

## سندرم شوگرن - ژن درمانی و چشم انداز

دکتر محمدرضا نوری دلویی\* رامین راه پیما\*\*

\* استاد گروه آموزشی ژنتیک پزشکی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران

\*\* دانشجوی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران

**Title:** Sjögren syndrome-gene therapy and its prospective

**Authors:** Dalooi MR. Professor\*, Rahpeyma R. Student

**Address:** Dept. of Medical Genetic, Faculty of Medicine, Tehran University of Medical Sciences

**Abstract:** Sjögren syndrome is one of the autoimmune diseases which is characterized by lymphocytic infiltration to exocrine glands and causes keratoconjunctivitis sicca and xerostomia. Today, a large population, with a majority of women over 40, suffer from this disease and have several complications regarding oral health and reduced life quality such as severe dental caries, painful eyes, olfactory and gustatory deficiency, speech, mastication and swallowing discomforts. Unfortunately, these patients do not respond to the conventional therapies. Nowadays in medical world, which its target is basic therapy and not symptomatic one, several gene therapy approaches, have gained importance in treatment of this apparently incurable diseases. Due to the facts that this disease is the second prevalent autoimmune disease, after rheumatoid arthritis, and the conventional therapies of the disease are all relative and symptomatic, researchers have insisted on the basic and causative therapy through gene transfer more than before. In the Present article, through reviewing 58 references containing recent scientific and investigatory findings it has been tried, to consider the pathogenesis and conventional therapies of this syndrome. Another purpose of this study was to investigate several and potentially very effective gene transfer systems and different therapeutic genes (mainly membrane water channels, ion transporter molecules, transcription factors, antifungal proteins and free radical scavengers).

**Key Words:** Sjögren's Syndrome - Pathogenesis - Gene Therapy.

*Journal of Dentistry . Tehran University of Medical Sciences (Vol. 15, No.4, 2003)*

### چکیده

سندرم شوگرن از جمله بیماریهای خود ایمنی است که با ارتشاح لنفوسیتی به غدد برون ریز مشخص می گردد و موجب کراتوکنژکتویت سیکا و خشکی دهان می شود. در حال حاضر جمعیت بسیاری که اغلب آنها را زنان بالای چهل سال تشکیل می دهند از این بیماری رنج می برند و با مشکلات متعددی از جهت سلامت دهان و دندان و کاهش کیفیت زندگی، مانند پوسیدگیهای شدید دندانی، چشمانی دردناک، نواقص بویایی و چشایی، تکلم، جویدن و بلع مواجه هستند. متأسفانه این بیماران به درمانهای رایج پاسخ چندانی نمی دهند. امروزه دردیای پزشکی که هدف نهانی آن درمان اساسی و نه معلولی (علامتی) است، رویکردهای مختلف ژن درمانی در درمان بسیاری از بیماریهای ظاهراً علاج ناپذیر از اهمیت ویژه ای برخوردار است. با توجه به اینکه این بیماری، دومین بیماری شایع خود ایمنی پس از آرتریت روماتوئید می باشد و با عنایت به اینکه درمانهای مرسوم این بیماری همگی درمان علامتی نسبی هستند، توجه بر درمان اساسی و ریشه ای این بیماری به کمک انتقال ژن، بیش از پیش مورد تأکید پژوهشگران قرار گرفته است. در این مطالعه ۵۸ منبع معتبر حاوی تازه ترین دستاوردهای علمی، مرور گردید و به بیماریزایی، عوارض و درمانهای مرسوم این سندرم پرداخته شد.

هدف دیگر این مطالعه، بررسی شیوه‌های درمانی جدید این عارضه با عنایت به روشهای مختلف و بالقوه بسیار کارآمد انتقال ژن و ژن‌های درمانگر متفاوت (از جمله کانال‌های آب غشایی، مولکول‌های ناقل یونی، عوامل نسخه برداری، پروتئین‌های ضد قارچی و جاروبگرهای رادیکال‌های آزاد)، می‌باشد.

کلید واژه ها: سندرم شوگرن - بیماریزائی - ژن درمانی

مجله دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران (دوره ۱۵، شماره ۴، سال ۱۳۸۱)

## مقدمه، تاریخچه و معرفی کلی بیماری

سندرم شوگرن (Sjögren's syndrome=SS) یک بیماری خود ایمنی است که با ارتشاح لنفوسیتی به غدد برون ریز مشخص می‌گردد و منجر به علائم ویژه بیماری یعنی التهاب خشک قرنیه و ملتحمه (Keratoconjunctivitis sicca) و خشکی دهان (Xerostomia) می‌شود. این علائم می‌تواند به تنهایی رخ دهد. سندرم شوگرن اولیه (Primary sjögren's syndrome) با همراهی سایر بیماریهای خود ایمنی از جمله لوپوس اریتماتوز منتشر (Systemic lupus erythematosus) و سندرم شوگرن ثانویه (Secondary sjögren's syndrome) همراه با آرتریت روماتوئید (Rheumatoid arthritis) مشاهده می‌شود (۱).

این بیماری اغلب در زنان بالای چهل سال رخ می‌دهد؛ گرچه جوانان و افراد خردسال نیز ممکن است درگیر شوند (۲)؛ به نحوی که نسبت زنان به مردان در این بیماری برابر ۹:۱ می‌باشد. همچنین، شیوع این بیماری در جامعه بین ۰/۵ تا ۱٪ می‌باشد و حدود ۳۰٪ افرادی که دچار بیماری خود ایمنی روماتیسمی هستند، از شوگرن ثانویه رنج می‌برند (۳). SS یک بیماری زنانه است که می‌تواند موجب نقص بویایی، چشایی، پوسیدگیهای دندانهای شدید، مشکلاتی در بلع غذاهای خشک و سوء تغذیه، خستگی و دردناک شدن چشم گردد. یکی از مبتلایان، درد و رنجی را که از این

بیماری می‌کشد با بیانی بسیار گویا به تصویر کشیده است. شوگرن نکبت است (۴). برابر گزارشهای علمی تخمین زده می‌شود که در آمریکا بین پانصد هزار تا دو میلیون نفر از این بیماری رنج می‌برند. این بیماری دومین بیماری شایع خود ایمنی بعد از آرتریت روماتوئید می‌باشد (۴). سیر این بیماری نسبتاً کند است و بدتر شدن در علائم آن به سرعت رخ نمی‌دهد (۵).

برخی بیماران خشکی حلق، حنجره و بینی را اظهار کرده‌اند. خشکی واژن نیز شکایت ۵٪ از زنان بیمار بوده است. تظاهرات عمومی SS اولیه شامل درگیری کلیوی، پلی نورویاتی و واسکولیت است. ۱۰٪ از بیماران SS تظاهرات سودولنفوما را نشان می‌دهند که با بزرگ شدن گره‌های لنفاوی، به خصوص در ناحیه گردن همراه است. بنابراین مطالعات، ۱۰٪ از بیماران شوگرنی که سودولنفوما دارند، یک لنفوم حقیقی غیر هوچکینی سلول B را گسترش خواهند داد (۶).

ذکر این نکته لازم است که پرتودرمانی از جمله علل کاهش عملکرد غدد بزاقی محسوب می‌شود. سالانه حدود چهل هزار مورد جدید سرطان در ناحیه سروگردن در آمریکا گزارش می‌شود که مورد پرتودرمانی قرار می‌گیرند. این اقدام موجب از بین رفتن عملکرد غدد بزاقی می‌گردد. کاهش کیفیت زندگی همواره بیمار مبتلا به شوگرن را آزار می‌دهد. فرد مبتلا مورد تهاجم فشارهای بسیاری در

بافت‌های نرم و سخت ناحیه دهان است که منجر به افزایش بیماری‌های دهان و مشکلاتی در زمینه صحبت کردن، جویدن و بلع می‌شود (۷).

