



# Herediter Retina Hastalıklarının Gen Tedavisinde Son Gelişmeler

## Recent Advancements in Gene Therapy for Hereditary Retinal Dystrophies

Ayşe Öner

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

### Öz

Herediter retina distrofileri (HRD) klinik ve genetik açıdan çeşitlilik gösteren retinanın dejeneratif hastalıklar grubudur. Bu hastalıklar gece görme bozukluğu, renk görme bozukluğu, görme alanı kaybı ve total körlükle sonuçlanabilir. Bu hastalık grubunda gelişimsel ve fonksiyonel aşamada rol alan 120 den fazla gen mutasyonunun sorumlu olabileceği saptanmıştır. Ayrıca aynı aile içinde bile aynı gen içinde farklı mutasyonlar olabilir ve bu mutasyonlar farklı fenotiplere yol açabilir. Bu durum hastalıklarla ilgili genetik çeşitliliği daha da karmaşık hale getirmektedir. Hastalıklarla ilişkili genlerin retinal hücre yapısında, fototransdüksiyonda görme siklusunda, fotoreseptör yapısında bulunan proteinleri kodladığı bilinmektedir. Son yıllarda meydana gelen gelişmeler genetik patogenezin daha iyi anlaşılmasına ve gen replasman ve gen inaktivasyon tedavilerinin uygulanabilmesine yol açmıştır. Anatomik ve immünolojik özelliklerinden dolayı göz gen tedavilerinin uygulanabilmesi için uygun bir organdır. Gen tedavisinin etkinliği ve güvenilirliği konusunda elde edilen son gelişmeler ışığında vektör aracılı gen replasman tedavileri oldukça yol katetmiştir. Hayvan çalışmalarında umut verici sonuçların alınması klinik çalışmaların planlanmasına yol göstermiştir. İlk klinik çalışmalardan alınan cesaret verici sonuçlar viral vektörlerin insanlarda güvenli ve etkin bir şekilde uygulanabileceğini göstermiştir. Bu derlemede HRD'lerinde gen tedavisi konusundaki son gelişmeler ve klinik çalışmaların sonuçları özetlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Gen tedavisi, herediter retina distrofileri, klinik çalışmalar

### Abstract

Hereditary retinal dystrophies (HRDs) are degenerative diseases of the retina which have marked clinical and genetic heterogeneity. Common presentations among these disorders include night or colour blindness, tunnel vision, and subsequent progression to complete blindness. The known causative disease genes have a variety of developmental and functional roles, with mutations in more than 120 genes shown to be responsible for the phenotypes. In addition, mutations within the same gene have been shown to cause different disease phenotypes, even amongst affected individuals within the same family, highlighting further levels of complexity. The known disease genes encode proteins involved in retinal cellular structures, phototransduction, the visual cycle, and photoreceptor structure or gene regulation. Significant advancements have been made in understanding the genetic pathogenesis of ocular diseases, and gene replacement and gene silencing have been proposed as potentially efficacious therapies. Because of its favorable anatomical and immunological characteristics, the eye has been at the forefront of translational gene therapy. Recent improvements have been made in the safety and specificity of vector-based ocular gene transfer methods. Dozens of promising proofs of concept have been obtained in animal models of HRDs and some of them have been relayed to the clinic. The results from the first clinical trials for a congenital form of blindness have generated great interest and have demonstrated the safety and efficacy of intraocular administrations of viral vectors in humans. This review summarizes the clinical development of retinal gene therapy.

**Keywords:** Gene therapy, hereditary retinal dystrophies, clinical studies

**Yazışma Adresi/Address for Correspondence:** Dr. Ayşe Öner, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye  
Tel.: +90 352 437 49 01 E-posta: aoner@erciyes.edu.tr **ORCID-ID:** orcid.org/0000-0002-8583-1836

**Geliş Tarihi/Received:** 07.01.2017 **Kabul Tarihi/Accepted:** 20.04.2017

©Telif Hakkı 2017 Türk Oftalmoloji Derneği  
Türk Oftalmoloji Dergisi, Galenos Yayınevi tarafından basılmıştır.

## Hereditör Retina Hastalıklarında Gen Tedavisi

Gen tedavisi ile ilgili düşünceler DNA'nın keşfinden hemen sonra başlar. İnsanda gen tedavisi çalışmalarının geçmişi 1960-1970 yıllarına dayanır. Ancak gen ekspresyonunun çok iyi anlaşılammış olması ve gen uygulaması için uygun yöntemin bulunamamış olması nedeniyle ilk uygulamalar başarısız olmuştur. Son 20 yılda değişik hastalık gruplarında 1500'den fazla gen tedavisi ile ilgili klinik çalışma başlatılmıştır.<sup>1,2,3,4,5</sup>

Göz; anatomik olarak küçük ve kapalı bir organ olması, immün yapısının özellikli olması ve kolay ulaşılabilir olması nedeniyle her zaman gen tedavisinin odak noktası olmuştur. Ayrıca günümüzde mevcut olan *in vivo* noninvaziv görüntüleme teknikleri nedeniyle tedavinin seyrini takip etmek ve sonuçları kontrol olarak kullanılan diğer gözle karşılaştırmak gen tedavisi için ayrı bir avantaj sağlamaktadır.<sup>6,7</sup>

Gen tedavisinin en çok çalışıldığı hastalık grubu, henüz etkin bir tedavisi olmayan hereditör retina distrofileridir (HRD). Nadir görülen bu hastalık grubunun insidansı 1/3000'dir. HRD içinde en sık görüleni retinitis pigmentosa'dır (RP). Bunun yanında Leber'in konjenital körlüğü (LKK), Stargardt maküla distrofisi (SMD), Best'in maküla distrofisi (BMD) ve çok daha nadir görülen diğer retina distrofileri de bu grubun içinde bulunurlar. Tüm HRD düşünüldüğünde 200'ün üzerinde etkilenmiş genden bahsedilebilir. Aynı gen içinde farklı mutasyonlar olabilir ve bu mutasyonlar farklı fenotiplere yol açabilir. Bu durum hastalıklarla ilgili genetik çeşitliliği daha da karmaşık hale getirmektedir. Son yıllarda meydana gelen gelişmeler genetik patogenezin daha iyi anlaşılmasına ve gen tedavilerinin uygulanabilmesine yol açmıştır.<sup>8,9,10</sup> Gen tedavileri günümüzde vektörler (taşıyıcı) aracılığıyla yapılmaktadır.

