مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی - مولکولی
دوره ششم ، شماره بیست و یکم - زمستان ۱۳۹۴

NCMBJ
Review Article
مقاله مروری

انتقال siRNA به سرطان ریه با استفاده از نانوذرات

سعیده عسکریان[۱]، رضا کاظمی اسکویی[۲*]

۱- گروه بیوتکنولوژی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی، مشهد، ایران.

۲- مرکز تحقیقات التهاب نوروژنیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی، مشهد، ایران.

چکیده:

سرطان ریه شایع ترین علت مرگ و میر ناشی از سرطان در جهان می باشد و سالانه بیشتر از یک میلیون نفر به علت ابتلا به این بیماری جان خود را از دست می دهند. این سرطان به دو گروه اصلی به نام های سرطان ریه با سلول های غیر کوچک (NSCLC) و سرطان ریه با سلول های کوچک (SCLC) تقسیم می شود این دو گروه در خصوصیات بسیاری از جمله رفتار های بیولوژیک، پاسخ به درمان و تغییر های ژنتیکی متفاوت هستند. مقاومت به درمان های مرسوم (شیمی درمانی) به خصوص در بیماران مبتلا به نوع NSCLC، یکی از چالش های عمده در پروسه درمانی این بیماری است. بنابراین ابداع روش های درمانی جدید برای افزایش میزان بقا و بهبود شرایط بیماران ضروری است و ترکیبی از روش های مختلف می تواند بازدهی درمانی را ارتقا بخشد. استفاده از RNA تداخل گر (siRNA) پتانسیل درمانی بسیاری برای درمان یا پیش گیری از بیماری های ریوی دارد. زمانی که مولکول siRNA وارد سلول هدف شود می تواند بیان ژن خاصی را مهار کند و اثرات درمانی دلخواه ما ایجاد شود. اما بزرگترین محدودیت این تکنیک که بزرگترین مانع بین مطالعه ها آزمایشگاهی و بالین می باشد انتقال آن به درون سلول است. یک سیستم انتقال ایده آل می تواند از siRNA در مقابل تجزیه آنزیمی محافظت نموده و فرار آن از آندوزوم سلول را نیز تسهیل کند در عین حال سمیت کم و یا قابل چشم پوشی دارد. درحال حاضر مطالعه های کمی به منظور فرمولاسیون siRNA برای سیستم تنفسی وجود دارد که امید می رود در آینده ارتقا یابد این مقاله مروری ضمن معرفی سرطان ریه و siRNA به عنوان یک راه کار درمانی جدید، به بررسی چالش های انتقال siRNA به سلول های ریه با استفاده از حامل های غیر ویروسی می پردازد. به علاوه تعدادی از نانوحامل ها با پایه لیپیدی، پلیمری و پپتیدی برای انتقال siRNA به سیستم تنفسی را مورد مطالعه قرار داده است.

کلمات کلیدی: سرطان ریه، RNA تداخل گر، انتقال، نانوذرات.

مقدمه

انتقال از طریق سیستم تنفسی راه کاری مناسب، غیر تهاجمی و آسان برای استفاده از ماکرومولکول های زیستی در درمان سرطان و بیماری های ریوی به نظر می رسد و می تواند راهبردی برای درمان های سیستمیک و موضعی باشد، از این رو مطالعه ها رو به رشد بسیاری که برخی از آن ها در این مقاله آمده بازتابی از فرآیند ژن رسانی به ریه هستند.

با این حال، توجه بسیاری به موانع بیولوژیک در سیستم تنفسی وجود دارد و بایستی برای یک ژن رسانی موفق در نظر گرفته شود که در این مقاله به صورت خلاصه به آن ها پرداخته خواهد شد. با توجه به این موانع، فورمولاسیون های غیر ویروسی بر پایه پلیمر ها برای انتقال ژن های درمانی و siRNA ها پیشنهاد شده است، زیرا با وجود اینکه انتقال siRNA از طریق ریه محبوبیت بسیاری در مطالعه ها بالینی کسب نموده ولی تاکنون نتوانسته به صورت کاربردی وارد کلینک شود.

در این مطالعه ابتدا با انواع سرطان ریه و راه کار های درمانی موجود آشنا شده و سپس به بررسی siRNA به عنوان یک درمان جدید خواهیم پرداخت بدین صورت که موانع بیولوژیک و نانوحامل هایی

* نویسنده مسئول:
مرکز تحقیقات التهاب نوروژنیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی، مشهد، ایران.

پست الکترونیکی: Oskueekr@mums.ac.ir
تاریخ دریافت :۱۳۹۳/۶/۱۹
تاریخ پذیرش :۱۳۹۴/۰۳/۰۴

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-15]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.6.21.14.3]

اعم از لیپیدی، پلیمری و.. که برای انتقال siRNA می توانند به کار گرفته شوند معرفی و نقاط قوت و ضعف آن ها بررسی خواهند شد.

سرطان ریه

به دلیل افزایش سن، رشد جمعیت و بروز رفتار های ایجاد کننده سرطان مانند افزایش کشیدن سیگار در خانم ها میزان بروز سرطان های دستگاه تنفسی در سطح جهانی هم چنان بالا است. تا اوایل قرن بیستم سرطان ریه بیماری نادری بود اما شیوع آن به شدت افزایش یافت، به طوری که امروزه از رایج ترین سرطان ها می باشد. پس از سرطان سینه در خانم ها و پروستات در آقایان، سرطان ریه دومین سرطان رایج با نسبت ٪۱۵ از کل سرطان ها و اولین عامل مرگ و میر ناشی از سرطان در هر دو جنس (در خانم ها ٪۲۶ و در آقایان ٪۲۹) می باشد (۱۵).

عامل عمده ابتلا به سرطان ریه مجاورت طولانی مدت با مواد سرطان زا و کارسینوژن (موجود در دود تنباکو) می باشد، ٪۱۵ از موارد سرطان ریه مربوط به افراد غیر سیگاری (۴۶) و افرادی که در ارتباط با فاکتور های مضر ژنتیکی مثل گاز رادون (۱۲)، آزبستوز (۱)، آلودگی هوا و یا سیگاری های ثانویه (استنشاق دود سیگار دیگران) می باشد (۳۵). به نظر می رسد که ویروس ها نیز می توانند در حیوانات ایجاد سرطان ریه نمایند (۳)، البته پتانسیل ایجاد سرطان ریه در انسان نیز مطرح شده است (۲۱).

آسیب های کروموزمی می توانند سبب غیر فعال شدن ژن های مهارگر توموری شوند، آسیب کروموزم های ۱۷p,۱۳q,۵q,۳p به طور عمده در سرطان SCLC رایج هستند. چندین پلی مورفیسم در ارتباط با سرطان ریه شناسایی شده که شامل ژن های MMP۱ IL-۱۰ وCASP-۸ مولکول های ترمیم کننده DNA مثل XRCC۱ می باشد (۴۹).

