لیپوزوم‌های هدف‌گیری شده (قسمت اول)

دکتر مجتبی سرکندی

سرطان اصطلاح پزشکی است که برای توصیف گروهی از بیماری‌های ناهمگن با افزایش بروز و بار جهانی بر سلامت استفاده می‌شود و دومین علت شایع مرگ‌ومیر در جهان پس از بیماری‌های قلبی- عروقی است که میزان بروز آن در دهه‌های آینده حدود ۶۰ درصد افزایش می‌یابد. براساس گزارش GLOBOCAN 2020 آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان (IARC)، انتظار می‌رود ۲۸/۴ میلیون مورد جدید سرطان تا سال ۲۰۴۰ ایجاد شود که نشان‌دهنده افزایش ۴۷ درصدی نسبت به سال ۲۰۲۰ است. در سال ۲۰۲۰، IARC ۱۹/۳ میلیون مورد جدید و ۱۰ میلیون مرگ ناشی از سرطان را در سراسر جهان تخمین زد. در حال حاضر، سرطان سینه زنان شایع‌ترین نوع سرطان تشخیص داده شده (۲/۳ میلیون مورد جدید، ۱۱/۷ درصد از کل موارد)، پس از آن سرطان ریه (۱۱/۴ درصد) و سرطان پروستات (۷/۳ درصد) قرار دارند. تعداد بیشتری از موارد جدید در سال ۲۰۲۰ در آسیا (۵۸/۳ درصد از کل موارد در سراسر جهان) و پس از آن اروپا

(۲۲/۸ درصد) و آمریکا (۲۰/۹ درصد) رخ داده است (۱). درک فعلی از علایم سرطان، توسعه چند مرحله‌ای این بیماری را به شش ویژگی بیولوژیک ذاتی سلول‌های تومور نسبت می‌دهد، مانند: (۱) سیگنال‌دهی تکثیر پایدار، (۲) افزایش رگ‌زایی، (۳) مقاومت در برابر مرگ سلولی، (۴) فرار از عوامل رشد، (۵) نامیرایی مبتنی بر تکثیر و (۶) تهاجم فعال و متاستاز (۲).

تلاش‌های جهانی بر درک مکانیسم‌های مولکولی سرطان و کشف اهداف درمانی جدید متمرکز شده است. علی‌رغم پیشرفت‌های فراوان در یافتن جایگزین‌های کارآمدتر برای درمان سرطان و مراقبت از بیمار، هنوز جنبه‌های زیادی وجود دارند که باید بهبود یابند تا درمان ضدسرطان کارآمد شود. در حال حاضر، مشکل اصلی در درمان سرطان، اثرات نامطلوب مضر ناشی از عوامل شیمی‌درمانی، ناهمگونی سرطان است که ویژگی‌های ژنتیکی متفاوت و پاسخ‌های متفاوت به درمان‌ها را نشان می‌دهد و وجود مکانیسم‌های مقاومت چند دارویی می‌باشد. بنابراین، هدف اصلی علوم دارویی تولید داروهایی است که سمیت کمتری داشته و کارآمدتر باشند.

به‌عنوان یک جایگزین امیدوارکننده برای درمان سرطان، ژن درمانی برجسته گردیده است. این رویکرد شامل تحویل مواد ژنتیکی in vitro یا in vivo به سلول‌هایی با اختلال عملکرد ژنتیکی خاص برای اصلاح بیان ژن‌های خاص به‌عنوان راهی جهت دور زدن شرایط بالینی خاص می‌باشد (۳). بنابراین، طیف وسیعی از درمان‌های ژنتیکی در دهه‌های گذشته برای درمان سرطان گزارش شده است. ژن درمانی برای ایجاد واکسن‌های سرطان، تعدیل سیستم ایمنی برای دستیابی به حذف سلول‌های سرطانی و برنامه‌ریزی مجدد سلول‌های سرطانی استفاده شده است. اگرچه ژن درمانی نوآورانه و کارآمد است، می‌تواند اثرات نامطلوب قابل توجهی، به‌ویژه در پاسخ ایمنی ایجاد کند. به دلیل موانع بیولوژیک و سیستم ایمنی میزبان، رساندن مواد ژنتیکی اگزوژن می‌تواند چالش برانگیز باشد و کارآیی تحویل کم را نشان می‌دهد.

نانوسیستم‌های دارورسانی قادر به غلبه بر این مسایل هستند و اثر ژن درمانی را از طریق تحویل هدفمند و انتخابی مواد ژنتیکی به سلول‌های آسیب دیده تقویت می‌کنند. در این میان، نانوسیستم‌های مبتنی بر لیپید، بیشترین استفاده را از حامل غیرویروسی برای بیان ژن و خاموش کردن آن‌ها به‌ویژه لیپوزوم‌های کاتیونی دارند (۴). در دهه‌های گذشته، مقالات چند لیگاند هدف‌گیری (مانند آنتی‌بادی‌ها، قطعات آنتی‌بادی، اسید فولیک، پپتیدها، آپتامرها و کربوهیدرات‌ها) را گزارش می‌کنند که به دلیل شناسایی و اتصال خاص آن‌ها توسط گیرنده‌های بیش از حد بیان شده برای ترویج هدف‌گیری فعال به نانوحامل‌ها سلول‌های تومور استفاده

شده‌اند. بنابراین، پیشرفت قابل توجهی در تحویل پلاسمید DNA، mRNA، microRNA (miRNA)، small interfering RNA (siRNA)، short hairpin RNA (shRNA) و درمان‌های الیگونوکلئوتیدی آنتی‌سنس برای درمان سرطان با نتایج امیدوارکننده صورت گرفته است. در این زمینه، مرور حاضر به جدیدترین مقالات تحقیقاتی که از لیپوزوم‌ها به‌عنوان یک حامل غیرویروسی برای ژن درمانی سرطان استفاده می‌کنند، می‌پردازد و نتایج اصلی به‌دست‌آمده با استفاده از مطالعات in vitro و in vivo مورد بحث قرار می‌گیرد.

۲. ژن درمانی

انجمن ژن و سلول درمانی آمریکا ژن درمانی را به‌عنوان «معرفی، حذف یا تغییر در محتوای کد ژنتیکی فرد با هدف درمان یا درمان بیماری» تعریف کرده است. این یک رویکرد درمانی امیدوارکننده است که در درمان اختلالات عفونی و ژنتیکی استفاده می‌شود (۵)، که از اسیدهای نوکلئیک مختلف (NAs) مانند miRNA، shRNA، siRNA، سیستم CRISPR و الیگونوکلئوتیدهای آنتی‌سنس استفاده می‌کند.

برخلاف درمان‌های سنتی، که می‌توانند پاسخ کوتاهی را بدون دوزهای مداوم ارایه دهند، ژن‌درمانی حتی پس از تجویز در دوزهای منفرد، اثرات پایدار بالقوه‌ای دارد. با این حال، در مقایسه با داروهای سنتی، هزینه‌های بالای ژن درمانی را می‌توان با فرآیند ساخت تخصصی، دشواری در آزمایشات بالینی و الزامات تحویل بالینی توضیح داد.