افراد واجد سندرم شوگرن به عفونت‌های استرپتوکوک‌های موتانس (*Streptococci mutans*) و لاکتوباسیل‌ها (*Lactobacilli*) حساس هستند (۸). این افراد به دلیل خشکی دهان، مستعد انواع عفونت‌های دهانی از جمله شایعتر عفونت با *Candida Albicans* می‌باشند (۹). در یک بررسی ۸۰٪ بیماران مورد آزمایش از لحاظ کشت کاندیدا مثبت بودند که رقم قابل توجهی به نظر می‌رسد (۱۰). تأکید می‌نماید که بزاق با وجود مواد ضدباکتریایی مانند لیزوزیم (*Lysosyme*) و یون تیوسیانات (*Thiocyanate*) در بهداشت دهان و دندان مؤثر می‌باشد. آنزیم پتیلین (*Ptyaline*) بزاق نیز علاوه بر اینکه موجب تجزیه جزئی نشاسته می‌گردد، با تجزیه ذرات غذایی باقیمانده به سلامت دهان و دندان کمک می‌کند. همچنین بزاق حاوی مقادیری *IgA* (*Human immunoglobulin A*) می‌باشد که در از بین بردن باکتری‌ها مؤثر است (۱۱) و قطعاً فقدان بزاق تهدیدکننده بهداشت دهان و دندان در این بیماران خواهد بود.

### بیماری‌زایی سندرم شوگرن

بیماری‌زایی (*Pathogenesis*) سندرم شوگرن مانند اکثر بیماری‌های خود ایمنی به طور دقیق شناخته شده نیست. در این بیماری ارتشاح زیاد لنفوسیت‌ها به اطراف مجاری غدد بزاقی دیده می‌شود که به نظر می‌رسد در آسیب به غدد بزاقی با ترشح اینترلوکین‌های مختلف (*Interleukins=ILs*) نقش داشته باشد. لنفوسیت‌های ارتشاحی به غده بزاقی چهل برابر لنفوسیت‌های خون محیطی همان افراد، سیتوکین‌هایی (*Cytokines*) مانند *IL-2* و *IL-10* و *IFN-γ* را بیان می‌کنند (۱۲). عدم حضور *IL-4* و *IL-5* در غده

بزاقی بیماران که از تولیدات سلول‌های *Th-2* (*Thelper-2*) می‌باشند، شاید به علت سرکوب این سلول‌ها توسط سیتوکین‌های مختلف باشد. گرچه ممکن است این سلول‌ها در مراحل اولیه بیماری نقش داشته باشند، با این وجود حضور همزمان *IFN-γ* و *IL-2* (که از تولیدات سلول‌های *Th-1* (*T helper-1*) هستند) به همراه *IL-10* (که از تولیدات سلول‌های *Th-2* است)، به دلیل نوع جدیدی از سلول‌های *TCD4+* (به جز سلول‌های *Th-1* و *Th-2*) می‌باشد. جالب است که پیشتر چنین دودمانی از سلول‌های *T* کشف شده است.

به نظر می‌رسد سلول‌های اپی تلیال بزاقی در بروز و ادامه بیماری نقشی فعال ایفا می‌کنند؛ زیرا حاوی مقادیر زیادی از mRNA سیتوکین‌هایی مانند *TNF-α*، *IL-1<sup>α</sup>* و *IL-6* می‌باشند. سلول‌های *TCD4+* که در مقایسه با سلول‌های *TCD8+* بیشترین نوع لنفوسیت ارتشاحی را تشکیل می‌دهند، با ترشح *IFN-γ* موجب تحریک ترشح سیتوکین‌های *IL-1α* و *TNF* از سلول‌های اپی تلیال می‌شوند که به نوبه خود (از طریق افزایش چسبندگی سلول‌های لنفوسیتی به جدار عروق) موجب فراخوانی و حفظ بیشتر سلول‌های *TCD4+* در محل مذکور می‌گردند. *IFN-γ* نیز موجب بیان هرچه بیشتر *MHC-II* (*Major histocompatibility complex-II*) در سطح سلول‌های اپی تلیال و ارائه پادگن‌های خودی به سلول‌های *CD4+* و تحریک بیشتر آنها می‌شود. تولید موضعی *IL-2* و *IL-10* نیز موجب تحریک سلول‌های *B* در جهت تولید پادتن‌های خودی مانند *Anti-La* و *Anti-Ro* می‌گردد (۱۲). جالب است که تجزیه و تحلیل گیرنده‌های سلول‌های *T* ارتشاحی (*T Cell Receptors*) حاکی از گسترش تک دودمانی (*Monoclonal*) سلول‌های *T* (که نمایانگر تحریک توسط پادگن خودی می‌باشد) است. این پادگن خودی احتمالاً یکی از پروتئین‌های اسکلت سلولی

حضور برخی از لکتین‌ها (Lectins) و نیز عدم حضور برخی گلیکوپروتئین‌ها در سطح سلول‌ها مشاهده شده است. البته تأیید نهایی این مشاهده در گروه مطالعات تکمیلی است (۱۸). مطالعات دیگر، یک علت شناسی وپروسی را در بروز بیماری دخیل می‌داند. جالب است که در سندرم شبه شوگر ناشی از ویروس نقص ایمنی اکتسابی انسان (AIDS)، سلول‌های TCD8<sup>+</sup> بیشتر غالب هستند و نیز علایم سرم‌شناسی سندرم شوگر (Anti-La و Anti-Ro) دیده نمی‌شود. مطالعات دورگه سازی درجا (In situ hybridization) گرچه حضور ویروس ایدز را در لنفوسیت‌های ارتشاحی مشخص کرده است، اما در مورد سلول‌های اپی‌تلیال چنین مشاهده‌ای گزارش نشده است (۱۹). مطالعات مشابه دیگری ویروس‌های اپشتین بار، CMV (Cytomegalovirus)، HTI V-1 (Human T leukemia virus-1)، هپاتیت C و ویروس هریس شماره شش انسانی (Human herpes virus-6) را دخیل می‌داند. در ژاپن، بین افراد واجد میلوپاتی HAM (HTLV-1 Associated myelopathy) ناشی از HTLV-1 و سندرم شوگر همبستگی قوی مشاهده شده است، اگرچه برای اثبات این موارد مطالعات بیشتری نیازمند است (۲۰، ۲۱ و ۲۲).

از آنجا که مبتلایان به بیماری شوگر را اغلب زنان تشکیل می‌دهند احتمالاً، هورمون‌های جنسی نیز در گسترش این سندرم نقش دارند (۲۳). مشاهدات نشان داده است که برداشتن تیموس (Thymectomy) در موشهای NFS /SID (که از الگوهای حیوانی سندرم شوگر هستند) موجب گسترش بیماری در غدد بزاقی و اشکی می‌گردد و با برداشتن تخمدان (Ovariectomy) این موشها بر شدت بیماری به طور قابل توجهی افزوده می‌شود. در این موشها در مقایسه با موشهایی که تنها تیموس آنها برداشته شده است، افزایش زیادی در تعداد سلول‌های TCD8<sup>+</sup>

به نام α-fodrin می‌باشد (۱۳). ضمناً بروز افزایش یافته مولکول B7 در سطح سلول‌های غدد بزاقی نیز مشاهده شده است که می‌تواند منجر به افزایش توانایی عرضه پادگن‌های خودی به سلول‌های ایمنی گردد (۱۴).

در مطالعه‌ای دیگر نقش احتمالی نوعی آنزیم کولین استراز (Choline-Esterase) سرمی که همراه لنفوسیت‌های ارتشاحی وارد غده بزاقی گردیده مورد توجه قرار گرفته است. چرا که با تجزیه استیل کولین (Acethyl choline) پیامهای پاراسمپاتیک محرک ترشح غده را مهار می‌کند (۱۵). گرچه نمی‌توان نقش سیستم ایمنی و حضور پادتن‌های خودی مانند Anti SS-A و Anti SS-B و پادتن علیه گیرنده‌های موسکارینی M3 را در این بیماری نادیده گرفت. بررسیهای متعدد، بیان افزایش یافته‌ای از IL-12 را هم در سلول‌های اپی‌تلیال و هم لنفوسیت‌های B ارتشاحی نشان می‌دهد. شایان ذکر است که تحریک ویروس اپشتین بار (Epstein-Barr Virus=EBV) با بیان IL-12 همبستگی نشان می‌دهد. افزایش بیان IL-12 در سلول‌های B که در اثر EBV می‌باشد در پاتوژنز بیماری و تولید بیش از حد سیٹوکین‌های سلول Th-1 نقش دارد (۱۶).

