
بیوتکنولوژی میکروبی

در درمان بیماری‌های ویروسی

مؤلفین:

اکرم امانی

کارشناس ارشد بیوتکنولوژی میکروبی دانشگاه علوم پزشکی لرستان، شبکه بهداشت شهرستان ازنا

رضا یاراحمدی

دانشجوی دکترای تخصصی پزشکی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد

دکتر محسن صفایی

دکتری تخصصی بیوتکنولوژی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد

محمدامین کابلی

دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد

زیر نظر:

دکتر مهدی بنی‌طالبی دهکردی

عضو هیئت علمی گروه پزشکی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد

دکتر وحید ورمزبازی

دکتری داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

فهرست

- ◇ پیشگفتار ۷
- ◇ فصل ۱: کلیات ۹
- ◇ فصل ۲: پاپیلومای انسانی و پیشگیری آن ۱۱
- ◇ فصل ۳: روش‌های مطالعه در تولید پروتئین نوترکیب از سویه ۱۱ ویروس پاپیلومای انسانی ۴۹
- ◇ فصل ۴: مروری بر یافته‌ها ۷۵
- ◇ فصل ۵: جمع‌بندی ۷۹
- ◇ منابع ۸۳
- ◇ واژه‌یاب ۸۷

تقدیم بہ

ساحت مقدس بقیہ اللہ الاعظم بہ امید گوشہ چشمی

پیشگفتار

بیوتکنولوژی میکروبی علمی نوین است که با کمک آن می‌توان بسیاری از بیماری‌ها از جمله بیماری‌های ویروسی را درمان کرد، همچنین با کمک روش‌های تولید دارو و واکسن با استفاده از روش‌های بیوتکنولوژی دیدگاه جدیدی به این علم باز شده و توانسته است اکثر فعالیت‌های علمی بشر را تقویت نماید. از این رو در عفونت‌های ویروسی مسری با استفاده از دستورزی‌های انجام گرفته روی ماده ژنتیکی این ویروس‌ها می‌توان روش‌های درمانی و پیشگیرانه‌ای بر علیه اکثر عفونت‌های ویروسی بکار برد. با تکثیر و انتشار میکروب‌ها و ویروس‌های بیماری‌زا روش‌های تولید واکسن از اجزای خود عامل بیمارزا و سایر روش‌های جدید مبتنی بر مهندسی ژنتیک رواج یافت بطوریکه علاوه بر تولید واکسن، داروهای نوترکیب جدید که بر اساس مهندسی ژنتیک تولید می‌شوند نیز در حال گسترش می‌باشد. ویروس پاپیلوما‌ی انسانی، از جمله ویروس‌های بیماری‌زایی می‌باشد که چند سويه از آن باعث ایجاد سرطان از جمله سرطان سرویکس می‌شود که اخیرا با کمک واکسن‌های چند ظرفیتی می‌توان اقدامات پیشگیرانه‌ای بر علیه این بیماری ایجاد کرد. در این مطالعه با کمک علم بیوتکنولوژی میکروبی راهی به سوی پیشگیری و درمان سایر بیماری‌ها گشوده می‌شود.

برای این کار با تولید اجزای ویروسی از روش‌های تولید پروتئین بصورت نوترکیب و با کلون کردن ژنوم ویروسی درون یک وکتور استفاده شده است که در آینده چشم‌انداز بیشتری جهت استفاده از بیوتکنولوژی میکروبی برای پیشگیری و درمان سایر عفونت‌ها ایجاد خواهد کرد.

با احترام

اکرم امانی

بیوتکنولوژی میکروبی

Amaniakram2222@gmail.com

تشکر و قدردانی



خداوند متعال را سپاسگذارم که در تمام مراحل زندگی‌ام و بخصوص این مرحله و با تمام مشکلات پیش‌رو مرا یاری نمود.

از استاد عزیزم سرکار خانم دکتر پروانه جعفری که در تمام مراحل کار مرا راهنمایی و حمایت نمودند، سپاسگذارم...

از مادر فداکار و خواهر عزیزم که همواره پشتیبان و دلسوز من در تمام زندگی‌ام بودند، کمال تشکر را دارم.

همچنین از تمامی عزیزانی که در مراحل مختلف این تحقیق هر چند کوچک، یاری‌ام نمودند...