جهش در ژن K-ras مسئول ٪۳۰-۱۰ از آدنو کارسینوما های ریه است (۱۴). فاکتور رشد اپیدرمی (EGF)، رگزایی، آپوپتوز، تکثیر سلول و ت هاجم تومور را کنترل می کند. جهش در گیرنده مربوط به آن (EGFR) به عنوان مارکری برای شناسایی نوع پیشرفته سرطان NSCLC مطرح شده و استفاده از مهار کننده های تیروزین کینازی مثل Gefitinib نیز به منظور اهداف درمانی پیشنهاد شده است (۸).

طبقه بندی سرطان ریه

سرطان ریه را بر اساس اندازه و بروز سلول های بدخیم در زیر میکروسکوپ به دوگروه اصلی طبقه بندی می نمایند:

- ❖ سرطان ریه با سلول های غیر کوچک، (NSCLC) Non-Small-Cell Lung Cancer
- ❖ سرطان ریه با سلول های کوچک، Small-Cell Lung Cancer (SCLC)

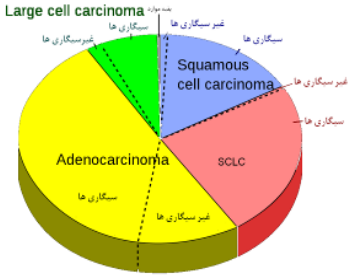
این دو گروه نه تنها در شیوع و بروز بلکه در رفتار های بیولوژیکی، بافت شناسی و تغییر های ژنتیکی نیز متفاوتند.

NSCLC حدود ٪۸۰ از سرطان ریه را شامل می شود و سه زیر گروه اصلی دارد که عبارتند از:

۱. سلول های کارسینومای سنگ فرشی(SCC) Squamous Cel lung Carcinoma

۲. سلول های آدنو کارسینوما Adenocarcinoma

۳. کارسینوما ریه با سلول های بزرگ-Large (LCLC) Cell Lung Carcinoma



شکل ۱- مقایسه درصد بروز انواع سرطان ریه در افراد سیگاری و غیر سیگاری (۱۸).

راه کار های درمانی موجود

نحوه مقابله با بیماری سرطان ریه یکی از چالش های امروز سرطان شناسان است. در حالی که درمان ممکن است در مراحل اولیه موثر واقع شود اما عمده بیماران (حدود ٪۷۷) تا زمان پیشروی سرطان و مراحل پیشرفته شناسایی نمی شوند (۲۵). درمان سرطان ریه بستگی به نوع سلول سرطانی، مقدار گستردگی بافت سرطانی و وضعیت بیمار دارد، راه کار های درمانی موجود شامل جراحی، شیمی درمانی و پرتودرمانی می باشد برای افرادی با بیماری پیشرفته شیمی درمانی ممکن است تنها انتخاب باشد. با این حال مقاومت به دارو های رایج شیمی درمانی به خصوص در نوع سرطان NSCLC یکی از معضلات درمانی این بیماری است، با این حال در حال حاضر استراتژی قابل قبولی در خط اول درمانی به منظور جلوگیری از مقاومت به شیمی درمانی مطرح نشده، گرچه مطالعه ها کلینیکی بسیاری در حال انجام است.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-15]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.6.21.14.3]

استفاده همزمان از چندین داروی شیمی درمانی که اثرات مضرتری بر بیمار دارد یکی از راه های درمانی موجود است و هر روز دارو های جدیدی از جمله آنالوگ های Platinum مثل Picoplatin (یک آنالوگ سیس پلاتینی) و ABT-۷۵۱ (یک داروی سولفونامیدی) طراحی و ساخته می شود (۹, ۲۶). جراحی زمانی موثر است که تومور به طور کامل قابل برداشت باشد و بیمار تحمل عمل جراحی را داشته باشد، رادیوتراپی چه همراه با شیمی درمانی باشد و چه بدون آن اگر چه گاهی در تسکین علائم موفق است اما نقش آن از جراحی کم تر است. در مورد سرطان SCLC معمولا جراحی به کار برده نمی شود زیرا به علت تمایل این نوع سرطان به متاستاز زودرس در گره های لنفاوی و اعضای دوردست، وقتی این سرطان تشخیص داده می شود که در مراحل پیشرفته است. درمان این سرطان معمولا شیمی درمانی همراه با یا بدون رادیوتراپی است و اغلب با وجود پاسخ خوبی که به درمان اولیه می دهند به سرعت عود کرده و باعث مرگ بیمار می شود (۱۹).

برخلاف برخی موفقیت های درمانی، هنوز ترکیب دارو ها و روش های جدید، کارآمدی چندانی در بهبود وضعیت و افزایش طول عمر بیماران ندارد. بنابراین ابداع راه کار های درمانی جدید از جمله ژن درمانی به شدت مورد نیاز و مهم هستند. ژن درمانی استراتژی کلی است که شامل انتقال توالی ژنتیکی اختصاصی به درون سلول است تا سبب تخفیف بیماری شود. در این مقوله جایگزینی ژن، استفاده از ژن های خودکشی مثل ژن HSV-tk، خاموش کردن ژن با استفاده از RNAi و ... مطرح می شود.

RNA تداخل گر

یکی از روش های ژن درمانی، ناپایدار کردن mRNA هدف اختصاص یافته است. در این زمینه یک راه کار، استفاده از مکانیسم موسوم به RNA تداخل گر[۱] (RNAi) است که از طریق واردکردن RNA کوچک[۲] (siRNA) و یا shRNA (RNA کوچک با ساختار سنجاق سر) امکان پذیر است و راه کاری قوی و اختصاصی در مهار بیان ژن می باشد. این مولکول ها به دلیل عملکرد اختصاصی، تطبیق پذیر بودن با اهدافشان، اثرات دائمی یا موقتی آن ها و امکان استفاده از آن ها در سیستم های زنده (in vivo) بسیار مورد توجه هستند

