بیماری‌های قلب و عروق دانشگاه علوم پزشکی بیرجند قدردانی می‌گردد.

[DOI: 10.61186/JBUMS.30.3.204]

تضاد منافع

پژوهش حاضر وجود ندارد.

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافعی در

منابع:

1- George LA, Sullivan SK, Giermasz A, Rasko JE, Samelson-Jones BJ, Ducore J, et al. Hemophilia B gene therapy with a high-specific-activity factor IX variant. N Engl J Med. 2017; 377(23): 2215-27. DOI: 10.1056/NEJMoa1708538

2- Ohmori T, Mizukami H, Ozawa K, Sakata Y, Nishimura S. New approaches to gene and cell therapy for hemophilia. J Thromb Haemost. 2015. 13: S133-S42. DOI: 10.1111/jth.12926

3. Ghasemi F, Zomorodipour A, Karkhane AA, Khorramizadeh MR. In silico designing of hyper-glycosylated analogs for the human coagulation factor IX. J Mol Graph Model. 2016; 68: 39-47. DOI: 10.1016/j.jmgm.2016.05.011

4. Butterfield JS, Hege KM, Herzog RW, Kaczmarek R. A molecular revolution in the treatment of hemophilia. Mol Ther. 2020; 28(4): 997-1015. DOI: 10.1016/j.ymthe.2019.11.006

5. Chuah MK, Evens H, VandenDriessche T. Gene therapy for hemophilia. J Thromb Haemost. 2013; 1199-110. DOI: https://doi.org/10.1111/jth.12215

6. Samelson-Jones BJ, Arruda VR. Protein-engineered coagulation factors for hemophilia gene therapy. Mol Ther Methods Clin Dev. 2019; 12: 184-201. DOI: 10.1016/j.omtm.2018.12.007

7. Franchini M, Veneri D, Lippi G. Inherited factor XI deficiency: a concise review. Hematology. 2006; 11(5-6): 307-9. DOI: 10.1080/10245330600921964

8. Kay MA, Manno CS, Ragni MV, Larson PJ, Couto LB, McClelland A, et al. Evidence for gene transfer and expression of factor IX in haemophilia B patients treated with an AAV vector. Nat Genet. 2000. 24(3): 257-61. DOI: 10.1038/73464

9. Kevane B, O'Connell N. The current and future role of plasma-derived clotting factor concentrate in the treatment of haemophilia A. Transfus Apher Sci. 2018. 57(4): 502-6. DOI: 10.1016/j.transci.2018.07.012

10. Hermans C, Brackmann HH, Schinco P, Auerswald G. The case for wider use of recombinant factor VIII concentrates. Crit Rev Oncol Hematol. 2012; 83(1): 11-20. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2011.08.001

11. Hoots Wk. The future of plasma-derived clotting factor concentrates. Haemophilia. 2001; 7: 4-9. DOI: 10.1046/j.1365-2516.2001.00099.x

12. Ghasemi F, Zomorodipour A, Karkhane A A, Khorramizadeh M. Production of a novel hyper-glycosylated human coagulation factor IX in HEK293 cells, using a Glyco-engineering Approach. Modares Journal of Biotechnology. 2020; 11(3): 50-8. URL: http://biot.modares.ac.ir/article-22-32209-en.html

13. Ghasemi F, Khorramizadeh MR, Karkhane AA, Zomorodipour A. Studying the Expression Efficiencies of Human Clotting Factor IX Analogs, Rationally-designed for Hyper-glycosylation. Iran J Pharm Res. 2021; 20(2): 523-35. DOI: 10.22037/ijpr.2020.112027.13503

14. Swiech K, Picanço-Castro V, Covas DT. Production of recombinant coagulation factors: are humans the best host cells? Bioengineered. 2017; 8(5): 462-70. DOI: 10.1080/21655979.2017.1279767

15. Armstrong EP, Malone DC, Krishnan S, Wessler MJ. Costs and utilization of hemophilia A and B patients with and without inhibitors. J Med Econ. 2014; 17(11): 798-802. DOI: 10.3111/13696998.2014.953679

16. Schulte S. Pioneering designs for recombinant coagulation factors. Thromb Res. 2011; 128: S9-S12. DOI: 10.1016/S0049-3848(12)70003-8

17. Miao CH. Hemophilia A gene therapy via intraosseous delivery of factor VIII-lentiviral vectors. Thromb J. 2016; 14(1): 93-9. DOI: 10.1186/s12959-016-0105-1

18. Schulte S. Innovative coagulation factors: albumin fusion technology and recombinant single-chain factor VIII. Thromb Res. 2013; 131: S2-S6. DOI: 10.1016/S0049-3848(13)70150-6

