



ERCIYES ÜNİVERSİTESİ YAYINLARI NO:180

# "MODERN BİYOTEKNOLOJİ VE UYGULAMALARI"



Editörler

• Prof.Dr. Munis DÜNDAR • Prof.Dr.Haydar BAĞIŞ

Kayseri, 2010



## BÖLÜM 19

### GEN TEDAVİSİ

*Prof. Dr. Salih ŞANLIOĞLU*  
*Dr. Ahmet Okay ÇAĞLAYAN*

## Prof. Dr. Salih ŞANLIOĞLU

*Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi mezunu olup (1988) yüksek lisans (1992) ve doktora eğitimini (1996) Ohio State Üniversitesi'nde (Columbus OH, ABD) moleküler genetik alanında yaptı. Yüksek lisans eğitimi sırasında çocuk genetik hastalıkları üzerine çalışırken 2 yeni insan geni keşfetti, doktora eğitimi esnasında da gen tedavisine temel oluşturan in vivo gen transfer modelleri üzerinde çalıştı. Gen tedavi ihtisas eğitimine dünyaca ünlü Dr. James M. Wilson'ın başkanlığını yaptığı Pensilvanya Üniversitesi İnsan Gen Tedavi Enstitüsü'nde (Filadelfiya, PA, ABD) başladı (1996) ve Iowa Üniversitesi Gen Tedavi Merkezi'nde (Iowa City, IA, ABD) tamamladı (2002). Sonrasında Türkiye'ye dönerek Antalya'da Akdeniz Üniversitesi'nde Türkiye'nin ilk gen tedavi ünitesinin kuruluşunu gerçekleştirdi (2003). Gen Tedavi Ünitesi'nde akciğer, meme ve prostat kanserine karşı, diyabet gibi metabolik, romatoid artrit gibi otoimmün hastalıklar için deneysel tedavi metodları geliştiriliyor. Bu çalışmaların sonuçları Human Gene Therapy, Cancer Gene Therapy, Gene Therapy gibi uluslararası saygınlığı olan gen tedavi dergilerinde yayınlanmaktadır.*



## Dr. Ahmet Okay ÇAĞLAYAN

*2001 yılında Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesinden mezun olmuş ve 2007 yılında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik A.D.'dan Tıbbi Genetik uzmanlığını almıştır. 2008 yılında Mecburi hizmet görevini Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesinde yerine getiren Dr. Ahmet Okay Çağlayan'ın iki tanesi review türü makale olmak üzere 30'dan fazla SCI ve SCI-Expanded'a giren makalesi mevcuttur. Bu güne kadar spesifik olarak biyoteknoloji, kardiyovasküler ve nöroendokrin hastalıkların genetiği ile ilgilenen Dr. A. Okay Çağlayan 2008 yılında İtalya Perugia Üniversitesinde biyoteknoloji, genetik metodlar ve hastalıklar konularında dersler vermiştir. Şu anda Yale Üniversitesi Norobiyoloji ve Genetik Programında Postdoc Associate olarak görev yapmakta olan Dr Çağlayan, özellikle otizm ve kortikal malformasyonların genetiği ile ilgili uluslar arası araştırmalarına devam etmektedir.*



## GEN TEDAVİSİ

### I. Giriş

II. Balon çocuk sendromu (SCID) genetiği değiştirilmiş hücre nakliyle başarıyla tedavi edilmektedir

III. Duchenne Kas Distrofisi hastalığında tek kalıcı çözüm gen tedavisi

IV. Kistik Fibrozlu hastalar ancak gen tedavisiyle rahat bir soluk alabilecek

V. Akdeniz Anemisi (Talasemi) Gen Tedavisiyle Başarılı Sonuçlara Gebe

VI. Hemofili Hastalığına Gen Tedavi Stopajı

VII. Gendicine: Kansere Karşı Geliştirilen İlk Ticari Gen Tedavi İlacı

VIII. Sonuç

IX. Teşekkür

## GEN TEDAVİSİ

### Giriş:

Tıbbi genetiğin uygulama alanı olan gen tedavisi, gerek genetik geçiş gösteren gerekse sonradan edinilebilen insan hastalıklarını tedavi etmek amacıyla genlerin, küçük DNA ve RNA moleküllerinin insan hücrelerine, organ ve dokularına transfer işlemini içeren yeni bir tedavi şeklidir.



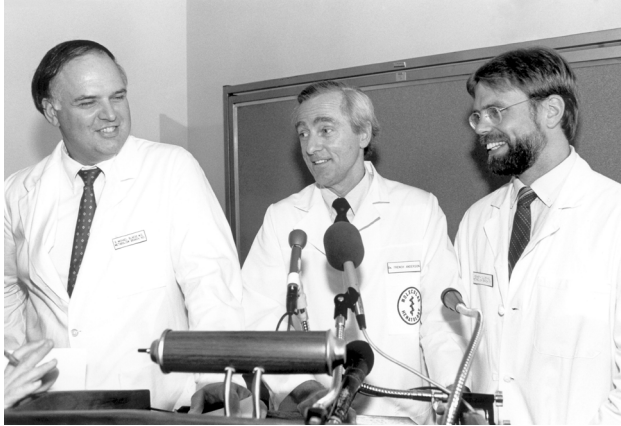
RESİM 1. Laboratuarda gen tedavisi uygulama

İnsanlarda ilk gen tedavi klinik denemesi, W. French Anderson tarafından 1990 yılında adenozin deaminaz yetmezliğine bağlı (ADA) bağışıklık yetmezlik sendromu hastalığına (ADA-SCID) yakalanmış iki çocukta yapıldı.