مطالعات تکمیلی بر هاپیرگاما گلوبولینمی (از نوع IgG1) در افراد واجد SS تأکید دارد. احتمالاً IL-10 موجب این کلید (Switch) به سمت IgG1 می‌شود. جالب است اشاره شود که میزان IL-10 در افرادی که به طور قطع دچار سندرم شوگر هستند در مقایسه با افرادی که احتمال این بیماری را دارند، کمتر است. این وضعیت در شرایطی است که افراد واقعاً مبتلا، میزان IgG1 بیشتری دارند. این امر، شاید به دلیل وجود IL-6 بیشتر در مبتلایان واقعی [که اثر هم‌کرداری (Synergism) و کمکی برای IL-10 دارد] و یا حضور مواد مهاری در مبتلایان احتمالی باشد (۱۷).

به علاوه برابر برخی گزارشها در مبتلایان به SS،

جالب است که شدت آپتوز در سلول‌های مجرای نسبت به سلول‌های آسینی بیشتر است حال آنکه بیان bcl-2 در سطح آنها بیشتر می‌باشد. این مشاهدات نشان می‌دهد که علاوه برژن bcl-2، دیگر ژن‌هایی که در آپتوز دخیل هستند (از جمله bad، bax و p-53 که تحریک کننده آپتوز و bcl-1 که مهار کننده آپتوز هستند)، احتمالاً در این فرایند نقش دارند (۲۷).

مطالعات دیگری روی الگوهای موشی این سندرم، افزایش مقدار آنزیم‌های Cistein-protease را که نمایانگر میزان بالای آپتوز در این سلول‌ها می‌باشد، نشان می‌دهد (۲۸). مطالعات تکمیلی حاکی از آن است که سلول‌های T (و نه سلول‌های B) افراد واجد سندرم شوگرن در شرایط Invitro نسبت به افراد سالم آپتوز بیشتری را نشان می‌دهند. در حالی که سلول‌های T این افراد در شرایط Invivo واجد bcl-2 بیشتری هستند که پیشنهادکننده کاهش سریع bcl-2 در شرایط Invitro در این لنفوسیت‌ها نسبت به لنفوسیت‌های افراد سالم می‌باشد. این شواهد احتمالاً بیانگر نوعی تحریک در شرایط Invivo می‌باشد که موجب افزایش بیان bcl-2 در سطح این سلول‌ها می‌گردد، حال آنکه چنین تحریکی در شرایط Invitro وجود ندارد، زیرا چنانچه سرم خودی (Autologous) به محیط کشت اضافه شود، شدت آپتوز لنفوسیت‌ها کم می‌شود. گرچه کاهش bcl-2 به تنهایی کافی به نظر نمی‌رسد و علاوه بر حذف این عامل مهارتی آپتوز یک عامل تحریک کننده آپتوز نیز، باید مشارکت داشته باشد (۲۹). احتمالاً رها شدن نوکلئوزوم‌ها از سلول‌هایی که دچار آپتوز شده‌اند موجب افزایش پادتن‌های ضد هسته‌ای (Anti-nuclear antibodies) در افراد واجد SS می‌گردد (۲۹).

یکی دیگر از مولکول‌های دخیل در فرایند آپتوز، مولکول Fas (CD95) و لیگاند Fas (Fas-L یا CD95-L)

ارتشاحی دیده می‌شود. سلول‌های TCD8<sup>+</sup>، گیرنده‌های بیشتری در مقایسه با سلول‌های TCD4<sup>+</sup> برای استروژن (Estrogen) دارند. ضمناً در موشهای دسته دوم افزایش زیادی در سلول‌های اپی‌تلیالی که مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی (Apoptosis) را پشت سر گذاشته بودند و از نظر رنگ‌آمیزی Tunel، مثبت بودند، مشاهده شد. اضافه کردن استروژن به محیط کشت، موجب کاهش آپتوز وابسته به Fas سلول‌های اپی‌تلیال گردیده است (۲۴). برخی گزارشات دیگر در پی استفاده از تستوسترون، کاهش التهاب در الگوهای موشی SS را گزارش کرده‌اند (۲۵).

در مطالعه دیگری بیان افزایش یافته سه کموکین IP-10، لنفوتاکتین (Lymphotactin) و Rantes (Regulated on activation, normal Texpression and secreted) در غدد اشکی موشهای دیابتی غیرچاق (Nonobese - Diabetic-mouse=NOD) که یکی از الگوهای حیوانی سندرم شوگرن می‌باشند، گزارش شده است. مطالعات دوره‌سازی در جا نشان داده است که سلول‌های لنفوسیتی ارتشاحی مسؤول تولید این سه کموکین هستند و جالب توجه است که همراه با افزایش بیان این کموکین‌ها، بیان گیرنده‌های Rantes (CCR-1 و CCR-5) و در سطح سلول‌های T و گیرنده IP-10 (CXCR-3) در سطح سلول‌های غدد اشکی افزایش یافته بود (۲۶).

مطالعات دیگر، بر نقش آپتوز در بیماری‌زایی سندرم تأکید دارد. به طورمثال، نشان داده شده است که بیان ژن bcl-2 (که پیش انکوژن و ژن مهارکننده آپتوز می‌باشد) در سطح سلول‌های لنفوئید ارتشاحی افراد واجد سندرم شوگرن بسیار زیاد است که احتمالاً در فعال ماندن و نامیرا شدن این سلول‌ها نقش دارد، در حالی که کاهش bcl-2 هم در سلول‌های مجرای و هم در سلول‌های آسینی غدد بزاقی این افراد (در مقایسه با افراد سالم) مشاهده می‌شود.

می‌باشد که نشان داده شده است در آپوتوز لنفوسیت‌ها و تنظیم سیستم ایمنی مشارکت دارد (۳۰). اتصال Fas-L به مولکول Fas (عضو خانواده گیرنده‌های TNF) در سطح سلول‌ها، موجب مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی می‌گردد (۳۱). در گزارشی نبودن Fas-L مانع آپوتوز لنفوسیت‌ها گردیده است که حاصل آن به صورت مقدار بسیار زیاد در سلول‌های T Double negative (TCD4<sup>-</sup> و TCD8<sup>-</sup>) ملاحظه شده است (۳۲).

پژوهشگران در مطالعات دیگری اثر CD40 و CD40-L (CD40-Ligand) را بر آپوتوز لنفوسیت‌های ارتشاحی بررسی کرده‌اند. جالب است که همان سلول‌هایی که CD40 را در سطح خود بروز می‌دهند، bcl-2 و bcl-x را به مقدار زیاد و bax که یک ژن تحریک‌کننده آپوتوز است را به مقدار کم بیان می‌کنند (۳۳ و ۳۴). احتمالاً ارتباط CD40 روی سلول B ارتشاحی با CD40-L سلول B یا T مجاور موجب تبدیل این سلول‌ها به سلول‌های فعال مترشحه آنتی بادی و PCA-1(+) می‌گردد (۳۴).

