

Hereditör Retina Hastalıklarında Genetik Tedavi

Genetic Therapy in Hereditary Retinal Diseases

Berkant KADERLİ¹

Derleme

Editorial Review

ÖZ

Organ olarak göz, genetik tedavi için birkaç avantaja sahiptir. Kan-retina engeli nedeniyle immün reaksiyona karşı nispeten korunmuştur. Küçük hacmi de göz önüne alındığında, vücudun diğer kısımlarında dağılmadan göz içinde yüksek gen taşıyıcı vektör yoğunluğuna ulaşmak mümkündür. Gen ilavesi tedavisinde orijinal genin kodlayıcı sekansını veya nöroprotektif faktör içeren viral bir vektör ilgili hücrenin içine verilir. Bu işlemin sonucunda verilmiş olan orijinal kodlayıcı gen sekansının orijinal proteini üreteceği ve böylece hücrenin ölmeyeceği düşünülmektedir. Nöroprotektif faktörlerin ise fotoreseptör ölümünü engellemeleri veya yavaşlatmaları beklenmektedir. Birçok hereditör retina hastalığında genetik tedavi ile ilgili önemli gelişmeler söz konusudur.

Anahtar Kelimeler: Göz, genetik tedavi, hereditör retina hastalıkları.

ABSTRACT

The eye has several advantages for genetic therapy. First, because of the blood-retina barrier, it is protected against immun reactions. Moreover, its small size allows gene transporting vectors to reach high concentrations without contaminating other systems. In gene therapy, original coding gene sequence or neuroprotective factor containing viral vectors are given within cells. It is expected that the given original coding gene sequence will lead to synthesis of the original protein and thus cells will survive. Neuroprotective factors are expected to prevent or slow photoreceptor degeneration. Recently, many advancements related to the genetic therapy in hereditary retinal diseases have been reported.

Key Words: Eye, gene therapy, hereditary retinal diseases.

Ret-Vit 2010;18:Özel Sayı:1-3

GİRİŞ

Organ olarak göz, genetik tedavi için birkaç avantaja sahiptir. Kan-retina engeli nedeniyle immün reaksiyona karşı nispeten korunmuştur. Küçük hacmi de göz önüne alındığında, vücudun diğer kısımlarında dağılmadan göz içinde yüksek gen taşıyıcı vektör konsantrasyonuna ulaşmak mümkündür. Ayrıca vitreusun saydam saydam olması göz içi yapılarının doğrudan gözlenmesine imkan sağlamaktadır. Diğer bir neden de retina pigment epitelinin (RPE) yüksek fagositoz etiksidir. Bu sayede retina altına verilen viral gen taşıyıcıları RPE hücrelerinde yeterli miktarda birikebilir.¹

Görme azlığına yol açan birçok dejeneratif hastalığın ortak sonucu fotoreseptör ölümüdür. Protein sentezinin ilk aşaması DNA'dan bir mRNA zinciri (transkript)

sentezidir. Dejenerasyonlar fotoreseptörler transkriptlerinde veya fotoreseptör-dışı hücrelerin transkriptlerinde meydana gelen mutasyonlara bağlı olabilir. Fotoreseptör transkriptlerindeki mutasyonlarda hücre-spesifik promoter veya transfer edilecek gen (transgen) viral vektör vasıtasıyla doğrudan fotoreseptör içine verilir (transdüksiyon). Böyle bir işlemin bir çok zorluğu söz konusudur. İlk olarak, fotoreseptörler için retina altı mesafeye verilecek viral partiküller RPE hücrelerine de alınacakları için, sadece fotoreseptörlerde transgene ekspresyonuna yol açacak hücre-spesifik promoter kullanılmalıdır. İkinci bir sorun ise fotoreseptörlere transdüksiyonun çok az güvenilir sonuçlar vermesidir. Son ve en önemli sorun ise bazı transgenlerin az veya aşırı ekspresyonunun fotoreseptör dejenerasyonuna neden olmasıdır.^{2,3}

Geliş Tarihi : 23/07/2010

Kabul Tarihi : 30/07/2010

Received : July 23, 2010

Accepted : July 30, 2010

1. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları A.D., Bursa, Doç. Dr.