RESİM 2. Dr Kohn ve steril oda içerisinde SCID gen tedavisi gören bebek

Bu çalışma gen tedavisi uygulamasının hastalarda oldukça güvenli olduğunu kanıtlamakla birlikte, genetiği değiştirilmiş T hücrelerinin hastalarda 10 yıldan fazla süre etkin olabileceğini gösterdi (Blaese 1999, Muul 2003). O günden bu güne kadar 1537 adet klinik gen tedavi denemesi yapıldı (Sanlioglu, 2009). Bu çalışmalara özellikle geleneksel tedavi yöntemleriyle (kemoterapi, radyoterapi, cerrahi, vb) hastalığına çare bulunamamış on binlerce hasta gönüllü olarak kabul edildi (Edelstein et al., 2007). Bu bölümde klinik gen tedavi çalışmalarından bazılarının son durumlarını paylaşacağız (Sanlioglu, 2009). Balon çocuk sendromu (SCID) genetiği değiştirilmiş hücre nakliyle başarıyla tedavi edilmektedir: SCID (ağır kombine immün yetmezlik sendromu) T hücrelerinin primer kaybı ile karakterize ciddi bir bağışıklık yetmezliği hastalığıdır. Fonksiyonel bağışıklık sisteminin yokluğu nedeniyle, herhangi bir enfeksiyon hastalar için ölümcül olmakta ve enfeksiyonlardan korunmak için hastalar steril kabinlerde yaşamak zorundadır. Bu yüzden hastalık halk arasında “balon çocuk” sendromu olarak bilinir. Günümüzde, SCID hastalığının tedavisi olarak kemik iliği nakli uygulanıyor, ancak hastaların 2/3’ü için uygun donör bulunamadığından büyük sıkıntı yaşanıyor. Hastaların çoğu için uygun bir tedavinin olmaması, gen tedavi denemelerini SCID hastalığı için zorunlu hale getirdi. SCID için ilk klinik gen tedavi denemesi 1990 yılında, SCID formlarından biri olan ADA-SCID hastalığı için uygulandı (Blaese 1995).



RESİM 3. Blaese, Anderson ve Culver

ADA-SCID adenoazin deaminaz (ADA) enziminin yokluğuna bağlı olarak ortaya çıkan otozomal geçişli genetik bir hastalıktır. Yapılan gen tedavi denemesinde, ADA-SCID hastası dört ve dokuz yaşlarındaki iki kız çocuğundan alınan lenfositlere, retrovirüsler aracılığıyla adenoazin deaminaz kodlayan gen verildi ve genetik olarak düzeltilen hücreler tekrar hastalara nakleldi (Muul 2003). Bu yöntemin hastalara başarılı bir şekilde uygulanmasının ardından, bu yöntem daha da geliştirilerek T hücreleri yerine CD34+ progenitör kök hücreleri kullanılarak yeni denemeler yapıldı (Aiuti 2009). Şu anda, ADA-SCID hastalığına karşı klinik gen tedavi çalışmaları güvenli ve başarılı olarak uygulanmaktadır (Kohn 2009). Bunun yanında, hastalığın başka bir formu olan X-SCID için de gen tedavi denemeleri başlatıldı. X-SCID, beş

farklı interlökin reseptöründe yer alan ortak gama zincirin ( $\gamma$ ) eksikliğine bağlı, X geçişli bir hastalıktır. X-SCID hastalarında,  $\gamma$  zincirinin yokluğu T lenfositlerinin ve NK hücrelerinin gelişmemesine, B hücrelerinin ise yardımcı T hücrelerinin yokluğu nedeniyle fonksiyon gösterememesine neden olur. Preklinik çalışmaların ardından, 2000 yılında Fransa'da yapılan bir klinik denemede, 10 hastadan alınan CD34+ hücrelere retrovirüsler aracılığıyla  $\gamma$  c gen aktarıldı ve bu hücreler hastalara nakledildikten bir süre sonra, 9 hastada genetik olarak fonksiyonu düzeltilmiş NK ve T hücrelerinin varlığı gösterildi (Hacein-Bey-Abina 2003). Elde edilen başarının ardından, İngiltere'de benzer bir klinik deneme yapıldı ve şimdiye kadar katılan 20 hastanın 17'si başarılı bir şekilde tedavi edilebildi. Fransa'daki başarılı tedavinin ardından, 4 hastada lösemi geliştiği rapor edildi ve bunun sebebinin retrovirüslerin yol açtığı insersiyonel mutagenез olduğu gösterildi (Hacein-Bey-Abina 2008). Bunun üzerine SCID gen tedavisi alanındaki çalışmalar, insersiyonel mutagenез riskini azaltan çeşitli yöntemlerin geliştirilmesi ve güvenli vektörlerin tasarlanması üzerine yoğunlaştı (Ginn 2005). Yakın zamanda meydana gelen olumlu gelişmelere gereken önem verildiği takdirde, X-SCID hastalarının lösemi riski olmaksızın tedavi edilmesi mümkün görünüyor. Ayrıca, X-SCID hastalarının çoğunun 1 yaşından önce iltihap sebepli ölümleri göz önüne alındığında, gen tedavisi yoluyla elde edilen başarının önemi daha iyi anlaşılmaktadır.