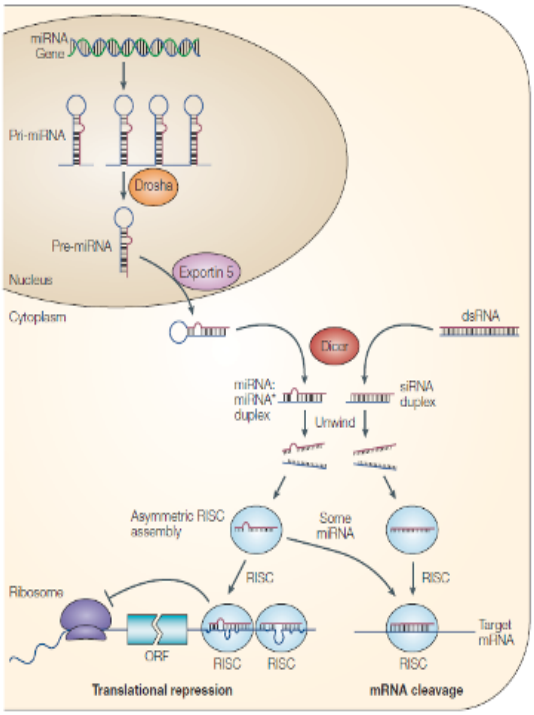
به طور خلاصه، RNA دو رشته ای (dsRNA) می تواند به طور مصنوعی یعنی به صورت RNA دو رشته ای کوتاه (siRNA) وارد سلول شود و یا به صورت RNA دورشته ای درون سلولی[۳] (miRNA) باشد و یا محصول جانبی ویروسی و یا رونوشت اضافی ترانس ژن باشد که همه بعد از شناسایی توسط نوعی از آنزیم RNase III به نام Dicer به قطعات کوچکی به نام siRNA که حدود ۲۲ نوکلئوتید طول دارند تبدیل می شوند. قطعات siRNA در یک مجموعه پروتئینی به نام کمپلکس خاموش گر تحت القای RNA[۴] (RISC) قرار می گیرند، RISC دارای نواحی هلیکازی، اگزونوکلئازی، آندونوکلئاز و یابنده همولوژی است، رشته آنتی سنس، کمپلکس RISC را به سمت mRNA هدف راهنمایی می کند و سپس زیر واحد های آندونوکلئازی موجود در ساختار RISC، mRNA هدف را می برد و در ن هایت سبب خاموش شدن بیان ژن هدف می شود (۴۳).

RNA تداخل گر می تواند برای درمان و یا پیش گیری از بیماری هایی که سیستم تنفسی را درگیر می کند مثل سرطان ریه، انواع مختلف عفونت های تنفسی، بیماری های التهابی مجاری تنفسی و ... به کار گرفته شود (۳۴). انتقال siRNA به ریه می تواند هم از مسیر سیستمیک (گردش خون) و هم به صورت انتقال به محل(Local) (delivery) صورت پذیرد. فرایند انتقال siRNA به طور خلاصه در شکل شماره۳ نشان داده شده است.

مثل انتقال DNA هر دو نوع حامل های ویروسی و غیر ویروسی برای انتقال siRNA نیز استفاده شده است، حامل های ویروسی با وجود کارایی بالا در انتقال اسید های نوکلئیک، نگرانی هایی از لحاظ ایمنی (Safty) ایجاد نموده اند که استفاده از آن ها را با محدودیت مواجه می سازد، که پاسخ های سیستم ایمنی به ویروس ها بزرگترین چالش آن ها است (۵۱).

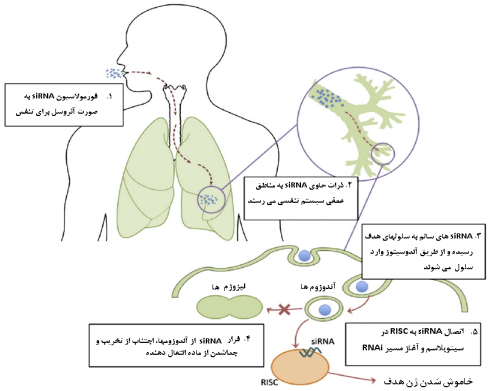
۱ RNA interference
۲ Small interference RNA
۳ micro RNA
۴ RNA-Induce silencing complex (RISC)

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-15]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.6.21.14.3]



شکل ۲- شمایی از مسیر های *RNA* تداخل گر در سلول. پیش ساز های *dsRNA* بلند یا *miRNA* توسط آنزیم متصل شونده به *dsRNA* به نام *Dicer* به واسط های ۲۱-۲۳ نوکلئوتیدی *dsRNA* ای تبدیل می شوند و در مجموعه *RISC*قرار می گیرند که برش *RNA* را هدایت می کند (۱۳).

به دلیل مشکلات ایمنی در وکتور های ویروسی، بسیاری از مطالعه ها انتقالی siRNA بر روی تکامل سیستم های غیر ویروسی تمرکز یافته است. siRNA های درمانی را می توان به طور مستقیم با کمک حامل های غیر ویروسی به محل هدفشان منتقل نمود. رایج ترین وکتور های مورد استفاده لیپید ها، پلیمر ها و پپتید ها هستند.



شکل ۳- نمایی از مراحل انتقال *siRNA* به ریه (۲۲).

چالش های انتقال siRNA به ریه توسط حامل های غیر ویروسی

چالش های انتقال siRNA به مجاری تنفسی و ریه کم و بیش مشابه مشکلات انتقال دیگر ماکرو مولکول ها است. عوامل بسیاری از قبیل موانع آناتومیک، فیزیکی، موانع درون سلولی و .... مطرح هستند. سایز مناسب برای انتقال به سیستم تنفسی تحتانی حدود ۱-۵μm است (۴۱). نانوحامل های با سایز حدود ۱۰۰ nm، به نظر می رسد با کارایی بالاتری به محل آلوئول ها (کیسه های هوایی ریه) می رسند و درصد تخریب و آزاد سازی آن ها حدود ٪۵۰ است. مسیر های پاک سازی متعددی برای حذف نانوپارتیکل های موجود در ریه وجود دارد که می توان به سرفه، تخریب و تجزیه، جریان متحرک موکوسی، فاگوسیتوز با کمک ماکروفاژ ها و برداشت های عصبی اشاره نمود (۵۰). هنوز اطلاعات دقیق کمی، درباره پاک سازی siRNA از ریه وجود دارد.

الف) موانع برون سلولی

بزرگترین مانع فیزیکی در انتقال به ریه فعالیت مژکی سلول های اپیتلیال است که از طریق ایجاد جریان موکوسی سبب پاک سازی اجرام خارجی می شود (۳۸)، ترکیب اصلی موکوس، موسین ها بوده که پروتئین هایی گلیکوزیله هستند. در طی عفونت و التهاب، افزایش ترشح موکوس پیش می آید که سبب نقص در حرکات مژک ها و پاک سازی موکوسی می شود برای غلبه بر مانع موکوسی، مواد تخریب کننده موکوس مثل ناکیستلین[۵] و یا مهار کننده های موکوس مثل گلیکوپیرولات[۶] (که سبب مهار ترشح موکوس می شود) به کار می روند. کاهش موانع موکوسی با تنفس مانیتول قبل از انتقال siRNA نیز می تواند مفید واقع شود (۵).