امروزه با استفاده از مطالعات روی الگوهای حیوانی سندرم شوگرن از جمله موشهای NOD که الگوی حیوانی SS ثانویه می‌باشند و همراه سندرم شوگرن بیماری دیابت را نیز نشان می‌دهند و نیز موشهای مشتق شده از این موشها که NOD:B10:H<sup>2b</sup> خوانده می‌شوند و الگوی حیوانی سندرم شوگرن اولیه هستند و دیگر برخلاف دسته اول، دیابت را نشان نمی‌دهند؛ جنبه‌های مختلفی از این بیماری در حال کشف است. شایان تأکید است که موشهای NOD وقتی دچار دیابت می‌شوند، علائم سندرم شوگرن را شدیدتر نشان می‌دهند. این مشاهده پیشنهادکننده نقش انسولین در این بیماری است (۲۸). از آنجا که متابولیسم قند بر عملکرد غدد اگزوکراین اثر می‌گذارد، مطالعه روی موشهای NOD که علاوه بر شوگرن، دیابت را نیز نشان

مطالعات نشان می‌دهد که موشهای NOD:SCID گرچه ارتشاح لنفوسیتی را نشان نمی‌دهند، اما کاهش سلول‌های آسینی و نیز افزایش آنزیم‌هایی را که در آپوتوز نقش دارند، بروز می‌دهند. ضمناً موشهای NOD:Igμ null ارتشاح سلول‌های T و فعالیت کاسپازها را نشان می‌دهند. کاسپازها از جمله آنزیم‌های مؤثر در آپوتوز می‌باشند. موشهای اخیر علائم سندرم شوگرن را نشان نمی‌دهند، اما در اثر تزریق IgG از موشهایی که بیماری خود ایمنی دارند یا افراد واجد سندرم شوگرن، علائم کاهش عملکرد غدد بزاقی را ظاهر می‌کنند. بنا بر تمام مشاهدات معرفی شده در بالا، می‌توان دو مرحله برای سندرم شوگرن در نظر گرفت: مرحله نخست یا آغازین که غیر وابسته به سیستم ایمنی بدن است نتیجه نقص ذاتی در همئوستاز (Homeostasis) غدد برون‌ریز می‌باشد که باعث آپوتوز سلول‌های غدد بزاقی می‌گردد. مرحله دوم که حمله اختصاصی دستگاه ایمنی است، مسؤول از دست رفتن عملکرد غدد بزاقی می‌باشد. در این مرحله پادتن‌های خودی در پاسخ به پادگن‌های خودی رها شده از سلول‌های بزاقی در طی آپوتوز مرحله پیشین، از سلول‌های B ترشح می‌شوند (۲۸ و ۳۵).

در مطالعات تکمیلی صورت گرفته روی موشهای NOD، بین برخی آل‌های کروموزومی و سندرم شوگرن رابطه‌ای مشاهده شده است. بدین نحو که دو ژن روی کروموزوم‌های یک و سه این موشها (به ترتیب، به نامهای

مورد اشاره در بالا، به نظر می‌رسد که امروزه درمان بنیادی و اساسی برای این بیماری وجود ندارد و همگی تنها به درمان علامتی بیمار می‌پردازند که قطعاً انگیزه را برای درمان به کمک انتقال ژن، که یک درمان ریشه‌ای محسوب می‌شود، بیشتر می‌کند.

### ژن درمانی بیماری التهابی غدد بزاقی

سالهای آغازین سده حاضر را دوره شکوفایی علم دندانپزشکی نیز دانسته‌اند. امروزه چنانچه انتظار می‌رود، علوم سلولی و مولکولی و کاربرد روشها و فنون قدرتمند مهندسی ژنتیک و بیوتکنولوژی مولکولی، مرزهای دندانپزشکی را نیز در نور دیده و این قلمرو لز دانش پزشکی را در حال ورود به آغوش پزشکی مولکولی کرده است (۳۹). به طوری که موضوع ژن درمانی و انتقال ژن‌های درمانگر به سلول‌های سوماتیک دست کم در مراکز علمی، پژوهشی و درمانی معتبر جهانی به صورت یک امر رایج و روزمره درآمده است و بسیاری از مشکلات فراروی این دانش و فن هر روز به کناری زده می‌شود (۴۰). بنا بر این گزاره نیست که تأکید گردد که امروزه ژن درمانی حیطه عملکرد دندانپزشکی را نیز گسترش داده است، به نحوی که در مورد بسیاری از سرطانهای حفره دهانی از این شیوه نوین استفاده می‌شود. به عنوان مثال با انتقال ژن‌های تیمیدین کیناز (Thymidine-Kinase) و اینترلوکین ۲ موشی (IL-2) و مصرف گانسیکلوویر (Gancyclovire) پس‌رفت فوق‌العاده‌ای در سلول‌های توموری سرطان سلول سنگفرشی دهان (Squamous cell carcinoma) مشاهده شده است (۴۱).

البته آنچه که مورد نظر این نوشتار است، روشهای انتقال ژن به غدد بزاقی و بررسی معایب و مزایای هر یک از این روشها می‌باشد. موقعیت کالبدی و آناتومیک غدد بزاقی و سهولت دسترسی به آنها، این غدد را نامزدهای

اختصاصی Idd1 و Idd3) کشف گردیده است که احتمالاً در حفظ موشها از تظاهرات پاتولوژیک بیماری مشابه سندرم شوگرن انسانی نقش دارد. امید می‌رود که در مورد انسان نیز چنین آل‌های مستعدکننده‌ای کشف گردند تا به کمک روشهای ژن درمانی، راه برای درمان اساسی این بیماری هموار گردد (۳۶).

گرچه در مورد انسان، مطالعات اخیر نشان‌دهنده همراهی برخی آل‌های مجموعه اصلی سازگاری بافتی (مانند HLA-DQAL\*0501, HLA-DRW54, HLA-DR3, HLA-B8 با سندرم شوگرن اولیه و آل HLA-DRB1\*15 در بیماران واجد سندرم شوگرن ثانویه همراه با ارتزیت روماتوئید همراه می‌باشد اما هنوز مطالعات زیادی برای تأیید این آل‌های مستعدکننده بیماری، لازم است (۳۷).

### درمانهای مرسوم و رایج سندرم شوگرن

برای درمان خشکی چشم، معمولاً از قطره‌های چشمی حاوی استروئید استفاده می‌شود، البته استفاده از سرم خودی، به عنوان اشک مصنوعی نیز ممکن است مفید باشد. بهداشت مناسب دهان و دندان لز عوارض این بیماری می‌کاهد که در این زمینه استفاده از دهان شویه‌های مناسب توصیه شده است. استفاده از طب سوزنی نیز، ظاهراً موجب درمان علامتی بیماری می‌گردد (۸). استفاده از داروهای آگونیست کولی‌نرژیک (Cholinergic agonists) مانند پیلوکارپین (Pilocarpine) در بیمارانی که هنوز بخش قابل ملاحظه‌ای از بافت ترشحی خود را حفظ کرده‌اند کاربرد دارد، که البته با اثرات جانبی بسیار همراه است. به تازگی داروی مشابهی به نام Cevimeline ساخته شده است که در مقایسه با پیلوکارپین بسیار اختصاصی عمل می‌کند و طبیعتاً، اثرات جانبی کمتری بر جا می‌گذارد، اگرچه هنوز این اثرات قابل توجه است (۳۸). با توجه به تمام نکات

مزایای رتروویروس‌ها در امر ژن درمانی می‌توان بیان نسبتاً پایدار ژن و عدم برانگیختن سیستم ایمنی را (که در حفظ بیان ژن انتقالی موثر است) نام برد. اگرچه که این ویروس‌ها محدودیتهای نسبی نیز دارند (۴۳، ۴۴، ۴۵ و ۴۷).

پژوهشگران، با استفاده از رتروویروس‌ها توانسته‌اند ژن  $\beta$ -Gal (Lac-Z) متعلق به کلی باسیل (E-Coli) را به شیوه تزریق مجرای معکوس (Retrograd ductal injection) به غدد بزاقی Rat (نوعی موش آزمایشگاهی) وارد کنند (این روش یک روش مرسوم در تشخیص علائم رادیوگرافی بسیاری از بیماریهای غدد بزاقی از جمله همین بیماری است). البته یکی از معایب رتروویروس‌ها این است که برای برداشته شدن توسط سلول، نیاز به تقسیم سلولی دارند (۴۴) و حال آنکه در حالت طبیعی تنها بین صفر تا ۴٪ سلول‌های غدد بزاقی در حال تکثیر می‌باشند. شایان تأکید است با استفاده از مواد تحریک کننده میتوز، در الگوهای حیوانی توانسته‌اند کارایی برداشت این ویروس‌ها، توسط سلول‌ها را افزایش دهند. به‌عنوان مثال با استفاده از ماده آگونیست  $\beta$ -آدرنرژیک (Isopretrenol=IPR) که محرک تقسیم سلول‌های آسینی غدد بزاقی (ونه مجرای) است، توانسته‌اند بیان ژن  $\beta$ -Gal را در این سلول‌ها افزایش داده و به حداکثر ۴۳٪ برسانند، در حالی که بدون استفاده از این ماده هیچ‌گونه بیانی از ژن انتقال یافته گزارش نشده است. شاید بتوان با استفاده از هورمون‌های تیروئیدی که محرک تقسیم سلول‌های مجرای هستند به نتایج مشابهی در مورد این سلول‌ها دست یافت (۴۸). گرچه نمی‌توان و نباید بدون در نظر گرفتن اثرات چنین موادی بر آدمی آنها را بی‌محابا در مورد انسان به کاربرد. یکی از نکات امیدوار کننده در ژن درمانی به کمک ناقل رتروویروسی، بیان طولانی مدت ژن انتقالی