### **Duchenne Kas Distrofisi hastalığında tek kalıcı çözüm gen tedavisi:**

Duchenne kas distrofisi (DMD), Xp21 lokusunda bulunan distrofin genindeki mutasyonlardan kaynaklanan genetik bir kas bozukluğudur. Distrofin geni tarafından sentezlenen distrofin proteinini, hücre iskeletindeki aktin proteinlerine bağlanarak hücre iskeleti, hücre zarı ve ekstrasellüler matriks arasındaki bağlantıyı sağlar. Dolayısıyla, metilasyon gibi epigenetik bozukluklar sonucu ya da nokta mutasyonları sonucu distrofin proteinin üretilmemesi hücrelerde yapısal bozukluklara yol açar ve özellikle kas zarı hücrelerinde fonksiyon kaybına sebep olur. Her 3500 erkek doğumundan birinde görülen DMD, distrofin proteinin yokluğuna bağlı olarak solunum sistemi ve kalp kaslarında zayıflığa yol açtığı için, çocuklarda 13 yaş öncesi erken ölümlere yol açar. Günümüze kadar DMD hastalığına kesin bir tedavi yöntemi bulunamamış olup, hastalığa karşı en etkin yaklaşım, başta akciğerler ve kalp olmak üzere DMD sonucu fonksiyonel eksiklik çeken organlara ayrı ayrı uygulanan multidisipliner tedavi yöntemleri kullanarak ve fizyoterapi desteği vermek olmuştur. Şimdiye kadar kullanılmış olan multidisipliner tedavi yöntemleri, hastaların erişkinliğe ulaşmasını sağlasa bile, yaşam kalitesini düzeltmek konusunda yeterince başarılı olamamıştır. Diğer taraftan gen tedavisi bu kalıtsal hastalık için kaçınılmaz bir çözüm gibi gözükmektedir. DMD gen tedavi yöntemlerinin esası; mutasyona uğramış genlerin yerine vektör aracılı fonksiyonel distrofin proteinini kodlayan normal genlerin verilmesi veya gen dizilerinin direk olarak dışardan müdahale yoluyla düzeltilmesi temeline dayanır. Normal genlerin hastalara aktarılması, viral vektörlerle ya da çıplak DNA aktarımı yoluyla olabildiği gibi, genom sekansı düzenleme viral olmayan yöntemlerle de yapılabilmektedir (Mitropant 2009). Viral gen tedavi yöntemlerinde uzun süreli gen sen-



tezi arzu edildiğinden gen aktarımı çoğunlukla Adeno-Associated virüsler (AAV) aracılığıyla olmakta ve bazı klinik denemelerde virüse karşı oluşacak yangısal reaksiyonu engellemek amacıyla bağışıklık baskılayıcı ilaçlar kullanılmaktadır (Blankinship 2006). Bütün bu laboratuvar ortamında edinilen başarıların ışığında, 2006 yılından itibaren DMD'nin viral gen aktarım yoluyla tedavisi için faz I ve faz II klinik gen tedavi denemeleri başlamıştır. Viral gen tedavisinin yanı sıra, DMD için viral olmayan gen tedavi yöntemleri de laboratuvar ortamında başarılı sonuçlar verdi. Özellikle, diğer gen tedavi yöntemlerine göre daha az maliyetli olan hücre içi çıplak DNA aktarım yöntemi, klinikte umut verici faz I denemesi ile sonuçlandı (Romero et al., 2004). Viral olmayan gen tedavisinin başka bir yöntemi olan oligonükleotid aracılı genom sekans düzenleme ise distrofin geni üzerindeki mutant bazların nokta mutasyonlar ile düzeltilmesi üzerine temellenmiş olup, DMD hastalarının %30'unda başarılı olabilecek kapasiteye ulaştı (Prior 2005). Şu ana kadar klinik faz I denemelerinde viral ve viral olmayan gen tedavi yöntemlerinin hastalar üzerinde herhangi bir yan etkilere sebebiyet vermediği gözlenmiştir. Bununla birlikte, klinik denemelerin daha ilerki safhalara getirilmesi (Faz II-Faz III-genişletilmesi durumunda), DMD hastalığının gen aktarım yoluyla tedavi edilebileceği göstermektedir. Sonuç olarak, DMD hastalığının klasik tıbbi yöntemlerle başarılı bir şekilde tedavi edilememiş olması, gen tedavi alanındaki umut verici sonuçları daha da önemli kılıyor.