## Gen Tedavisinde Kullanılan Vektörler

Vektör tiplerine bakıldığında gen tedavisinde kullanılan iki tip vektör mevcuttur. Bunlar viral vektörler ve nonviral vektörler olarak tanımlanır.

### Viral Vektörler

**Retrovirüsler:** Retrovirüsler 2 adet tek sarmallı RNA'ya sahip virüs ailesidir. Bu ailede 7 kuşak mevcuttur: Alfaretrovirüs, betaretrovirüs, gamaretrovirüs, deltaretrovirüs, epsilonretrovirüs, lentivirüs (LV) ve spumavirüs. Retroviral vektörler olarak gamaretrovirüs ve daha sıklıkla da LV kullanılmıştır. İçindeki çok sayıda viral genlerin çıkarılmasıyla oluşturulan rekombinant LV, 8 kilobazlık (kb) büyük bir taşıma kapasitesine sahip olması nedeniyle birden fazla tedavi edici proteini taşıyabilir. Ayrıca intraoküler LV uygulamalarının immünolojik cevaba neden olmadığı gösterilmiştir. Ek olarak LV'ler yabancı virüslerin zarf glikoproteinlerini alarak onları kullanabilir.<sup>11,12</sup> Farelerde LV'lerin subretinal kullanımının güvenli olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır.<sup>12,13,14,15</sup> Ancak bu virüslerin birtakım dezavantajları mevcuttur. LV'ler yerleştiği yerde mutasyona yol açabilir. Üretim süreçleri oldukça karmaşık olan bu vektörün boyutu da oldukça büyüktür (~80-100 nm), bu durum doku içinde dağılımını etkileyebilir.<sup>12</sup>

**Adenovirüsler:** Adenovirüsler lineer çift sarmallı DNA'ya sahip bir ailedir. Bu ailenin A-F arasında gruplanmış 51 adet insan serotipi bulunmaktadır. Subgrup C içinde bulunan A2 ve A5, gen tedavisinde kullanılan ve nonkojenik olan virüslerdir. Adenovirüsler ev sahibi hücrelerin hücre siklüsüne girmezler, dolayısıyla hücre ölümüne yol açmazlar. Ayrıca viral DNA'sı ev sahibi hücrelerin genomuna entegre olmadığı için bu hücrelerde mutageneze yol açmazlar. Adenovirüs geni uyum sağladığı hücre içinde stabildir. Ayrıca kapasitesi de oldukça yüksektir. Bu nedenlerle gen tedavisinde daha çok dikkat çekmektedir. Viral DNA'nın replikasyonda görev yapan bölümü çıkarılarak virüs vektör haline getirilir. Çıkarılan bölümün büyüklüğüne göre taşıma kapasitesi artırılır.<sup>16,17,18</sup>

**Adeno-bağlantılı virüsler (AAV):** AAV, adenovirüs destekli bir parvovirüstür. Rekombinant AAV günümüz gen tedavisinde en çok kullanılan virüstür. Patojenitesi yoktur, enflamatuvar cevap oluşturmaz. Bu durum gen tedavisinde büyük avantaj sağlar. AAV küçük bir DNA'ya sahiptir ve kapasitesi 4,7 kb'dır. AAV'nin 9 serotipi mevcuttur (AAV1-AAV9). Bunlar içinde en güvenilir olan ve retinal pigment epitel (RPE) hücrelerine en iyi uyum sağlayan vektör AAV2'dir.<sup>19,20</sup> Preklinik ve klinik çalışmalar AAV'nin LKK'de gen tedavisi için kullanılabilirliğini göstermiştir.<sup>21,22,23</sup>

Viral vektörler gen taşımada diğer vektörlerden daha etkilidir. AAV2, RPE hücrelerine çok iyi uyum göstermesine rağmen yeni vektörler üzerinde çalışmalar devam etmektedir. Çünkü RPE dışında diğer retinal hücrelerle uyum sağlayacak özellikle de fotoreseptörlerle uyum sağlayacak, yeni vektörlere ihtiyaç vardır. Ayrıca AAV2'nin mevcut kapasitesi, daha büyük genlerin tedavi edilmesi için yeterli değildir. Vektör kapasitesi ile ilgili yapılan çalışmalar sonucunda geliştirilen nonviral vektörler ile hedeflenen genlerin sayısı artırılmıştır ve LKK'de CEP290, SMD'de ABCA4 ve Tip 1 Usher sendromunda MYO7A gibi genler de şu anda kapasite dahilindedir. Ancak yine de USH2A gibi daha büyük genler hala mevcut kapasiteyi aşmaktadır. Bu problemi aşabilmek için alternatif tedaviler üzerinde çalışılmakta ve DNA nanopartikülleri ile bu problemin düzeltilebileceği düşünülmektedir.<sup>11,24</sup>

### Nonviral Vektörler

Virüslerden daha güvenli ve kapasitesi daha büyük vektör arayışı sonucunda nonviral vektörler bulunmuştur. Bunlar arasında lipozomlar en çok çalışılanlardır. Ancak gen tedavisinde kültür çalışmaları çok efektif bulunmamıştır.<sup>25,26</sup>