مقدمه

ویروس پاپیلوما‌ی انسانی یا HPV^۱، ویروسی است که از طریق آمیزش جنسی و تماس مستقیم بین پوست افراد انتقال می‌یابد. بیش از ۱۰۰ سویه مختلف از HPV شناخته شده است که انواع خاصی از آنها می‌توانند ضایعات پیش سرطانی یا سرطان ایجاد کنند. این سویه‌ها تیپ‌های HPV16، HPV18 می‌باشند. که موجب بیشتر از ۷۰٪ از موارد بیماری در سراسر دنیا می‌شوند. تقریباً ۴۰ نوع از این ویروس‌ها را HPV‌های نوع تناسلی می‌نامند سویه‌های کم خطر ویروس پاپیلوما مانند ژنوتیپ‌های ۱۱ و ۶ می‌باشند که ممکن است موجب زگیل تناسلی شوند. سایر گونه‌های کم خطر HPV شامل: تیپ‌های ۴۰/۴۲/۴۳/۴۴/۵۴/۶۱/۷۲ می‌باشند که ممکن است موجب سایر انواع گونه‌های پر خطر نیز شامل: تیپ‌های ۱۶/۱۸/۳۱/۳۵/۳۹/۴۵/۵۱/۵۲/۵۶/۵۸/۶۶/۶۸ می‌باشند و سایر انواع گونه‌های پر خطر نیز شامل: تیپ‌های ۱۶/۱۸/۳۱/۳۵/۳۹/۴۵/۵۱/۵۲/۵۶/۵۸/۶۶/۶۸ می‌باشند. عفونت HPV متداولترین بیماری انتقال داده شده از طریق جنسی در سراسر دنیا است که بیش از ۵۰٪ از بزرگسالان فعال از نظر جنسی در طی زندگیشان با این ویروس عفونی می‌شوند که خطر این عفونت با تعداد شرکای جنسی در طی یک زندگی مشخص افزایش می‌یابد. در بیشتر موارد ویروس بطور طبیعی حذف می‌شود و در صورتی که ویروس مقاومت زیادی داشته باشد می‌تواند موجب زگیل تناسلی - شرایط پیش سرطانی یا سرطان شود. HPV یک ویروس تومور DNA است که منجر به تکثیر اپیتلیال در هر دو سطح موکوسی و جلدی می‌شود. بعلاوه HPV مسئول شروع علت اولیه از عفونت‌های انتقال داده شده جنسی است. در حال حاضر بیشتر از ۹۰٪ از سرطان‌های مقعد وابسته به عفونت‌های HPV هستند، بخصوص همراه با زیرگونه‌های HPV پرخطر^۲ (hrHPV؛ HPV پر خطر) و گونه HPV16 می‌باشد. بیشتر از ۹۰٪ از سرطانها در سراسر دنیا بعلت ویروس HPV می‌باشد. بیشتر سویه‌های کم خطر، HPV (HPV-6, HPV-11) می‌باشند که در این بررسی از سویه HPV-11 جهت بررسی بیان ژنی آن در میزبان لاکتوباسیلوس استفاده خواهد شد.

پاپیلوما ویروس‌ها گروهی از ویروس‌های کوچک هستند که در بسیاری از مهره‌داران بزرگ از جمله انسان،

1. Human Papilloma Virus
2. High-risk Human Papilloma Viruses

زگیل‌هایی را ایجاد می‌کنند. این ویروس‌ها تاریخچه ارزشمند طولانی بیشتر از ۳۰۰ میلیون سال دارند و شامل یک گروه متنوع از بیشتر از ۱۵۰ ویروس مرتبط که به مرور زمان از میزبان‌های انسانی و حیوانی، میزبان‌های حیوانی شامل: خزندگان و پرندگان و گونه‌های حیوانی دیگر جدا شده‌اند. بعلاوه انسان‌ها تنها مخزن شناخته شده برای این ویروس‌ها است. این ویروس‌ها توانایی ایجاد بدخیمی در انسان و حیوانات را دارند. بعضی از پاپیلوما ویروس‌های انسانی عامل ایجاد سرطان گردن رحم و تومورهای اپی‌تلیالی دیگر هستند. زگیل‌های تناسلی در زمان یونان باستان و روم شناسایی شده بودند و طبیعت عفونی بودن آنها مشخص شده بود اما تا قرن ۱۹ زگیل‌های تناسلی را مربوط به سیفیلیس و یا گونوره می‌دانستند. کایفو، اولین بار بیش از ۹۰ سال پیش، طبیعت ویروسی زگیل‌های انسانی را ثابت کرد. ریچارد شاپ در سال ۱۹۳۳ اولین پاپیلوما ویروس حیوانی را که پاپیلوما ویروس خرگوشی می‌باشد، شناسایی کرد. در اواخر دهه ۱۹۶۰ آلمدیا و همکارانش با استفاده از میکروسکوپ الکترونی ذرات ویروسی را در زگیل‌های تناسلی نشان دادند و در سال ۱۹۶۷ این ویروس‌ها در خانواده پاپوا ویروس انسانی قرار گرفتند. در دهه ۱۹۷۰ مشخص شد که پاپیلوما ویروس انسانی، تیپ‌های متعددی دارد و تشخیص سرطان گردن رحم در آزمایشگاه‌های آسیب شناسی با آزمایش‌های هیستولوژی امکان‌پذیر شد. در سال ۱۹۷۶، زارهاسن، برای اولین بار تشخیص داد که بین وجود زگیل‌های جنسی و سرطان گردن رحم ارتباط معنی‌داری وجود دارد. در اوایل دهه ۱۹۸۰ پاپیلوما ویروس انسانی تیپ ۱۶ از بیوپسی سرطان گردن رحم ایزوله و شناسایی گردید و بعد مشخص شد که یکی از مهمترین تیپ‌های سرطان زای پاپیلوما ویروس انسانی می‌باشد. در سال ۱۹۸۱ اولین ژنوم پاپیلوما ویروس در یک وکتور باکتریایی کلون شد و مقدمه‌ای برای شروع پیشگیری و درمان این بیماری‌ها ایجاد شد.