#### **Kistik Fibrozlu hastalar ancak gen tedavisiyle rahat bir soluk alabilecek:**

Kistik fibrozis (CF), otozomal çekinik geçişli kalıtsal bir hastalıktır. Hastalığın görülme sıklığı etnik gruplara göre değişmekte olup, bu oran Kafkas kökenli nüfuslarda 1:2500 iken, Asya toplumlarında 1:100,000'in altındadır. Bu hastalık, epitel hücrelerindeki klor iyonlarının dışarı çıkışını düzenlemekle görevli klor kanal proteinini kodlayan gendeki (CFTR geni) mutasyon sonucunda ortaya çıkar. CFTR genindeki mutasyonlara bağlı olarak, epitel hücrelerde klor kanalının görev yapamaması, klor ve sodyum iyonlarının dengesizliğine ve hücre yüzeyinde mukus birikimine yol açar. CF ter bezleri, akciğerler, pankreas ve sindirim sistemi gibi birden fazla sistemi tutan bir hastalıktır. CF hastalarının %90'ı pulmoner hastalıklar sebebiyle yaşamlarını yitirir.



RESİM 4. Kistik fibrozisli akciğer görünümü



Günümüzde, kistik fibrozis hastalarının ortalama yaşam süreleri 32.5 yıldır. Hastaların çoğunun, akciğerlerinin temizlenmesi için fizyoterapi ve enfeksiyonların önlenmesi için antibiyotik tedavisi alması gereklidir. Sindirim sisteminin zayıf emilim yapmasından dolayı, gıdaların sindirilmesi için yardımcı ilaç tedavisi uygulanır. Kistik fibrozis geninin klonlanması ve klor kanalında meydana gelen değişimlerin ayrıntılı bir şekilde açıklanması bu hastalığa karşı gen tedavisinin geliştirilebileceğini gündeme getirdi (Engelhardt 1993). 1990 yılında hücre kültüründe CFTR geninin normal kopyasının hücrelere aktarımının gerçekleştirilmesinin ardından farklı ülkelerde, birçok grup tarafından klinik gen tedavi denemeleri başlatıldı. İlk klinik deneme 1993 yılında gerçekleştirilmiş olup, bu denemede nazal kavite yoluyla, bronkoskop kullanarak CF hastalarına normal CFTR proteinini kodlayan genin adenoviral vektörler ile aktarılması gerçekleştirildi (Zabner 1993). Bu çalışmada 10 gün içinde CFTR proteinin sentezinin varlığı gözlemlenmişse de, adenoviral vektörler sebebiyle hastada pulmoner ve genel bir yangı durumu gözlemlendi. Yangıyı ortadan kaldırmak amacıyla yapılan doz değişikliklerinin, CFTR protein üretimini yetersiz seviyelere düşürdüğünün gözlemlenmesinin ardından, diğer viral vektörlerin kullanımı ve viral olmayan yöntemlerle gen tedavisinin denenmesi gündeme geldi. Retroviral vektörlerin konak hücre genomuna eklenebilme yetenekleri kistik fibrozis gen tedavisi için bu vektörlerin kullanımını çekici kıldı. Özellikle retroviral vektörlerin bir alt grubu olan lentiviral vektörler bölünmeyen hücrelere de entegre olabilmeleri ve uzun süreli gen ifadesi sağlayabilmelerinden dolayı kistik fibrozis gen tedavisi için tercih edildi (Flotte 2007). Viral olmayan yollarla kistik fibrozisin klinik gen tedavi denemesi; ilk defa Londra'da 1995'de lipozomlar kullanılarak yapıldı (Caplen 1995). Lipozomların güvenli ancak etkisiz olduklarının gözlenmesi nedeniyle, normal CFTR genini hücrelerin içine hızlı ve güvenli bir şekilde aktarabilecek yeni lipozomların gelişimi için çalışmalar halen sürdürülüyor. Şu ana kadarki klinik gen tedavi denemelerinde, kistik fibrozis hastalarının solunum kanallarında fonksiyonel CFTR protein sentezinin ciddi yan etkiler olmaksızın sağlanabildiği gösterildi. Bugüne kadar hastalar üzerinde yapılan çalışmalarda her ne kadar tedavi edici boyutlarda sürekli protein üretimi sağlanamamış olsa da, yapılan çalışmalar ve bu konuda katedilen yol oldukça umut vericidir. Günümüzde devam etmekte olan çalışmalar, üretilen protein miktarının artırılmasına yönelik olup, gen terapi ile hastaların yaşam süresinin ve yaşam kalitesinin artırılmasına her geçen gün biraz daha yaklaşıyor.