[DOI: 10.61186/JBUMS.30.3.204]

19. Bontempo FA, Lewis JH, Gorenc TJ, Spero JA, Ragni MV, Scott JP, et al. Liver transplantation in hemophilia A. Blood. 1987; 69(6): 1721-4. PMCID: PMC2965591

20. Kidder W, Chang EY, M. Moran C, Rose SC, von Drygalski A. Persistent vascular remodeling and leakiness are important components of the pathobiology of re-bleeding in hemophilic joints: two informative cases. Microcirculation. 2016; 23(5): 373-8. DOI: 10.1111/micc.12273

21. Doshi BS, Arruda VR. Gene therapy for hemophilia: what does the future hold? Ther Adv Hematol. 2018; 9(9): 273-93. DOI: 10.1177/2040620718791933

22. Reiss UM, Zhang L, Ohmori T. Hemophilia gene therapy—New country initiatives. Haemophilia. 2021; 27: 132-41. DOI: 10.1111/hae.14080

23. VandenDriessche T, Chuah MK. Hemophilia gene therapy: ready for prime time? Hum Gene Ther. 2017; 28(11): 1013-23. DOI: 10.1089/hum.2017.116

24. Lin Y, Chang L, Solovey A, Healey JF, Lollar P, Hebbel RP. Use of blood outgrowth endothelial cells for gene therapy for hemophilia A. Blood. 2002; 99(2): 457-62. DOI: 10.1182/blood.v99.2.457

25. Roth DA, Tawa Jr NE, O'Brien JM, Treco DA, Selden RF. Nonviral transfer of the gene encoding coagulation factor VIII in patients with severe hemophilia A. N Engl J Med. 2001; 344(23): 1735-42. DOI: 10.1056/NEJM200106073442301

26. Yant SR, Meuse L, Chiu W, Ivics Z, Izsvak Z, Kay MA. Somatic integration and long-term transgene expression in normal and haemophilic mice using a DNA transposon system. Nat Genet. 2000; 25(1): 35-41. DOI: 10.1038/75568

27. VandenDriessche T, Ivics Z, Izsvák Z, Chuah MK. Emerging potential of transposons for gene therapy and generation of induced pluripotent stem cells. Blood.2009; 114(8): 1461-8. DOI: 10.1182/blood-2009-04-210427

28. Keeler AM, ElMallah MK, Flotte TR. Gene therapy 2017: progress and future directions. Clin Transl Sci. 2017; 10(4): 242-8. DOI: 10.1111/cts.12466

29. CROOKE ST. Molecular mechanisms of antisense drugs: RNase H. Antisense Nucleic Acid Drug Dev. .1998; 8(2): 133-4. DOI: 10.1089/oli.1.1998.8.133

30. Ulmer JM, Deck RR, DeWitt CM, Friedman A, Donnelly JJ, Liu MA. Protective immunity by intramuscular injection of low doses of influenza virus DNA vaccines. Vaccine. 1994; 12(16): 1541-4. DOI: 10.1016/0264-410x(94)90081-7

31. Heinzerling L, Burg G, Dummer R, Maier T, Oberholzer PA, Schultz J, et al. Intratumoral injection of DNA encoding human interleukin 12 into patients with metastatic melanoma: clinical efficacy. Hum Gene Ther. 2005; 16(1): 35-48. DOI: 10.1089/hum.2005.16.35

32. Hough C, Lillicrap D. Gene therapy for hemophilia: an imperative to succeed. J Thromb Haemost. 2005; 3(6): 1195-205. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2005.01401.x

33. Powell JS, Ragni MV, White GC, Lusher JM, Hillman-Wiseman C, Moon TE, et al. Phase 1 trial of FVIII gene transfer for severe hemophilia A using a retroviral construct administered by peripheral intravenous infusion. Blood. 2003; 102(6): 2038-45. DOI: 10.1182/blood-2003-01-0167

34. VandenDriessche T, Vanslembrouck V, Goovaerts I, Zwinnen H, Vanderhaeghen ML, Collen D, et al. Long-term expression of human coagulation factor VIII and correction of hemophilia A after in vivo retroviral gene transfer in factor VIII-deficient mice. Proc Natl Acad Sci U S A.1999; 96(18): 10379-84. DOI: 10.1073/pnas.96.18.10379

35. VandenDriessche T. Challenges and progress in gene therapy for hemophilia A. Blood. 2003; 102(6): 1938-9. DOI: 10.1182/blood-2003-07-2362

36. Mátrai J, Chuah MK, VandenDriessche T. VandenDriessche, Recent advances in lentiviral vector development and applications. Mol Ther. 2010; 18(3): 477-90. DOI: 10.1038/mt.2009.319