1- M.D. Associate Professor. Uludağ University Faculty of Medicine Department of Ophthalmology Bursa/TURKEY
KADERLİ B., drkaderli@yahoo.com

Correspondence: M.D. Associate Professor Berkant KADERLİ
Uludağ University Faculty of Medicine Department of
Ophthalmology Bursa/TURKEY

Fotoreseptör dışı sebeplerden kaynaklanan fotoreseptör dejenerasyonlarına örnek olarak RPE-spesifik transkriptlerdeki mutasyonlar (Leber'in konjenital amarozunun bazı formları ve yaşa bağlı makula dejenerasyonu), neovaskülarizasyonlar (yaş tip yaşa bağlı makula dejenerasyonu ve prematürite retinopatisi) ve retina dekolmanı sayılabilir. Yukarıda da ifade edildiği gibi, RPE hücrelerine gen transdüksiyonu daha kolay ve güvenilir bir işlemdir.

Genetik tedavinin başarısını etkileyen bir diğer faktör de genetik defektin otozomal resesif (OR) veya otozomal dominant (OD) oluşudur. Bugüne kadar OR hastalıkların gen ilavesi tedavilerinde daha fazla ümit verici sonuçlar elde edilmiştir.

Gen ilavesi tedavisinde orijinal genin kodlayıcı sekansını veya nöroprotektif faktör içeren viral bir vektör ilgili hücrenin içine verilir. Bu işlemin sonucunda verilmiş olan orijinal kodlayıcı gen sekansının orijinal proteini üreteceği ve böylece hücrenin ölmeyeceği düşünülmektedir. Nöroprotektif faktörlerin ise fotoreseptör ölümünü engellemeleri veya yavaşlatmaları beklenmektedir.

Retinitis Pigmentoza

Bazı retinitis pigmentoza (RP) olgularından periferin/retinal degeneration slow (rds) geni mutasyonu sorumlu bulunmuştur. Rds negatif sıçanlarda bir adevo-associated virus (AAV) ile taşınan AAV.prph2 gen sekansı ile yapılan transdüksiyon istenilen sonuçları vermemiştir.⁴ Yine aynı modelde AAV.prph2 ile birlikte AAV.glia1 nörotrofik faktör (GDNF) verildiğinde daha iyi elektroretinografi (ERG) ve hisopatolojik sonuçlar elde edilmiştir.⁵ Bazı RP alt tiplerinden fosfodiesteraz (PDEβ) mutasyonu sorumludur. Rd/rd sıçan modeline AAV.PDEβ transdüksiyonu ile retinada PDEβ üretimi ve sınırlı fotoreseptör korunması sağlanabilmektedir.⁶

Otozomal dominant RP için P23H rat kullanılmaktadır. Gen ilavesi ile OD bir hastalığı tedavi etmek mümkün olmayacağından, bu modelde nöroprotektif veya antiapoptotik faktör kullanımı gündeme gelmiştir. GDNF ve ciliary neurotrophic factor (CNTF) ile çok sınırlı bir fotoreseptör korunması sağlanabilmektedir.^{7,8} AAV2/5 ile subretinal mesafeye X-linked inhibitor of apoptosis (XIAP) verilmesi ile daha iyi bir transdüksiyon ve fotoreseptör korunması sağlandığı bildirilmiştir.⁹

Retinoşizis

X'e bağlı resesif geçiş gösteren retinoşizis retinoschisis (RS1) mutasyonuna bağlıdır. RS1 fotoreseptör ve bipolar hücrelerde üretilir ve hücreler arası bağlantılarda rol oynar. RS1 olmayan fare fotoreseptörlerine AAV ile RS1 transgen verilmiş ve oftalmoskopik olarak ve ERG ile belirgin iyileşme sağlanmıştır.¹⁰

Yaşa bağlı makula dejenerasyonu

Yaşa bağlı makula dejenerasyonunda (YBMD) genetik faktörler birçok nedenden birini teşkil ederler.