اولین کارآزمایی بالینی با استفاده از ژن درمانی در دهه ۱۹۹۰ روی بیمار مبتلا به کمبود آدنوزین دآمیناز و نقص ایمنی ترکیبی شدید انجام شد. با این حال، در سال ۱۹۹۹، اولین مورد مرگ با استفاده از ژن درمانی در یک بیمار مبتلا به کمبود اورنیتین ترانس کاربامیلاز در نتیجه یک پاسخ التهابی سیستمیک قوی به دلیل درمان با سلول‌های بنیادی خونساز اصلاح شده با حامل‌های رتروویروسی گزارش شد (۶). در نتیجه این مرگ، تحقیقات مرتبط با ژن درمانی تا سال ۲۰۱۰، به ویژه در ایالات متحده و اروپا، کاهش یافت. در این دوره، تنها چهار محصول در آسیا، از جمله (۱۹۹۸) Vitravene– سیتومگالوویروس رتینیت برای بیماران مبتلا به سیستم ایمنی، (۲۰۰۳) ژندیسین– سرطان سر و گردن، (۲۰۰۵) Oncorine – سرطان نازوفارنکس و (۲۰۱۱) Neovasculgen – بیماری عروق محیطی و ایسکمی اندام برای ژن درمانی تایید شدند(۷).

در دهه‌های گذشته، تحقیقات شدید و مطالعات ایمنی پیش بالینی انجام شده که منجر به کاربردهای بالینی موفق گردیده است. از آن زمان، چند محصول مبتنی بر ژن درمانی تایید شده‌اند، از جمله محصولات مبتنی بر تداخل RNA (RNAi) (Patisiran، Lumasiran و Givosiran)، الیگونوکلئوتیدهای آنتی‌سنس (Golodirsen، Etaplirsen، Mipomersen و Nusinersen)،

حامل‌هـای ویروسـی مرتبـط بـا آدنـو نوترکیـب. Onasemnogene abeparvovec، Alipogene tiparvovec، و Voretigene neparvovec-rzyl) و سـلول‌های انتقـال یافتـه بـا لنتـی ویـروس (Axicabtagene ciloleucel، سـلول‌های CD34+ اتولـوگ ترانسـدود شـده بـا یـک حامـل لنتـی ویروسـی حـاوی ژن ADA انسـانی و Brexuuceleucle)(۵).

تخمیـن زده می‌شـود کـه از سـال ۲۰۱۵ بیش از ۲۲۰۰ کارآزمایـی بالینـی مرتبـط بـا ژن درمانـی در سراسـر جهـان انجـام شـده اسـت. آزمایشـات بالینـی اصلـی در ایـالات متحـده (۶۵ درصـد) و پس از آن اروپا (۲۳/۲ درصد) و آسـیا (۶/۵ درصد) انجـام می‌گیـرد(۸). سـایر کشـورها از جملـه اسـترالیا، کانـادا، روسـیه و جمهـوری کـره مسـؤول درصـد کمـی از تحقیقـات هسـتند (۹). درصـد آزمایشـات بالینـی بـا ژن درمانـی حـدود ۳۸/۳ درصـد در فـاز I، ۱۴/۲ درصـد در فـاز II، ۴/۴ درصـد در فـاز III و تنهـا ۲/۲ درصـد در فـاز IV قرار دارنـد (۹). در میـان آن‌هـا، آزمایش‌هـای بالینـی بـرای درمـان سـرطان، ۶۷ درصـد از کل تحقیقات را نشـان می‌دهنـد کـه بـا افزایـش بـروز آن در سراسـر جهـان و عـدم وجـود درمان‌هـای درمانـی مؤثـر توجیـه می‌شـوند. برخـی از آزمایشـات بالینـی بـا ژن درمانـی بـرای درمـان سـرطان در جـدول (۱) فهرسـت شـده اسـت.

ژن درمانـی را می‌تـوان بـه دو مکانیسـم اصلـی طبقه‌بنـدی کـرد. اولیـن مکانیسـم (کـه «ژن درمانـی سـنتی» نیـز نامیـده می‌شـود) مربـوط بـه افـزودن مسـتقیم کپـی ژنـی اسـت کـه محصـول صحیـح را بـه ژنـوم سـلول کـد می‌کنـد. در ایـن مکانیسـم، ژن می‌توانـد مسـتقیماً در ژنـوم ادغـام شـود یـا می‌توانـد به‌عنـوان یـک بخـش مسـتقل از DNA وجـود داشـته باشـد.

جدول ۱- کارآزمایی‌های بالینی برای ژن درمانی سرطان

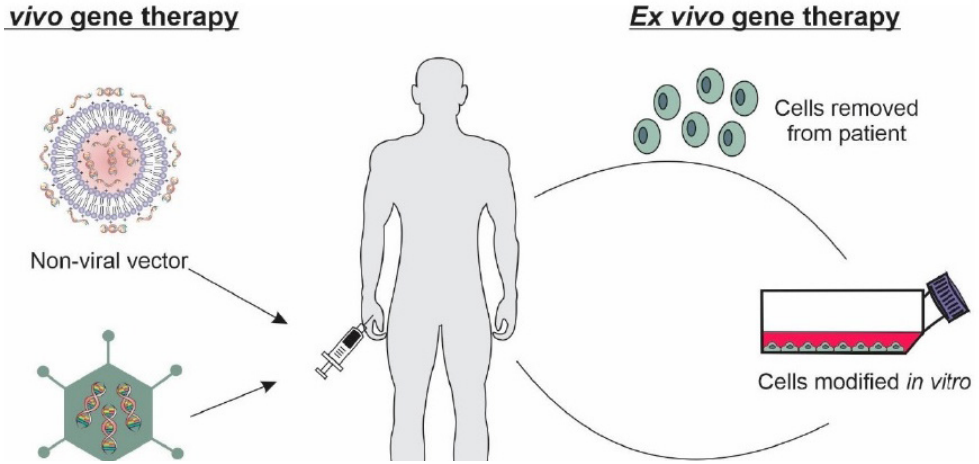
Disease	Vector/Gene	Phase	Status	Company	Identifier
Ovarian Cancer and Peritoneal Cavity Cancer	Ad5CMV-p53 gene	I	Completed	University of Texas Southwestern Medical Center	NCT00003450
Pancreatic cancer	Rexin-gene	I	Completed	Epeius Biotechnologies	NCT00121745
Prostate cancer	Ad5-yCD/ mutTKSR39rep-hIL12	I	Unknown	Henry Ford Health System Detroit	NCT02555397
Non-Small Cell Lung Cancer	AdV-IL-12	I	Incomplete	Houston Methodist Cancer Center	NCT04911166
Triple-Negative Breast Cancer	AdV-IL-12	II	Incomplete	Houston Methodist Cancer Center	NCT04095689
Breast Cancer	Ad5CMV-p53 gene	I	Completed	Fox Chase Cancer Center Philadelphia	NCT00004038
Ovarian Cancer and Primary Peritoneal Cancer	Ad5CMV-p53	I	Completed	Simmons Cancer Center—Dallas	NCT00003450
Prostate Cancer	Ad5-CMV-NIS	I	Completed	Mayo Clinic Rochester	NCT00788307

مکانیسم دوم به ویرایش ژن‌هایی با پتانسیل بالینی اشاره دارد که شامل اصلاح، جایگزینی، تقویت و انسداد نقص آن‌ها می‌شود (۱۰). اولین درمان ویرایش ژن برای جلوگیری از عفونت HIV در سلول‌های T در سال ۲۰۱۰ استفاده شد، در حالی که اصلاح ژن در سیستم CRISPR برای بتا تالاسمی و بیماری سلول داسی شکل مشاهده گردید (۱۱).