ب) موانع درون سلولی

زمانی که siRNA به سطح سلول های هدف ریوی می رسد بدین معنی است که توانسته از دست موانع خارج سلولی خلاص شود ولی هنوز باید از غشای سلولی عبور کند و به سیتوپلاسم برسد، محلی که کمپلکس RISC قرار داد. siRNA ماکرومولکولی هیدروفیل با بار منفی است و به دلیل خصوصیات فیزیکو شیمیایی اش قادر نیست به تنهایی از غشای سلولی عبور کند. آندوسیتوز با واسطه کلاترین بهترین و اصلی ترین مسیر جذب اسید نوکلئیک در روش های غیر ویروسی است برای آندوسیتوز موفق تر، بهتر است اندازه ذرات کم تر از ۱۵۰ nm باشد (۲۳). ذرات پس از جذب وارد آندوزوم های اولیه شده که با تلفیق با یکدیگر تبدیل به آندوزوم ثانویه می شود و درنهایت به صورت لیزوزیم در می آیند. در لیزوزیم pH حدود ۵ بوده و حاوی آنزیم های تجزیه کننده بسیاری از جمله نوکلئاز ها می باشد (۳۳). بنابراین siRNA درمانی باید بتواند از لیزوزوم به داخل سیتوپلاسم فرار کند قبل از اینکه توسط نوکلئاز های لیزوزیم تخریب

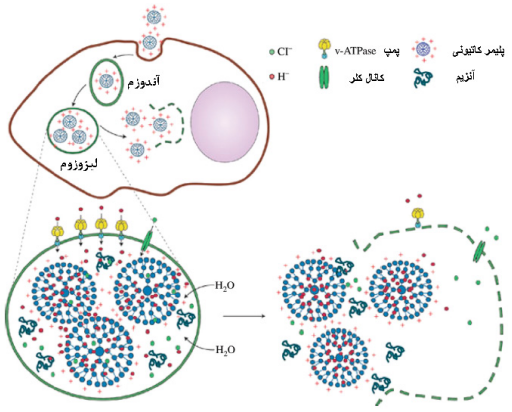
۵ Nacystelyn

۶ Glycopyrrolate

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-15]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.6.21.14.3]

شود (شکل۴).



شکل ۴- پدیده اسفنج پروتونی. نمایی از مکانیسم اسفنج پروتونی که منجربه تخریب آندوزوم یا لیزوزوم شده و سبب ر هاسازی محتویات به داخل سیتوپلاسم می شود (۲۴).

راهبرد دیگر استفاده از پپتید های فوزوژنیک حساس به pH، به عنوان حامل است، از این پپتید ها می توان به KALA،GALA و ... برای انتقال siRNA در سیستم های درون تنی (in vivo) و برون تنی (in vitro) اشاره نمود(۲). این پپتید ها در pH پایین تغییر کنفورماسیون داده و به عنوان ناپایدار کننده غشای آندوزومی عمل نموده و سبب تخریب و آزاد سازی محتویات آندوزوم به داخل سیتوپلاسم می شوند. وقتی siRNA درون آندوزوم است می تواند پاسخ ایمنی ذاتی را تحریک کند، گیرنده های شبه تول[۷] (TLRs) از نوع TLR۷ و TLR۸ که در غشای آندوزومی قرار دارند siRNA را شناسایی نموده و سبب تحریک پاسخ های ایمنی ذاتی می شوند. البته تغییر در ساختار siRNA می تواند تا حدودی این مشکل را بر طرف سازد (۳۶).

حامل های غیر ویروسی در انتقال siRNA به ریه

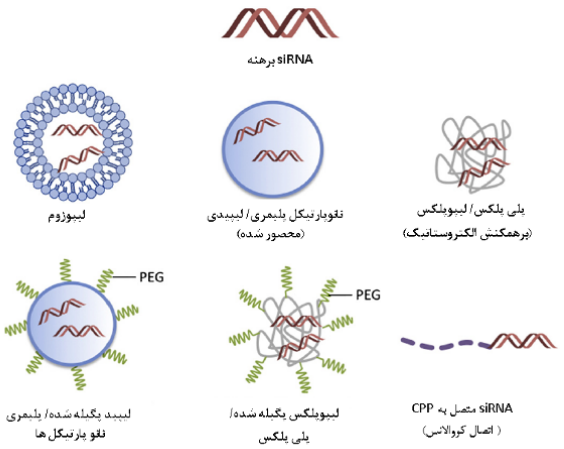
حامل ایده آل برای انتقال siRNA باید شرایط زیر را دارا باشد: ۱) بتواند siRNA را به صورت ذره ای در سایز نانو متراکم کند، ۲) از siRNA در مقابل آنزیم های تجزیه کننده محافظت کند،۳) جذب سلولی را تسهیل بخشد، ۴) فرار آندوزومی را القا کند، ۵) سبب ر ها سازی siRNA به سیتوپلاسم جایی که RISC قرار دارد بشود، ۶) سمیت کمی داشته باشد. گرچه رایج ترین حامل های غیر ویروسی siRNA شامل لیپید ها، پلیمر ها و پپتید ها هستند، siRNA برهنه نیز درحالت درون تنی توانایی جالب توجهی در خاموش نمودن ژن هدف نشان داده است.

siRNA برهنه

اصطلاح siRNA برهنه[۸] یا siRNA فرموله نشده به انتقال siRNA بدون هیچ ماده انتقالی می گویند. گرچه خود siRNA را می توان از لحاظ شیمیایی تغییر داده تا سبب بهبود عملکرد، افزایش اختصاصیت، کاهش تحریک سیستم ایمنی و کاهش اثرات غیر اختصاصی[۹] شود (۴۷). جالب است که موفقیت هایی در انتقال siRNA به صورت برهنه به ریه گزارش شده است (۳۷, ۴۴)، این مشاهدات بسیار قابل توجه هستند و این سوال را مطرح می سازند که چطور siRNA برهنه از موانع خارج سلولی و غشای بیولوژیک عبور نموده است؟ گرچه کاهش فعالیت نوکلئاز ها در ریه شاید تاحدودی به این سوالات پاسخ دهد اما در حقیقت جزئیات امر هنوز آشکار نمی باشد.

در مطالعه ها بالینی ALN-RSV۰۱ مدلی از siRNA تغییر یافته (Modified) بررسی شده این siRNA برهنه به صورت درون نایی در قالب اسپری دهانی استفاده شده و کاهش عفونت ویروسی RSV[۱۰] رانشان می دهد (۶).

انتقال مستقیم عوامل درمانی از جمله siRNA به ریه اغلب از مسیر های استنشاقی (Inhalation)، درون نایی (Intratracheal) و مسیر بینی (Intranasal) صورت می گیرد. با استفاده از عوامل انتقالی مختلف می توان انتقال به سلول خاصی را ارتقا داد و توانایی هدفمندی (Targeting) سلول ها مطرح می شود.



شکل ۵–انواع مختلف نانو حامل های غیر ویروسی رایج برای انتقال *siRNA* (۲۲).

۸ Naked siRNA
۹ Off-target
۱۰ Respiratory Syncytical Virus
۷ Toll-like receptors

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-15]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.6.21.14.3]

وکتور های انتقالی با پایه لیپیدی

سیستم های انتقالی با پایه لیپید برای انتقال siRNA در دو حالت درون تنی و برون تنی رایج هستند لیپید های کاتیونی و لیپوزوم ها با siRNA که دارای بار منفی است کمپلکس هایی تشکیل می دهند که لیپوپلکس[۱۱] نامیده می شود. مواد ترانسفکشن بسیاری صورت تجاری برای انتقال درون تنی siRNA به ریه از قبیل Oligofectamine™، TransIT-TKOو... وجود دارند. اما بزرگترین مشکل سیستم های لیپیدی سمیت بالینی آن ها و فعال سازی غیر اختصاصی سایتوکاین های التهابی است (۱۰).