37. Dunbar CE, High KA, Joung JK, Kohn DB, Ozawa K, Sadelain M. Gene therapy comes of age. Science. 2018; 359(6372): eaan4672. DOI: 10.1126/science.aan4672

[DOI: 10.61186/JBUMS.30.3.204]

38. Johnston JM, Denning G, Doering CB, Spencer HT. Generation of an optimized lentiviral vector encoding a high-expression factor VIII transgene for gene therapy of hemophilia A. Gene Ther. 2013; 20(6): 607-15. DOI: 10.1038/gt.2012.76

39. Milani M, Canepari C, Liu T, Biffi M, Russo F, Plati T, et al. Liver-directed lentiviral gene therapy corrects hemophilia A mice and achieves normal-range factor VIII activity in non-human primates. Nat Commun. 2022; 13(1): 2454. DOI: 10.1038/s41467-022-30102-3

40. Allay JA, Sleep S, Long S, Tillman DM, Clark R, Carney G, et al. Good manufacturing practice production of self-complementary serotype 8 adeno-associated viral vector for a hemophilia B clinical trial. Hum Gene Ther. 2011; 22(5): 595-604. DOI: 10.1089/hum.2010.202

41. Ohmori T. Advances in gene therapy for hemophilia: basis, current status, and future perspectives. Int J Hematol. 2020; 111(1): 31-41. DOI: 10.1007/s12185-018-2513-4

42. George LA. Hemophilia gene therapy comes of age. Blood Adv. 2017; 1(26): 2591-9. DOI: 10.1182/bloodadvances.2017009878

43. Navale MS, Bhosale MK, Mohite MM, Navale MS.Hemgenix as First Gene Therapy for Treatment of Haemophilia B. Haemophilia, 2022; 2(1). DOI: 10.48175/IJARSCT-7657

44. Larkin H. First FDA-Approved Gene Therapy for Hemophilia. JAMA. 2023; 329(1): 14-14. DOI: 10.1001/jama.2022.23510

45. Herzog RW, VandenDriessche T, Ozelo MC. First hemophilia B gene therapy approved: More than two decades in the making. Mol Ther. 2023; 31(1): 1-2. DOI: 10.1016/j.ymthe.2022.12.001

46. Tanne JH. FDA approves $3.5 m gene therapy for adults with haemophilia B. 2022; BMJ. Publishing Group. DOI: 10.1136/bmj.o2858

47. Philippidis A. BioMarin's ROCTAVIAN Wins Food and Drug Administration Approval As First Gene Therapy for Severe Hemophilia A. Hum Gene Ther. 2023; 34(15-16): 665-8. DOI: 10.1089/hum.2023.29251.bfs

48. Rogers GL, Chen HY, Morales H, Cannon PM. Homologous recombination-based genome editing by clade F AAVs is inefficient in the absence of a targeted DNA break. Mol Ther. 2019; 27(10): 1726-36. DOI: 10.1016/j.ymthe.2019.08.019

49. Perrin GQ, Herzog RW, Markusic DM. Update on clinical gene therapy for hemophilia. Blood. 2019; 133(5): 407-14. DOI: 10.1182/blood-2018-07-820720

50. Pipe SW,Selvaraj SR. Gene editing in hemophilia: a “CRISPR” choice? Blood. 2019; 133(26): 2733-4. DOI: 10.1182/blood.2019001180

51. Fomin ME, Togarrati PP, Muench MO. Progress and challenges in the development of a cell-based therapy for hemophilia A. J Thromb Haemost. 2014; 12(12): 1954-65. DOI: 10.1111/jth.12750

52. Xu D, Alipio Z, Fink LM, Adcock DM, Yang J, Ward DC, et al. Phenotypic correction of murine hemophilia A using an iPS cell-based therapy. Proc Natl Acad Sci U S A. 2009; 106(3): 808-13. DOI: 10.1073/pnas.0812090106

53. Kashiwakura Y, Ohmori T, Mimuro J, Madoiwa S, Inoue M, Hasegawa M, et al. Production of functional coagulation factor VIII from iPSCs using a lentiviral vector. Haemophilia. 2014; 20(1): e40-4. DOI: 10.1111/hae.12311

54. Ramaswamy S, Tonnu N, Menon T, Lewis BM, Green KT, Wampler D, et al. Autologous and heterologous cell therapy for hemophilia B toward functional restoration of factor IX. Cell Rep. 2018; 23(5): 1565-80. DOI: 10.1016/j.celrep.2018.03.121

[DOI: 10.61186/JBUMS.30.3.204]