### **Akdeniz Anemisi (Talasemi) Gen Tedavisiyle Başarılı Sonuçlara Gebe:**

Talasemi otozomal resesif kalıtım gösteren, hemogloblin sentezi ile ilgili heterojen bir hastalık grubudur.  $\alpha$  ve  $\beta$  globin zincirlerini kodlayan genlerdeki mutasyona bağlı olarak, globin zincirlerinden birinin sentezi azalır.  $\beta$  globin zincirini etkileyen mutasyonlar,  $\beta$ -talasemi ile;  $\alpha$  globin zincirini etkileyen mutasyonlar ise,  $\alpha$ -talasemi ile sonuçlanır. Globin zincirlerinden birinin yeterince sentezlenememesi, diğer zincirin hücre içinde presipite olmasına ve sonuçta hastalığın başlıca belirtisi olan hemolitik aneminin görülmesine neden olur. Hastalık belirtileri genellikle erken çocukluk döneminde başlar ve yaş ilerledikçe kötüleşerek organ kaybı ya da ölümle sonuç-

lanır. Homozigot ya da bileşik heterozigot gibi şiddetli hastalık formlarına sahip talasemi hastalarına tedavi uygulanmazsa, anemi hayatın ilk yılında ölüme sebep olabilir. Anemiyi düzeltmek için, talasemi hastalarına hayat boyu kan transfüzyonuyla birlikte demir şelasyonu sağlayan ilaç tedavisi uygulanır. Talaseminin gerçek anlamda tek tedavisi allojenik kemik iliği naklidir. Fakat bu tedavi yöntemi, alıcı ve vericide HLA uyumunu gerektirdiği için her hastanın bu yolla tedavi edilmesi mümkün değildir. Bu nedenle, hastanın hücrelerindeki bozuk globin geninin normal kopya ile değiştirilmesi, ideal bir gen tedavi yöntemi olarak karşımıza çıkar. Farelerde yapılan çalışmalarda oldukça başarılı sonuçlar vermiş olan bu yöntem, insan embriyonik kök hücrelerine uygulandığında önce düşük etkinlik gösterdi. Bunun üzerine, hastanın kendi kemik iliği hücrelerine, normal globin geninin aktarılması ve genetiği düzeltilmiş bu hücrelerin hastalara nakledilmesine çalışıldı. Talesemi fare modellerinde uzun süreli iyileşme sağlanması ve insan hematopoietik kök hücrelerine gen aktarımının başarıyla yapılması, ilk klinik gen tedavi denemesinin önünü açtı. 2005 yılında Paris'te başlatılan Faz I/II klinik gen tedavi denemesinde, globin geninin normal kopyasını taşıyan lenviral vektörler (LentiGlobin™) kullanılarak, hastalardan alınan kemik iliği hücrelerine normal  $\beta$ -globin geni aktarıldı (Bank 2005). Hastalara myeloablasyon yapıldıktan sonra, düzeltilmiş hücreler intravenöz olarak verildi. Bu yolla hastaların myeloablasyonunun düzeldiği gösterilmesine rağmen, uygulanan tedavinin etkinliği hakkında henüz bir sonuç açıklanmadı. 2007 yılında, özel bir şirket tarafından Thalagen™ isimli  $\beta$ -globin geni taşıyan lentiviral vektörler oluşturuldu ve Rekombinant DNA Danışma Komitesi (RAC) tarafından klinik gen tedavi denemelerinde kullanılması onaylandı.  $\beta$ -talasemi major hastalarından alınan CD34+ hematopoietik progenitor hücrelerinin Thalagen™ ile transdükte edildikten sonra hastaya nakledilerek, 2008 Haziran ayında New York'ta Faz I denemelerine başlandı. Bu ürünün, eritroidlere spesifik  $\beta$ -globin sentez seviyesini artıracak ve uzun süreli sentez sağlayacağı umut edilmektedir. Talasemi gen tedavisi en çok umut vaadeden, uzun süreli ve diğer yöntemlere göre maliyeti az olan bir tedavi seçeneğidir (Lisowski 2008). Gelecek yıllarda, klinik çalışmaların genişletilmesi ile gen tedavisinin talasemi hastalarında uygulanan rutin bir tedavi şekli olacağı beklenmektedir (Kaiser 2009).

### **Hemofili Hastalığına Gen Tedavi Stopajı:**

Hemofili, X'e bağlı resesif geçiş gösteren ve erkeklerde daha sık görülen, kanamalarla seyreden bir pıhtılaşma bozukluğudur. Kanın pıhtılaşma sisteminde rol alan faktör VIII'in yetersizliği ya da işlevsizliği hemofili A'ya ve faktör IX'un yokluğu ya da işlevsizliği ise hemofili B'ye neden olur. Pıhtılaşma faktörlerinin normal seviyelere kıyasla %1'den daha az fonksiyon göstermesi ağır hemofili olgularına sebep olur. Bu durum, çocukluk çağında iç kanama nedeniyle (beyin kanaması vb.) ölüme yol açabilir. Hemofili hastalarının tedavisi için hematoloji, ortopedi, fizik tedavi ve nükleer tıp uzmanlarının multidisipliner bir yaklaşımla çalışmaları gerekir. Günümüzde, bu hastalık saflaştırılmış faktör VIII ya da faktör IX enjeksiyonu ile tedavi ediliyor. Ancak bu proteinlerin, enjeksiyonu takiben kısa sürede kandan temizlenmeleri ve çok pahalı olması nedeniyle daha uzun etkili ama ucuz tedavi yöntemlerine ihtiyaç duyuluyor. Hemofili-

