چکیده فارسی

ارزیابی اثرات مهاری اولیگومرهای آنتی سنس بر روی بیان ژن *P. falciparum* reticulocyte binding protein homologue 5 (Rh5) در پلاسمودیوم فالسی پاروم سویه 3D7 به منظور جلوگیری از ورود انگل به داخل گلبول قرمز و مهار رشد انگل در شرایط *In vitro*

مقدمه: مالاریا یکی از بیماریهای تهدید کننده زندگی بشر است. یکی از مهمترین مسائل بهداشتی در کشورهای گرمسیری و نیمه گرمسیری دنیا می باشد. در طی ۵۰ سال گذ شته، مقاومت پلاسمودیوم فالسی پاروم در برابر داروهای درمانی موجب تهدید همه دستاوردهای عمده در کنترل مالاریا شده است. از آنجاییکه اکثر داروهای شیمیایی دارای اثرات جانبی زیادی می باشند و همچنین برخی از این داروها در مادران باردار دارای منع مصرف می باشد، لذا استفاده از داروئی که عوارض جانبی نداشته باشد و همچنین تاثیر ضد انگلی بالایی داشته باشد، ضروری بنظر می رسد و به تازگی تکنیک های جدیدی شناخته شده است که امکان دستکاری هایی روی بیان ژن ها را فراهم می سازد. تکنولوژی آنتی سنس های درمانی یکی از راهکارهای جدید جهت غلبه بر مشکلات درمانی در بیماریهایی می باشد که درمان آنها به جهت مقاومت های دارویی در معرض تهدید بوده و همچنین واکسن موثری برای کنترل و درمان آنها وجود ندارد .

مواد و روشها: کشت انگل پلاسمودیوم فالسی پاروم به روش Tranger & Jensen بر روی سوش 3D7 انجام گرفت. بررسی های ژن RH5 توسط نرم افزار Vector NTI 10 و فرم mfold و sfold انجام شد و بهترین موقعیت ژنی جهت طراحی آنتی سنس الیگونوکلئوتیدها انتخاب و آنتی سنس نسل ۲ (2-O-methyle) به فرم گپمر (GampeRs) مورد بررسی قرار گرفته طراحی شدند. تست حساسیت دارویی IC50 داروی کلروکین بر روی پلاسمودیوم فالسی پاروم سویه 3D7انجام گرفت. آنتی سنس الیگونوکلئوتیدی با غلظت های 1, 0.5, 0.1, 0.05, 0.01µMبر روی پلاسمودیوم فالسی پاروم با 0.6% پارازیتمی و هماتوکریت 5% در شرایط *In vitro* تحت تاثیر قرار داده شد؛ و بررسی میکروسکوپی صورت گرفت، تاثیر توام کلروکین و آنتی سنس الیگونوکلئوتیدی که به ترتیب با غلظت های 0.2µM و 0.1, 0.05µM هم بر روی انگل پلاسمودیوم فالسی پاروم در شرایط *In vitro* انجام گرفت و به روش میکروسکوپی بررسی شد. سپس تاثیر آنتی سنس بر روی پلاسمودیوم و تاثیر همزمان کلروکین و آنتی سنس به روش Real time PCR هم مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: تاثیر غلظتهای متفاوت آنتی سنس های علیه نواحی مختلف mRNA RH5 نشان داد که در آنتی سنسهای علیه ناحیه شروع ترجمه (11+7-) و ناحیه بین اینترون و اگزون ژن -58) (77 غلظتهای بالا۰۱ /۰ میکرومولار سبب مهار بالای ۸۵% رشد انگل در گلوبولهای قرمز می گردد. در آنتی سنس علیه ناحیه ۲۶۱-۲۸۰ با غلظت µM ۰۱/. این اثر کمتر بوده اما در غلظت بالای µM ۰/۱ مهار کنندگی حدود ۹۰% مشاهده گردید. نتایج Real Time PCR بر روی mRNA ژن هدف در غلظت های متفاوت آنتی سنس های مورد مطالعه نشان دهنده، کاهش بیان ۳۰-۸ برابری RH5 نسبت به ژن رفرانس 18s-rRNA در سلولهای تیمار شده و تیمار نشده دارد. اثر همزمان کلروکین (IC50= 0.2 µM) و آنتس سنس های (IC50=0.05-0.1 µM) نشان از اثر هم افزایی (سینرزیست) کلروکین و آنتی سنس های مورد مطالعه دارد.

نتیجه گیری: با توجه به نتایج بدست آمده mRNA RH5 در پلاسمودیوم فالسی پاروم هدف مناسبی جهت آنتی سنس اولیگو نوکلئوتیدهای 2´-O Methoxyethyl بوده و این آنتی سنس

ها به صورت برهنه (Gymnosis) و بدون نیاز به حامل های بیولوژیک قادر به ورود به گلبولهای قرمز و مهار رشد انگل می گردد. این اثر مهار کنندگی با کلروکین افزایش می یابد و می تواند در درمان بیماران آلوده با پلاسمودیوم بویژه در سویه های مقاوم به داروی این انگل مورد استفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: پلاسمودیوم فالسی پاروم؛ ژنRH5 ؛ شرایط برون تنی