۱-۲ سرطان دهانه رحم

یکی از مهمترین علل مرگ و میر در زنان در دنیا، سرطان دهانه رحم می‌باشد. از بین سرطان‌های گردن رحم مرتبط با ویروس پاپیلومای انسانی، تقریباً حدود ۷۰٪ توسط دو ژنوتیپ ۱۶ و ۱۸ این ویروس ایجاد می‌شوند که عفونت‌های همراه با ژنوتیپ ۱۶ ویروس پاپیلومای انسانی بطور دقیق در ارتباط با توسعه کارسینومای سرویکس انسانی هستند که یکی از متداولترین علت مرگ در اثر سرطان در زنان در سراسر دنیا می‌باشد. در بین زنان ایرانی ویروس پاپیلومای انسانی ژنوتیپ ۱۶ شیوع بیشتری دارد. در دنیا توسعه سرطان سرویکس در زنان حدود ۵۳۰۰۰۰ زن است و ۲۷۵۰۰۰ زن بعلت این بیماری در سال می‌میرند. در کشورهای توسعه یافته غربالگری در شکل آزمایش پاپ اسمیر و محافظت از طریق واکسیناسیون در دسترس است. با این حال بروز انواع متنوع سرطان سرویکس در زنان در کشورهای توسعه یافته و کمتر توسعه یافته مشابه است.

سویه‌های کم خطر ویروس پاپیلوما مانند ژنوتیپ‌های ۱۱ و ۶ باعث زگیل‌ها یا ضایعات تناسلی می‌شوند. انتقال این ویروس بین افراد از طریق تماس جنسی صورت می‌پذیرد که بیش از ۵۰٪ از بزرگسالان فعال از نظر جنسی، عفونی می‌شوند. خطر این عفونت با تعداد شرکای جنسی در طی زندگی افراد، افزایش می‌یابد. بنابراین راهکارهای پیشگیرانه و درمانی جهت جلوگیری از این عفونت مانند استفاده از روش‌های آمیزی محافظت شده و واکسیناسیون و همچنین انجام تست پاپ اسمیر (جهت تشخیص سلول‌های پیش سرطانی گردن رحم) برای زنان همسر دار وجود دارد. پیشگیری از طریق واکسیناسیون می‌تواند با کمک تولید واکسن‌های چند ظرفیتی و غیره از طریق تولید پروتئین‌های ویروسی پاپیلومای انسانی ژنوتیپ‌های مختلف، مانند تولید واکسن برعلیه عفونت HPV-16 بر روی پروتئین بزرگ L1 و سایر روش‌های تولیدی انجام شود.

۲-۲-۱ زگیل‌های تناسلی

زگیل که به آن وارت و یا Verruca می‌گویند، غده‌ای گوشتی است که انواع آن بر روی دست و پاها رشد می‌کند، اما ممکن است بر روی تمام نقاط بدن رشد کند.

زگیل تناسلی [genital wart, venereal wart, Condyloma acuminatum, Verruca acuminata]، زگیلی که بر روی آلت تناسلی ایجاد می‌شود. زگیل معمولاً یک تومور خوش خیم کوچک و زبر است که می‌تواند به گل کلم یا یک تاول سفت و سخت شباهت داشته باشد. زگیل‌ها در اثر ژنوتایپ‌های کم خطر (low risk HPV)، ژنوتیپ‌های ۱۱ و ۶ ایجاد می‌شوند و وقتی با پوست شخص آلوده تماس ایجاد شود واگیردار هستند. بیش از ۱۵۰ گونه ویروس HPV وجود دارد، آن‌ها می‌توانند بر روی پوست، در داخل دهان، بر روی اندام جنسی و نواحی مقعد رشد کنند.