Ne yazık ki bugüne kadar başarılı bir kuru veya yaş YBMD hayvan modeli oluşturulamamıştır. Rodentlerde ışık hasarı ile oluşturulan modelde ışık hasarından önce Ad.catalase ile yapılan RPE transdüksiyonu veya AAV.erythropoetin ve Ad.PEDF (pigment epithelial derived factor) gibi nöroprotektif ajanların oksidatif stresi ve fotoreseptör hasarını azalttıkları gösterilmiştir.¹ Yaş YBMD modeli olarak lazerle oluşturulan fare koroidal neovaskülarizasyon modelinde subretinal, intravitreal veya periorbital Ad.PEDF enjeksiyonu ile lezyonun gerilediği gösterilmiştir.^{11,12}

Yapılmakta olan faz I çalışmalarında ileri yaş tip YBMD olan hastalara intravitreal olarak Ad.PEDF uygulanmıştır. Yan etki olarak hafif derecede enflamasyon tespit edilen bu çalışmalarda güvenilirlik, doz etki ilişkisi ve klinik sonuç değerlendirilmektedir.^{13,14}

Retinoblastom

Retinoblastomların yaklaşık üçte biri genetik (OD) geçiş gösterir. Sorumlu olan Rb genindeki mutasyondur. Fare Rb modelinin vitreusuna insan Rb hücreleri enjekte edilmiştir. Takiben belirli aralıklarla yine intravitreal olarak Ad.TK (timidin kinaz) ve gansiklovir verilmiştir. Sonuç olarak vitreusa ekilen tümör hücrelerinin tamamen veya kısmen ortadan kalktığı gözlenmiştir.¹⁵ Aynı uygulama enükleasyon gerektirecek Rb olan 8 olguda faz I çalışma olarak yapılmıştır.¹⁶ Bütün olgularda vitreusa yayılmış olan hücrelerde azalma gözlenmiştir. 6 olguda tedavi gerektiren enflamasyon gözlenmiştir. Diğer bir sorun da viral vektörün vitreusta yayılamaması ve bütün vitreal tümör hücrelerini yok etmek için birden fazla enjeksiyon gerekmesidir. Bugün için bu tedavi yöntemi primer tümör için olmasa bile vitreus yayılımlarının tedavisi için ümit vaat etmektedir.

Leber'in konjenital amarozu

Leber'in konjenital amarozu (LKA) birden fazla genetik mutasyona bağlı ve OR geçişli bir grup hastalıktır. Mutasyonlar RPE veya fotoreseptörlerdeki transkriptlerde olabilir. Olguların %10'undan RPE spesifik bir transkript olan RPE65'teki mutasyona bağlıdır. RPE65 gözme döngüsünde esansiyel bir enzimdir. Yokluğunda 11-cis-retina üretilemez ve rodopsin regenerasyonu gerçekleşmez.¹ RPE65 negatif ve rd12 sıçan LKA modellerinde postnatal olarak yapılan çalışmalarda histopatolojik ve elektrofizyolojik olarak fotoreseptörlerin kurtarılabilirdiği gösterilmiştir.¹⁷ Bu konuda önemli bir adım olan bir çalışmada ise in utero ve yetişkin RPE65 negatif farelere subretinal AAV2/1RPE65 verilmiş ve RPE hücrelerinde RPE65 üretiminin başladığı, rodopsin rejenerasyonunun gerçekleştiği ve ERG cevaplarında düzelme olduğu gösterilmiştir.¹⁸ Yakın zamanda RPE65 mutasyonu olan LKA'lı çocukların alındığı birden fazla faz I çalışma başlamış bulunmaktadır.¹

LKA olgularının daha az bir kısmından sorumlu olan mutasyon ise lecithin:retinol acyl transferase'dir (LRAT).