Vektör kapasitesi ile ilgili yapılan çalışmalar sonucunda geliştirilen DNA nanopartikülleri ile kapasite probleminin düzeltilebileceği düşünülmektedir. DNA nanopartiküllerin kapasitesi 20 kb'dır. Bu vektör, çalışmalardaki en büyük gen olan Tip 2A Usher sendromundan sorumlu 15,6 kb büyüklüğündeki USH genini taşıyabilmektedir. Bu partiküllerin akciğerde güvenli olduğu yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır.<sup>27</sup> Retinada kullanımının güvenilirliği konusunda yapılan hayvan çalışmaları da iyi sonuçlar vermiştir. Ancak retinal hücrelere uyumu AVV kadar iyi değildir, bu nedenle tekrarlayan subretinal enjeksiyonlar gerektirebilir.<sup>28,29,30,31</sup>

## Gen Tedavisinin Uygulanması

Göz, gen tedavisi için ideal bir organdır. Öncelikle küçüktür ve dışarıya kapalıdır. Çok küçük miktarda vektör uygulama için yeterlidir, dolayısıyla vektöre bağlı toksik etkiler de minimum olur. Ayrıca gözün RPE hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar ve kan-retina bariyeri nedeniyle immün açıdan ayrıcalığı mevcuttur. İntraoküler ayrıcalıklı mikroçevre nedeniyle, oluşan immün yanıtlar lokal olarak inhibe edilir. Gözün bu özellikleri vektörün göz dışına yayılımını engeller ve vektöre karşı sistemik yanıt gelişimi önlenmiş olur. Bu durum sistemik yan etki oluşumu riskini oldukça azaltır. Retinal hücreler post-mitotik hücreler olduğu için genler arası etkileşim olmadan uzun süreli gen ekspresyonu sağlanabilir. Çok sayıda retinal distrofi hayvan modelinin olması, prelinik çalışmalarla tedavinin etkinliğini değerlendirme sürecini hızlandırır.<sup>32,33,34,35,36,37,38,39,40</sup> Gözün yapısı, tedavi sürecinin takibini kolaylaştırır. Retinanın direkt olarak görülüyor olması, ayrıca *in vivo* değerlendirmeye imkan tanıyan tekniklerin var olması, gen tedavisinin etkinliğini hem hayvan modellerinde hem de insanda non invaziv olarak değerlendirmemizi sağlar. Ayrıca distrofilerin bilateral ve simetrik olması bir gözün kontrol olarak kullanılmasına ve tedavinin hastalık progresyonuna etkisinin değerlendirilmesine imkan verir. Cerrahi olarak göze yaklaşımın kolay olması, genetik materyalin gözün istenilen tabakasına ve hedeflenen hücre kitlesine ulaştırılabilmesini mümkün kılar. İntraoküler kullanımda en sık kullanılan 2 yol vardır: İntravitreal ve subretinal. İntravitreal enjeksiyonda tedavi edici ajan vitreusa dağılır ve ön retina katları ajana maruz kalır. Subretinal uygulamada ise vektör RPE ile nörosensoryel retina arasına verilir ve bu uygulama sırasında bleb denilen küçük, reversibl, dekolman alanları oluşturulur. İntravitreal uygulanan ajanın difüzyonu sınırlıdır. Öncelikle vitreus, daha sonra iç sınırlayıcı membran ve iç retina katları difüzyonu engeller. Dolayısıyla subretinal uygulama, hedeflenen hücre grupları dış retina katlarında olduğu için daha etkili bir uygulama yoludur. Cerrahi işlem sırasında standart bir vitrektomi cerrahisi sonrası, 39 ya da 41 gauge subretinal kanül kullanılarak vektör subretinal alana yaklaşık olarak 0,1 mililitre sıvı içinde uygulanır. Enjeksiyon alanı olarak büyük damarlardan uzak, vasküler arkın içi ya da dışında bir saha seçilir. Foveaya yakın bir alana da uygulama yapılabilir. Tedavi ile ilgili komplikasyonlar daha çok cerrahi ile ilgilidir. Yapılan klinik çalışmalarda vektör ile ilişkili sistemik komplikasyonlara rastlanmamıştır. Subkonjonktival hemoraji, batma, ağrı ve iritasyon gibi cerrahi kaynaklı oküler yan etkiler olabilir. Vektör kaynaklı oküler yan etkilere bakıldığında, nadir de olsa oküler hiperemi, fotofobi ve görme azalması görülebilir.<sup>12,30,41,42,43,44,45</sup>

## Gen Tedavisinin Uygulandığı Hastalıklar

**Leber'in Konjenital Körlüğü:** LKK, çok ağır seyreden konjenital bir retina hastalığıdır ve günümüzde gen tedavisi konusunda oftalmolojide en çok çalışma yapılan hastalıktır. Olgularda fundus bulgularının yanında bozulmuş ışık refleksi,

elektroretinografide (ERG) kayıt alınamayacak derecede belirgin azalma ve nistagmus mevcuttur. Görme kaybı doğumla ya da hayatın ilk birkaç yılında başlar ve erken erişkinlik döneminde total körlükle sonuçlanır. LKK'da pek çok gende mutasyon saptanmıştır. Günümüze dek bildirilen 20 gen mevcuttur.<sup>26</sup> Bu mutasyonlardan birisi olan *RPE65* (retina pigment epiteline spesifik protein 65 kDa), RPE hücrelerinde eksprese edilir ve all-trans retinil esterin 11-cis retinale dönüşümünü sağlayan izomerohidrolazı kodlar. 11-cis retinal olmadan opsiner ışığı yakalayıp elektriksel uyarıya çeviremez. *RPE65* kaybı görme siklusunu bozarak, RPE hücrelerinde lipit damlacıkları içinde retinil ester birikimine, lipofuksin granüllerinde artışa neden olur. Sonuçta progresif bir retinal dejenerasyon ve görme kaybı meydana gelir. Bu hastalığı gen tedavisi ile ilgili klinik çalışmalar *RPE65* mutasyonuna yöneliktir.<sup>31,32</sup>