۱-لیپید های کاتیونی و لیپوزوم ها

تهیه لیپوپلکس ها بسیار آسان می باشد و دارای کارایی ترانسفکشن خوبی نیز هستند، اما عیبی که دارند پایداری ضعیف و تکرار پذیری پایین آن ها است. مطالعه ها نشان داده که در موش ها استفاده ریوی از لیپوزوم های کاتیونی مثل لیپوفکتامین و DOTAP سمیت وابسته به دوز را در ایجاد التهابات ریوی کاهش می دهد (۷).

۲- لیپید های پگیله شدهPEGylated

پلیمر های هیدروفیلی مثل پلی اتیلن گلیکول (PEG) برای کاهش پاسخ های التهابی به کار می رود به علاوه سبب افزایش نیمه عمر در گردش خون نیز می شود زیرا فعالیت اپسونیزاسیون فاگوسیت ها را کاهش می دهد. در مطالعه ای درون تنی کارایی GL-۶۷ یک لیپید کاتیونی حاوی DOPE:DMPE-PEG۵۰۰۰ در انتقال DNA پلاسمیدی (تشکیل لیپوپلکس می دهد) در درمان بیماری سیستیک فیبروزیس (CF) در انسان بررسی شده بود و در بیمارانی که درمان را به صورت نبولایزر دریافت کرده بودند به طور چشم گیری اتصال باکتریایی به ریه ها کاهش یافته بود (۴۰). بنابراین از این حامل لیپیدی برای انتقال siRNA به ریه موش ها از مسیر درون بینی استفاده شد. siRNA ژن بتا گالاکتوزیداز را هدف قرار داده بود و سبب کاهش بیان ژن تا حدود ٪۳۳ می شد اما تغییر معنا داری در بیان پروتئین مشاهده نشد (۱۱). به نظر می رسید این حامل با وجود موفقیت در انتقال DNA پلاسمیدی، برای انتقال siRNA موفق نیست و یا به طور احتمال استفاده از مسیر بینی و نبولایزر برای سیستم های لیپیدی نیازمند مطالعه ها بیش تری است.

۳-لیپید های خنثی[۱۲]

برای اجتناب از سمیت و تحریک التهاب، علاوه بر PEG از لیپید هایی با بار خنثی نیز می توان استفاده نمود. گرچه این سیستم های خنثی از لحاظ ایمنی مطلوب تر هستند اما قادربه برهمکنش با siRNA با بار منفی نمی باشند و این امر کاربری آن ها را به عنوان حامل انتقال با محدودیت مواجه می سازد. برای حل این مشکل siRNA و لیپید ها به جای برهمکنش های الکتروستاتیکی با پیوند کووالان به یکدیگر متصل می شوند. این راهبرد برای انتقال siRNA به ریه مورد بررسی قرار گرفته است به عنوان مثال در مطالعه ای کلسترول به siRNA متصل شده و به موش منتقل شد، که علاوه بر افزایش مدت اثرات کاهشی، پاسخ التهابی مشاهده نشد هر چند در مقایسه با siRNA برهنه کاهش قابل توجهی نداشت (۴۵).

۴-ذرات لیپیدی

راه کار دیگر برای افزایش ایمنی حامل های لیپیدی، محصور کردن siRNA درون ذرات لیپیدی خنثی می باشد. ذرات لیپیدی پایدارحاوی نوکلئیک اسید[۱۳] (SNALP) دارای سایز یکنواخت هستند که مقادیر زیادی siRNA را درون خود کپسوله می کنند. مشخصه جالب لیپید های SNALP این است که در pHاسیدی بار مثبت نشان می دهند درحالی که در pH فیزیولوژیک خنثی هستند و در مطالعه ها درون تنی در میمون ها کارایی قابل توجهی در خاموش نمودن ژن نشان داده اند که می توانند در انتقال ژن به ریه نیز مورد بررسی قرار گیرند (۳۹).

وکتور های انتقالی با پایه پلیمر

خصوصیت جالب وکتور های انتقالی پلیمری طبیعت متنوع و منعطف آن هاست، به علاوه آن ها به شدت لیپوزوم ها پاسخ ایمنی را تحریک نمی کنند. در کل حامل های پلیمری به دو دسته تقسیم می شوند: پلی کاتیون ها و نانوپارتیکل های پلیمری. پلی کاتیون های سنتزی شامل پلی اتیلن ایمین (PEI)، دندریمر های پلی آمیدو آمین (PAMAM) و پلی کاتیون های طبیعی مثل کایتوزان ها هستند. این پلیمر ها دانسیته بار مثبت بالایی دارند که با بار منفی اسید های نوکلئیک ترکیب شده و پلی پلکس[۱۴] را تشکیل می دهند. ساختار غیر منعطف siRNA سبب برهمکنش های ضعیف با پلی کاتیون ها می شود. در نتیجه پلی پلکس ها در مقایسه با DNA کارایی کم تری برای محافظت از siRNA علیه نوکلئاز ها دارند، افزایش مقدار پلی کاتیون ها می تواند تا حدودی این نقص را بهبود بخشد اما خود سبب افزایش سمیت می شود (۲۹).

---

۱۱ Lipoplexes

۱۲ Neutral lipids

۱۳ Stable nucleic acid lipid particle

۱٤ Polyplexe

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-15]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.6.21.14.3]

PEI

پلیمر سنتزی PEI به دلیل کارایی بالایی برای انتقال siRNA به درون سلول دارد کاربری بالایی دارد و به عنوان استاندار طلایی برای انتقال ژن در محیط برون تنی به حساب می آید البته کارایی ترانسفکشن آن به وزن مولکولی و میزان شاخه هایش نیز بستگی دارد. پلیمر هایی مثل پلی اتیلن ایمین (PEI) ق ابلیت فرار از آندوزوم را دارند. این توانایی که اسفنج پروتونی[15] نام دارد به دلیل ظرفیت بافری بالای PEI می باشد بدین ترتیب که در طیف وسیعی از pH پلیمر پروتونه می شود (پروتون آزاد می کند) و این امر سبب ورود یون های CL^- به آندوزوم و به دنبال آن آب به درون آندوزوم ها می شود. در نهایت به دلیل فشار اسمزی بالایی که ایجاد شده، آندوزوم پاره و محتویاتش به درون سیتوپلاسم ر ها می شود (۴). در مطالعه ای که پلی پلکس های PEI و PEI-PEG را برای انتقال siRNA به ریه مورد مطالعه قرار داد. سیستم PEI-PEG کارایی بالاتری برای خاموش نمودن ژن EGFP تا حدود ٪۴۲ نشان داد. هر چند پلی پلکس های PEI-PEG اثرات پیش التهابی ملایمی در افزایش سطح سایتوکاین های IL-۶و TNFα نیز داشتند (۲۸). مشکل دیگر PEI سمیت نسبتا بالا و زیست تجزیه پذیر نبودن آن می باشد (۲۳). برای حل این امر آقای XU و همکارانش مشتقات زیست تجزیه پذیری از PEI تهیه کردند (پلی استر آمین به همراه PEG) و انتقال siRNA را در محیط درون تنی بررسی نمودند. انتقال این پلی پلکس حامل siRNA به سلول سرطانی ریه به منظور کاهش بیان ژن Akt۱ در موش صورت گرفت و نتیجه حاصله کاهش چشمگیر پیشروی سلول سرطانی بدون ایجاد اثرات سمی قابل توجه بود (۴۸). البته مطالعه ها مختلفی به طور کلی، برای اصلاح ساختار PEI به منظور افزایش قدرت انتقال ماده ژنتیکی (siRNA) به درون سلول و کاهش سمیت این حامل ارزشمند صورت گرفته است (۳۱, ۳۲) و این موضوع هم چنان در حال بررسی است.

