doi: 10.69107/koomesh-150162

جلد ۲۶ ، شماره ۵، پیاپی ۱۰۳، مهر و آبان ۱۴۰۳

مقاله پژوهشی

اپتوژنتیک : رویکردی نوین در درمان بیماری ارثی شبکیه چشم

سیده سارا آزاده [۱،*]، هدی کشمیری نقاب [۱،]، سید حمیدرضا آزاده [۲]، فرزانه ساجدی [۳]**

[۱]گروه لیزر پزشکی، مرکز تحقیقات لیزر پزشکی، پژوهشکده یارا ،جهاد دانشگاهی علوم پزشکی تهران تهران، ایران
[۲]گروه پرستاری، دانشکده دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساری، ساری، ایران
[۳]گروه ژنتیک، دانشکده علوم و فناوری پیشرفته، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

***نویسنده‌ی مسئول:** گروه لیزر پزشکی ،پژوهشکده یارا، سازمان جهاد دانشگاهی علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. پست الکترونیک: sara.azadehhh@gmail.com

****نویسنده‌ی مسئول:** گروه لیزر پزشکی ،پژوهشکده یارا، سازمان جهاد دانشگاهی علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. پست الکترونیک:hodakeshmiri@ut.ac.ir

دریافت: ۱۴۰۲/۰۷/۰۴ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۲۲

چکیده

هدف: بیماری‌های ارثی شبکیه شایع‌ترین علل نابینایی در کشورهای توسعه‌یافته است که از جمله آن‌ها، بیماری رتینیال پیگمنتوزا به‌عنوان یک اختلال ارثی شبکیه، با از دست دادن فعالیت گیرنده‌های نوری منجر به کوری بیماران می‌شود. تکنیک اپتوژنتیک راه کاری جدید برای درمان این بیماری معرفی می‌شود.

مواد و روش‌ها: در این بررسی، دانش اولیه در مورد اپتوژنتیک معرفی شده و همچنین در ادامه کاربرد اپتوژنتیک به‌عنوان یک ابزار غیر تهاجمی در درمان بیماری‌های رتینالی چشم خلاصه می شود.

یافته‌ها: راه‌های درمانی متعددی در این زمینه ارائه شده که اپتوژنتیک به‌عنوان تکنیک غیرتهاجمی به همراه پروتئین حساس به نور از جمله اپسین‌ها، توانایی اصلاح ژنتیکی این دسته از بیماری‌ها را با استفاده از نور فراهم می‌سازد.

نتیجه‌گیری: با توجه به شفاف بودن چشم، تحریکات نوری سلول‌های عصبی و گیرنده‌های نوری چشم و تغییر عملکرد آن‌ها از طریق دپولاریزاسیون غشاء سلول هدف، اپتوژنتیک می‌تواند روشی موثرتر و به صرفه تر نسبت به سایر روش‌های درمانی باشد. اپتوژنتیک روشی نوین در علم پزشکی است که با بکارگیری از روش‌های ژن درمانی و نوری می‌تواند به منظور درمان بسیاری از بیماری‌های شبکیه‌ی چشم موثر واقع شود.

واژگان کلیدی: اپتوژنتیک، رتینیت پیگمنتوزا، اپسین جانوری، اپسین میکروبی، دژنراسیون ارثی شبکیه

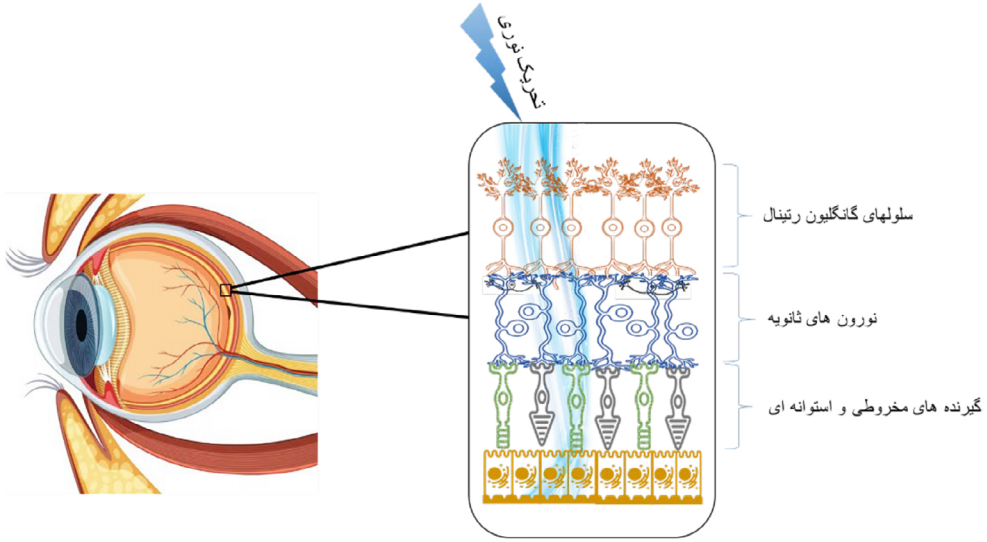
۱. مقدمه

اپتوژنتیک به‌عنوان یکی از درمان‌های غیرتهاجمی مبتنی بر وکتورهای آدنو-ویروسی (AAV) به‌عنوان یکی از مطرح‌ترین روش درمانی در علوم پزشکی به خصوص در زمینه‌ی علوم اعصاب و بینایی می‌باشد (۱, ۲). روش‌های مبتنی بر ژن درمانی رتینال یکی از مهمترین دستاوردهای علوم چشم پزشکی در بیماری‌های رتینالی چشم است که این نوع درمان بعد از بهبود گروهی از بیماران مبتلا به Laber congenital amaurosis (LCA) از طرف FDA تاییدیه جهانی گرفته و در درمان بیماری‌های نادر مرتبط با رتینال و همچنین بیماری‌های دژنراسیون ارثی شبکیه (IRDs) نقش بسزایی‌ایفا می کند. جهش‌های زیادی موجب بروز بیماری IRD است که در میان آن‌ها دستروفی Rod-Cone (RCD) یکی از رایج‌ترین ناهنجاری‌ها به‌شمار می‌آید که در این بیماران در ابتدا سلول استوانه‌ای و سپس سلول مخروطی چشم ازبین می‌روند. قابل ذکر است که در این اختلال نورون‌ها و فیبرهای عصب بینایی مدت‌ها بعد از تخریب گیرنده نوری با کاهش فعالیت عملکردی خود مواجه می‌شوند که این اختلال را در این بیماران می‌توان با استفاده از تکنیک اپتوژنتیک بهبود بخشید که در نهایت منجر به فعال‌سازی نورون غیرفعال شده‌ی شبکیه‌ی چشم می‌گردد. در واقع می‌توان گفت که در این تکنیک اپسین حساس به نور در نورون‌ها به‌عنوان سلول هدف بیان می‌شوند که هر نورون را به یک گیرنده‌ی نوری مصنوعی تبدیل می کند (۳). تکنیک اپتوژنتیک به‌عنوان روش تلفیقی از علم اپتیک و ژن درمانی یکی از نوین‌ترین روش‌های درمانی اصولی در بیمارانی است که توانایی بینایی خود را از دست داده‌اند. به منظور درمان بیماری IRD، اولین کارآزمایی بالینی در سال ۲۰۱۷ و دومین کارآزمایی بالینی در سال ۲۰۱۹ در اروپا انجام شد که در این