*RPE65* gen mutasyonu olan farelerde bu geni taşıyan AAV vektör uygulaması hastalığın evresinden bağımsız olarak RPE transdüksiyonunu artırır. Enjekte edilen *RPE65*'in 7 ay sonra bile immünohistokimyasal olarak saptanabildiği görülmüştür. Tedavi edilen farelerde retina normal morfoloji göstermiş, retinil ester ve rodopsin (*RHO*) seviyeleri normal olarak saptanmıştır. Tedaviden 2 ay sonra yapılan ERG'lerde retina fonksiyonlarının iyileştiği belirlenmiştir.<sup>33</sup> Gen tedavisi sonrasında elde edilen başarı var olan sağlam fotoreseptörlere bağlıdır.

Bir-iki aylık *RPE65* defektli farelerde ve rd12 farelerde subretinal AAV2 ile paketlenmiş *RPE65* gen uygulaması retinanın korunmasına ve ERG'de düzelmeye yol açmıştır.<sup>34</sup>

LKK2'li köpeklerde tek enjeksiyonla gen tedavisinin etkili olduğu görme fonksiyonunun düzeldiği gösterilmiştir. Enjeksiyondan 2 hafta sonra görme iyileşmesi başlamış, 3 ayda pik yapmış ve 7 yıla dek devam etmiştir.<sup>35,36</sup> *RPE65* defektli farklı köpek modellerinde yapılan çalışmalarda uzun vadede devam eden, görme düzeylerinde ve ERG bulgularında da iyileşmeye neden olan sonuçlar elde edilmiştir.<sup>37,38,39,40</sup> Prelinik köpek çalışmaları güvenli sonuçlar verse de gen tedavilerinin olası doz bağımlı retinal inceltme gibi bir potansiyel yan etkisi olabilmektedir.<sup>41</sup>

Hayvan deneylerinde elde edilen cesaret verici sonuçlardan sonra 2007 yılında *RPE65*-LKK klinik çalışmaları başlamıştır. Yapılan klinik çalışmalarda AAV2-*RPE65* gen replasman tedavisi toksisitesi olmayan, cerrahi ve immünojenik olarak güvenli bir tedavi olarak bildirilmiştir. Görme keskinliklerindeki kazanç değişkenlik gösterir. Bu durum hastalığın çok ağır görme kaybı yapması ile ilişkilidir.<sup>42</sup> Günümüze dek yayınlanmış en uzun takip süreli çalışma 3 yıllık takip sonuçlarını içermektedir. En iyi sonuçlar retinal yanıtları daha iyi olan genç hastalarda alınmıştır. Beş olgunun 3 yıllık takiplerinin sunulduğu bir klinik çalışmada, tedaviden birkaç ay sonra görme fonksiyonları ve retina fonksiyonlarında düzelme saptanmış ve bu düzelme 3 yıl boyunca korunmuştur. Tedavi edilen olgularda ayrıca nistagmus sıklığında azalma, multifokal ERG yanıtlarında artış ve mikroperimetride fiksasyon stabilitesinde iyileşme saptanmıştır.<sup>43</sup>

Bainbridge ve ark.<sup>44</sup> tarafından yapılan 12 olguluk faz I/II çalışmanın *RPE65* geni taşıyan rAAV2/2 uygulaması sonrası 3 yıllık sonuçları sunulmuştur. Olgularda retinal hassasiyet artışları saptanırken, ERG bulgularında anlamlı farklar bulunmamıştır. Üç olguda intraoküler enflamasyon görülürken, 2 olguda görme keskinliğinde bozulma meydana gelmiştir.<sup>44</sup> On beş olguluk başka bir faz I çalışmada 3 yıllık takip sonrasında sistemik toksisiteye rastlanmamış, tüm olgularda görme keskinlikleri değişik seviyelerde artış göstermiştir. Kon ve rod hassasiyetleri, tedavi alan gözlerde artarken, diğer gözlerde herhangi bir değişiklik görülmemiştir.<sup>45</sup>

Spark Therapeutics Biyoteknoloji firmasının desteklediği, AAV2/2-*RPE65* gen tedavisinin uygulandığı 3 yaş civarında hastaların da dahil edildiği faz III çalışması tamamlanmıştır (NCT00999609). Bu çalışmanın sonuçları başarılı bulunmuş ve Voretigene neparovec isimli ilacın 2017'de FDA onayı alması için aynı firma tarafından girişimler başlatılmıştır. LKK'de yapılan klinik çalışmalarda elde edilen ümit verici sonuçlar diğer HRD'de de gen tedavisi uygulamaları için yol açmıştır.

**Retinitis Pigmentosa:** RP olgularında gen mutasyonlarının saptanmasından sonra bu hastalarda gen tedavisi ile ilgili çalışmalar başlatılmıştır. RP'de gen tedavisinde iki türlü yaklaşım söz konusudur. İlk yaklaşım etkilenen genin sağlam bir kopyasını AAV üzerine yükleyerek retina altına enjekte etmektir. İkinci yaklaşım ise mutasyonlu genin inaktive edilmesidir.

RP'de saptanan ilk mutasyon *RHO* gen mutasyonudur. Tedavi için denenen ilk yaklaşım defektli *RHO* geninin fonksiyonunu arttırmak için proteozomal degradasyonunu hızlandırmaktır. Ancak bu yöntem günümüze dek yapılan hayvan deneylerinde başarıya ulaşmamıştır. Başka bir alternatif RNA'ya yönelik tedavidir. Spesifik mRNA'nın, ribozomları kullanarak selektif destrüksiyonu ile gendeki mutasyonlu allel etkisiz hale getirilmeye çalışılır.<sup>46,47,48,49,50</sup> Bu yöntemle otozomal dominant-RP'de başarı sağlansa da *RHO* geninde 120 değişik mutasyonun saptanmış olması, bu mutasyonların hepsinin test edilmesini ve tedavi amacıyla tasarımlar yapılmasını ekonomik olarak ve teknik olarak zorlaştırılmaktadır.