اساساً می‌توان از تکنیک‌های in vivo و ex vivo در ژن درمانی استفاده کرد. تکنیک in vivo پرکاربردترین رویکرد در ژن درمانی است که مبتنی بر معرفی مستقیم ماده ژنتیکی خاص به سلول‌ها یا بافت‌های هدف است. برای این منظور می‌توان از روش‌های مختلف فیزیکی و شیمیایی مانند سونوپوراسیون (sonoporation)، الکتروپوراسیون (electroporation)، فتوپوراسیون (photoporation)، تفنگ ژنی (gene gun) و سیستم‌های دارورسانی استفاده کرد(۹). در روش ex vivo، سلول‌های خاص از میزبان خارج می‌شوند، کشت داده می‌شوند و با ترانسفکشن in vitro اصلاح ژنتیکی می‌شوند و متعاقباً دوباره به بیماران پیوند داده می‌شوند (شکل ۱).

علاوه بر تکنیک‌های in vivo و ex vivo، ملاحظات مختلفی در ژن‌درمانی مانند اندازه ژن معرفی‌شده، پایداری بیان ژن، نوع سلول هدف، ایمنی و کارآیی سیستم تحویل ژن مورد نیاز است (۶). علاوه بر این، یکی از چالش‌های اصلی، انجام یک هدف‌گیری خاص از ژن‌ها به سلول‌های تومور، اجتناب از سلول‌های طبیعی است. در این راه از سیستم‌های انتقال ژن به نام "حامل‌ها (vectors)" استفاده شده است(۱۲).

در ژن درمانی، موفقیت درمان به حامل‌های ژن بستگی دارد، زیرا آن‌ها مسؤول



شکل ۱- تکنیک‌های in vivo و ex vivo مربوط به رساندن ژن به سلول‌های هدف

انتقال ژن‌های درمانی از طریق فرآیندی به نام ترانسفکشن (transfection) هستند. حامل‌ها وسایل نقلیه‌ای هستند که قادر به محافظت از ژن درمانی و انتقال آن به سلول‌ها، بافت‌ها و اندام‌ها می‌باشند. حامل می‌تواند به دلیل اندازه اسیدهای نوکلئیک (NA)، بار منفی و حساسیت به تخریب ناشی از هسته که از تحویل اسیدهای نوکلئیک برهنه جلوگیری می‌کند، در تحویل این ژن‌های درمانی واسطه شود. آن‌ها عمدتاً به‌عنوان حامل‌های ویروسی و غیرویروسی طبقه‌بندی می‌شوند(۱۳).

حامل‌های ویروسی، ویروس‌های مصنوعی هستند که حاوی کاست‌های ژنی می‌باشند و ویژگی‌های مطلوب را به جای ژنوم ویروسی کد می‌کنند. در ژن درمانی از ویروس‌های رتروویروسی، آدنوویروسی، ویروس مرتبط با آدنو، حامل ویروسی تبخال و حامل‌های واکسن به‌عنوان وسیله نقلیه استفاده می‌شود. هر حامل دارای معایب و مزایایی است و بنابراین، انتخاب حامل ویروسی به نوع سرطان، استراتژی درمانی و گرایش ویروسی بستگی دارد. به‌طور کلی، حامل‌های ویروسی کارآیی بالایی در انتقال و بیان ژن از طریق توانایی آن‌ها در آلوده کردن سلول‌ها به‌طور مولد، مانند یک ویروس نوع وحشی نشان داده‌اند. علیرغم کارآمدی بیشتر در انتقال نسبت به حاملان غیرویروسی، استفاده از آن‌ها به دلیل ایمنی‌زایی و سمیت، محدودیت‌هایی دارند. از جمله مشکلات می‌توان به گرایش یا ترویسم ویروسی (به‌عنوان مثال، ویروس هرپس سیمپلکس دارای یک ترویسم عصبی)، ناتوانی در انتقال سلول‌های غیرقابل تقسیم (به‌عنوان مثال، رتروویروس‌ها)، تولید تیتر پایین (به‌عنوان مثال، ویروس‌های مرتبط با آدنو)، پتانسیل التهابی (به‌عنوان مثال، آدنوویروس‌ها)، ظرفیت کم برای DNA خارجی وارد شده (به‌عنوان مثال، رتروویروس‌ها و ویروس‌های مرتبط با آدنو)، پاسخ ایمنی بالای میزبان (مانند ویروس‌های مرتبط با آدنو) و سمیت مرتبط با دوز بالا (مانند ویروس هرپس سیمپلکس) اشاره کرد(۱۴). همچنین پدیده جهش‌زایی درج وجود دارد که در آن ادغام کروموزومی نا به جا DNA ویروسی، بیان ژن سرکوبگر تومور را مختل می‌کند یا انکوژن‌های با پتانسیل تومورزایی را فعال می‌کند (مانند لنتی ویروس و سیتومگالوویروس) (۱۴). چالش دیگر برای استفاده از یک حامل ویروسی مربوط به هزینه بالای پردازش پایین دستی است که در آن مراحل تصفیه نیاز به روش‌های موثر و قابل تکرار دارد. علاوه بر این، حامل‌های ویروسی برای تحویل کد NA و داروها در دسترس نیستند، زیرا کارآیی ترانسفکشن وابسته به هدف نیست و مولکول‌های درمانی موجود برای درج در حامل‌ها فقط NA هستند (۱۳).

سیستم‌های حامل غیرویروسی، عمدتاً به دلیل ایمنی زیستی، ایمنی‌زایی کم و بیماری‌زایی کم، برای ژن درمانی سرطان امیدوارکننده هستند. آن‌ها یک طراحی

شیمیایی انعطاف‌پذیر دارند که می‌توانند برای دستیابی به خواص فیزیکوشیمیایی مطلوب جهت رساندن NA به سلول‌های هدف اصلاح شوند. آن‌ها از ژن درمانی محافظت می‌کنند، جذب سلولی را افزایش می‌دهند و به دلیل ظرفیت بسته‌بندی بیشتر در مقایسه با همتایان ویروسی، می‌توانند NA با اندازه‌های مختلف (مانند DNA پلاسمید و الیگونوکلئوتیدها) را متصل و متراکم کنند. علاوه بر حمایت از رساندن کد NA و داروها، مزایای دیگر عبارتند از: سهولت تولید و پتانسیل تجویز مجدد (۱۴). در سال‌های اخیر، حامل‌های غیرویروسی مختلف با نقش مهمی در درمان‌های جدید، مانند لیپوزوم‌ها، نانوذرات لیپیدی جامد، حامل‌های لیپیدی نانوساختار، نانوامولسیون، نانوذرات پلیمری، دندریمرها، نانوذرات طلا و نقاط کوانتومی توسعه یافته‌اند (۱۴).