LRAT retinil esterlerin ve retinozomların depolanmasından sorumludur.¹ AAV2/1LRAT transkripti ile tedavi edilen LRAT negatif farelerde iyi bir transdüksiyon sağlanabildiği ve tedavi edilmeyen gözlere göre daha iyi ERG cevabı ve pupil ışık cevabı elde edildiği bildirilmiştir.¹⁹

Fotoreseptör-spesifik transkriptlerde meydana gelen mutasyonlar sonucu da LKA oluşabilmektedir. Bir fotoreseptör-spesifik protein olan RPGRIP'teki mutasyon LKA sebebi olmaktadır.¹ RPGRIP negatif sıçanlara opsin tanıttığı ve RPGRIP cDNA içeren AAV verilmesi sonucunda fotoreseptörlerde RPGRIP üretiminin başladığı, kontrole göre fotoreseptörlerin daha uzun dış segmente sahip oldukları ve ERG cevabında kısmi düzelleme olduğu bildirilmiştir.²⁰

Siklik GMP düzeylerini kontrol eden retGC1'deki mutasyon LKA olgularının %10-20'sinden sorumludur.¹ RetGC1 geninde delesyon olan civcivlere lentivirüs vektör ile GC1 verilmesi ile olguların büyük kısmında ERG cevaplarının kısmen alınmaya başlandığı, retinal kalınlıkta artma olduğu ve retinanın bazı bölgelerinde retGC1 üretiminin başladığı gösterilmiştir.²¹

Stargardt Hastalığı

Stargardt hastalığının bir OR kalıtım gösteren bir alt grubunda ABCA geninde mutasyon söz konusudur. Bu olgularda ATP bağımlı taşıyıcı protein üretilmemektedir. ABCA (-) farelere ABCA geni içeren lentivirüsler subretinal olarak verildiğinde yüksek rod ve kon transdüksiyonu ve A2E birikiminde azalma tespit edilmiştir.²² Bu bulgular ABCA ile ilişkili hastalıklarda lentiviral gen transdüksiyonunun ümit verici olduğunu göstermektedir.

RETİNA GEN TEDAVİSİNDE KARŞILAŞILAN SORUNLAR VE DÜŞÜNÜLEN ÇÖZÜMLER

Disfonksiyonel fotoreseptörlerin sağlıklı komşu hücrelerin fonksiyonunu ve sağ kalımını olumsuz etkilediği bilinmektedir. Bu sorunu aşmak için birlikte nörotrofik faktör verilmesi veya mümkün olduğu kadar fazla virüs enjeksiyonu, böylece daha fazla hücrede transdüksiyon sağlanması önerilmektedir.

Diğer bir sorun ise doğru hayvan modelinin oluşturulamamasıdır. Saf genetik mutasyon sonucu gelişen hastalıkların aksine, YBMD gibi birden fazla faktörün rol oynadığı hastalıklarda hayvan modeli oluşturmak çok zordur. Bu da hayvan deneyleri ile elde edilen bulguların insanlarda geçerli olmamasına yol açabilmektedir.

Sık olarak kullanılan AAV2 vektörünün taşıma kapasitesi 4.8 kb'tır. Bu da LKA gibi daha uzun zincir taşınmasını gerektiren birçok hastalıkta transdüksiyonun yapılamamasına neden olmaktadır. Lentivirüs ve adenovirüslerin taşıma kapasitesi daha fazla olmakla birlikte, bu virüsler fotoreseptörlere transdüksiyon yapamamaktadır.¹