Copyright © 2024, Azadeh et al. This open-access article is available under the Creative Commons Attribution 4.0 (CC BY 4.0) International License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which allows for unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided that the original work is properly cited.

تحقیقات از اپسین میکروبی و حامل آدنوویروسی استفاده شد (۴).

تاکنون اپسین مختلفی در پروکاریوت و یوکاریوت‌ها کشف شده که حساسیت نوری و عملکرد آن‌ها شناسایی شده است (۵,۶). این دسته از پروتئین‌ها به دنبال تابش طیف وسیعی از طول موج مشخص، به دلیل قرار گرفتن رتینا، ایزومریزاسیون نوری آن‌ها تغییر یافته که این امر موجب عبور یون‌ها در خلال غشا از طریق اپسین‌ها می‌شود. اپسین میکروبی (اپسین نوع ۱) به‌عنوان اصلی‌ترین اجزای اپتوژنتیک، حسگر نوری ساده و قوی هستند که به‌عنوان کانال یونی در سطح غشا با ایجاد آبشاری از سیگنال درون سلولی در نورون شبکیه منجر به القای فعالیت سلول هدف می‌شود. در مقابل اپسین جانوری (اپسین نوع۲) دسته‌ای کوچکتر از اپسین‌ها که در ریتم سیرکادین و تنظیم رنگدانه‌ای به‌عنوان رسپتورهای مرتبط با پروتئین G (GPCRs) عمل می‌کنند. قابل ذکر است که استفاده از GPCRs توانایی افزایش حساسیت و سیگنال‌های درون سلولی را در طول درمان اپتوژنتیکی افزایش می‌دهد (۷) (تصویر ۱).



تصویر ۱. تحریک نوری گیرنده مخروطی و استوانه‌ای در بیماران رتینیت پیگمنتوزا

۱.۱. عملکرد GPCRs

اتصال پروتئین GPCR به مسیر Gi/o (از جمله گیرنده موسکارینی M3/AchM2، GABAB یا HT1-5) منجر به فعال شدن کانال پتاسیم اصلاح‌کننده GIRK می‌گردد که به دنبال آن کانال Ca^{+} پیش سیناپسی مهار می‌شوند. به دنبال این فرآیند، کاهش پتانسیل عمل و کاهش انتشار در عرض غشا صورت می‌گیرد. در مقابل، جفت شدن GPCRها به مسیر Gq/11 مانند گیرنده HT2-5 یا mGluR1، منجر به فعال شدن فسفولیپاز C (PLC) می‌شود که افزایش $Ca2^{+}$ داخل سلولی و دپلاریزاسیون غشای سلولی را به‌همراه دارد. افزایش $Ca2^{+}$ داخل سلولی از طریق آزادسازی ذخایر درون سلولی، ممکن است منجر به هجوم $Ca2^{+}/Na^{+}$ از طریق کانال یونی به خارج از غشا شود (۸). مدت زمان فعال‌سازی و غیرفعال‌سازی کانال یونی با واسطه Gi/o و Gq/11 چند میلی‌ثانیه است که از نظر سینتیکی با پاسخ‌های نوری در چشم مهره‌داران قابل مقایسه هستند. در واقع، پاسخ نوری در گیرنده نوری شامل جفت شدن GPCRها (پروتئین G از خانواده Gi) به ترانسدوسین می‌باشد. ترانسدوسین فعال شده، به‌عنوان یک آغازگر آبشار سیگنال‌دهی شامل فسفودی استراز (PDE)، برای تجزیه cGMP سنتز شده عمل می‌کند، که پس از هیدرولیز cGMP توسط فسفاتیدیل استراز غیرفعال می‌شود (۹).

بسته شدن کانال CNG منجر به پرپلاریزاسیون می‌شود. غیرفعال کردن آبشار سیگنالینگ شامل گیرنده‌های کیناز، آرستین و پروتئین‌های RGS است. بنابراین، به منظور عملکرد مجدد شبکیه‌های در حال تخریب و بازیابی حساسیت به نور توسط سلول استوانه‌ای و مخروطی ، به‌کارگیری مسیرهای Gi/o یا Gq/11 با بیان اپسین جانوری در آن‌ها است (۱۰).

۲.۱. اپسین نوع ۱ (اپسین میکروبی)

اپسین نوع ۱ به طور عمده در پروکاریوت‌ها، قارچ‌ها و جلبک‌ها یافت می‌شوند و عملکردهای متنوع از جمله تکامل و بیوسنتز رتینال و فتوتاکسی در سلول‌های میزبان را کنترل می‌کنند. این نوع اپسین‌ها ازایزومر تمام ترانس رتینال (all-trans) بهره گرفته و با جذب فوتون، به حالت cis-13 ایزومریزه شده که در این حالت به صورت برگشت‌پذیر فعال می‌شود (۱۱). رتینال فعال‌شده با جز پروتئینی اپسین نوع ۱ از طریق پیوند کوالانسی مرتبط است که با ایجاد حرارت می‌تواند مجددا به حالت اولیه خود یعنی تمام‌ترانس بازگردد. سرعت بالای انجام این واکنش منجر شده تا استفاده از اپسین نوع ۱ را در اپتوژنتیک به‌عنوان یکی از مناسب‌ترین ابزار معرفی شود. کانالورودوپسین‌ها (CHRs) به‌عنوان دسته‌ای از اپسین نوع ۱ هستند که جهت کنترل سلول قابل تحریک به‌وسیله‌ی نور نقش مهم و گسترده‌ای را در اپتوژنتیک

ایفا می‌کنند که در این مطالعه به بررسی کانالوردوپسین مورد استفاده در ترمیم بینایی پرداخته می‌شود. به طور کلی اپسین نوع ۱ در ترمیم بینایی به دو دسته‌ی اپسین‌های دپلاریزکننده و هیپرپلاریزه‌کننده تقسیم‌بندی می‌شوند که انتخاب هر یک از پروتئین ذکر شده وابسته به سلول هدف می‌باشد که اغلب درمورد گیرنده نوری از پرپلاریزاسیون‌ها و در مورد سلول دو قطبی و سلول گانگلیونی از دپولاریزاسیون‌ها برای پاسخ به نور استفاده می‌شود (۹, ۱۰).