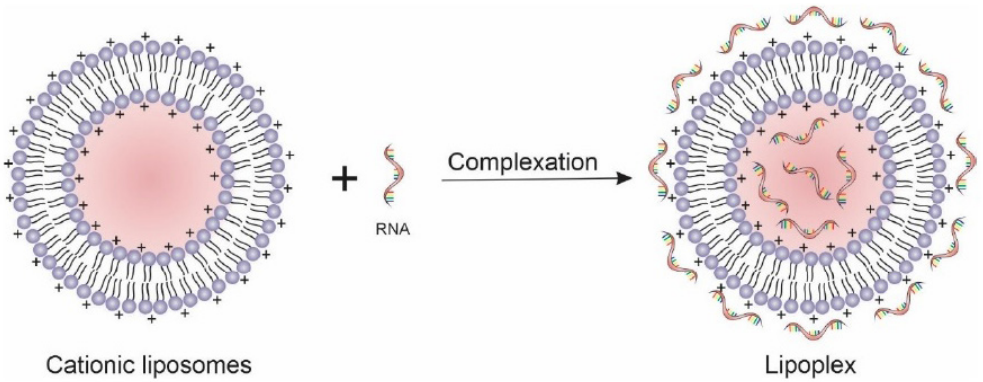
۳. لیپوزوم‌ها به‌عنوان یک حامل غیرویروسی

حامل‌های غیرویروسی مبتنی بر لیپید یک جایگزین امیدوارکننده برای حامل‌های ویروسی جهت رساندن ژن، به ویژه فرمول‌های لیپوزومی، هستند. تولید لیپوزوم‌ها یک استراتژی است که رساندن ژن‌های درمانی به سلول‌ها را تسهیل می‌کند، زیرا وزیکول‌های کروی هستند که از یک یا چند لایه دوگانه فسفولیپیدی، مشابه لیپیدهای موجود در غشاهای بیولوژیکی تشکیل شده‌اند. علاوه بر این، لیپوزوم‌ها به دلیل تعدیل ترکیب، اندازه و بار، ایمنی و سمیت کمی دارند. این وزیکول‌ها را می‌توان براساس اندازه (کوچک، بزرگ و غول‌پیکر)، بار (کاتیونی، آنیونی و خنثی)، تعداد لایه‌ها (تک لایه، چند لایه و چند وزیکولی)، اصلاح سطح و ترکیب لیپیدی مشخص کرد (۴،۱۵).

لیپیدهای مورد استفاده برای تشکیل لیپوزوم‌ها می‌توانند کاتیونی، آنیونی، خنثی یا مخلوطی از آن‌ها باشند. لیپید مورد استفاده برای تهیه لیپوزوم‌ها می‌تواند روشی را که توسط آن NAs در فرمول وارد می‌شود، تحت تاثیر قرار دهد و می‌تواند با کمپلکس کردن NAs روی سطح لیپوزوم‌ها (لیپوزوم‌ها/NAs کمپلکس) یا محصور کردن NAs در هسته آن‌ها (NAs-encapsulated liposomes) باشد(۱۶). لیپیدهای آنیونی که معمولاً در توسعه لیپوزوم‌ها استفاده می‌شوند، فسفولیپیدهایی مانند اسید فسفاتیدیک، فسفاتیدیل گلیسرول و فسفاتیدیل سرین هستند که به‌طور طبیعی در غشای سلولی یافت می‌شوند. این لیپیدها می‌توانند خواص فیزیکی غشا را تعدیل کنند و با جلوگیری از غیرفعال شدن در حضور سرم، ثبات بیشتری را تضمین کنند. آن‌ها به دلیل حضور طبیعی در غشاهای بیولوژیک، زیست‌سازگاری مطلوب‌تری دارند. از آنجایی که این لیپیدها دارای بار منفی هستند، NAs نمی‌توانند کمپلکس شوند و باید در طول تشکیل وزیکول‌ها در لیپوزوم‌ها محصور شوند. بار منفی این لیپیدها از فشرده شدن

کارآمد DNA از طریق نیروهای الکترواستاتیک دافعه‌ای که بین گروه فسفات DNA و گروه‌های سر آنیونی لیپیدها رخ می‌دهد، جلوگیری می‌کند و بازده انتقال را کاهش می‌دهد. به همین دلیل، لیپیدهای کاتیونی برای انتقال ژن به لیپیدهای آنیونی ارجحیت دارند. کمپلکس بین لیپیدهای کاتیونی و اسیدهای نوکلئیک ساختارهای فازی منظمی را تشکیل می‌دهد که به‌عنوان **لیپوپلکس** (lipoplex) نیز شناخته می‌شوند (شکل ۲) (۱۷). لیپیدهای کاتیونی مولکول‌های آمفی‌فیلیک می‌باشند که ساختاری مشابه لیپیدهای طبیعی دارند، اما به دلیل وجود یک گروه سر کاتیونی دارای بار مثبت هستند (۱۳). اسیدهای نوکلئیک را می‌توان از طریق افزودن آن‌ها در طول مرحله تشکیل لیپوزوم‌ها در لیپوزوم‌های کاتیونی یا با کمپلکس شدن اسیدهای نوکلئیک پس از تولید لیپوزوم‌ها محصور کرد (به‌عنوان مثال، گنجاندن NA در محلول هیدراتاسیون در روش هیدراتاسیون لایه نازک). در هر دو روش انکپسوله، برهمکنش الکترواستاتیکی بین اسیدهای نوکلئیک منفی و لیپیدهای کاتیونی مسؤول افزایش توانایی لیپوزوم‌های کاتیونی برای حمل NA است (۱۸). جدول(۲) برخی از لیپیدهای کاتیونی مورد استفاده در انتقال ژن و ویژگی‌های آن‌ها را خلاصه می‌کند.

در تشکیل لیپوپلکس، برهمکنش الکترواستاتیک اولین مرحله کمپلکس است و یک برهمکنش سریع را تشکیل می‌دهد. این مرحله با آزادسازی ۷۰ درصد ضدیون‌های DNA و ۹۰ درصد ضدیون‌های لیپیدی همراه است که در آن ساختار توسط یک فضای داخلی خنثی از طریق برهمکنش NAs و بارهای لیپید با ضدیون‌های خود در داخل کمپلکس تثبیت می‌شود و همزمان هیدراتاسیون کاهش می‌یابد. در این مرحله، نسبت بار بالاتر لیپید/



شکل ۲- نمایش شماتیک تشکیل لیپوپلکس

NAs یـک کمپلکـس سـریع‌تر و پایدارتر را تشـکیل می‌دهـد. مرحلـه دوم رونـد کندتـر بازآرایـی و تثبیت برگشـت ناپذیـر اسـت. در ایـن مرحلـه، در اولیـن لحظـه، بخش‌هـای آب‌گریـز از لیپیدهـای کاتیونـی کـه در معـرض محیط‌هـای آبـی قـرار گرفته‌انـد، خـود را بـه شـکل‌های ناپایـدار بازآرایـی می‌کننـد

جدول ۲- لیپیدهایی که معمولا در انتقال ژن استفاده می‌شوند.