nin tek gen hastalığı oluşu, pıhtılaşma faktörlerinin yalnızca %1 oranında temininin terapi için yeterli olması, gen tedavisini bu hastalığın çözümü için ideal bir çözüm haline getirdi. Hemofili de gen tedavisinin esas amacı; bozuk olan F8 ve F9 genlerinin sağlıklı genler ile değiştirilerek hücreler tarafından fonksiyonel faktör VIII ve faktör IX proteinlerinin üretilmesini sağlamaktır (Liras 2009). 1998 ve 2001 yılları arasında hemofilinin gen transferi ile tedavisi için beş farklı Faz 1 klinik denemesi başlatıldı. Örneğin, Adeno-bağımlı virüsler (AAV) kullanılarak yapılan Faz I/II çalışmasında, üç hastaya faktör IX geni taşıyan AAV enjeksiyonu düşük dozda kas içine uygulandı (Manno 2003). Bu çalışmanın hastalarda herhangi bir yan etkiye yol açmadığı tesbit edildi ve 3 yıl sonra hastalardan alınan kas biyopsilerinde faktör IX'un varlığı başarıyla gösterildi. Başka bir klinik denemede ise hastalardan deri biyopsisi ile alınan fibroblast hücrelerine faktör VIII geni viral olmayan vektörler ile aktararak sonrasında genetiği değiştirilmiş hücreler omentuma transplante edildi (Roth 2001). Bu deneme sonucunda altı hastanın dördünün serumunda %1'lik faktör VIII artışı gözlenmiş olup; bir hastada on ay, diğer hastada altı ay boyunca terapötik faktör VIII seviyesine ulaşıldı. Hemofili hastaları üzerinde elde edilen ümit verici sonuçlar, 2007'den itibaren beş yeni Faz 1 denemesinin önünü açtı. Hemofili hastalığının kişiye, ailesine ve topluma sosyoekonomik açıdan yüklediği sorumluluk ve gen tedavisinde şimdiye kadar katedilen yol göz önüne alındığında hemofili gen tedavisinin yakın gelecekte daha geniş çaplı kitlelere uygulanabileceği beklenmektedir (Costea 2009).

### **Gendicine: Kanser Karşı Geliştirilen İlk Ticari Gen Tedavi İlacı**

Kanser tedavisinde kullanılmak üzere Çin'de lisans alan ilk gen tedavi ilacı olan Gendicine, 1. jenerasyon adenovirüslerin hastalık yapan genlerinin çıkartılması ve yerine p53 tümör baskılayıcı geninin takılması ile oluşturulmuş rekombinant adenoviral vektördür.

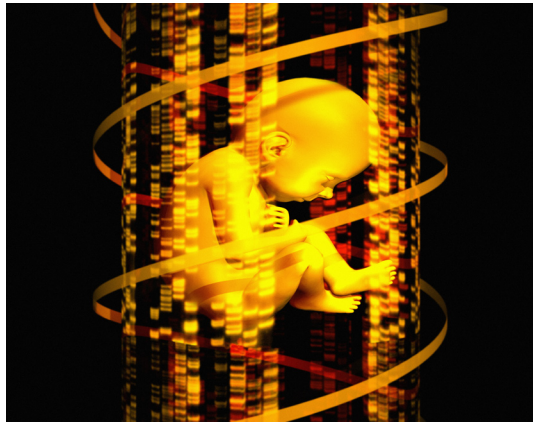


### **RESİM 5**

Gendicine hastaya verildikten sonra, adenoviral vektörler, hedef tümör hücrelerini enfekte etmekte ve taşıdığı p53 genini hücrelerin çekirdeğine aktarmaktadır. Tümör hücresinde sentezi sağlanan p53 proteinini, farklı mekanizmaları kullanarak antitümör aktivitesi gösterir. 20 yıldan

bu yana yapılan çalışmalarda p53'ün normalde tüm hücrelerde bulunduğu ve “genomun gardiyanı” olarak görev yaptığı, meydana gelen kanser olgularının en az %50'sinin, p53 genindeki mutasyon ile ilişkili olduğu saptandı. p53 üzerinde yapılan bilimsel çalışmalar bu genin klinik uygulamalarda kullanılmasını gündeme getirdi, fonksiyonunun da daha iyi anlaşılmasını sağladı (Yoo 2009). Şimdiye kadar, glioma, akciğer, mesane, baş ve boyun kanser hastalarında p53 geni taşıyan adenovirüsler kullanılarak çok sayıda faz 1, faz 2 ve faz 3 denemeleri yapıldı (Zhang 2009). Baş ve boyun kanserlerinin klinik gen tedavisinde kullanılmak üzere geliştirilen, 2003 yılında Çin Hükümeti tarafından onaylanan ve 2004 yılının sonlarında da ticari üretim lisansını alan Çin Shenzen SiBionoGen Biyoteknoloji Şirketi; p53 genini taşıyan rekombinant adenovirüslardan oluşan bu ilacı Gendicine adı altında piyasaya sürdü (Peng, 2005). Kanser hastalarının tedavisinde, Gendicine doğrudan tümöre enjekte edilebildiği gibi vücuda farklı yollarla da verilebilmektedir. Lokal Gendicine enjeksiyonunu takiben, enjeksiyon alanında adenovirüslere karşı immün cevap oluştuğu, bu yolla da tümör dokusuna lenfositlerin infiltrasyonu olduğu saptandı. Adenovirüslere karşı oluşan immün cevaba bağlı olarak hastaların %32'sinde gözlenen kontrol edilebilen hafif ateş yükselmesinin dışında Gendicine tedavisi uygulanan 2500'den fazla hastada şiddetli yan etki görülmedi. Kansere karşı genel olarak kullanılan kemoterapi ve radyoterapinin etki gücünü arttırdığı belirlenen Gendicine'in iyileştirici gücünün altında yatan mekanizma tam olarak bilinmese de, enjeksiyondan 2 gün sonra bile bazı hastaların genel sağlık durumunda iyileşme gözlemlendi (Peng 2008). Gendicine tedavisinin, batılı ülkelerde inanılabilirliği halen sorgulanıyor olsa da (Wilson 2005) şu anda Çin'de 100 merkezde uygulanıyor olduğunu belirtmekte yarar var (Shi, 2009). Bunun yanı sıra, klinik sonuçların daha iyi anlaşılması için sürmekte olan geniş çaplı araştırmalar, bu ilacın güvenli ve hasta tarafından tolere edilebilir olduğunu gösterdi.