۳.۱. اپسین دپولاریزاسیونی

کانالوردوپسین-۲ به‌عنوان اولین اپسین میکروبی در ترمیم بینایی مورد استفاده قرار گرفت که محققان با بیان آن در سلول‌های گانگلیونی شبکیه (RGCs) موش کور موفق به بازیابی پاسخ نوری در شبکیه شدند اما عدم پاسخ رفتاری حیوانات تحت درمان زمینه را برای بررسی سایر نورون‌ها فراهم کرد (۱۲). ساحل و همکاران در یک بررسی بیان کردند که یک پروموتر خاص منجر به بیان ChR-2 و فعال شدن سلول دوقطبی می‌شود که امکان پرداش اطلاعات را فراهم می‌آورد که این مطالعه و مطالعات بعدی انجام‌شده، نتایج رفتاری بیمار را در بازیابی بینایی ارائه می‌کند که نتایج حاصل، حاکی از فعال شدن سلول دوقطبی توسط ChR-2 است (۱۳). نفوذپذیری ChR-2 برای پروتون‌ها 10^{6} برابر بیشتر از کاتیون تک‌ظرفیتی مانند Na و K است که این امر حاکی از ویژگی دپلاریزاسیون این دسته از کانال‌ها به‌عنوان کانال غشایی می‌باشد. ChR-2 در طول موج ۴۷۰ نانومتر حداکثر جذب نوری را دارا است. این طول موج در آستانه ی طول موج مجاز به چشم انسان طی دستورالعمل تشعشعات نور مصنوعی و حفاظت از تشعشعات غیر یونیزان از کمسیون بین‌المللی اروپا برای بازیابی بینایی توسط ChR2 مورد تایید قرار گرفت (۱۴).

در این‌میان به منظور استفاده از نور بیش از حد و همچنین افزایش میزان کلسیم وارد شده به سلول هدف، استفاده از فرم جهش‌یافته ChR-2 به نام پروتئین channelrhodopsin-Ca2+-permeable Channelrhodopsin (CatCh) در مطالعات اپتوژنتیکی در درمان شبکیه ماکاک (macaque retinas) ارجحیت قرار گرفت که در طول موج تقریبی ۴۷۵ نانومتر تحریک می‌شود (۱۵). با این حال طی مطالعات انجام شده با استفاده از این پروتئین شار کلسیمی تنها ۵۰ درصد در سلول گانگلیونی شبکیه (RGCs) افزایش یافته است به همین دلیل این آزمایشات با دامنه گسترده‌تری از طول موج در آستانه‌ی بینایی مورد بررسی قرار گرفتند که با توجه به نتایج به‌دست آمده پتانسیل آسیب نور قرمز نسبت به نور آبی برای بینایی بسیار کمتر است (۱۶). تلاش‌های اولیه برای بررسی درمان اپتوژنتیکی با استفاده از نور قرمز به وسیله‌ی پروتئین کانالورودوپسین-۱ در جلبک ولووکس (mVChR1) و کانالورودوپسین-۱ در جلبک کلامیدوموناس صورت گرفت که در طول موج ۴۶۸ تا ۶۴۰ نانومتر تحریک شده و عمل انتقال کلسیم را انجام می‌دهد (۲, ۱۷).

همچنین در مطالعات دیگر استفاده از Red-activatable Channelrhodopsin (ReaChR) به‌عنوان پروتئین حساس به نور با طول موج ۵۸۰ نانومتر گزارش شده که با توجه به این یافته‌ها می‌توان گفت که استفاده از نور قرمز در بازیابی بینایی در علم چشم‌پزشکی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. به منظور اطمینان از پاسخ‌دهی مناسب آزمایشات علاوه بر حساسیت به نور، پاسخ فرکانسی یکی از فاکتور مهم انتخاب پروتئین برای بازیابی بصری با درمان اپتوژنتیک می‌باشد (۱۸, ۱۹). به طوری که هر چه کانال مورد نظر در مدت زمان کوتاه‌تری فعال شود، پاسخ فرکانسی بهتری ارائه می‌دهد. اما به طور کلی طبق مطالعات انجام شده، محققان استفاده از نور قرمز را برای بازیابی بینایی نسبت به نور آبی ارجحیت دادند چرا که این طول موج‌ها صدمات کمتری برای بینایی به همراه دارد (جدول ۱) (۱۶).

جدول ۱. آستانه ایمنی در طول موج خاص اپسین میکروبی

اپسین میکروبی	طول موج (λ(nm	شدت دوز مجاز برای شبکیه چشم $cm^2.s^1$
اپسین دپولاریزه		
ChR-2	۴۷۰	≤ ۷/۶۳ ×۱۰^{۱۴}
CatCh	۴۷۵	≤ ۸/۷۰ ×۱۰^{۱۴}
ReaChR	۵۸۰	≤ ۲/۹۲ ×۱۰^{۱۷}
mVchR1	۴۶۸ - ۶۴۰	≤ ۱۰^{۱۷}× ۶/۴۳ ×۱۰^{۱۴} - ۷/۵۸
اپسین پرپلاریزه		
NpHR	۵۸۹	≤ ۵/۹۴ ×۱۰^{۱۷}
eNpHR2.0	۵۸۹	≤ ۵/۹۴ ×۱۰^{۱۷}
JAW	۶۳۲	≤ ۱۰^{۱۷}× ۶/۳۵ ×۱۰^{۱۷} – ۶/۰۳
Halo57	۶۰۰	≤ ۱۰^{۱۷}× ۶/۳۵ ×۱۰^{۱۷} – ۶/۰۳