Chitosan

کایتوزان به دلیل برخی ویژگی هایی از جمله طبیعی بودن، زیست سازگار بودن و زیست تجزیه پذیری اش به عنوان یک حامل بالقوه در انتقال siRNA بسیار مورد توجه قرار گرفته است. به علاوه قابلیت اتصال به موکوس و نفوذ در آن، کایتوزان را تبدیل به حاملی مطلوب برای انتقال مواد به ریه ساخته است. متاسفانه تنها نقص آن کارایی ترانسفکشن متوسط در محیط درون و برون تنی می باشد زیرا توانایی کمی برای فرار از آندوزوم در درون سلول دارد (۴۲). به منظور ارتقا کارایی انتقال siRNA توسط کایتوزان آقای کاتاس روش ژلاتینه سازی یونی[16] را پیشنهاد نموده که با استفاده از سدیم تری فسفات و کایتوزان نانوحامل siRNA تولید شود و در مقایسه به نانوحامل کایتوزان/siRNA این حامل در محیط in vitro بهتر توانست ژن هدف را خاموش سازد (۱۷).

PLGA[17]

پلیمر PLGA زیست سازگار و زیست تجزیه پذیر بوده و برای آزاد سازی کنترل شده ماکرومولکول های درمانی از جمله پپتید ها، پروتئین ها و DNA پلاسمیدی استفاده می شود. برخلاف دیگر پلی کاتیون ها، PLGA تشکیل پلی پلکس با اسید نوکلئیک نمی دهد بلکه آنرا در درون خود کپسوله (محصور) می کند. مطالعه ای تولید نانوذرات PLGA حاوی siRNA را به صورت پودری با سایز کنترل شده بررسی کرده است، فرمولاسیون حاوی لاکتوز، تر هالوز و مانیتول برای محافظت از نانوحامل های siRNA می باشد و در نهایت فرمولاسیونی برای siRNA قابل استنشاق ارائه نموده است که در مطالعه های in vivo می تواند برای خاموشی ژن استفاده شود (۱۶).

وکتور های انتقالی با پایه پپتیدی

از زمان کشف پروتئین TAT از ویروس HIV-۱ که مسبب جذب سلولی ویروس بود ۱۵۹ نوع از پپتید های نفوذ کننده به سلول[18] (CPPs) شناسایی و یا سنتز شده اند. این پپتید های می توانند برای انتقال siRNA نیز به کار گرفته شوند، عمده CPP های استفاده شده برای انتقال siRNA شامل ۶۱ TAT ۱۶۳ ۱۶۲، پنتراتین ۱۶۳-۱۶۵، ترانسپورتین، MPG، CADY وLAH۴ هستند (۲۰). این پپتید ها از طریق پیوند کوالان یا برهمکنش الکتروستاتیک به siRNA متصل می شوند. هنوز مکانیسم دقیق عملکرد CPP ها شناخته نشده است. گرچه CPP های بسیاری برای انتقال siRNA بررسی شده اما مطالعه ها کمی انتقال درون تنی siRNA به ریه را گزارش نموده اند. در مطالعه ای siRNA ای که ژن P۳۸ از مسیر MAP کیناز را مورد هدف قرار می داد به دو صورت siRNA برهنه و siRNA متصل به TATو پنتراتین در in vivoو in vitro بررسی شد. siRNA های متصل به CPP ها حدود ٪۳۶-۲۰ سبب کاهش بیان ژن هدف شدند در حالی که siRNA برهنه ٪۴۵-۳۰ توانست بیان ژن را کاهش دهد (۳۰).

شناسایی مکانیسم دقیق فعالیت CPP برای کاربرد آن ها به عنوان حامل انتقالی siRNA بسیار مهم است، مطرح شده که اتصال کوالان CPPبه siRNA اثرات منفی در انتقال سلولی دارد و باعث

۱۵ Proton sponge
۱۶ Ionic gelation method
۱۷ Poly(D,L-lactic-co-glycolic acid)
۱۸ Cell-Penetrating Peptides

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-15]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.6.21.14.3]

تغییر فعالیت بیولوژیک پپتید ها می شود (۲۷) اتصال غیر کوالان یک راه حل ممکن به نظر می رسد گرچه هنوز هیچ مطالعه درون تنی برای انتقال به ریه گزارش نشده است.

نتیجه گیری

کارایی درمانی siRNA در درمان بیماری های ریوی و سرطان نشان داده شده ولی یکی دیگر از موانعی که بایستی بر آن غلبه شود تهیه یک فورمولاسیون پایدار و قابل تنفس برای siRNA است. برای انتقال ریوی و کاربرد های بالینی در انسان فورمولاسیون بایستی در برابر نیرو های تخریب کننده در طی نبولایزشن[۱۹] مقاوم باشد، در حالی که DNA برهنه، حاملین ویروسی و بسیاری از فرمولاسیون بر پایه لیپید اغلب فعالیت بیولوژیک خود را در این حین از دست می دهند. ولی فرمولاسیون بر پایه پلیمر هایی مثل پلی اتیلن ایمین (PEI) در طی فرایند نبولایزشن پایدار هستند. از زمان کشف siRNA، پتانسیل های درمانی بسیاری برای آن مطرح شده است.گرچه مطالعه ها کمی برای فرمولاسیون siRNA به صورت تنفسی برای مصارف بالینی وجود دارد به عنوان مثال جنسن و همکارانش روش Spray-drying را برای نانوذرات PLGA حاوی siRNA مطرح نموده ولی متاسفانه هنوز به مرحله درون تنی نرسیده است (۱۶).

مهم ترین چالش های در انتقال siRNA به ریه عبارتند از: (۱) عدم ارتباط متقابل بین مطالعه ها درون تنی و برون تنی، به عنوان مثال siRNA برهنه در in vitroنمی تواند سبب خاموشی بیان ژن شود در حالی که مطالعه ها in vivo عکس این را نشان داده است (۲). تعمیم مطالعه ها از حیوانات به انسان بسیار مشکل است زیرا ویژگی های بیولوژیک و آناتومیک سیستم تنفسی بین حیوانات و انسان متفاوت است (۳). برخی مسیر های مورد استفاده در حیوانات در عمل برای انسان مناسب نیست و هم چنین مشکلات بسیاری برای ارتقای کارایی فرمولاسیون قبل از ورود به فاز بالینی وجود دارد. بنابراین گرچه بسیاری از مطالعه ها قابلیت siRNA برای بیماری های مختلف ریوی را نشان داده اند کماکان به تلاش های بیش تری برای فهم عمیق تری از مکانیسم های ژن رسانی ریوی و غلبه بر مشکلات تا رسیدن به مرحله بالینی نیاز می باشد.