## Sonuç



RESİM 6

Gen tedavi klinik denemelerine kabul edilen hastalar, genel olarak daha önce geleneksel tedavi yöntemleri ile (kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi) tedavi görmüş ancak sağlığına kavuşamamış olan, hastalığı ileri evrede olan hastalardır. Buna rağmen yıllar süren gen tedavi çalışmaları meyvelerini nihayet vermeye başladı. Örneğin, Dr. Roncarolo ve grubunun ADA SCID hastalarında gerçekleştirmiş olduğu retrovirus aracılı ADA gen transferinin uzun Süreli takibi bu yöntemin hastalarda oldukça güvenilir ve oldukça yararlı bir tedavi yöntemi olduğunu kanıtladı (Aiuti 2009, Aiuti 2009). Bunun yanında, Pensilvanya Üniversitesi Çocuk Hastanesi doktorları ve İngiltere Londra Üniversitesi araştırmacıları tarafından ayrı ayrı yapılan çalışmalarda doğuştan olan körlükte bile gen tedavisinin güvenli ve etkin bir tedavi yöntemi olduğu ispatlandı (Maguire 2008, Bainbridge 2008).

Kanser hastalığına yönelik Faz 3 denemeleri tamamlanmış oldukça başarılı gen tedavi klinik denemeleri mevcut ve bunlar yetkili mercilerden şu an için onay bekliyor. Ayrıca, gen tedavi klinik denemelerinde mevcut genlerin henüz yalnızca %1'i test edildi (Sanlioglu 2009). Oysa gen havuzumuzda klinik denemelerde kullanılabilecek en az 100 kat daha fazla gen bulunuyor. Hastalarımızın beklentilerini yakın gelecekte karşılayabilmek için, hem klinik öncesi hem de ve klinik seviyede daha fazla sayıda çalışma yapılması gerektiğini ve gen tedavisinin bugün için pek çok genetik hastalıkta halen tek çözüm yolu olduğunu belirtmemizde yarar var.

Teşekkür: Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Gen Tedavi Ünitesi öğretim üyelerinden Doç. Dr. Ahter D. Şanlıoğlu'na, Dr. Burçak Yoldaş, Dr. Atıl Bişgin, Çiğdem Aydın, Sevim Kahraman, Fatma Zehra Hapil ve Harvard Üniversitesi Tıp Fakültesi öğretim elemanlarından Dr. Ercüment Dirice'ye bu bilgilerin elde edilmesi ve hazırlanması esnasında göstermiş oldukları katkılardan dolayı teşekkür ederiz.