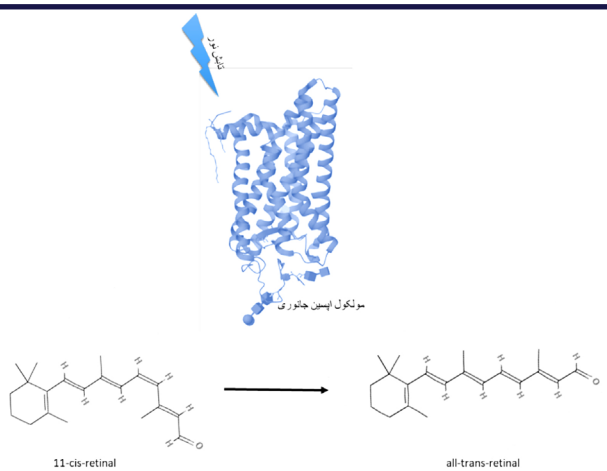
۴.۱. اپسین پلاریزه

محققان دریافتند که در بیماری‌های ژنتیکی از جمله رتینیت پیگمانتوزا (RP) سلول‌های مخروطی بعد از دست دادن توانایی حساسیت به نوری خود تا ۷ ماه در این بیماری قادر به ادامه فعالیت خود هستند (۲۰). فعالسازی مجدد این سلول‌ها با پرپلاریزاسیون غشایی آن‌ها صورت می‌پذیرد. که در این زمینه انواعی از اپسین میکروبی از جمله اپسین‌های گرفته شده از ناترونوموناس (NpHR) نقش به‌سزایی دارند. محققان با بیان نوعی از نسخه ارتقایافته از NpHR به نام eNpHR2,۰ در سلول‌های مخروطی موش‌های مبتلا به رتینیت پیگمانتوزا توانایی کنترل خاموش و روشن کردن سلول‌های RGC را به دست گرفتند. به دنبال این تحقیق محققان با اندازه‌گیری و ثبت فعالیت پاسخ به نوری در قشر مغزی بیماران بازیابی بصری را توسط این روش تایید کردند (۱۵, ۲۱).

با پیشرفت علم اپتوژنتیک، با بیان هالورودوپسین تقویت‌شده (eNpHR) در سلول‌های مخروطی شبکیه موش مبتلا به رتینیت پیگمانتوزا، محققان توانستند بینایی را بازیابی کنند، اما با این‌حال یکی از معایب eNpHR، بیان ضعیف آن در غشای سلول هدف است که برای مقابله با این امر اپسین JAW از Halo57 (از H. salinarum) طراحی شده که توانایی بیان مناسب در سلول‌های مخروطی موش‌های مبتلا به RP و همچنین سایر پستانداران و انسان، است. کانال‌های eNpHR و Jaws با توجه به حساسیت و طول موج تحریک مناسب می‌توانند برای کاربردهای بالینی چشم‌پزشکی مورد استفاده قرار گیرند (۲۲).

۵.۱. اپسین نوع ۲ (اپسین جانوری)

با وجود این‌که اپسین‌های میکروبی از عملکرد بهینه‌ای در اپتوژنتیک برخوردار هستند اما معایبی برای آن‌ها گزارش شده که از جمله می‌توان به احتمال ایجاد پاسخ‌ایمنی در پستانداران و عدم پاسخ و ایجاد سیگنال در حضور نور کم در آن‌ها اشاره کرد. در شبکیه چشم انسان سالم، جذب فوتون توسط ردوپسین استوانه‌ای (rod rhodopsin) و اپسین مخروطی (cone opsin) انجام می‌گردد که با جذب نور از طریق گیرنده بخش خارجی، ایزومریزاسیون کروموفور از حالت cis-11 به حالت تمام‌ترانس انجام می‌شود (۲, ۲۳). تاکنون محققان موفق به کشف بیش از ۱۰۰۰ اپسین در حیوانات شدند که تمامی آن‌ها در دسته ی اپسین نوع ۲ جای گرفته‌اند اما قابل ذکر است که اپسین نوع ۲ به سه گروه اصلی تحت عنوان اپسین ciliary (C-opsin)، اپسین رابدومریک(r-opsin) و سایر اپسین‌ها دسته‌بندی می‌شوند (۲۴). r-opsinها گیرنده تک‌فوتونی مناسبی هستند که توانایی سازگاری و عملکرد در نور شدید را ایفا می‌کنند که فتوپیگمنت آن‌ها بدون نیاز به آبشار سلولی یا آنزیم‌های بازسازی‌کننده، توانایی بازسازی شبکیه را دارد. C-opsin ها در حیوانات اغلب به‌عنوان آشکارساز نور معرفی می‌شوند، اما در طول تکامل اپسین میله‌ای جهت تشخیص نور کم تعبیه یافت. این دسته از اپسین‌ها در مهره‌داران شامل اپسین استوانه‌ای (OPN1) و اپسین مخروطی (OPN2) هستند. علاوه بر سیستم‌های بینایی اپسین شبکیه (OPN1 و OPN2)، چندین اپسین غیربصری در سراسر بافت‌های بدن یافت می‌شوند، از جمله انسفالوپسین/پانوپسین (OPN3)، ملانوپسین (OPN4) و نوروپسین (OPN5) مانند سایر ساختارهایی که دارای خواص حساس به نور هستند، مانند آنزیم‌ها، کانال‌های یونی، به ویژه آن‌هایی که در غشای سلولی، لیزوزوم‌ها و ساختارهای عصبی مانند گره رانویه قرار دارند (۲۵) (تصویر ۲).



تصویر ۲. مولکول اپسین جانوری طی تحریک اپتوژنتیکی با تابش نور از حالت 11-cis به حالت all trans تبدیل می‌شود

۲. اهداف

هدف از مطالعات در این زمینه، درمان نابینایی در انسان است در حالی که امروزه آزمایش زیادی توسط محققان در زمینه درمان نابینایی در حیوانات تراریخته انجام می‌گیرد امید بر این است که جامعه چشم‌پزشکی بتواند رویکرد جدیدی در این زمینه برای درمان بیماری شبکیه چشم انسان ارائه دهد.