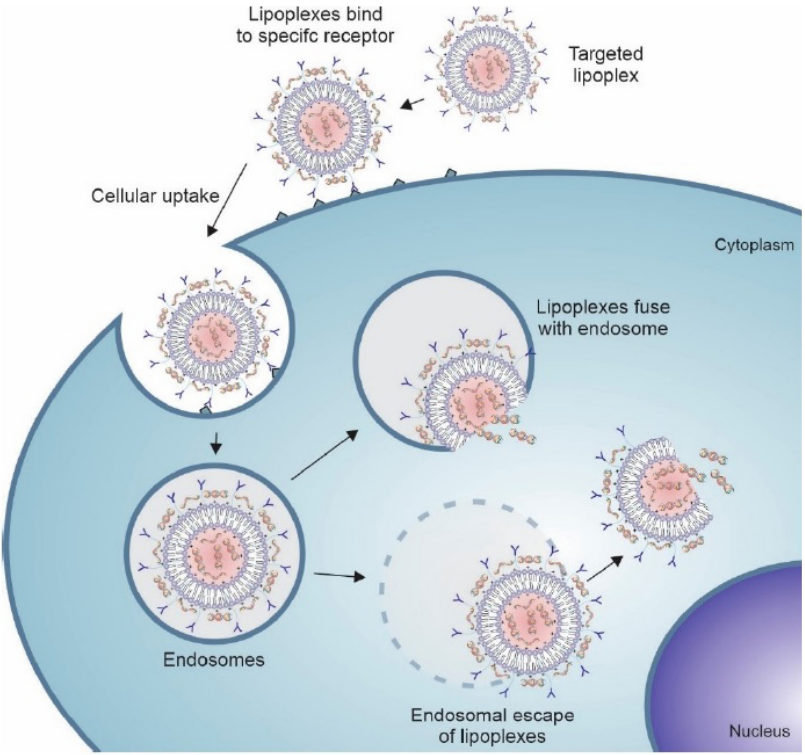
Lipid	Abbreviation	Polar Domain	Nonpolar Domain	Feature
N-[1-(2,3-Dioleyloxy)propyl]*N*,*N*,*N*-trimethylammonium chloride	DOTMA	Quaternary ammonium	Unsaturated aliphatic	Cationic lipid
1,2-Dioleoyloxy-3-trimethylammonium-propane	DOTAP	Quaternary ammonium	Unsaturated aliphatic	Cationic lipid
Dioctadecylamidoglycylspermine	DOGS	Polyamine	Aliphatic	Cationic lipid
Cetyltrimethylammonium bromide	CTAB	Quaternary ammonium	Single-tail aliphatic	Cationic lipid
2,3-Dioleyloxy-*N*-[2(sperminecarboxamido)-ethyl]-*N*,*N*-dimethyl-1-propanaminium trifluoroacetate	DOSPA	Polyamine	Unsaturated aliphatic	Cationic lipid
1,2-Dioleyl-3-trimethylammonium-propane	DOPA	Quaternary ammonium	Unsaturated aliphatic	Cationic lipid
Dimyristooxypropyl dimethyl hydroxyethyl ammonium bromide	DMRIE	Quaternary ammonium	Aliphatic	Cationic lipid
Dimethyldioctadecylammonium bromide	DDAB	Quaternary ammonium	Aliphatic	Cationic lipid
1,2-Distearyloxy-*N*,*N*-dimethyl-3-aminopropane	DSDMA	Secondary amine	Aliphatic	Cationic lipid
1,2-Dimyristoyl-trimethylammoniumpropane	DMTAP	Quaternary ammonium	Aliphatic	Cationic lipid
1,2-Distearoyl-sn-glycero-3-ethylphosphocholine	DSEPC	Quaternary ammonium	Aliphatic	Cationic lipid
N-Palmitoyl D-erythro-sphingosyl carbamoyl-spermine	CCS	Spermine	Unsaturated aliphatic	Cationic lipid
1,3-Dioleoxy-2-(6-carboxy-spermyl)-propylamide	DOSPER	Polyamine	Unsaturated aliphatic	Cationic lipid
(1,2-dioleoyl-3-dimethyl-hydroxyethyl ammonium bromide)	DORIE	Quaternary ammonium	Unsaturated aliphatic	Cationic lipid
(1,2-dioleoyloxypropyl-3-dimethyl-hydrox yethyl ammonium chloride)	DORI	Quaternary ammonium	Unsaturated aliphatic	Cationic lipid
N,*N*-dioleyl-*N*,*N*-dimethylammonium Chloride	DODAC	Quaternary ammonium	Aliphatic	Cationic lipid
Bis-guanidium-tren-cholesterol	BGTC	Guanidinium-spermidine-	Steroid-based	Cationic lipid
3β-[*N*-(*N*′,*N*′-Dimethylaminoethane)-carbamoyl]cholesterol	DC-Chol	Tertiary amine	Steroid-based	Cationic lipid
Octadecenolyoxy[ethyl-2-heptadecenyl-3 hydroxyethyl] imidazolinium chloride	DOTIM	Heterocycle (imidazole)	Unsaturated aliphatic	Cationic lipid
1,2-dioleoyl-sn-glycerol-3-ethylphosphocholine	DOEPC	Ethylphosphocholine	Aliphatic	Cationic lipid
O,*O*′-Dimyristyl-*N*-lysyl aspartate	DMKE	Primary amine	Aliphatic	Cationic lipid
O,*O*′-dimyristyl *N*-lysylaspartate	DMKD	Primary amine	Aliphatic	Cationic lipid
N-t-Butyl-N0-tetradecyl-3-tetradecylaminopropionamidine	diC14-amidine	Imine group	Aliphatic	Cationic lipid
N-(4-carboxybenzyl)-*N*,*N*-dimethyl-2,3-bis(oleoyloxy)propan-1-aminium	DOBAQ	Quaternary ammonium	Unsaturated aliphatic	Cationic lipid
1,2-dioleyloxy-3-dimethylaminopropane	DODMA	Tertiary amine	Unsaturated aliphatic	Cationic lipid
6-Lauroxyhexyl ornithinate	LHON	Ornithine	Single-tail aliphatic	Cationic lipid
1,2-Dioleoyl-sn-glycero-3-phosphatidylcholine	DOPC	-	Phosphatidylcholine	Helper lipid
1,2-Dioleoyl-sn-glycero-3-phosphatidylethanolamine	DOPE	-	Phosphatidylcholine	Helper lipid
Cholesterol	CHOL	-	Steroid	Helper lipid

و به‌طور خود به خود از طریق برهمکنش‌های آب گریز مطلوب ترمودینامیکی به یک کمپلکس لایه‌ای لیپید–DNA سازماندهی می‌شود (۱۰).