KAYNAKLAR/REFERENCES

1. Rex TS.: Rescue of sight by gene therapy - closer than it may appear. *Ophthalmic Genet.* 2007;3:127-133.
2. Chen J, Flannery JG, LaVail MM et al.: bcl-2 overexpression reduces apoptotic photoreceptor cell death in three different retinal degenerations. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996;14:7042-7047.
3. Haire SE, Pang J, Boye SL et al.: Light-driven cone arrestin translocation in cones of postnatal guanylate cyclase-1 knockout mouse retina treated with AAV-GC1. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006;9:3745-3753.
4. Schlichtenbrede FC, da Cruz L, Stephens C et al.: Long-term evaluation of retinal function in Prph2Rd2/Rd2 mice following AAV-mediated gene replacement therapy. *J Gene Med.* 2003;9:757-764.
5. Buch PK, MacLaren RE, Durán Y et al.: In contrast to AAV-mediated Cntf expression, AAV-mediated Gdnf expression enhances gene replacement therapy in rodent models of retinal degeneration. *Mol Ther.* 2006;5:700-709.
6. Jomary C, Vincent KA, Grist J et al.: Rescue of photoreceptor function by AAV-mediated gene transfer in a mouse model of inherited retinal degeneration. *Gene Ther.* 1997;7:683-690.
7. McGee Sanftner LH, Abel H, Hauswirth WW et al.: Glial cell line derived neurotrophic factor delays photoreceptor degeneration in a transgenic rat model of retinitis pigmentosa. *Mol Ther.* 2001;6:622-629.
8. Liang FQ, Aleman TS, Dejneka NS et al.: Long-term protection of retinal structure but not function using RAAV.CNTF in animal models of retinitis pigmentosa. *Mol Ther.* 2001;5:461-472.
9. Leonard KC, Petrin D, Coupland SG et al.: XIAP protection of photoreceptors in animal models of retinitis pigmentosa. *PLoS Med.* 2007;3:1-8.
10. Min SH, Molday LL, Seeliger MW et al.: Prolonged recovery of retinal structure/function after gene therapy in an Rslh-deficient mouse model of x-linked juvenile retinoschisis. *Mol Ther.* 2005;4:644-651.
11. Gehlbach P, Demetriades AM, Yamamoto S et al.: Periocular injection of an adenoviral vector encoding pigment epithelium-derived factor inhibits choroidal neovascularization. *Gene Ther.* 2003;8:637-646.
12. Mori K, Duh E, Gehlbach P et al.: Pigment epithelium-derived factor inhibits retinal and choroidal neovascularization. *J Cell Physiol.* 2001;2:253-263.
13. Campochiaro PA, Nguyen QD, Shah SM et al.: Adenoviral vector-delivered pigment epithelium-derived factor for neovascular age-related macular degeneration: results of a phase I clinical trial. *Hum Gene Ther.* 2006;2:167-176.
14. Rasmussen H, Chu KW, Campochiaro P et al.: Clinical protocol. An open-label, phase I, single administration, dose-escalation study of ADGVPEDF.11D (ADPEDF) in neovascular age-related macular degeneration (AMD). *Hum Gene Ther.* 2001;16:2029-2032.
15. Hurwitz MY, Marcus KT, Chévez-Barríos P et al.: Suicide gene therapy for treatment of retinoblastoma in a murine model. *Hum Gene Ther.* 1999;3:441-448.
16. Chévez-Barríos P, Chintagumpala M, Mieler W et al.: Response of retinoblastoma with vitreous tumor seeding to adenovirus-mediated delivery of thymidine kinase followed by ganciclovir. *J Clin Oncol.* 2005;31:7927-7935.
17. Rakoczy PE, Lai CM, Yu MJ et al.: Assessment of rAAV-mediated gene therapy in the Rpe65^{-/-} mouse. *Adv Exp Med Biol.* 2003;533:431-438.
18. Dejneka NS, Surace EM, Aleman TS et al.: In utero gene therapy rescues vision in a murine model of congenital blindness. *Mol Ther.* 2004;2:182-188.
19. Batten ML, Imanishi Y, Tu DC et al.: Pharmacological and rAAV gene therapy rescue of visual functions in a blind mouse model of Leber congenital amaurosis. *PLoS Med.* 2005;11:1177-1189.
20. Pawlyk BS, Smith AJ, Buch PK et al.: Gene replacement therapy rescues photoreceptor degeneration in a murine model of Leber congenital amaurosis lacking RPGRIP. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005;9:3039-3045.
21. Williams ML, Coleman JE, Haire SE et al.: Lentiviral expression of retinal guanylate cyclase-1 (RetGC1) restores vision in an avian model of childhood blindness. *PLoS Med.* 2006;6:904-917.
22. Kong J, Kim SR, Binley K et al.: Correction of the disease phenotype in the mouse model of Stargardt disease by lentiviral gene therapy. *Gene Ther.* 2008;19:1311-1320.