در این مطالعه ژن رسانی با حامل های غیر ویروسی مورد بررسی قرار گرفت، چندین مطالعه سمیت حاملین را مطرح نموده اند بنابراین مطالعه ها آینده به طور عمده بر روی زیست تجزیه پذیری، زیست سازگاری و هدفمند نمودن حامل های غیر ویروسی متمرکز خواهد شد. طراحی حامل هایی مناسب در یک فورمولاسیون پایدار که بتواند به راحتی در انسان از طریق تنفس مورد استفاده قرار گیرد هنوز چالشی بنیادی است. انتقال موضعی siRNA برای درمان بیماری های ریوی زمینه در حال رشد سریعی است و امید می رود در آینده بتواند در مطالعه ها بالینی کاربرد بیابد.

سپاسگزاری:

از کلیه افرادی که در نگارش این مقاله ما رایاری دادند قدردانی می کنیم.

۱۹ Jet nebulization

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-15]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.6.21.14.3]

منابع

1. Attanoos RL. Asbestos-Related Lung Disease. Surg Pathology Clinics, 2010; 3: 109-127.
2. Choi SW, Lee SH, Mok H, and Park TG. Multifunctional siRNA delivery system: polyelectrolyte complex micelles of six-arm PEG conjugate of siRNA and cell penetrating peptide with crosslinked fusogenic peptide. Biotechnol Prog, 2010; 26: 57-63.
3. Cousens C, Thonur L, Imlach S, Crawford J, Sales J, and Griffiths DJ. Jaagsiekte sheep retrovirus is present at high concentration in lung fluid produced by ovine pulmonary adenocarcinoma-affected sheep and can survive for several weeks at ambient temperatures. Res Vet Sci, 2009; 87: 154-156.
4. Creusat G, Rinaldi A-S, Weiss E, Elbaghdadi R, Remy J-S, Mulherkar R, and Zuber G. Proton Sponge Trick for pH-Sensitive Disassembly of Polyethylenimine-Based siRNA Delivery Systems. Bioconjugate Chem, 2010; 21: 994-1002.
5. Daviskas E, Anderson SD, Jaques A, and Charlton B. Inhaled mannitol improves the hydration and surface properties of sputum in patients with cystic fibrosis. Chest, 2010; 137: 861-868.
6. DeVincenzo J, Lambkin-Williams R, Wilkinson T, Cehelsky J, Nochur S, Walsh E, Meyers R, Gollob J, and Vaishnaw A. A randomized, double-blind, placebo-controlled study of an RNAi-based therapy directed against respiratory syncytial virus. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010; 107: 8800-8805.
7. Dokka S, Toledo D, Shi X, Castranova V, and Rojanasakul Y. Oxygen radical-mediated pulmonary toxicity induced by some cationic liposomes. Pharm Res, 2000; 17: 521-525.
8. Duffy MJ, ODonovan N, and Crown J. Use of molecular markers for predicting therapy response in cancer patients. Cancer Treat Rev, 2011; 37: 151-159.
9. Eckardt JR, Bentsion DL, Lipatov ON, Polyakov IS, Mackintosh FR, Karlin DA, Baker GS, and Breitz HB. Phase II study of picoplatin as second-line therapy for patients with small-cell lung cancer. J Clin Oncol, 2009; 27: 2046-2051.
10. Gomes-da-Silva LC, Fonseca NA, Moura V, Pedroso de Lima MC, Simões S, and Moreira JN. Lipid-Based Nanoparticles for siRNA Delivery in Cancer Therapy: Paradigms and Challenges. Accounts Chem Res, 2012; 45: 1163-1171.
11. Griesenbach U, Kitson C, Escudero Garcia S, Farley R, Singh C, Somerton L, Painter H, Smith RL, Gill DR, Hyde SC, Chow YH, Hu J, Gray M, Edbrooke M, Ogilvie V, MacGregor G, Scheule RK, Cheng SH, Caplen NJ, and Alton EW. Inefficient cationic lipid-mediated siRNA and antisense oligonucleotide transfer to airway epithelial cells in vivo. Resp Res, 2006; 7: 26.
12. Groves-Kirkby CJ, Timson K, Shield G, Denman AR, Rogers S, and Phillips PS. Lung-cancer reduction from smoking cessation and radon remediation: a preliminary cost-analysis in Northamptonshire, UK. Environ Int, 2011; 37: 375-382.
13. He L, and Hannon GJ. MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation. Nat Rev Genet, 2004; 5: 522-531.
14. Herbst RS, Heymach JV, and Lippman SM. Lung cancer. N Engl J Med, 2008; 359: 1367-1380.
15. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, and Forman D. Global cancer statistics. CA: Cancer J Clin, 2011; 61: 69-90.
16. Jensen DM, Cun D, Maltesen MJ, Frokjaer S, Nielsen HM, and Foged C. Spray drying of siRNA-containing PLGA nanoparticles intended for inhalation. J Control Release, 2010; 142: 138-145.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-15]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.6.21.14.3]

17. Katas H, and Alpar HO. Development and characterisation of chitosan nanoparticles for siRNA delivery. J Control Release, 2006; 115: 216-225.

18. Kenfield SA, Wei EK, Stampfer MJ, Rosner BA, and Colditz GA. Comparison of aspects of smoking among the four histological types of lung cancer. Tob Control, 2008; 17: 198-204.

19. Kim YH, and Mishima M. Second-line chemotherapy for small-Cell Lung Cancer (SCLC). Cancer Treat Rev, 2011; 37: 143-150.

20. Konate K, Crombez L, Deshayes S, Decaffmeyer M, Thomas A, Brasseur R, Aldrian G, Heitz F, and Divita G. Insight into the cellular uptake mechanism of a secondary amphipathic cell-penetrating peptide for siRNA delivery. Biochemistry, 2010; 49: 3393-3402.

21. Kountouri MP, Mammas IN, and Spandidos DA. Human papilloma virus (HPV) in lung cancer: Unanswered questions. Lung Cancer, 2010; 67: 125.

22. Lam JK, Liang W, and Chan HK. Pulmonary delivery of therapeutic siRNA. Adv Drug Deliv Rev, 2012; 64: 1-15.

23. Lebhardt T, Roesler S, Beck-Broichsitter M, and Kissel T. Polymeric nanocarriers for drug delivery to the lung. J Drug Deliv Sci Tec, 2010; 20: 171-180.