لیپوپلکس‌ها می‌توانند انتقال ژن‌های درمانی به سلول‌ها را از طریق مکانیسم‌های مرتبط با ساختار شیمیایی آن‌ها افزایش دهند. علاوه بر تعامل با NA، گروه سر کاتیونی از طریق برهمکنش الکترواستاتیکی با گروه‌های آنیونی گلیکوپروتئین‌ها و پروتئوگلیکان‌های غشای سلولی، تعامل با غشای سلولی را تقویت می‌کند و جذب سلولی را بیشتر می‌سازد(۱۳،۱۴). لیپوپلکس‌ها همچنین ممکن است کارآیی ترانسفکشن NAs در هسته را از طریق فرار یا اختلال آندوزومی افزایش دهند. فرار از آندوزوم‌ها با برهمکنش و ادغام لیپوپلکس‌ها با غشای اندوزوم و به دنبال آن آزاد شدن NA به داخل سیتوزول رخ می‌دهد (۴). وجود یک مولکول بازی ضعیف در گروه سر می‌تواند باعث انفجار آندوزوم از طریق اثر اسفنج پروتون شود و NAs را در سیتوزول سلول هدف آزاد کند (شکل ۳) (۲۰). علاوه بر این، گنجاندن القاکننده‌های همجوشی غشایی (مانند کلرپرومازین و پروکایین آمید)، عوامل لیزوزوموتروپیک (مانند کلروکین) و پپتیدهای نافذ به سلول با حوزه‌های فرار آندوزومی در لیپوپلکس می‌تواند توانایی آن را برای فرار از اندوزوم افزایش دهد. وونگ بائزا (Wong–Baeza) و همکاران لیپوپلکس حاوی کلرپرومازین، پروکایین آمید، کلروکین و اسپرمیدین را تولید کردند و افزایش قابل توجهی در انتقال ژن با واسطه لیپوپلکس مشاهده نمودند(۲۱). لیپوپلکس‌ها همچنین قادر به حمل مقدار زیادی NA با وزن‌های مولکولی مختلف، مانند DNAs پلاسمید بزرگ (وزن مولکولی کمتر از ۱۰ کیلو جفت باز) و RNAs پیام‌رسان (وزن مولکولی کمتر از ۱۰ کیلو جفت باز) و توالی‌های کوتاه (Mw ≈ 15–30 mers) هستند.

لیپوپلکس‌ها ساختار مشترکی دارند، از جمله یک سر قطبی با بار مثبت (دامنه آب‌دوست) و یک دم آب‌گریز که از طریق یک پیوند دهنده و یک دامنه ستون فقرات (به‌عنوان مثال، گلیسرول) به هم متصل شده‌اند. حوزه‌های آب گریز و کاتیونی در ترکیب لیپوپلکس‌ها ضروری هستند (۱۳،۱۴).

سرگروه‌های قطبی لیپیدها تأثیر زیادی بر عملکرد کلی لیپوپلکس‌ها دارند. اندازه و چگالی بار این دامنه بر تعامل آن با NA، پایداری لیپوپلکس، برهمکنش با غشای سلولی، مکانیسم فرار آندوزومی، سمیت سلولی و تراکم NAs تأثیر می‌گذارد. براساس گروه شیمیایی، این دامنه می‌تواند آمونیم چهارتایی، یک آمین (اولیه، ثانویه، ترشیاری)، یک اسید آمینه یا پپتید، یک گوانیدین، گروه‌های سر هتروسیکلیک و برخی سرگروه‌های خاص باشد. آمونیم کواترنر به دلیل بار مثبت دائمی که حلالیت بالایی در محیط‌های آبی و برهمکنش قوی با NAs فراهم می‌کند، متداول‌ترین گروه است (۲۲).



شکل ۳- نمایش شماتیک جذب سلولی لیپوپلکس هدفمند و آزادسازی NA در سلول‌های تومور. پس از درونی‌سازی، لیپوپلکس می‌تواند با آندوزوم‌ها ترکیب شود یا آن‌ها را بی‌ثبات کند و منجر به آزاد شدن NA در سیتوپلاسم گردد.

اولین لیپوپلکس در سال ۱۹۸۷ برای افزودن پلاسمیدها به سلول‌ها با استفاده از لیپید کاتیونی مصنوعی N-[1-(2,3- دیولیلوکسی) پروپیل]-N,N,N- تری‌متیل آمونیوم کلرید (DOTMA) متشکل از آمونیم کواترنری در دامنه آب‌دوست و ستون فقرات گلیسرول به دست آمد. این اولین آزمایش in vivo بود که با استفاده از لیپیدهای کاتیونی روی موش انجام شد. لیپوپلکس (۵ تا ۱۰۰ برابر) از روش ترانسفکشن کلسیم فسفات یا DEAE-دکستران مؤثرتر بود. برای کاهش سمیت سلولی و افزایش کارآیی ترانسفکشن، تغییراتی در بخش‌های اصلی DOTMA ایجاد شد که اولین N-[1-(2,3- دیولئویلوکسی)پروپیل]-N،N،N- تری‌متیل آمونیم متیل‌سولفات (DOTAP)

را تولید کردند. از آن زمان، گروه سرآمونیم کواترنری در توسعه لیپیدهای کاتیونی مانند ستیل تری متیل آمونیوم بروماید (CTAB)، دی متیل دیوکتادسیل آمونیوم برماید (DDAB)، اسپرمین‌های دیوکتادکانویل DOTAP، (DOGS) استفاده شده است.

در جستجو برای ارزیابی تأثیر دامنه آب دوست بر سمیت سلولی لیپیدهای کاتیونی، Cui و همکاران دو لیپید کاتیونی با سرگروه آمونیم کواترنری (CDA14) و سرگروه تری‌پپتیدی (CDO14) با پیوند دهنده و دامنه آب‌گریز یکسان سنتز کردند. CDA14 (IC50 109.4 μg mL−1) از CDO14 (IC50 340.5 μg mL−1) در سلول سرطان ریه سیتوتوکسیک‌تر بود. گروه سرآمونیم کواترنری سلول‌های آپوپتوتیک و گونه‌های اکسیژن فعال بیشتری را نسبت به سرگروه پپتیدی القا می‌کند، که نشان می‌دهد سمیت لیپید کاتیونی رابطه نزدیکی با ساختارهای گروه سر آن‌ها دارد (۲۲).

کراز و همکاران پتانسیل لیپوپلکس‌های مبتنی بر آمونیم کواترنری را در القای یک پاسخ ایمنی خاص برای استفاده به‌عنوان واکسن در ایمونوتراپی سرطان نشان دادند. mRNA–lipoplexes متشکل از DOTMA/DOPE (1–2-Dioleoyl-sn-glycero-3-phosphatidylethanolamine) یا لیپیدهای DOTAP/DOPE از mRNA کدکننده آنتی‌ژن می‌باشند که از ریبونوکلئازهای خارج سلولی محافظت می‌کنند. لیپوپلکس (DOTAP/DOPE) به‌طور موثر در طحال انباشته شده و mRNA را پس از تجویز سیستمیک به سلول‌های دندریتی می‌رساند. مرحله اول آزمایش افزایش دوز انجام گرفت. ابتدا، سه بیمار مبتلا به ملانوما با RNA–lipoplexes در سطح دوز پایین تحت درمان قرار گرفتند و قادر به تولید IFNα و پاسخ‌های سلول T خاص آنتی‌ژن قوی بودند. سپس، مرحله اول کارآزمایی افزایش دوز، واکسن‌هایی با RNA–lipoplexes تولید کردند که آنتی‌ژن‌های بدخیم مرتبط با ملانوم، از جمله نیویورک–(NY-ESO-1) 1 ESO، تیروزیناز، آنتی‌ژن A3 مرتبط با ملانوما (MAGE-A3) و فسفاتاز گذرنده با هموژی تنسین (TPTE) را انکدینگ (encoding) کردند.