۳. مواد و روش‌ها

در حال حاضر روش مبتنی بر انتقال ژن از طریق وکتورهای آدنوویروسی(AAV) از جمله روش اپتوژنتیک، یکی از بهترین روش برای بیان ساختاری پروتئین هترولوگ در پستانداران است (۲۶, ۲۷). همچنین گزارشات حاکی از نتایج موفقیت‌آمیز از روش‌های انتقال ژن از روش دیگر مانند الکتروپوریشن در جانداران بوده است، اما قابل ذکر است که روش AAV از مزایایی مانند بی‌خطر، موثر و طولانی‌مدت بهره‌مند است (۲۸). این روش امروزه به طور متداول در آزمایشگاه تحقیقاتی به منظور فعال و غیرفعال کردن سلول دوقطبی و تنظیم فعالیت مبتنی بر پاسخ به نور انجام می‌گیرد. هرچند که سلول دوقطبی یکی از سخت‌ترین سلول هدف شبکیه برای این وکتورها است با این‌حال محققان با طراحی نوع ارتقایافته‌ای از AAV موفق شدند تا روند اپتوژنتیک را در این سلول‌ها با موفقیت به انجام برسانند (۲۹). علاوه بر این، پروموترهای mGluR6 که برای محدودکردن بیان به سلول‌های دوقطبی ON استفاده می‌شوند، ممکن است در بسیاری از دیستروفی‌های شبکیه کارایی نداشته باشند. mGluR6 با آزادسازی مداوم گلوتامات توسط گیرنده نوری در تاریکی به صورت تونیکی فعال می‌شود. پس از مرگ سلولی گیرنده نوری، mGluR6 فعالیت تحریکی خود را از دست می‌دهد که به دنبال آن سلول‌های دوقطبی فعال‌شده تحت تغییرات رونویسی قرار می‌گیرند که بیان mGluR6 و احتمالا سایر ژن‌های تحت آن پروموتر را محدود می‌کند. به طور معمول در بافت سالم سلول دوقطبی هدایت مسیرهای سیگنالینگ را انجام می‌دهند، اما این مسئله بدان معنی نیست که سیگنال ایجادشده از این سلول‌ها تنها راه برای ایجاد پاسخ مورد نیاز در فرآیند اپتوژنتیک باشد چرا که بسیار از کانال یونی و پمپ‌های موجود در غشای سلولی توانایی پاسخ به تحریکات نوری جهت فعال یا مهار سلولی را دارند (۳۰).

اولین بار ژانگ و همکاران در آزمایشی از HaloR همراه با ChR2 برای ایجاد پاسخ نوری سلولی ON/OFF استفاده کردند. به طور معمول HaloR به منبع نوری با مقدار ۲۰ برابر بیشتر از نور مورد نیاز ChR2 است که در این صورت منبع نوری معرفی‌شده برای این اپسین در درمان بیماری چشمی، منبعی غیرایمن خواهد بود. اما آنان در مطالعه خود بیان کردند که شبکیه می‌تواند انواع مختلفی از پاسخ نوری را بدون دخالت سلول دوقطبی ایجاد کند (۳۱). به دنبال این تحقیق، در سال ۲۰۱۷ بری و همکاران با استفاده از درمان ترکیبی SNAG-mGluR2 و LiGluR مهندسی شده، کار اصلی ژانگ را بهبود بخشیدند (۳۲). SNAG-mGluR2 یک نسخه اصلاح‌شده از mGluR2 با یک توالی SNAP در قسمت ترمینال N است که اتصال پایدار آزو بنزن گلوتامات توسط یک گروه انتخابی واکنش‌دهنده بنزیل گوانین را منجر می‌شود. SNAG-mGluR2 یکی از سریع‌ترین GPCRهای مورد استفاده در اپتوژنتیک است که میزان نور تحریکی آن تقریبا مشابه با نور مورد نیاز برای تحریک ChR2 است. ترکیبی از کانال یونی LiGluR تحریک‌کننده و GPCR SNAG-mGluR2 مهارکننده، پاسخ‌های نوری متنوعی از جمله پاسخ‌های ON/OFF را ایجاد می‌کند. این پاسخ متنوع رفتار بصری را در موش تحت درمان بهبود می‌بخشد. در حالی که این درمان ترکیبی از دو یا چند اپسین و تحریک نوری با طول موج متنوع نشان می‌دهد که درمان ترکیبی این ویژگی را دارد که پاسخ‌های پیچیده و متنوع سلولی را بازیابی کند. درمان بیماری‌های شبکیه‌ای در زمان مناسب یکی از چالش‌برانگیزترین بحثی است که اخیرا در میان محققان مطرح شده چرا که بهترین زمان پاسخ‌دهی به درمان قبل از وقوع دژنراسیون است. تا به امروز، سعی بر این است که در سریع‌ترین زمان ممکن بهترین درمان را برای بیماران در نظر بگیرند. برای مثال، یکی از امیدوارکننده‌ترین نمونه‌ها، انتقال ژن RPE-65 است که به سلول‌های RPE در بیماری مادرزادی Laber congenital amaurosis صورت می‌گیرد (۲۲).

۴. نتایج

تاکنون کارآزمایی بالینی متعددی توسط کمپانی مختلفی از اپتوژنتیک‌تراپی در درمان رتینیت پیگمنتوزا صورت گرفته است که اغلب در فاز 1/2a هستند که به طور اختصار در جدول ذیل آمده است (۱۳, ۱۵) (جدول ۲).

جدول ۲. خلاصه‌ای از کارآزمایی بالینی در حال انجام اپتوژنتیک درمانی در بازیابی بینایی

کمپانی	اپسین	وکتور ویروسی	فاز کلینیکی	سال شروع مطالعه	شماره کارآزمایی بالینی
GenSight Biologics	ChrimsonR	rAAV2.7m8	1/2a	September 2018	NCT03326336
Allergan	ChR2	rAAV2.7m8	1/2a	December 2015	NCT02556736
Bionic Sight LLC	ChronosFP	rAAV2	1/2a	February 2020	NCT04278131
Nanoscope Therapeutics Inc.	MCO1	rAAV2	2b	13 July 2021	NCT04945772

چهار مطالعه مطرح‌شده در جدول ۲ شامل بیماران مبتلا به رتینیت پیگمانتوزا بود و یک مطالعه (NCT05417126) برای بیماری Stargardt به تازگی ثبت شده است. تمام کارآزمایی بالینی در حال انجام، از تزریق داخل زجاجیه برای تحویل دارو استفاده کرده‌اند. سروتیپ AAV 2 از وکتور ویروسی ترجیح داده می‌شود و نوع آن AAV2 7m8 در مطالعه PIONEER (NCT03326336) استفاده شد. در برخی کارآزمایی بالینی سلول‌های دوقطبی چشم را هدف قرار داده اند، در حالی که