Nagatsu ve ark.<sup>51</sup> OD-RP olgularında cGMP fosfodiesteraz (*PDE*) genindeki mutasyonun tedavisi için rAAV kullanmışlardır. Sağlam *PDE* nin fare modelinde intraoküler olarak uygulanması retinal fonksiyonları korumuş ve fotoreseptör dejenerasyonunu engellemiştir. Son yıllarda X'e bağlı RP'de gen tedavisi konusunda da gelişmeler olmuştur. X'e bağlı RP olgularında pek çok olguda *RPGTP* az regülatör geninde (*RPGR*) mutasyon saptanmıştır. *RPGR* geni X kromozomu üzerinde bulunur. Köpek modellerinde *RPGR* geni yüklü AAV'nin subretinal uygulaması sonrası retinal dejenerasyonun durduğu gösterilmiştir.<sup>52</sup>

RP tip 38 de bulunan ve RPE'de eksprese edilen "insan reseptör tirozin kinaz MER" (*MERTK*) gen mutasyonu ile ilgili de gen çalışmaları bulunmaktadır. Farelerde yapılan bir çalışmada *MERTK* geni taşıyan AAV2 vektörünün subretinal uygulaması fotoreseptör dejenerasyonunu engellemiştir.<sup>53,54</sup> Benzer deneysel sonuçlar sonrasında insanlar üzerinde klinik çalışmalar başlatılmıştır.

**Stargardt Maküla Distrofisi:** SMD, ATP binding cassette subfamily A member 4 (*ABCA4*; *ABCR*) geninde mutasyonla oluşan bir retinal dejenerasyondur. *ABCA4* geni enerjinin fotoreseptörlerden iletimini sağlayan proteini kodlar. Bu gendeki mutasyon fotoreseptör dejenerasyonuna ve takiben görme kaybına neden olur. Farelerde yapılan gen tedavisi denemeleri oldukça cesaret verici sonuçlar vermiştir. Naash<sup>55</sup> SMD'li farelere nanopartikülleri kullanarak normal *ABCA4* genini uygulamıştır. Bu uygulama görmenin korunmasını sağlamıştır.<sup>56</sup>

Bu sonuçlar insanlarda da çalışmaların başlatılmasına yol açmıştır. SMD'de saptanan *ABCA4* gen mutasyonuna yönelik klinik çalışma devam etmektedir (STGD1; NCT01367444).<sup>57</sup>

**Yaşa Bağlı Maküla Dejenerasyonu (YBMD):** CD59, YBMD nedenlerinden biri olarak düşünülen membran atak kompleksi oluşumunu %62 oranında azaltmaktadır. Gen tedavisi yoluyla uygulanacak CD59 kan damarlarında meydana gelen kontrolsüz büyümeyi önleyebilmektedir.<sup>58</sup>

Çözünebilir fms-like tirozin kinaz-1 (sFlt-1 ya da sVEGFR-1) bir tirozin kinaz proteindir ve damar büyümesine yol açan proteinleri inaktive eder. 2011 yılında yaş tip YBMD'de subretinal rAAV.sFlt-1 uygulamasının yapıldığı bir klinik çalışma başlatılmıştır. Dokuz olgunun (6 olgu çalışma grubu, 3 olgu kontrol) dahil edildiği bu çalışmada ilaçla ilişkili bir yan etkiye rastlanmamıştır. Çalışma grubunun olgularının 4'ü tedaviye iyi yanıt vermiştir ve bu tedavinin güvenli olduğu ve yaş tip YBMD tedavisinde potansiyel bir tedavi olabileceği bildirilmiştir.<sup>59,60</sup>

**Koroideremi:** Koroideremi X'e bağlı geçiş gösteren progresif retinal dejenerasyonla seyreden bir retina hastalığıdır. Etkilenen erkek bireylerde gece görmede azalma, periferik görme kaybı ve 6. dekatta total görme kaybı ile seyreder. Bu hastalıkta koroideremi (*CHM*) geninde mutasyon saptanmıştır. Preklinik çalışmalarda elde edilen cesaret verici sonuçlar sonrasında planlanan bir klinik çalışmada sağlam *CHM* geni vektör ile (AAV-REP1) subretinal alana enjekte edilmiştir. Altı olgunun 2'sinde erken dönemde görme artışı elde edilmiş ve bu artış tedaviden 3,5 yıl sonra da devam etmiştir. Diğer gözde herhangi bir iyileşme olmamıştır. Üç buçuk yıl sonunda tedavi edilen gözlerde görme artışı 21 harf (4 sıra) olarak belirlenmiştir. Kontrol gözlerde ise 18 harfe varan görme azalması meydana gelmiştir.<sup>61</sup>

## Sonuç

Gen tedavisi ile ilgili ilk sonuçlar iyi olsa da bazı soruların cevabı henüz bilinmemektedir. Viral vektörler gen taşımada diğer vektörlerden daha etkilidir. AAV2, RPE hücrelerine çok iyi uyum göstermesine rağmen yeni vektörler üzerinde çalışmalar devam etmektedir. Çünkü RPE dışında diğer retinal hücrelerle uyum sağlayacak özellikle de fotoreseptörlerle uyum sağlayacak yeni vektörlere ihtiyaç vardır. Ayrıca AAV2'nin mevcut kapasitesi 4,7 kb'dir ve bu kapasite daha büyük genlerin tedavi edilmesi için yeterli değildir. Vektör kapasitesi ile ilgili yapılan çalışmalar sonucunda geliştirilen nonviral vektörler ile hedeflenen genlerin sayısı arttırılmıştır ve LKK'de *CEP290*, SMD'de *ABCA4*, ve Tip 1 Usher sendromunda *MYO7A* gibi



genler de şu anda kapasite dahilindedir. Ancak yine de *USH2A* gibi daha büyük genler hala mevcut kapasiteyi aşmaktadır. Bu problemi aşabilmek için alternatif tedaviler üzerinde çalışılmakta ve DNA nanopartikülleri ile bu problemin düzeltilebileceği düşünülmektedir.