مناسبی برای ژن درمانی گردانیده است. در حال حاضر انتقال ژن به حفره دهانی، هدفهای متعددی را تعقیب می‌کند، که موارد زیر به ویژه شایسته تأکید هستند:

۱- اصلاح عملکرد کاهش یافته سلول‌های هدف

۲- مبارزه با عفونتهای حفره دهانی

۳- القای تحمل ایمنی

۴- فراهم کردن عوامل رشد مانند (Epidermal growth factor) یا آنزیم‌ها (مانند لپازها) که از حفره دهانی به معده سرازیر می‌شوند (۴۲).

در امر ژن درمانی از راه کارهای مختلفی برای عرضه ژن استفاده می‌شود (۴۴، ۴۳، ۴۵) از جمله ناقلین غیر زیستی مانند لپوزم‌ها، استفاده از محیط‌های غنی از فسفات کلسیم و ... و ناقلین زیستی متنوع مانند انواع ویروس‌ها به ویژه رترو ویروس‌ها (Retroviruses)، آدنوویروس‌ها (Adenoviruses) و ویروس‌های مجتمع با آدنو (Adeno Associated Viruses). یکی از سیستم‌های ناقل ژنی، پلاسمیدها می‌باشند، البته نتایج این نوع مطالعات نشان داده است که مدت زمان بیان ژن انتقال یافته (Luciferase) بسیار کوتاه (پنج روز) بوده است. در عین حال، چنانچه همزمان با پلاسمید حاوی ژن مورد نظر، یک آدنوویروس ناقص از لحاظ همانندسازی (Replication deficient adenovirus) به کار گرفته شود، بیان ژن انتقال یافته افزایش می‌یابد که این امر را می‌توان به پروتئین‌های سطحی آدنوویروس که خاصیت Endosomolytic دارند نسبت داد. احتمالاً این مولکول‌ها با آنزیم‌های درون سلولی که قصد تجزیه ویروس را دارند، مقابله می‌کنند و این رخداد به واقع به سود پلاسمیدی است که همراه و مجاور این ویروس وارد سلول شده است (۴۶).

رتروویروس‌ها، یکی از انواع ویروس‌ها هستند که برای حمل ژن به سلول هدف مورد استفاده قرار می‌گیرند. از

(۴۳ روز) در سلول‌های بزاقی بود که قطعاً ضرورت ژن درمانی برای دفعات متوالی را کاهش می‌دهد (۴۸). اگرچه بلافاصله باید اضافه کرد که در هر میدان دید میکروسکوپی تنها یک تا دو سلول، ژن انتقال یافته ( $\beta$ -Gal) را بیان می‌کردند که طبیعتاً برای مقاصد ژن درمانی موفق به مقادیر به مراتب بیشتری نیاز می‌باشد. در مجموع، با در نظر گرفتن تمام شرایط و با توجه به منافع و محدودیتها، در حال حاضر رتروویروس‌ها بهترین نامزد برای ژن درمانی در این رابطه (سلول‌های غدد بزاقی) به حساب نمی‌آیند.

امروزه به آدنوویروس‌ها به عنوان یک ناقل بسیار مناسب در انتقال ژن نگریسته می‌شود. برتری استفاده از آدنوویروس‌ها در مقایسه با رتروویروس‌ها این است که احتمال تبدیل ویروس ناقل به ویروس وحشی (طبیعی) و خطرناک بسیار کمتر است. از جمله معایب این ویروس‌ها این است که وارد ژنوم هسته نمی‌شوند و بنابراین مدت زمان بیان ژن انتقالی، اندک است (۴۵).

چنانچه در ابتدای مقاله ذکر شد، استعداد ابتلا به عفونت‌های قارچی در افراد سندرم شوگرن فوق‌العاده بالاست. در یک مطالعه، DNA مکمل (Complementary DNA=c) مربوط به یک پروتئین ضد قارچی به نام هیستاتین ۳ (Histatin-3) را توسط آدنوویروس در شرایط *In vivo* وارد غدد بزاقی موش آزمایشگاهی کردند. مشاهدات نشان از بیان مؤثر این پروتئین در این سلول‌ها و ضمناً کارآمد بودن این پروتئین در کاهش عفونت‌های قارچی دهانی در موش آزمایشگاهی می‌داد. جالب است که این پروتئین نو ترکیب برگونه‌های مقاوم به آزول (Azol resistant) کاندیدا نیز موثر است. در خلال همین مطالعات، خوشبختانه از پروموتورهایی (Promoters) که کارایی بالاتری دارند، نیز استفاده شده است. به عنوان مثال میزان m-RNA رمز کننده هیستاتین-۳ در سلول‌هایی که با

آدنوویروس AdCMVH3 (که حاوی پروموتور CMV می‌باشد) در مقایسه با سلول‌هایی که با آدنوویروس AdMLPH3 (که واجد پروموتور Major Late protein MLP می‌باشد) آلوده شده بودند، ده برابر بیشتر بود. به نظر می‌رسد که پروموتور CMV مناسبترین انتخاب، در افزایش بازدهی انتقال ژن به غدد بزاقی باشد (۴۹). این مطالعه و مطالعات مشابه، پژوهشگران را در زمینه ژن درمانی سندرم شوگرن که منجر به افزایش ترشح بزاق گردد، بیش از پیش امیدوار کرده است و به نظر می‌رسد که آدنوویروس‌ها مناسبترین نامزدها در انتقال ژن به غدد بزاقی به صورت *In vivo* باشند، زیرا به راحتی به سلول‌های اپی‌تلیال وارد می‌شوند و داخل سلول‌هایی که تقسیم هم نمی‌گردند، خواهند شد. به علاوه، در مقایسه با دیگر ناقلین با بیشترین کارایی سلول‌های غدد بزاقی را آلوده می‌کنند. افزون بر اینها، امکان استفاده از پروموتورهای اختصاصی سلول‌های مختلف در این مورد وجود دارد. یعنی می‌توان با به کارگیری پروموتورهای ویژه، موجب بیان ژن در سلول‌های آسینی و یا مجرای به صورت اختصاصی شد. به طور مثال نشان داده شده است، اگر ژن انتقال یافته به بخشی از انتهای پنج ژن پروتئین GRP-Ca (Glutamine/glutamic acid rich protein) وصل شود بیان ژن انتقال یافته بیشتر در سلول‌های آسینی رخ می‌دهد. جالب توجه است که محل اصلی سنتز پروتئین GRP-Ca، سلول‌های آسینی است (۵۰).