مطالعات دیگر RGCs را هدف قرار می‌دهند. اگرچه درمان‌های مبتنی بر اپسین میکروبی در حال حاضر در خط مقدم هستند، درمان‌های مبتنی بر اپسین حیوانی به‌طور پیوسته در حال پیشرفت هستند. اخیرا، یک تیم چندمرکزی در سراسر جهان، مطالعه EyeConic (NCT05294978) را به ثبت رساندند، که هدف آن تخمین شیوع بیماران مبتلا به سلول‌های مخروطی خفته برای آماده شدن برای کارآزمایی بالینی درمان اپتوژنتیک مبتنی بر اپسین مخروطی بود. برخی از شرکت‌ها در حال آماده‌سازی آزمایشات بالینی با استفاده از رودوپسین انسانی، واریانت CoChR و یا رودوپسین کایمریک (GCHR) هستند. علاوه بر این، درمان مبتنی بر MW-opsin و درمان مبتنی بر Opto-mGluR6 هر دو توسط شرکت Novartis خریداری شدند و انتظار می‌رود که منجر به کارازمایی بالینی جدید شوند.

نتایج کارآزمایی‌های بالینی قبلی، بینش‌های مهمی را در مورد نتایج درمان اپتوژنتیک در بیماران انسانی ارائه خواهد کرد برای توسعه درمان اپتوژنتیک، گزینه‌های مختلفی برای عناصر درمانی، از جمله سلول‌های هدف، ابزارهای اپتوژنتیک، و روش‌های تحویل ژن وجود دارد که باید مورد توجه قرار گیرد. به‌علاوه مطالعات پیش بالینی درمان اپتوژنتیک حتما باید شامل نخستی غیرانسانی باشد. انتخاب درمان عمدتا به مزایا و معایب نسبی بستگی دارد، زیرا تعداد کمی از مطالعات پیش بالینی به طور مستقیم گزینه مختلف را تحت شرایط یکسان مقایسه کرده اند. پیشرفت مداوم در ابزارهای اپتوژنتیک، سیستم تحویل ژن و ناقل توسعه‌یافته می‌توانند ترکیب امیدوارکننده‌ای در پیشرفت درمان اپتوژنتیک باشند.

۵. بحث

زمینه اپتوژنتیک از زمان شکل‌گیری آن در دهه ۱۹۷۰ رشد چشم‌گیری داشته است. با شناسایی اپسین متنوع از ارگانیسم تک‌سلولی، ظهور ناقل ویروسی تا حد زیادی ایمن و موثر برای تحویل مواد ژنتیکی و توسعه مدل حیوانی تراریخته متعدد، اپتوژنتیک به کاربرد بالینی نزدیک‌تر شده است. پیشرفت‌های مستقل در مهندسی اپسین، بسته‌بندی، هدف‌گیری و بیان ویروس و در نهایت، کنترل مولکولی بازسازی همگی کلیدهای کاربرد بالینی نهایی درمان اپتوژنتیک برای بیماری‌های دژنراتیو شبکیه هستند. مقایسه مستقیم اهداف سلولی مختلف در مدل‌های چشم انحطاط شبکیه انسان و توسعه احتمالی مدل‌های غیرانسانی RP نیز نقش مهمی در توسعه بالینی اپتوژنتیک ایفا خواهد کرد. در نهایت، در صورت موفقیت‌آمیز بودن، درمان اپتوژنتیک نشان‌دهنده یکی از دستاوردهای ژنتیک مدرن، نوروبیولوژی و فوتوبیولوژی خواهد بود.

۱.۵. نتیجه‌گیری

اصلاحات ژنتیکی برای درمان بیماریی که به علت بروز جهش غالب صورت می‌گیرند، به منظور متوقف کردن یا به تاخیر انداختن پیشرفت بیماری با استفاده از عوامل محافظت‌کننده عصبی و همچنین جایگزینی و فعالسازی گیرنده نوری تخریب شده با استفاده از اپتوژنتیک، در حال آزمایش هستند. بسته به وضعیت بیماری و همچنین سلول هدف، روش‌های درمانی متعددی پیشنهاد شده است که از دیدگاه بیوفیزیکی، بازیابی بینایی و حساسیت نوری از طریق تکنیک اپتوژنتیک با استفاده از اپسین مناسب می‌تواند روشی نوین در این زمینه باشد. بررسی و تلاش مداوم محققان در مورد فعالیت کانالپرپلاریزه کننده در گیرنده نوری سلول هدف و همچنین آبشارهای سیگنالی ایجاد شده برای فعال شدن این مکانیسم‌ها در سلول‌های مخروطی و استوانه‌ای، بر این است تا بتوانند رویکرد نوینی در زمینه درمان انواع بیماری ژنتیکی چشمی قبل از بروز جهش ارائه دهند.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از تمامی اساتید و بزرگوارانی که در این مطالعه ما را یاری رساندند، کمال قدردانی و تشکر را دارم.

مشارکت نویسندگان:

س. آ. و ه. ک. ن.: ایده و طراحی مقاله. ف. س. و ح. ر. آ.: جمع آوری داده‌ها، نگارش مقاله. همه نویسندگان نتایج را بررسی نموده و نسخه نهایی مقاله را تایید نمودند.

تضاد منافع:

این مقاله تضاد منافعی ندارد.

بازیابی داده‌ها:

مقاله به صورت مروری ارائه شده و مجموع داده های ارائه شده در مطالعه با توجه به منابع آن، در دسترس است.

حمایت مالی /معنوی:

این مقاله هیچگونه حمایت مالی و معنوی ندارد.