#### Etik

**Hakem Değerlendirmesi:** Editörler kurulu tarafından değerlendirilmiştir.

**Finansal Destek:** Yazar tarafından finansal destek alınmadığı bildirilmiştir.

#### Kaynaklar

- Ku CA, Pennesi ME. Retinal Gene Therapy: Current Progress and Future Prospects. *Expert Rev Ophthalmol*. 2015;10:281-299.
- Trapani I, Başı S, Simonelli F, Surace EM, Auricchio A. Gene Therapy of Inherited Retinal Degenerations: Prospects and Challenges. *Human Gene Ther*. 2015;26:193-200.
- Sahel JA, Marazova K, Audo I. Clinical characteristics and current therapies for inherited retinal degenerations. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2014;5:a017111.
- Berger W, Kloeckener-Gruissem B, Neidhardt J. The molecular basis of human retinal and vitreoretinal diseases. *Prog Retin Eye Res*. 2010;29:335-375.
- Dalkara D, Sahel JA. Gene therapy for inherited retinal degenerations. *C R Biol* 2014;337:185-192.
- Trapani I, Puppo A, Auricchio A. Vector platforms for gene therapy of inherited retinopathies. *Prog Retin Eye Res*. 2014;43:108-128.
- Sahel JA, Roska B. Gene therapy for blindness. *Annu Rev Neurosci*. 2013;36:467-488.
- Daiger SP, Bowne SJ, Sullivan LS. Perspective on genes and mutations causing retinitis pigmentosa. *Arch Ophthalmol*. 2007;125:151-158.
- Liu MM, Tuo J, Chan CC. Gene therapy for ocular diseases. *Br J Ophthalmol*. 2011;95:604-612.
- Friedmann T. A brief history of gene therapy. *Nat Genet*. 1992;2:93-98.
- Cao H, Molday RS, Hu J. Gene therapy: light is shining in the tunnel. *Protein Cell* 2011;2:973-989.
- Trapani I, Puppo A, Auricchio A. Vector platforms for gene therapy of inherited retinopathies. *Prog Retin Eye Res*. 2014;43:108-128.
- Balaggan KS, Duran Y, Georgiadis A, Thaug C, Barker SE, Buch PK, MacNeil A, Robbie S, Bainbridge JW, Smith AJ, Ali RR. Absence of ocular malignant transformation after sub-retinal delivery of rAAV2/2 or integrating lentiviral vectors in p53-deficient mice. *Gene Ther*. 2012;19:182-188.
- Bartholomae CC, Arens A, Balaggan KS, Yanez-Munoz RJ, Montini E, Howe SJ, Paruzynski A, Korn B, Appelt JU, Macneil A, Cesana D, Abel U, Glimm H, Naldini L, Ali RR, Thrasher AJ, von Kalle C, Schmidt M. Lentiviral vector integration profiles differ in rodent postmitotic tissues. *Mol Ther*. 2011;19:703-710.
- Yanez-Munoz RJ, Balaggan KS, MacNeil A, Howe SJ, Schmidt M, Smith AJ, Buch P, MacLaren RE, Anderson PN, Barker SE, Duran Y, Bartholomae C, von Kalle C, Heckenlively JR, Kinnon C, Ali RR, Thrasher AJ. Effective gene therapy with nonintegrating lentiviral vectors. *Nat Med*. 2006;12:348-353.
- Cao H, Koehler DR, Hu J. Adenoviral vectors for gene replacement therapy. *Viral Immunol*. 2004;17:327-333.
- Benihoud K, Yeh P, Perricaudet M. Adenovirus vectors for gene delivery. *Curr Opin Biotechnol*. 1999;10:440-447.
- Parks RJ. Improvements in adenoviral vector technology: overcoming barriers for gene therapy. *Clin Genet*. 2000;58:1-11.
- Hirsch ML, Agbandje-McKenna M, Samulski RJ. Little vector, big gene transduction: fragmented genome reassembly of adeno-associated virus. *Mol Ther*. 2010;18:6-8.
- Ehrhardt A, Xu H, Kay MA. Episomal persistence of recombinant adenoviral vector genomes during the cell cycle in vivo. *J Virol*. 2003;77:7689-7695.
- Cideciyan AV. Leber congenital amaurosis due to RPE65 mutations and its treatment with gene therapy. *Prog Retin Eye Res*. 2010;29:398-427.
- Herzog RW, Cao O, Srivastava A. Two decades of clinical gene therapy: success is finally mounting. *Discov Med*. 2010;9:105-111.
- Stein L, Roy K, Lei L, Kaushal S. Clinical gene therapy for the treatment of RPE65-associated Leber congenital amaurosis. *Expert Opin Biol Ther*. 2011;11:429-439.