گروه‌های سر هتروسیکلیک مانند پیریدین، ایمیدازول‌ها و مشتقات آن‌ها به دلیل ویژگی شیمیایی که می‌توانند آمین را به یک پایه قوی‌تر یا ضعیف‌تر تبدیل کنند، در تولید لیپوپلکس‌ها استفاده شده‌اند. لیو (Liu) و همکاران مجموعه‌ای از لیپیدهای کاتیونی مبتنی با پایه حلقوی را سنتز کردند. آن‌ها گزارش دادند که این لیپیدها می‌توانند اثر اسفنج پروتون را ایجاد کنند و زمانی که pKa این بخش و اندوزوم نزدیک است، NAs را آزاد می‌نمایند و به پروتوناسیون و فرار آندوزوم کمک می‌کنند (۲۳).

پیوند دهنده قسمتی بین حوزه آب دوست قطبی و دم(های) غیرقطبی لیپیدها می‌باشد. نقش مهمی در ویژگی‌های

لیپیدهای کاتیونی مانند پایداری، تجزیه‌پذیری زیستی، کارآیی انتقال و سمیت سلولی دارد. آن‌ها با برخی از گروه‌های شیمیایی رایج مانند اتر، استر، آمید، کاربامات، دی سولفید، اوره، آسیل هیدرازون و فسفات تولید می‌شوند. سایر انواع کمتر رایج، مانند کارنیتین، وینیل اتر، کتال، اسید گلوتامیک، اسید آسپارتیک، اسید مالونیک الماس و دی‌هیدروکسی بنزن نیز می‌توانند مورد استفاده قرار گیرند. در pH پایین، برخی از پیوندها (به‌عنوان مثال، پیوندهای ارتو- استر) مستعد هیدرولیز اسیدی هستند که منجر به تضعیف برهمکنش بین لیپیدهای کاتیونی و NAs و در نتیجه، آزاد شدن NA در سیتوزول می‌شود.

حوزه آب‌گریز لیپیدهای کاتیونی را می‌توان به‌عنوان زنجیره‌های آلیفاتیک و حلقوی (مبتنی بر استرویید) طبقه‌بندی کرد. دامنه دم لیپوپلکس‌ها بر انتقال فاز و سیالیت لیپیدهای کاتیونی و همچنین تأثیر بر پایداری، سمیت سلولی، محافظت از NAs، آزادسازی NAs، فرار آندوزومی و نفوذ هسته‌ای لیپوزوم‌های کاتیونی تأثیر دارند. به‌طور کلی، لیپیدهایی با دو زنجیره آب‌گریز (به‌عنوان مثال، DOTMA، DOTAP، DOPSA، DORIE، DOGS و...) در ترانسفکشن موثرتر هستندکه احتمالاً به دلیل پتانسیل آن‌ها برای تشکیل دانه‌های پایدار در محلول‌های آبی می‌باشد. با این حال، نتایج ترانسفکشن آن‌ها به ویژگی‌های شیمیایی بستگی دارد. در مقابل، یک دم منفرد ممکن است بسته به ویژگی‌های شیمیایی لیپیدهای کاتیونی، بازده انتقال پایین را نشان دهد. دم‌های غیراشباع می‌توانند بر انتقال تاثیر بگذارند، اما نقطه ضعف اصلی این حوزه‌ها کاهش پایداری به دلیل حساسیت به اکسیداسیون است. با توجه به این که ساختار شیمیایی لیپید راندمان ترانسفکشن را تحت تاثیر قرار می‌دهد، یک جایگزین می‌تواند ترکیب لیپیدهای تک و دو دم برای ارزیابی جذب لیپوپلکس و کارآیی ترانسفکشن سلولی باشد.

لیپوپلکس‌ها به دلیل مزایایی که دارند کاربرد قابل توجهی برای ترانسفکشن in vitro پیدا کرده‌اند. با این حال، رساندن کارآمد مواد ژنتیکی به هسته و لیز آندوزوم پارامترهای مهمی هستند که مانع کارآیی انتقال ژن از لیپوپلکس می‌شوند. برخی از پارامترهای لیپوزومی مانند اندازه، ترکیب و بار مثبت می‌توانند منجر به آزادسازی سریع پلاسما و فعال شدن سیستم ایمنی شوند و کاربرد در عمل بالینی را دشوار می‌کنند. علاوه بر این، موانع آناتومیک و سلولی مختلف (به‌عنوان مثال، پوشش‌های سلولی اپی تلیال و اندوتلیال و ماتریکس خارج سلولی اطراف سلول‌ها) از دسترسی مستقیم به سلول‌های هدف جلوگیری می‌کنند (۲۳). علیرغم محدودیت‌ها، برخی

جدول ۳- کارآزمایی‌های بالینی فعال دارورسانی مبتنی بر لیپوپلکس حاوی اسیدهای نوکلئیک برای درمان سرطان.

Lipid	Gene/Drug	Disease	Administration Route	Phase (Start Year)	Sponsors	Identifier
n.r.	mRNA encoding human OX40L	Advanced/metastatic solid tumors or lymphoma	Intratumoral	I/II recruiting (2017)	ModernaTX, Inc. (Cambridge, MA, USA)	NCT03323398
Lipo-MERIT	NY-ESO-1, MAGE-A3, and TPPE RNA	Melanoma	Intravenous	I recruiting (2015)	BioNTech SE (Mainz, Germany)	NCT02410733
DOTAP:Chol	Pbi-shRNA™ EWS/FLI1 Type 1	Ewing's sarcoma.	Intravenous	I recruiting (2016)	Gradalis, Inc. (New York, NY, USA)	NCT02736565
DOPC	EphA2 siRNA	Advanced Malignant Solid Neoplasm	Intravenous	I active (2012)	M.D. Anderson Cancer Center (Houston, TX, USA)	NCT01591356
DOTAP:Chol	TUSC2	Lung Cancer	Intravenous	I/II active (2011)	Genprex, Inc. (Houston, TX, USA)	NCT01455389
DOTAP:DOPE	SGT-53	Recurrent/refractory solid tumors in children	Intravenous	I active (2015)	SynerGene Therapeutics, Inc. (Houston, TX, USA)	NCT02354547
DOTAP:DOPE	SGT-53	Metastatic pancreatic cancer	Intravenous	II recruiting (2015)	SynerGene Therapeutics, Inc. (Houston, TX, USA)	NCT02340117

NY-ESO-1—New York-ESO 1; MAGE-A3—tyrosinase, Melanoma-associated antigen A3; TPTE—Transmembrane phosphatase with tensin homology; TUSC2—Tumor suppressor candidate 2; SGT-53—a complex of cationic liposome encapsulating a normal human wild type p53 cDNA sequence in a plasmid backbone; n.r.—not reported.