References

1. Keshmiri Neghab H, Soheilifar MH, Grusch M, Ortega MM, Esmaeeli Djavid G, Saboury AA, et al. The state of the art of biomedical applications of optogenetics. *Lasers Surg Med*. 2022;**54**(2):202-16. [PubMed ID:34363230]. https://doi.org/10.1002/lsm.23463.
2. Keshmiri Neghab H, Soheilifar MH, Saboury AA, Goliaei B, Hong J, Esmaeeli Djavid G. Optogenetic Stimulation of Primary Cardiomyocytes Expressing ChR2. *J Lasers Med Sci*. 2021;**12**:e32. [PubMed ID:34733755]. [PubMed Central ID:PMC8558726]. https://doi.org/10.34172/jlms.2021.32.
3. Azadeh SS. [Photodynamic therapy: a new treatment against COVID-19]. *Semnan Univ Med Sci Health Services*. 2022. Persian.
4. Wood EH, Tang PH, De la Huerta I, Korot E, Muscat S, Palanker DA, et al. Stem cell therapies, gene-based therapies, optogenetics, and retinal prosthetics:

Current state and implications for the future. *Retina*. 2019;**39**(5):820-35. [PubMed ID:30664120]. [PubMed Central ID:PMC6492547]. https://doi.org/10.1097/IAE.0000000000002449.

5. Keshmiri-Neghab H, Goliaei B, Saboury AA. [Application of Light Sensitive Opsin Proteins in the Control of Brain Activities]. *Institute Biochem Biophysics, Univ Tehran, Iran* Persian.
6. Neghab HK, Djavid GE, Azadeh SS, Soheilifar MH. [Osteogenic Differentiation of Menstrual Blood-Derived Stem Cells by Optogenetics]. *J Med Biolog Engineering*. 2022;**42**(5):613-20. Persian. https://doi.org/10.1007/s40846-022-00714-7.
7. Tabata K, Sugano E, Hatakeyama A, Watanabe Y, Suzuki T, Ozaki T, et al. Phototoxicities Caused by Continuous Light Exposure Were Not Induced in Retinal Ganglion Cells Transduced by an Optogenetic Gene. *Int J Mol Sci*. 2021;**22**(13). [PubMed ID:34201658]. [PubMed Central ID:PMC8269149]. https://doi.org/10.3390/ijms22136732.
8. Soltan A, McGovern B, Drakakis E, Neil M, Maaskant P, Akhter M, et al. High Density, High Radiance μ LED Matrix for Optogenetic Retinal Prostheses and Planar Neural Stimulation. *IEEE Trans Biomed Circuits Syst*. 2017;**11**(2):347-59. [PubMed ID:28212099]. https://doi.org/10.1109/TBCAS.2016.2623949.
9. Simunovic MP, Shen W, Lin JY, Protti DA, Lisowski L, Gillies MC. Optogenetic approaches to vision restoration. *Exp Eye Res*. 2019;**178**:15-26. [PubMed ID:30218651]. https://doi.org/10.1016/j.exer.2018.09.003.
10. Scholl HP, Strauss RW, Singh MS, Dalkara D, Roska B, Picaud S, et al. Emerging therapies for inherited retinal degeneration. *Sci Transl Med*. 2016;**8**(368):368rv6. [PubMed ID:27928030]. https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaf2838.
11. Soltan A, Barrett JM, Maaskant P, Armstrong N, Al-Atabany W, Chaudet L, et al. A head mounted device stimulator for optogenetic retinal prosthesis. *J Neural Eng*. 2018;**15**(6):065002. [PubMed ID:30156188]. [PubMed Central ID:PMC6372131]. https://doi.org/10.1088/1741-2552/aadd55.
12. Yang F, Kim SJ, Wu X, Cui H, Hahn SK, Hong G. Principles and applications of sono-optogenetics. *Adv Drug Deliv Rev*. 2023;**194**:114711. [PubMed ID:36708773]. [PubMed Central ID:PMC9992299]. https://doi.org/10.1016/j.addr.2023.114711.
13. Sahel JA, Boulanger-Scemama E, Pagot C, Arleo A, Galluppi F, Martel JN, et al. Partial recovery of visual function in a blind patient after optogenetic therapy. *Nat Med*. 2021;**27**(7):1223-9. [PubMed ID:34031601]. https://doi.org/10.1038/s41591-021-01351-4.
14. Reh M, Lee MJ, Schmierer J, Zeck G. Spatial and temporal resolution of optogenetically recovered vision in ChR2-transduced mouse retina. *J Neural Eng*. 2021;**18**(5). [PubMed ID:33545694]. https://doi.org/10.1088/1741-2552/abe39a.
15. Prosseda PP, Tran M, Kowal T, Wang B, Sun Y. Advances in Ophthalmic Optogenetics: Approaches and Applications. *Biomolecules*. 2022;**12**(2). [PubMed ID:35204770]. [PubMed Central ID:PMC8961521]. https://doi.org/10.3390/biom12020269.
16. Ledri M, Andersson M, Wickham J, Kokaia M. Optogenetics for controlling seizure circuits for translational approaches. *Neurobiol Dis*. 2023;**184**:106234. [PubMed ID:37479090]. https://doi.org/10.1016/j.nbd.2023.106234.
17. Ostrovsky MA, Kirpichnikov MP. Prospects of Optogenetic Prosthesis of the Degenerative Retina of the Eye. *Biochemistry (Mosc)*. 2019;**84**(5):479-90. [PubMed ID:31234763]. https://doi.org/10.1134/S0006297919050031.
18. McGregor JE, Godat T, Dhakal KR, Parkins K, Strazzeri JM, Bateman BA, et al. Optogenetic restoration of retinal ganglion cell activity in the living primate. *Nat Commun*. 2020;**11**(1):1703. [PubMed ID:32245977]. [PubMed Central ID:PMC7125151 of the retina: US patent #6,199,986 "Rapid, automatic measurement of the eye's wave aberration". US patent #6,264,328 "Wavefront sensor with off-axis illumination" and US patent 6,338,559 "Apparatus and method for improving vision and retinal imaging" All other authors declare no competing interests.]. https://doi.org/10.1038/s41467-020-15317-6.
19. Wang W, Wu X, Kevin Tang KW, Pyatnitskiy I, Taniguchi R, Lin P, et al. Ultrasound-Triggered In Situ Photon Emission for Noninvasive Optogenetics. *J Am Chem Soc*. 2023;**145**(2):1097-107. [PubMed ID:36606703]. [PubMed Central ID:PMC10237364]. https://doi.org/10.1021/jacs.2c10666.
20. Boyer DS, Bergstrom L, Emanuelli A, Gonzalez VH, Wykoff CC, Gupta S, et al. Efficacy and safety of MCO-010 optogenetic therapy for vision restoration in patients with severe vision loss due to retinitis pigmentosa: A phase 2b randomized, sham-controlled, multi-center, multi-dose, double-masked clinical trial (RESTORE). *J Investigative Ophthalmol Visual Sci*. 2023;**64**(8):5443-.
21. Lu Q, Ganjawala TH, Krstevski A, Abrams GW, Pan ZH. Comparison of AAV-Mediated Optogenetic Vision Restoration between Retinal Ganglion Cell Expression and ON Bipolar Cell Targeting. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2020;**18**:15-23. [PubMed ID:32548211]. [PubMed Central ID:PMC7287188]. https://doi.org/10.1016/j.omtm.2020.05.009.
22. Simon CJ, Sahel JA, Duebel J, Herlitze S, Dalkara D. Opsins for vision restoration. *Biochem Biophys Res Commun*. 2020;**527**(2):325-30. [PubMed ID:31982136]. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.12.117.
23. Baker CK, Flannery JG. Innovative Optogenetic Strategies for Vision Restoration. *Front Cell Neurosci*. 2018;**12**:316. [PubMed ID:30297985]. [PubMed Central ID:PMC6160748]. https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00316.
24. Chen TC, Huang DS, Lin CW, Yang CH, Yang CM, Wang VY, et al. Genetic characteristics and epidemiology of inherited retinal degeneration in Taiwan. *NPJ Genom Med*. 2021;**6**(1):16. [PubMed ID:33608557]. [PubMed