24. Lin MM, Kim HH, Kim H, Muhammed M, and Kim DK. Iron oxide-based nanomagnets in nanomedicine: fabrication and applications. Nano Rev, 2010; 1.

25. M.J. Horner LAGR, M. Krapcho, N. Neyman, R. Aminou and N. Howlader et al. SEER cancer statistics review. Natl Cancer Inst, 2009; 1975–2006.

26. Mauer AM, Cohen EE, Ma PC, Kozloff MF, Schwartzberg L, Coates AI, Qian J, Hagey AE, and Gordon GB. A phase II study of ABT-751 in patients with advanced non-small cell lung cancer. J Thorac Oncol, 2008; 3: 631-636.

27. Meade BR, and Dowdy SF. Exogenous siRNA delivery using peptide transduction domains/cell penetrating peptides. Adv Drug Deliv Rev, 2007; 59: 134-140.

28. Merkel OM, Beyerle A, Librizzi D, Pfestroff A, Behr TM, Sproat B, Barth PJ, and Kissel T. Nonviral siRNA delivery to the lung: investigation of PEG-PEI polyplexes and their in vivo performance. Mol Pharm, 2009; 6: 1246-1260.

29. Miele E, Spinelli GP, Di Fabrizio E, Ferretti E, Tomao S, and Gulino A. Nanoparticle-based delivery of small interfering RNA: challenges for cancer therapy. Int J Nanomedicine, 2012; 7: 3637.

30. Moschos SA, Williams AE, and Lindsay MA. Cell-penetrating-peptide-mediated siRNA lung delivery. Biochem Soc Trans, 2007; 35: 807-810.

31. Oskuee RK, Dehshahri A, Shier WT, and Ramezani M. Alkylcarboxylate grafting to polyethylenimine: a simple approach to producing a DNA nanocarrier with low toxicity. J Gene Med, 2009; 11: 921-932.

32. Oskuee RK, Philipp A, Dehshahri A, Wagner E, and Ramezani M. The impact of carboxyalkylation of branched polyethylenimine on effectiveness in small interfering RNA delivery. J Gene Med, 2010; 12: 729-738.

33. Peng S-F, Tseng MT, Ho Y-C, Wei M-C, Liao Z-X, and Sung H-W. Mechanisms of cellular uptake and intracellular trafficking with chitosan/DNA/poly(γ-glutamic acid) complexes as a gene delivery vector. Biomaterials, 2011; 32: 239-248.

34. Qian Z, Zhao X, Jiang M, Jia W, Zhang C, Wang Y, Li B, and Yue W. Downregulation of Cyclophilin

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-15]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.6.21.14.3]

A by siRNA diminishes non-small cell lung cancer cell growth and metastasis via the regulation of matrix metallopeptidase 9. BMC Cancer, 2012; 12: 442.

35. Repace JL, Jiang R-T, Acevedo-Bolton V, Cheng K-C, Klepeis NE, Ott WR, and Hildemann LM. Fine particle air pollution and secondhand smoke exposures and risks inside 66 US casinos. Environ Res, 2011; 111: 473-484.

36. Robbins M, Judge A, and MacLachlan I. siRNA and innate immunity. Oligonucleotides, 2009; 19: 89-102.

37. Rosas-Taraco AG, Higgins DM, Sanchez-Campillo J, Lee EJ, Orme IM, and Gonzalez-Juarrero M. Intrapulmonary delivery of XCL1-targeting small interfering RNA in mice chronically infected with Mycobacterium tuberculosis. Am J Respir Cell Mol Biol, 2009; 41: 136-145.

38. Roy I, and Vij N. Nanodelivery in airway diseases: challenges and therapeutic applications. Nanomedicine, 2010; 6: 237-244.

39. Rudorf S, and Rädler JO. Self-Assembly of Stable Monomolecular Nucleic Acid Lipid Particles with a Size of 30 nm. J Am Chem Soc, 2012; 134: 11652-11658.

40. Ruiz FE, Clancy JP, Perricone MA, Bebok Z, Hong JS, Cheng SH, Meeker DP, Young KR, Schoumacher RA, Weatherly MR, Wing L, Morris JE, Sindel L, Rosenberg M, van Ginkel FW, McGhee JR, Kelly D, Lyrene RK, and Sorscher EJ. A clinical inflammatory syndrome attributable to aerosolized lipid-DNA administration in cystic fibrosis. Hum Gene Ther, 2001; 12: 751-761.

41. Sakagami M. In vivo, in vitro and ex vivo models to assess pulmonary absorption and disposition of inhaled therapeutics for systemic delivery. Adv Drug Deliv Rev, 2006; 58: 1030-1060.

42. Saranya N, Moorthi A, Saravanan S, Devi MP, and Selvamurugan N. Chitosan and its derivatives for gene delivery. Int J Biol Macromol, 2011; 48: 234-238.

43. Sashital DG, and Doudna JA. Structural insights into RNA interference. Curr Opin Struc Biol, 2010; 20: 90-97.

44. Senoo T, Hattori N, Tanimoto T, Furonaka M, Ishikawa N, Fujitaka K, Haruta Y, Murai H, Yokoyama A, and Kohno N. Suppression of plasminogen activator inhibitor-1 by RNA interference attenuates pulmonary fibrosis. Thorax, 2010; 65: 334-340.

45. Shim MS, and Kwon YJ. Efficient and targeted delivery of siRNA in vivo. FEBS Journal, 2010; 277: 4814-4827.

46. Thun MJ, Hannan LM, Adams-Campbell LL, Boffetta P, Buring JE, Feskanich D, Flanders WD, Jee SH, Katanoda K, Kolonel LN, Lee IM, Marugame T, Palmer JR, Riboli E, Sobue T, Avila-Tang E, Wilkens LR, and Samet JM. Lung cancer occurrence in never-smokers: an analysis of 13 cohorts and 22 cancer registry studies. PLoS Med, 2008; 5: e185.

47. Watts JK, Deleavey GF, and Damha MJ. Chemically modified siRNA: tools and applications. Drug Discov Today, 2008; 13: 842-855.

48. Xu CX, Jere D, Jin H, Chang SH, Chung YS, Shin JY, Kim JE, Park SJ, Lee YH, and Chae CH. Poly (ester amine)-mediated, aerosol-delivered Akt1 small interfering RNA suppresses lung tumorigenesis. Am J Resp Crit Care, 2008; 178: 60-73.

49. Yin J, Vogel U, Ma Y, Qi R, and Wang H. Association of DNA repair gene XRCC1 and lung cancer susceptibility among nonsmoking Chinese women. Cancer Genet Cytogen, 2009; 188: 26-31.

50. Zhang J, Wu L, Chan H-K, and Watanabe W. Formation, characterization, and fate of inhaled drug

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-15]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.6.21.14.3]

nanoparticles. Adv Drug Deliver Rev, 2011; 63: 441-455.

51. Zhang S, Zhao Y, and Zhi D. Non-viral vectors for the mediation of RNAi. Bioorg Chem, 2012; 40: 10-18.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-15]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.6.21.14.3]