- Han Z, Conley SM, Makkia RS, Cooper MJ, Naash MI. DNA nanoparticle-mediated ABCA4 delivery rescues Stargardt dystrophy in mice. *J Clin Invest*. 2012;122:3221-3226.
- Kollen WJ, Mulberg AE, Wei X, Sugita M, Raghuram V, Wang J, Fokkett JK, Glick MC, Scanlin TF. High efficiency transfer of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator cDNA into cystic fibrosis airway cells in culture using lactosylated polylysine as a vector. *Hum Gene Ther*. 1999;10:615-622.
- Bragonzi A, Dina G, Villa A, Calori G, Biffo A, Bordignon C, Assael BM, Conese M. Biodistribution and transgene expression with nonviral cationic vector/DNA complexes in the lungs. *Gene Ther*. 2000;7:1753-1760.
- Fink TL, Klepcyk PJ, Oette SM, Gedeon CR, Hyatt SL, Kowalczyk TH, Moen RC, Cooper MJ. Plasmid size up to 20 kbp does not limit effective in vivo lung gene transfer using compacted DNA nanoparticles. *Gene Ther*. 2006;13:1048-1051.
- Ziady AG, Gedeon CR, Muhammad O, Stillwell V, Oette SM, Fink TL, Quan W, Kowalczyk TH, Hyatt SL, Payne J, Peischl A, Seng JE, Moen RC, Cooper MJ, Davis PB. Minimal toxicity of stabilized compacted DNA nanoparticles in the murine lung. *Mol Ther*. 2003;8:948-956.
- Han Z, Conley SM, Makkia R, Guo J, Cooper MJ, Naash MI. Comparative analysis of DNA nanoparticles and AAVs for ocular gene delivery. *PLoS One*. 2012;7:e2189.
- Liang FQ, Anand V, Maguire AM, Bennett J. Intraocular delivery of recombinant virus. In: Rakoczy PE, ed. *Methods in Molecular Medicine: Ocular Molecular Biology Protocols*. Humana Press. Inc; Totowa, NJ; 2000:125-139.
- Cai X, Conley SM, Naash MI. RPE65: role in the visual cycle, human retinal disease, and gene therapy. *Ophthalmic Genet*. 2009;30:57-62.
- Redmond TM, Yu S, Lee E, Bok D, Hamasaki D, Chen N, Goletz P, Ma JX, Crouch RK, Pfeifer K. Rpe65 is necessary for production of 11-cis-vitamin A in the retinal visual cycle. *Nat Genet*. 1998;20:344-351.
- Li X, Li W, Dai X, Kong F, Zheng Q, Zhou X, Lü F, Chang B, Rohrer B, Hauswirth WW, Qu J, Pang JJ. Gene therapy rescues cone structure and function in the 3-month-old rd12 mouse: a model for midcourse RPE65 leber congenital amaurosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52:7-15.
- Bennicelli J, Wright JF, Komaromy A, Jacobs JB, Hauck B, Zelenia O, Mingozzi F, Hui D, Chung D, Rex TS, Wei Z, Qu G, Zhou S, Zeiss C, Arruda VR, Acland GM, Dell'Osso LF, High KA, Maguire AM, Bennett J. Reversal of blindness in animal models of leber congenital amaurosis using optimized AAV2-mediated gene transfer. *Mol Ther*. 2008;16:458-465.
- Acland GM, Aguirre GD, Ray J, Zhang Q, Aleman TS, Cideciyan AV, Pearce-Kelling SE, Anand V, Zeng Y, Maguire AM, Jacobson SG, Hauswirth WW, Bennett J. Gene therapy restores vision in a canine model of childhood blindness. *Nat Genet*. 2001;28:92-95.
- Stieger K, Lh riteau E, Moullet P, Rolling F. AAV-mediated gene therapy for retinal disorders in large animal models. *ILAR J*. 2009;50:206-224.
- Acland GM, Aguirre GD, Bennett J, Aleman TS, Cideciyan AV, Bennicelli J, Dejneka NS, Pearce-Kelling SE, Maguire AM, Palczewski K, Hauswirth WW, Jacobson SG. Long-term restoration of rod and cone vision by single dose rAAV-mediated gene transfer to the retina in a canine model of childhood blindness. *Mol Ther*. 2005;12:1072-1082.
- Le Meur G, Stieger K, Smith AJ, Weber M, Deschamps JY, Nivard D, Mendes-Madeira A, Provost N, P r on Y, Chel Y, Ali RR, Hamel C, Moullet P, Rolling F. Restoration of vision in RPE65-deficient Briard dogs using an AAV serotype 4 vector that specifically targets the retinal pigmented epithelium. *Gene Ther*. 2007;14:292-303.
- Narfstr m K, Vaegan, Katz M, Bragadottir R, Rakoczy EP, Seeliger M. Assessment of structure and function over a 3-year period after gene transfer in RPE65-/- dogs. *Doc Ophthalmol*. 2005;111:39-48.