## KAYNAKLAR:

- Aiuti A, Cattaneo F, Galimberti S, et al. 2009. Gene therapy for immunodeficiency due to adenosine deaminase deficiency. *N Engl J Med*. 360(5):447-458.
- Aiuti A, Roncarolo MG. 2009. Ten years of gene therapy for primary immune deficiencies. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 682-689.
- Bainbridge JW, Smith AJ, Barker SS, et al. 2008. Effect of gene therapy on visual function in Leber's congenital amaurosis. *N Engl J Med*. 358(21):2231-2239.
- Bank A, Dorazio R, Leboulch P. 2005. A phase I/II clinical trial of beta-globin gene therapy for beta-thalassemia. *Ann N Y Acad Sci*. 1054:308-316.
- Blankinship MJ, Gregorevic P, Chamberlain JS. 2006. Gene therapy strategies for Duchenne muscular dystrophy utilizing recombinant adeno-associated virus vectors. *Mol Ther*. 13(2):241-249.
- Blaese RM, Culver KW, Miller AD, et al. 1995. T lymphocyte-directed gene therapy for ADA- SCID: initial trial results after 4 years. *Science*. 270(5235):475-480.
- Caplen NJ, Alton EW, Middleton PG, et al. 1995. Liposome-mediated CFTR gene transfer to the nasal epithelium of patients with cystic fibrosis. *Nat Med*. 1(1):39-46.
- Costea I, Isasi R, Knoppers BM, Lillicrap D. 2009. Haemophilia gene therapy: the patients' perspective. *Haemophilia*. 15(5):1159-1161.
- Edelstein ML, Abedi MR, Wixon J. 2007. Gene therapy clinical trials worldwide to 2007--an update. *J Gene Med*. 9(10):833-842.
- Engelhardt JF, Yang Y, Stratford-Perricaudet LD, et al. 1993. Direct gene transfer of human CFTR into human bronchial epithelia of xenografts with E1-deleted adenoviruses. *Nat Genet*. 4(1):27-34.
- Flotte TR, Ng P, Dylla DE, et al. 2007. Viral vector-mediated and cell-based therapies for treatment of cystic fibrosis. *Mol Ther*. 15(2):229-241.
- Ginn SL, Curtin JA, Kramer B, et al. 2005. Treatment of an infant with X-linked severe combined immunodeficiency (SCID-X1) by gene therapy in Australia. *Med J Aust*. 182(9):458-463.
- Hacein-Bey-Abina S, von Kalle C, Schmidt M, et al. 2003. A serious adverse event after successful gene therapy for X-linked severe combined immunodeficiency. *N Engl J Med*. 348(3):255-256.
- Hacein-Bey-Abina S, Garrigue A, Wang GP, et al. 2008. Insertional oncogenesis in 4 patients after retrovirus-mediated gene therapy of SCID-X1. *J Clin Invest*. 118(9):3132-3142.
- Kaiser J. 2009. Gene therapy. Beta-thalassemia treatment succeeds, with a caveat. *Science*. Dec 11 326(5959):1468-1469.
- Kohn DB, Candotti F. 2009. Gene therapy fulfilling its promise. *N Engl J Med*. 360(5):518-521.
- Liras A, Olmedillas S. 2009. Gene therapy for haemophilia...yes, but...with non-viral vectors? *Haemophilia*. 15(3):811-816.
- Lisowski L, Sadelain M. 2008. Current status of globin gene therapy for the treatment of beta-thalassaemia. *Br J Haematol*. 141(3):335-345.
- Maguire AM, Simonelli F, Pierce EA, et al. 2008. Safety and efficacy of gene transfer for Leber's congenital amaurosis. *N Engl J Med*. 358(21):2240-2248.
- Manno CS, Chew AJ, Hutchison S, et al. 2003. AAV-mediated factor IX gene transfer to skeletal muscle in patients with severe hemophilia B. *Blood*. 101(8):2963-2972.
- Mitropant C, Fletcher S, Wilton SD. 2009. Personalised Genetic Intervention for Duchenne Muscular Dystrophy: Antisense Oligomers and Exon Skipping. *Curr Mol Pharmacol*. 2(1):110-121.

- Muul LM, Tuschong LM, Soenen SL, et al. 2003. Persistence and expression of the adenosine deaminase gene for 12 years and immune reaction to gene transfer components: long-term results of the first clinical gene therapy trial. *Blood*. 101(7):2563-2569.
- Peng Z. 2005. Current status of gendicine in China: recombinant human Ad-p53 agent for treatment of cancers. *Hum Gene Ther*. 16(9):1016-1027.
- Peng Z, Yu Q, Bao L. 2008. The application of gene therapy in China. *IDrugs*. 11(5):346-350.
- Prior TW, Bridgeman SJ. 2005. Experience and strategy for the molecular testing of Duchenne muscular dystrophy. *J Mol Diagn*. 7(3):317-326.
- Romero NB, Braun S, Benveniste O, et al. 2004. Phase I study of dystrophin plasmid-based gene therapy in Duchenne/Becker muscular dystrophy. *Hum Gene Ther*. 15(11):1065-1076.
- Roth DA, Tawa NE, Jr., O'Brien JM, Treco DA, Selden RF. 2001. Nonviral transfer of the gene encoding coagulation factor VIII in patients with severe hemophilia A. *N Engl J Med*. 344(23):1735-1742.
- Sanlioglu S. 2009. Gen tedavisinin dünü bugünü ve yarını. *TUBİTAK Bilim Teknik Dergisi*. 505:38-43.
- Sanlioglu S. 2009. Gen tedavisinde hangi umutlar var. *Cumhuriyet Bilim Teknoloji Dergisi*. 1188:8-9.
- Shi J, Zheng D. 2009. An update on gene therapy in China. *Curr Opin Mol Ther*. 11(5):547-553.
- Wilson JM. 2005. Gendicine: the first commercial gene therapy product. *Hum Gene Ther*. Sep 16(9):1014-1015.
- Yoo GH, Subramanian G, Ezzat WH, et al. 2009. Intratumoral delivery of docetaxel enhances antitumor activity of Ad-p53 in murine head and neck cancer xenograft model. *Am J Otolaryngol*. 2009.
- Zabner J, Couture LA, Gregory RJ, Graham SM, Smith AE, Welsh MJ. 1993. Adenovirus-mediated gene transfer transiently corrects the chloride transport defect in nasal epithelia of patients with cystic fibrosis. *Cell*. 75(2):207-216.
- Zhang S, Li Y, Li L, et al. 2009. Phase I study of repeated intraepithelial delivery of adenoviral p53 in patients with dysplastic oral leukoplakia. *J Oral Maxillofac Surg*. 67(5):1074-1082.