از حامـلان چربـی غیرویروسـی در مرحلـه پیـش بالینـــی امیدوارکننـــده هســـتند و در کلینیـــک مـــورد ارزیابـــی قـــرار می‌گیرنـــد. جـــدول (۳) کارآزمایی‌هـــای بالینـــی فعلـــی را بـــا اســـتفاده از لیپوپلکـــس در درمـــان ضدتومـــور خلاصـــه می‌کنـــد. رویکـــردی کـــه بـــرای حـــل ایـــن چالـــش اســـتفاده می‌شـــود، توســـعه حامل‌هـــای غیرویروســـی اســـت کـــه عملکـــردی دارنـــد یـــا بـــه ســـیگنال‌های بیولوژیـــک پاســـخ می‌دهنـــد و می‌تواننـــد محتـــوای NA را به‌موقـــع و کارآمـــد ارایـــه دهنـــد.

یکـــی دیگـــر از مزایـــای بـــزرگ اســـتفاده از لیپوزوم‌هـــا بـــرای تحویـــل NA، توانایـــی آن‌هـــا بـــرای تجمـــع در تومورهـــا از طریـــق هدف‌گیـــری غیرفعـــال و فعـــال اســـت. بـــه دلیـــل خـــواص کلوییـــدی خـــود، آن‌هـــا به‌طـــور غیرفعـــال در بافت‌هـــای تومـــور از طریـــق پدیـــده‌ای بـــه نـــام "نفوذپذیـــری و اثـــر احتبـــاس تقویـــت شـــده" (اثـــر Enhanced Permeability and Retention effect:EPR) تجمـــع می‌یابنـــد کـــه در آن هیپرواسکولاریزاســـیون و کاهـــش تخلیـــه لنفـــاوی در بافـــت تومـــور بـــه وجـــود می‌آیـــد. در مقابـــل، آن‌هـــا را می‌تـــوان بـــا هـــدف قـــرار دادن لیگاندهـــا (یعنـــی پروتئین‌هـــا، مولکول‌هـــای کوچـــک، پپتیدهـــا و کربوهیدرات‌هـــا) اصـــلاح کـــرد کـــه امـــکان هدف‌گیـــری خـــاص لیپوزوم‌هـــا را بـــه سـلول‌های سـرطانی و اندوتلیـوم تومـور می‌دهـد (جـدول۴: قسـمت دوم مقالـه). ایـن بررسـی بـه رایج‌تریـن لیگاندهـای هـدف بـرای ترویـج هدف‌گیـری فعـال لیپوپلکس‌هـا در ژن درمانـی سـرطان و غلبـه بـر معایـب، ماننـد آنتی‌بادی‌هـا، پپتیدهـا، فـولات و آپتامرهـا می‌پـردازد.

منابع

1.Sung H. Ferlay J. Siegel RL. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA Cancer J Clin 2021; 71: 209–249.

2. Hanahan D. Weinberg RA. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. Cell 2011; 144: 646–674.

3. Cross D. Burmester JK. Gene therapy for cancer treatment: Past, present and future. Clin Med Res 2006; 4: 218–227.

4. Ponti F. Campolungo M. Melchiori C.Cationic lipids for gene delivery: Many players, one goal. Chem Phys Lipids 2021; 235: 105032.

5. Maestro S. Weber ND. ZabaletaN. Aldabe R. Gonzalez-Aseguinolaza G. Novel vectors and approaches for gene therapy in liver diseases. JHEP Rep 2021; 3: 100300.

6. Shinkuma S. Advances in gene therapy and their application to skin diseases: A review. J Dermatol Sci 2021; 103: 2–9.

7. Ma CC. Wang ZL. Xu T. He ZY. The approved gene therapy drugs worldwide: From 1998 to 2019. Biotechnol Adv 2020;40:107502.

8. Azevedo A. Farinha D. Geraldes C. Faneca H. Combining gene therapy with other therapeutic strategies and imaging agents for cancer theranostics. Int J Pharm 2021; 606: 120905.

9. Alhakamy NA. Curiel DT. Berkland CJ. The era of gene therapy: From preclinical development to clinical application. Drug Discov Today 2021; 26: 1602–1619.

10. Shanahan MA. Aagaard KM. McCullough LB. Chervenak FA. Shamshirsaz AA. Society for Maternal-Fetal Medicine Special Statement: Beyond the scalpel: In utero fetal gene therapy and curative medicine. Am J Obstet Gynecol 2021; 225: B9–B18.

11. Bulaklak K. Gersbach CA. The once and future gene therapy. Nat Commun 2020; 11: 11–14.

12. Gonçalves GAR. Paiva RMA. Gene therapy: Advances, challenges and perspectives. Einstein 2017; 1 5: 369–375.

13. Al-Dosari MS. Gao X. Nonviral gene delivery: Principle, limitations, and recent Progress. AAPS J 2009; 11: 671–681.

14. Patil S. Gao YG. Lin X. Li Y. The development of functional non-viral vectors for gene delivery. Int J Mol Sci 2019; 20: 5491.

15. Luiz MT. Viegas JSR. Abriata JP. Tofani LB. Docetaxel-loaded folate-modified TPGS-transfersomes for glioblastoma multiforme treatment. Mater Sci Eng C 2021; 124: 112033.

16. Dehkordi NG. Elahian F. Khosravian P. Mirzaei AA. Intelligent TAT-coupled anti-HER2 immunoliposomes knock downed MDR1 to chemosensitize phenotype of multidrug resistant carcinoma. J Cell Physiol 2019; 234: 20769–20778.

17. Noack LC. Jaillais Y. Functions of Anionic Lipids in Plants. Annu Rev Plant Biol 2020; 71: 71–102.

18. Ho SY. Chen PR. Chen CH. Tsai NM. Lipoplex-based targeted gene therapy for the suppression of tumours with VEGFR expression by producing anti-angiogenic molecules. J Nanobiotechnol 2020; 18: 1–14.

19. Fujii S. Nishimura T. Sakurai K. Thermodynamics of lipoplex formation: Relationship between the lipid alkyl tail length and thermodynamic functions. Chem Lett 2012; 41: 501–503.

20. Freeman EC. Weiland LM. Meng WS. Modeling the proton sponge hypothesis: Examining proton sponge effectiveness for enhancing intracellular gene delivery through multiscale modeling. J Biomater Sci Polym Ed 2013; 24: 398–416.

21. Wong-Baeza C. Bustos I. Serna M. Tescucano A. Membrane fusion inducers, chloroquine and spermidine increase lipoplex-mediated gene transfection. Biochem Biophys Res Commun 2010; 396: 549–554.
22. Cui S. Wang Y. Gong Y. Lin X. Correlation of the cytotoxic effects of cationic lipids with their headgroups. Toxicol Res 2018; 7: 473–479.
23. Kulkarni JA. Cullis PR. Van Der Meel R. Lipid Nanoparticles Enabling Gene Therapies: From Concepts to Clinical Utility. Nucleic Acid Ther 2018; 28: 146–157.