Central ID:PMC7896090]. https://doi.org/10.1038/s41525-021-00180-1.

25. Ferrari U, Deny S, Sengupta A, Caplette R, Trapani F, Sahel JA, et al. Towards optogenetic vision restoration with high resolution. *PLoS Comput Biol*. 2020;**16**(7):e1007857. [PubMed ID:32667921]. [PubMed Central ID:PMC7416966]. https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1007857.
26. Zerche M, Wrobel C, Kusch K, Moser T, Mager T. Channelrhodopsin fluorescent tag replacement for clinical translation of optogenetic hearing restoration. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2023;**29**:202-12. [PubMed ID:37081855]. [PubMed Central ID:PMC10111946]. https://doi.org/10.1016/j.omtm.2023.03.009.
27. Daraie G, Nooripoor S, Ashrafi AM, Ghorbani R. [Incidence of retinopathy of prematurity and some related factors in premature infants born at Amir-al-Momenin hospital in Semnan, Iran]. *J Koomesh*. 2024;**17**(2):297-303. Persian.
28. Gauvain G, Akolkar H, Chaffiol A, Arcizet F, Khoei MA, Desrosiers M, et al. Optogenetic therapy: high spatiotemporal resolution and pattern discrimination compatible with vision restoration in non-human primates. *Commun Biol*. 2021;**4**(1):125. [PubMed ID:33504896]. [PubMed Central ID:PMC7840970 financial interests in Gensight Biologics. D.P., A.D., D.D., D.J., R.C., G.G., M.D., J.A.S., and S.P. have filed a patent application relating to the results presented in this paper. The remaining authors declare no competing interests.]. https://doi.org/10.1038/s42003-020-01594-w.
29. Kandori H. Retinal proteins: photochemistry and optogenetics. *J Bulletin Chemical Society Japan*. 2020;**93**(1):76-85.
30. Garita-Hernandez M, Guibbal L, Toualbi L, Routet F, Chaffiol A, Winckler C, et al. Optogenetic Light Sensors in Human Retinal Organoids. *Front Neurosci*. 2018;**12**:789. [PubMed ID:30450028]. [PubMed Central ID:PMC6224345]. https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00789.
31. Zhang Y, Ivanova E, Bi A, Pan ZH. Ectopic expression of multiple microbial rhodopsins restores ON and OFF light responses in retinas with photoreceptor degeneration. *J Neurosci*. 2009;**29**(29):9186-96. [PubMed ID:19625509]. [PubMed Central ID:PMC2774241]. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0184-09.2009.
32. Berry MH, Holt A, Levitz J, Broichhagen J, Gaub BM, Visel M, et al. Restoration of patterned vision with an engineered photoactivatable G protein-coupled receptor. *Nat Commun*. 2017;**8**(1):1862. [PubMed ID:29192252]. [PubMed Central ID:PMC5709376]. https://doi.org/10.1038/s41467-017-01990-7.

doi: 10.69107/koomesh-150162

Volume 26, Issue 5, September 2024

Research Article

Optogenetics: A New Approach for Treatment of Inherited Retinal Degeneration

Seyedeh Sara Azadeh [1,*], Hoda Kashmiri Niqab [1,**], Seyed Hamidreza Azadeh [2], Farzaneh Sajdi [3]

[1]*Department of Medical Laser, Medical Laser Research Center, Yara Institute, ACECR, Tehran, Iran*

[2]*Department of Nursing, Faculty of Islamic Azad University, Sari Branch, Sari, Iran*

[3]*Department of Genetics, Faculty of Science and Technology, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran*

[*] *Corresponding author:* Department of Medical Laser, Medical Laser Research Center, Yara Institute, ACECR, Tehran, Iran. Email: sara.azadehhh@gmail.com

[**] *Corresponding author:* Department of Medical Laser, Medical Laser Research Center, Yara Institute, ACECR, Tehran, Iran. Email: hodakeshmiri@ut.ac.ir

Received 26/09/2023; Accepted 11/06/2024

Abstract

Introduction: Inherited retinal diseases are the most common causes of blindness in developed countries, including Retinitis Pigmentosa disease as an inherited retinal degeneration, leading to the blindness of patients by loss of photoreceptor activity.

Materials and Methods: In this review, we introduce the basic knowledge about optogenetics and also summarize the application of optogenetics as a non-invasive tool in the treatment of retinal diseases.

Results: There are several therapies that offer optogenetics as a non-invasive technique with light-sensitive proteins such as opsins, the ability to genetically modify these diseases using light.

Conclusion: Due to the transparency of the eye, optical stimulation of nerve cells and optical receptors in the eye and changing their function through depolarization of the target cell membrane can be a more effective method than other treatments. Optogenetics is a novel method in medical science that can be effective in treating many retinal diseases by using gene therapy and optical methods.

Keywords: Optogenetics, Retinitis Pigmentosa, Animal Opsin, Microbial Opsin, Inherited Retinal Degeneration

Copyright © 2024, Azadeh et al. This open-access article is available under the Creative Commons Attribution 4.0 (CC BY 4.0) International License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which allows for unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided that the original work is properly cited.