از این نکته نیز نباید غفلت کرد که التهاب و ارتشاح لنفوسیت‌ها پس از انتقال ژن به موضع آن، از جمله مشکلاتی است که در برابر انتقال ژن توسط آدنوویروس‌ها مشاهده شده است. این رخداد پیشتر در مورد انتقال ژن به کمک ناقل آدنوویروسی به ششها نیز گزارش شده بود (۵۱). البته چنین مشاهداتی در مورد انتقال ژن به غدد بزاقی موش آزمایشگاهی نیز گزارش گردیده که موجب کاهش

از سمیت مستقیم ویروس است، این مرحله حتی توسط ویروس‌های غیر فعال شده با پرتو فرابنفش نیز رخ می‌دهد در حالی که مرحله دوم اکثراً توسط یاخته‌های زهرآگین واسطه‌گری می‌شود و ارتباط مستقیم به بیان ژن‌های ویروسی دارد. بهترین داروی ضد التهابی برای مصرف به همراه ژن درمانی در حفره دهانی، دگزامتازون می‌باشد. گرچه مطالعات، آسیب دیدن سلول‌های ترشحی را نیز نشان می‌دهد. اما این آسیب گسترده نیست و جای امیدواری را باقی می‌گذارد، این آسیب کاملاً وابسته به مقدار ناقل ویروسی ارائه شده است (۵۲). ضمناً پاسخ ایمنی همورال و ترشح پادتن علیه این آدنوویروس‌ها، درمان دوباره با آنها را مشکل می‌کند (۵۳). لازم به ذکر است که تهیه آدنوویروس‌هایی که واجد پروتئین‌های پادگنی بسیار کمی هستند (از جمله آدنوویروس‌هایی که واجد جهش حساس به حرارت در ژن E2a می‌باشند)، آینده را نویدبخشتر می‌کند اما تا آن زمان، استفاده از داروهای ضد التهابی در حین ژن درمانی گزینش مناسبی به حساب می‌آید.

چنانچه می‌دانیم، ساختمان غده بزاقی از دو بخش سلول‌های آسینی و سلول‌های مجرایی تشکیل شده است. در حالی که سلول‌های آسینی به ترشح بزاق می‌پردازند، سلول‌های مجرایی در جذب کلوروسدیم (NaCl) و ترشح بی‌کربنات پتاسیم (KHCO<sub>3</sub>) به داخل بزاق نقش دارند (۱۱). جالب است که به دنبال کاهش عملکرد غده بزاقی پمپ‌هایی که در انتقال سدیم نقش دارند از کار می‌افتند در حالی که پمپ ترشح کننده بی‌کربنات پتاسیم همچنان به کار خود ادامه می‌دهد. اگر به شیوه‌ای بتوان سلول‌های مجرایی را نسبت به آب نفوذپذیر کرد. به کمک شیب غلظتی ناشی از ترشح بی‌کربنات پتاسیم امکان ترشح بزاق از سلول‌های مجرایی (که در حالت عادی چنین عملی را انجام نمی‌دهند) وجود دارد. چنانچه گفته شد سلول‌های

بیان ژن انتقال یافته به دنبال رخداد التهاب گشته است. در این حالت مشاهده شده است که اکثر سلول‌های ارتشاحی در اطراف سلول‌های مجرایی قرار داشتند که شاید به دلیل غلظت زیاد آدنوویروس‌ها در این سلول‌ها بوده است. این احتمال نیز دور از ذهن نیست که شاید بسته شدن مجرای غده بزاقی توسط سلول‌های مرده و ریزش یافته موجب افزایش التهاب گردیده است (۵۲). در چنین شرایطی، به نظر می‌رسد که در اثر یاخته‌های زهرآگین (Cytotoxic T lymphocytes=CTLs)، سلول‌های اپی‌تلیال کشته می‌شوند و از این رو بیان ژن انتقال یافته کم می‌شود. التهاب مشاهده شده در این مورد نیز، شاید به علت بیان ژن E2a آدنوویروس در سلول‌های هدف باشد. البته این امکان نیز هست که حتی محصول ژن انتقال یافته به عنوان پروتئین خارجی شناخته شده و پاسخ ایمنی را تحریک کند. جالب است که حتی قبل از افزایش CTLها در موضع، میزان رویگرد (Turn-over) سلولی بیشتر می‌شود که نقش احتمالی سیتوکین‌ها را در مرگ سلول‌های اپی‌تلیال پیشنهاد می‌کند (۵۱).

به این نکته باید توجه داشت که داروهای سرکوب کننده سیستم ایمنی [مانند سیکلوسپورین (Cyclosporine) A) و دگزامتازون (Dexamethasone)] موجب افزایش بیان ژن (Cystic-Fibrosis) CF انتقال یافته به شش توسط آدنوویروس گشته است. گرچه کاربرد داروهای مهار کننده سیستم ایمنی در بیماران واجد فیروزکیستیک (Cystic fibrosis) مشکلات جدیدی می‌آفریند اما خوشبختانه در درمان سندرم شوگرن مشکل‌زا نمی‌باشد چراکه یکی از درمان‌های رایج در درمان بیماران سندرم شوگرن می‌باشد (۵۱). پژوهشها نشان داده است که پاسخ التهابی به ناقلین آدنوویروسی دو مرحله دارد: مرحله اول که حتی در حیواناتی که سیستم ایمنی مهار شده‌ای دارند نیز رخ می‌دهد، ناشی

حاصل می‌شود. انتقال ژن‌های برخی عوامل تنظیمی که با نسخه‌برداری از روی ژن‌ها موجب گذار سلول از مرحله GO به مرحله S می‌گردند، موفقیت آمیز بوده است.

$E_2F_1$  یک عامل نسخه‌برداری است که در اثر اتصال به عامل دیگری به نام DP-1 مجموعه فعالی که با افزایش رونویسی از روی ژن‌های متعدد باعث گذار سلول از مراحل مختلف چرخه سلولی می‌شود. این مجموعه توسط پروتئین رتینوبلاستوما ( $Rb=Retinoblastoma$ ) که محصول ژن سرکوبگر توموری به همین نام می‌باشد، مهار می‌گردد. در مطالعه‌ای سلول‌های بزاقی در محیط غنی از  $IFN-\gamma$  که متوقف کننده سلول‌ها در مرحله GO/G1 می‌باشد قرار گرفتند و سپس در شرایط *Invitro* توسط ناقل آدنوویروسی ژن رمز کننده  $E_2F_1$  به این سلول‌ها انتقال یافت. این عمل موجب افزایش سلول‌ها در مرحله G2/M گردید ولی تجمع سلولی در مرحله G1 (که نشان دهنده گذار سلول از یک میتوز و ورود مجدد به G1 می‌باشد)، گزارش نشده است. این امر نشان‌دهنده آن است که تقسیم سلولی رخ نداده است، گرچه سلول‌ها در مرحله G2/M تجمع یافتند. مطالعات تکمیلی نیز نشان داده است که انتقال این ژن موجب عبور از مرحله سنتز DNA چرخه سلولی شده است، اگرچه به دنبال آن مرگ سلولی رخ داده و این مرگ، یک مرگ آپوتوزی می‌باشد. فعالیتهای تحریک رشد و آپوتوزناشی از  $E_2F_1$  به یکدیگر مرتبط هستند زیرا قطع ارتباط  $E_2F_1$  با Cyclin-A-Kinase موجب آپوتوز سلولی می‌شود. جالب است اشاره شود که براساس مطالعات منتشر نشده، تحریک تقسیم سلولی توسط سایر اعضای خانواده  $E_2F_1$  مشاهده شده است (۵۶).

چنین به نظر می‌رسد که انتقال یک ژن منفرد به سلول، برای تحریک تقسیم سلولی کفایت نکند. زیرا سلول‌ها برای کنترل تکثیر سلولی عوامل مختلف مهاری در

مجرای نسبت به آب نفوذناپذیر بوده و در سندرم شوگرن آسیب کمی می‌بینند. بنابراین منطقی است که این سلول‌ها به سلول‌های ترشح کننده مایع تبدیل گردند.

آکوپورین‌ها (Aquaporins) گروهی از پروتئین‌های غشایی هستند که در انتقال آب به داخل سلول نقش دارند. انتقال DNA رمز کننده آکوپورین ۱- (AQP-1) به سلول‌های مجرای غدد بزاقی با استفاده از ناقل آدنوویروسی ( $AdhAQP-1$ ) موجب افزایش قابل توجه در میزان ترشح بزاق موشهایی می‌گردد که در اثر پرتوتابی کاهش عملکرد غدد بزاقی را نشان می‌دهند (۵۴)؛ گرچه به طور معمول AQP-1 در سلول‌های اپیتلیال بزاقی وجود ندارد و تنها در عروق این ساختار حضور دارد. جالب است که موشهایی که در معرض پرتوتابی قرار گرفته بودند، نسبت به موشهای گروه شاهد دو برابر بیشتر ناقل ویروسی را برداشت کرده‌اند (۵۴).