40. Aguirre GK, Komaromy AM, Cideciyan AV, Brainard DH, Aleman TS, Roman AJ, Avants BB, Gee JC, Korczykowski M, Hauswirth WW, Acland GM, Aguirre GD, Jacobson SG. Canine and human visual cortex intact and responsive despite early retinal blindness from RPE65 mutation. *PLoS Med.* 2007;4:e230.
41. Jacobson SG, Acland GM, Aguirre GD, Aleman TS, Schwartz SB, Cideciyan AV, Zeiss CJ, Komaromy AM, Kaushal S, Roman AJ, Windsor EA, Sumaroka A, Pearce-Kelling SE, Conlon TJ, Chiodo VA, Boye SL, Flotte TR, Maguire AM, Bennett J, Hauswirth WW. Safety of recombinant adeno-associated virus type 2-RPE65 vector delivered by ocular subretinal injection. *Mol Ther.* 2006;13:1074-1084.
42. Simonelli F, Maguire AM, Testa F, Pierce EA, Mingozzi F, Bencicelli JL, Rossi S, Marshall K, Banfi S, Surace EM, Sun J, Redmond TM, Zhu X, Shindler KS, Ying GS, Ziviello C, Acerra C, Wright JE, McDonnell JW, High KA, Bennett J, Auricchio A. Gene therapy for Leber's congenital amaurosis is safe and effective through 1.5 years after vector administration. *Mol Ther.* 2010;18:643-650.
43. Testa F, Maguire AM, Rossi S, Pierce EA, Melillo P, Marshall K, Banfi S, Surace EM, Sun J, Acerra C, Wright JE, Wellman J, High KA, Auricchio A, Bennett J, Simonelli F. Three Year Follow-Up after Unilateral Subretinal Delivery of Adeno-Associated Virus in Patients with Leber Congenital Amaurosis Type 2. *Ophthalmology.* 2013;120:1283-1291.
44. Bainbridge JW, Mehat MS, Sundaram V, Robbie SJ, Barker SE, Ripamonti C, Georgiadis A, Mowat FM, Beattie SG, Gardner PJ, Feathers KL, Luong VA, Yzer S, Balaggan K, Viswanathan A, de Ravel TJ, Casteels I, Holder GE, Tyler N, Fitzke FW, Weleber RG, Nardini M, Moore AT, Thompson DA, Petersen-Jones SM, Michaelides M, van den Born LI, Stockman A, Smith AJ, Rubin G, Ali RR. Long-Term Effect of Gene Therapy on Leber's Congenital Amaurosis. *N Engl J Med.* 2015;372:1887-1897.
45. Jacobson SG, Cideciyan AV, Ratnakaram R, Heon E, Schwartz SB, Roman AJ, Peden MC, Aleman TS, Boye SL, Sumaroka A, Conlon TJ, Calcedo R, Pang JJ, Erger KE, Olivares MB, Mullins CL, Swider M, Kaushal S, Feuer WJ, Iannaccone A, Fishman GA, Stone EM, Byrne BJ, Hauswirth WW. Gene Therapy for Leber Congenital Amaurosis caused by RPE65 mutations: Safety and Efficacy in 15 Children and Adults Followed up to 3 Years. *Arch Ophthalmol.* 2012;130:9-24.
46. Mao H, Gorbatyuk MS, Rossmiller B, Hauswirth WW, Lewin AS. Long-term rescue of retinal structure and function by rhodopsin RNA replacement with a single adeno-associated viral vector in P23H RHO transgenic mice. *Hum Gene Ther.* 2012;23:356-366.
47. Gwiazda S, Salomon K, Appel B, Müller S. RNA self-ligation: from oligonucleotides to full length ribozymes. *Biochimie.* 2012;94:1457-1463.
48. Lewin AS, Drenser KA, Hauswirth WW, Nishikawa S, Yasumura D, Flannery JG, LaVail MM. Ribozyme rescue of photoreceptor cells in a transgenic rat model of autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Nat Med.* 1998;4:967-971.
49. LaVail MM, Yasumura D, Matthes MT, Drenser KA, Flannery JG, Lewin AS, Hauswirth WW. Ribozyme rescue of photoreceptor cells in P23H transgenic rats: long-term survival and late-stage therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000;97:11488-11493.
50. Hauswirth WW, Lewin AS. Ribozyme uses in retinal gene therapy. *Prog Retin Eye Res.* 2000;19:689-710.
51. Nagatsu T, Parvez SH, Bertolotti Roger. Progress in gene therapy: basic and clinical frontiers. Leiden:VSP; 2000.
52. Hays Dustin C. Canine study puts gene therapy for X-linked retinitis pigmentosa in sight. *National Eye Institute.* <<http://www.nei.nih.gov>>; 28.06.12. 12. Ghosh, Pallab. *Gene*
53. Duncan JL, LaVail MM, Yasumura D, Matthes MT, Yang H, Trautmann N, Chappelow AV, Feng W, Earp HS, Matsushima GK, Vollrath D. An RCS-like retinal dystrophy phenotype in Mer knockout mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003;44:826-838.
54. LaVail MM, Yasumura D, Matthes MT, Yang H, Hauswirth WW, Deng WT, Vollrath D. Gene Therapy for MERTK-Associated Retinal Degenerations. *Adv Exp Med Biol.* 2016;854:487-493.
55. Naash M. Nanoparticle-based gene therapy preserves vision in lab study for Stargardt disease. *Foundation Fighting Blindness.* Web: <<http://www.blindness.org>>; 22.07.12.
56. Nonviral DNA nanoparticles for ocular gene therapy to treat Stargardt's disease. *SciBX* 5(34);doi:10.1038/scibx.2012.911. Aug. 30 2012.
57. Parker MA, Choi D, Erker LR, Pennesi ME, Yang P, Chegarnov EN, Steinkamp PN, Schlechter CL, Dhaenens CM, Mohand-Said S, Audo I, Sahel J, Weleber RG, Wilson DJ. Test-Retest Variability of Functional and Structural Parameters in Patients with Stargardt Disease Participating in the SAR422459 Gene Therapy Trial. *Transl Vis Sci Technol.* 2016;5:10.
58. Gullagher KS. Gene therapy shows promise against age-related macular degeneration. April 29, 2011. Web: <<http://now.tufts.edu>>; 11.05.12.
59. Rakoczy EP, Lai CM, Magno AL, Wikstrom ME, French ME, Pierce CM, Schwartz SD, Blumenkranz MS, Chalberg TW, Degli-Esposti MA, Constable IJ. Gene therapy with recombinant adeno-associated vectors for neovascular age-related macular degeneration: 1 year follow-up of a phase 1 randomised clinical trial. *Lancet.* 2015;386:2395-2403.
60. Constable IJ, Blumenkranz MS, Schwartz SD, Barone S, Lai CM, Rakoczy EP. Gene Therapy for Age-Related Macular Degeneration. *Asia Pac J Ophthalmol (Phila).* 2016;5:300-303.
61. MacLaren RE, Groppe M, Barnard AR, Cottrill CL, Tolmachova T, Seymour L, Clark KR, During MJ, Cremers FP, Black GC, Lotery AJ, Downes SM, Webster AR, Seabra MC. Retinal gene therapy in patients with choroideremia: initial findings from a phase 1/2 clinical trial. *Lancet.* 2014;383:1129-1137.