این مشاهده، ما را به بازدهی بالاتر در درمان سندرم شوگرن امیدوارتر می‌کند. در مطالعه دیگری، آدنوویروس ناقل ژن آکوپورین شماره ۵ ( $AdrAQP-5$ )، بیان این ژن را در سلول‌های کلیوی و غدد بزاقی افزایش داده است. جالب است که اگر این ناقل را از طریق غشای قاعده‌ای جانبی به سلول‌ها عرضه شود، بیان ژن بیشتر می‌گردد. این رخداد، ظاهراً به علت حضور بیشتر مولکول‌های اینتگرین ( $Integrin$ ) در این غشا می‌باشد (۵۵). استفاده از  $AdrAQP-5$  و ناقلین مشابه راهی مؤثر و مفید برای افزایش نفوذپذیری سلول‌هایی که فاقد این ویژگی هستند، می‌باشد (۴۶).

چنانچه بیشتر ذکر شد تنها درصد کمی از سلول‌های بزاقی در چرخه سلولی به سر می‌برند و اکثریت سلول‌ها در مرحله GO می‌باشند. حال اگر به شیوه‌ای بتوان سلول‌ها را وادار به ورود از مرحله GO به مرحله S کرد، موفقیت نسبی

جاروبگرهای رادیکال‌های آزاد (Free radical scavengers) استفاده کرد چراکه اکثر آسیب‌های ناشی از پرتوتابی، ناشی از شکل‌گیری رادیکال‌های آزاد و بسیار واکنش‌گر بوده است که مولکول‌های سلولی را مورد تهاجم قرار می‌دهند (۵۸). چنانچه پیشتر اشاره شد اکثر سلول‌های T ارتشاحی از نوع Th-1 می‌باشند. اگر بتوان ژن سیتوکین‌هایی مانند IL-10, IL-4 را که القا کننده ارتشاح به سمت سلول‌های Th-2 می‌باشند، وارد سلول‌ها کرد، می‌توان از شدت بیماری که ناشی از سلول‌های ارتشاحی Th-1 و سیتوکین‌های مترشحه از آنهاست، کاست (۵۸).

دسترس دارند. به هر حال هر سیستمی از انتقال ژن که در نظر گرفته می‌شود باید کاملاً بی‌خطر باشد چراکه تحریک تقسیم سلولی، خود می‌تواند منجر به رشد بی‌رویه سلول‌ها و در نهایت سرطان گردد (۵۷).

مشاهده شده است که با انتقال ژن رمز کننده یک مولکول ناقل یونی (Ion-transporter) که در ایجاد گرادیان اسمزی موثر است به همراه یک مولکول Aquaporin می‌توان فعالیت بیشتری را به سلول‌ها بازگرداند و یا برای پیش‌گیری از دست رفتن عملکرد غدد بزاقی ناشی از پرتوتابی در ناحیه سر و گردن، از انتقال ژن‌های رمزکننده

### منابع

- 1- Regezi J, Scuibba J. Oral Pathology Clinical Pathologic Correlations. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders; 1999, 235-8.
- 2- Shafer WG, Hine MK, Levy, BM. A Text book of Oral Pathology. 3rd. ed. Philadelphia: WB Saunders; 1983, 242-49.
- 3- Fauci AS, Braun WE, Isselbacher KJ. Harrison's principles of internal medicine. New York: Mc Graw- Hill; 1998, 1902-904.
- 4- Talal N. What's sjogren's syndrome and why is it important? J Rheumatol 2000; 27 (supplement 61): 2-3.
- 5- Gannot G, Lancaster HE, Fox PC. Clinical course of primary Sjogren's syndrome: salivary, oral and serologic aspects. J Rheumatol 2000; 27: 1905-909.
- 6- Malcom AL, Vernon J, Brightman, MS. Greenberg. Burkets oral medicine, diagnosis and treatment. 9th ed. Philadelphia: JB Lippincott: 1994: 425-29.
- 7- Fox PC, van der Ven PF, Sonies BC, Weiffenbach JM, Baum BJ. Xerostomia: evaluation of a symptom with increasing significance. J Am Dent Assoc 1985 Apr; 110(4):519-25.
- 8- Fox RI, Stern M, Michelson P. Update in Sjogren syndrome. Curr Opin Rheumatol 2000 Sep; 12(5):391-8. Review.
- 9- Hernandez YL, Daniels TE. Oral candidiasis in sjorgren's syndrome: prevalence, cilinical correlations, and treatment. Oral Surg Oral Med Oral Pothol Oral Radiol Endod 1989; 68:324-29.
- 10- Rhodus NE, Bloomquist C, Emark W. Oral candidia albicans in patients with sjogren's syndrome. Ear Nose Throat J 1999; 78: 47-53.
- 11- Guyton AC, Hall JE. Textbook of Medical Physiology. 10th ed. Philadelphia: WB Saunders; 2001, 740-42.
- 12- Fox RI, Kang HI, Ando D, Abrams J, Pisa E. Cytokine mRNA expression in salivary gland biopsies of Sjogren's syndrome. J Immunol 1994 Jun 1; 152(11): 5532-9.
- 13- Haneji N, Nakamura T, Takio K, Yanagi K, Higashiyama H, Saito I, Noji S, Sugino H, Hayashi Y. Identification of alpha-fodrin as a candidate autoantigen in primary Sjogren's syndrome. Science 1997 Apr 25; 276(5312):604-47.

- 14- Manoussakis MN, Dimitriou ID, Kapsogeorgou EK, Xanthou G, Paikos S, Polihronis M, et al. Expression of B7 costimulatory molecules by salivary gland epithelial cells in patients with Sjogren's syndrome. *Arthritis Rheum* 1999 Feb;42(2):229-39.
- 15- Dawson LJ, Christmas SE, Smith PM. An investigation of interactions between the immune system and stimulus-secretion coupling in mouse submandibular acinal cells. A possible mechanism to account for reduced salivary flow rates associated with the onset of Sjogren's syndrome. *Rheumatol* 2000; 39: 1226-33.
- 16- Horiuchi M, Yamano S, Inoue H, Ishii J, Nagata Y, Adachi H, Ono M, et al. Possible involvement of IL-12 expression by Epstein-Barr virus in Sjogren syndrome. *J Clin Pathol* 1999 Nov; 52(11): 833-37.
- 17- Perrier S, Serre AF, Dubost JJ, Beaujon G, Plazonnet MP, Albuissou E, Sauvezie B. Increased serum levels of interleukin 10 in Sjogren's syndrome; correlation with increased IgG1. *J Rheumatol* 2000 Apr;27(4):935-9.
- 18- Steinfeld S, Penaloza A, Decaestecker C, Rommes S, Andre S, Schuring MP, Danguy A, Appelboom T, Kiss R, Gabius HJ. Labeled neoglycoproteins and human lectins as diagnostic and potential functional markers in salivary glands of patients with Sjogren's syndrome. *J Rheumatol* 2000 Aug;27(8):1910-16.
- 19- Schidt M. HIV associated salivary gland disease: a review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1992; 73: 164-67.
- 20- Fox JD, Ward PA, Tedder RS. Human herpes virus 6 in salivary glands. *Lancet* 1990; 336: 590-93.
- 21- Terada K, Katamine S, Eguchi K, Moriuchi R, Kita M, Shimada H, et al. Prevalence of serum and salivary antibodies to HTLV-1 in Sjogren's syndrome. *Lancet* 1994 Oct 22;344(8930):1116-9.
- 22- Jorgensen C, Legouffe MC, Perney P, Coste J, Tissot B, Segarra C, Bologna C, Bourrat L, Combe B, Blanc F, Sany J. Sicca syndrome associated with hepatitis C virus infection. *Arthritis Rheum*. 1996 Jul; 39(7):1166-71.
- 23- Parke AL. Sjogren's syndrome: A women health problem. *J Rheumatolo* 2000; supplement 61: 4-5.
- 24- Ishimaru N, Saegusa K, Yanagi K, Haneji N, Saito I, Hayashi Y. Estrogen deficiency accelerates autoimmune exocrinopathy in murine Sjogren's syndrome through fas-mediated apoptosis. *Am J Pathol* 1999 Jul;155(1):173-81.
- 25- Vendramini ALM, Soo C, Sullivan DA. Testosterone- induced suppression of autoimmune disease in lacrimal tissue of a mouse model (NZB/NZW F1) of Sjogren's syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1991; 32: 3002-3006.
- 26- Tornwall J, Lane TE, Fox RI, Fox HS. T cell attractant chemokine expression initiates lacrimal gland destruction in nonobese diabetic mice. *Lab Invest* 1999 Dec;79(12):1719-26.
- 27- Manganelli P, Quaini F, Andreoli AM, Lagrasta C, Pilato FP, Zuccarelli A, Monteverdi R, D'Aversa C, Olivetti G. Quantitative analysis of apoptosis and bcl-2 in Sjogren's syndrome. *J Rheumatol* 1997 Aug;24(8):1552-7.
- 28- Robinson CP, Yamachika S, Bounous DI, Brayer J, Jonsson R, Holmdahl R, et al. A novel NOD-derived murine model of primary Sjogren's syndrome. *Arthritis Rheum* 1998 Jan;41(1):150-6.
- 29- Ogawa N, Dang H, Kong L, Anaya JM, Liu GT, Talal N. Lymphocyte apoptosis and apoptosis-associated gene expression in Sjogren's syndrome. *Arthritis Rheum* 1996 Nov;39(11):1875-85.
- 30- Cotran RS, Kumar V, Collins T. Robbins pathologic basis of disease. 6th ed. Philadelphia: WB Saunders;1999; 23-25.
- 31- Abbas AK, Litchman AH, Pober, JS. Cellular and Molecular Immunology. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders;1994, 383-85.
- 32- Ramsdell F, Seaman MS, Miller RE, Tough TW, Alderson MR, Lynch DH. gld/gld mice are unable to express a functional ligand for Fas. *Eur J Immunol* 1994 Apr;24(4):928-33.

- 33- Levesque MC, Mackin DA, Fleming JA, St Clair EW. Serum levels of soluble CD44 in primary Sjogren's syndrome. *J Rheumatol* 2000 Jun; 27(6): 1444-9.
- 34- Nakamura H, Kawakami A, Tominaga M, Migita K, Kawabe Y, Nakamura T, Eguchi K. Expression of CD40/CD40 ligand and Bcl-2 family proteins in labial salivary glands of patients with Sjogren's syndrome. *Lab Invest* 1999 Mar; 79(3):261-69.
- 35- Humphreys B, MG Peck AB. New concepts for the development of autoimmune exocrinopathy derived from studies with the NOD mouse model. *Arch Oral Biol* 1999; 44: S21-S25.
- 36- Brayer J, Lowry J, Cha S, Robinson CP, Yamachika S, Peck AB, et al. Alleles from chromosomes 1 and 3 of NOD mice combine to influence Sjogren's syndrome-like autoimmune exocrinopathy. *J Rheumatol* 2000 Aug; 27(8): 1896-904.
- 37- Matthey DL, Gonzalez-Gay MA, Hajeer AH, Dababneh A, Thomson W, Garcia-Porrúa C, Ollier WE. Association between HLA-DRB1\*15 and secondary Sjogren's syndrome in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2000 Nov; 27(11): 2611-6.
- 38- Fox RL, Michelson P. Approaches to the treatment of Sjogren's syndrome. *J Rheumatol* 2000; 27 Supplement 27: 15-21.
- 39- Boum BJ. Has modern biology entered the mouth the clinical impact of biological research? *J Dent Edu* 1991; 55: 299-303.
- 40- Marshal E. One less hoop for gene therapy. *Science* 1994; 265: 599.
- 41- O'Malley BW, Cope KA, Chen SH, Li D, Schwarta MR, Woo SL. Combination gene therapy for oral cancer in a murine model. *Cancer Res* 1996 Apr 15;56(8):1737-41.
- 42- Baum BJ, O'Connell BC. The Impact of gene therapy on dentistry. *J Am Dent Asso* 1995; 126: 179-89.
- ۴۳- نوری دلویی، محمدرضا. نظری به ژن درمانی و چشم‌انداز آن. *مجله اورولوژی ایران* ۱۳۷۳؛ ۱(۴): ۷۴-۶۵.
- ۴۴- نوری دلویی، محمدرضا. نظری به ژن درمانی و چشم‌انداز آن. *مجله اورولوژی ایران* ۱۳۷۴؛ ۲(۵-۶): ۲۱-۱۳.
- ۴۵- نوری دلویی، محمدرضا؛ نیک‌پور، برزو. ژن درمانی در سرطان و پیشرفتهای آن. *تهران: رازی* ۱۳۷۸؛ ۱۰(۵). ص ۲۶-۹.
- 46- Delporte C, O'Connell BC, He X, Ambudkar IS, Agre P, Baum BJ. Adenovirus-mediated expression of aquaporin-5 in epithelial cells. *J Biol Chem*. 1996 Sep 6;271(36):22070-5.
- 47- Mann R, Mulligan R, Baltimore D. Construction of a retrovirus packaging mutant and its use to produce helper free defective retrovirus. *Cell* 1983; 33: 153-59.
- 48- Barka T, Van der Noen HM. Retrovirus-mediated gene transfer into salivary glands in vivo. *Hum Gene Ther* 1996 Mar 20; 7(5): 613-18.
- 49- O'Connell BC, Xu T, Walsh TJ, Sein T, Mastrangeli A, Crystal RG, et al. Transfer of a gene encoding the anticandidal protein histatin 3 to salivary glands. *Hum Gene Ther* 1996 Dec 1;7(18):2255-61.
- 50- O'Connell BC, Ten Hagen KG, Lazowski KW, Tabak LA, Baum BJ. Facilitated DNA transfer to rat submandibular gland in vivo and GRP-Ca gene regulation. *Am J Physiol*. 1995 Jun;268(6 Pt 1):G1074-8.
- 51- Zsengeller ZK, Wert SE, Hull WM, Hu X, Yei S, Trapnell BC, Whitsett JA. Persistence of replication-deficient adenovirus-mediated gene transfer in lungs of immune-deficient (nu/nu) mice. *Hum Gene Ther*. 1995 Apr;6(4):457-67.
- 52- Adesanya MR, Redman RS, Baum BJ, O'Connell BC. Immediate inflammatory responses to adenovirus-mediated gene transfer in rat salivary glands. *Hum Gene Ther* 1996 Jun 10;7(9):1085-93.
- 53- Van Ginkel FW, Liu C, Simecka JW, Dong JY, Greenway T, Frizzell RA, Kiyono H, McGhee JR, Pascual DW. Intratracheal gene delivery with adenoviral vector induces elevated systemic IgG and mucosal IgA antibodies to adenovirus and beta-galactosidase. *Hum Gene Ther* 1995 Jul;6(7):895-903.

- 54- Delporte C, O'Connell BC, He X, Lancaster HE, O'Connell AC, Agre P, Baum BJ. Increased fluid secretion after adenoviral-mediated transfer of the aquaporin-1 cDNA to irradiated rat salivary glands. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997 Apr 1;94 (7):3268-73.
- 55- Delporte C, Redman RS, Baum BJ. Relationship between the cellular distribution of the alpha(v)beta3/5 integrins and adenoviral infection in salivary glands. *Lab Invest* 1997 Aug;77(2):167-73.
- 56- Lillibridge CD, O'Connell BC. In human salivary gland cells overexpression of E2F1, over comes an interferon- $\gamma$  and tumor necrosis factor- $\alpha$  induced growth arrest but does not result in complete mitosis. *J Cell Physiol* 1997; 172: 343-50.
- 57- Fox PC, O'Connell B. Gene therapy in inflammatory diseases. Switzerland: Birkhauser verlag basel; 2000: 83-93.
- 58- Mastrangeli A, O'Connell B, Aladib W, Fox PC, Baum BJ, Crystal RG. Direct in vivo adenovirus-mediated gene transfer to salivary glands. *Am J Physiol* 1994 Jun;266(6 Pt 1):G1146-55.