

# BÖLÜM 46

## ÇOCUKLUK ÇAĞI NÖROLOJİK HASTALIKLARDA GEN TEDAVİSİ

Adnan YÜKSEL<sup>1</sup>

### GİRİŞ

Gen tedavisi, proteinin eksik veya hatalı üretimine neden olan, normal fonksiyonunu yapmayan bir geni düzeltmek amacıyla DNA veya RNA moleküllerinin, insan hücre, organ veya dokularına transfer işlemidir.<sup>1,2</sup> Günümüzde mevcut genin baskılanması veya fonksiyonun artırılması gibi gen tedavi yöntemlerindeki gelişmeler çocukluk çağı nörolojik hastalıklarının tedavisinde yeni açılımlara neden olmuştur.<sup>3,4,5</sup> Yapılan çalışmalar sonrası, istenen fonksiyonu sağlamak amacıyla oluşturulan gen dizisinin hücre içine verilmesi için spesifik viral vektörlerin, plazmidlerin, nanopartiküllerin, mikroRNA'ların istenilen şekilde dizayn edilmesi mümkün hale gelmiştir. Bu tür yeni yöntemlerle Spinal Müsküler Atrofi (SMA), Lizozomal depo hastalıkları, Duchenne Müsküler Distrofi (DMD), X'e bağlı adrenolökodistrofi gibi çocukluk çağı nörolojik hastalıkların tedavisinde önemli gelişmeler olmuştur. Ancak, Merkezi Sinir Sistemi (MSS)'nin oldukça karmaşık ve heterojen bir yapıya sahip olması, kan beyin bariyerinin mevcudiyeti; genin verilmesinde, istenilen hücreye ulaşmasında ve yeterince etkili olmasında halen çeşitli zorluklar mevcuttur.<sup>6,7</sup>

Günümüzde, kalıtsal hastalıkların veya kanser, enfeksiyon gibi edinsel hastalıkların tedavisinde, gen tedavisi, gen düzenleme ve gen susturma gibi moleküler teknikler kullanılmaktadır.<sup>3,4,7</sup> Gen tedavisi ve gen düzenleme işlemi hedef gen, hücre içerisine vektörler ile verilir. Vektörler hücre içine genetik malzemeyi ulaştırmak için kullanılan araçlardır. Gen tedavisindeki başarı büyük oranda gen parçasını taşıyan vektörlerin özelliğine bağlıdır. Başarılı bir vektör, DNA parçasını uygun bir şekilde, az toksisite ile hedef hücrelere ulaştırabilmektedir. Bu işlem *in vivo* veya *in vitro* yapılabilir. **In vitro gen tedavisinde;** hastadan alınan hücreler, hücre kültüründe çoğaltılır, istenilen gen bu hücrelere aktarılır, gen aktarımını sağlanan hücreler seçilerek hücre kültüründe çoğaltılır ve hastaya nakledilir. Bağışıklık sisteminin ret etmemesi için genellikle hastanın kendi hücreleri (otolog hücreler) kullanılır. Kullanılan vektörün, sadece hedeflenen hücrelere ulaşması ve o hücrelerde gen ifadesini göstermesi önemlidir.<sup>4,8</sup> Vektör seçiminde en önemli kriter etki ve güvenlidir. Çoğunlukla virüslerden oluşturulan vektörler özelliklerine göre sınıflandırılmaktadır.

<sup>1</sup> Prof. Dr., Biruni Üniversitesi, Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD., Çocuk Nörolojisi BD., ayuksel@biruni.edu.tr

*Idebenone*: Antioksidan özelliği taşıyan bu ilacın DMD hastalarında tüm akciğer fonksiyon testlerinde iyileşmeye neden olduğu saptanmıştır.<sup>37</sup>

DMD de hücre tedavileri henüz deneme aşamasındadır.

Duchenne müsküler distrofi için gen transferi çalışmaları da yapılmaktadır. Başlangıç düzeyde klinik çalışmalarda mikrodistrofin veya minidistrofin genlerini taşıyan rekombinant AAV vektörünün intravasküler verilmesi ile sistemik gen transferi tedavilerine başlanmıştır, ancak tedavinin 90. günü, verilen genin faaliyeti gözlenmemiştir. Gen transferinin önündeki en büyük engel hücrel bağışıklıktır.

### X e bağlı Adrenolökodistrofi

Çok uzun zincirli yağ asitlerinin birikimi ile sonuçlanan peroksisomal bir hastalıktır. Xq28 de lokalize ABCD1 geninde mutasyonlar sonucu ortaya çıkmaktadır. Son yıllarda hastaları tedavi için allojenik hematopoietik hücre nakline alternatif olarak gen tedavisi geliştirilmiştir. 17 hastada Lentiviral vektör kullanılarak ABCD1 geninin komplementer DNA'sı otolog CD34+ hücrelere nakledilmiş, 15 hastada iyileşme sağlanmış, her hangi bir yan etki gözlenmemiştir. Hayatta kalanların uzun süreli takipleri devam etmektedir. Diğer iki hastanın bir tanesinde belirtiler ilerlemiş, diğerinde yan etkiler gözlenmiş ve her iki hasta da ex olmuştur. Ayrıca adeno-associated virüs kullanılarak yapılan gen düzenleme tedavisi hayvan çalışmalarında başarılı olmuştur, ancak henüz insan çalışmalarına geçilmemiştir.<sup>38,39</sup>

### Mukopolisakkaridozisler

Glikozaminoglikanların yıkımı için gerekli enzimlerin yetersizliği sonucu oluşan lizozomal depo hastalıklarıdır. Günümüzde tip 1, 2, 4A, 6 ve 7 enzim replasman tedavisi veya hematopoietik hücre nakli ile başarılı bir şekilde tedavi edilebilmektedir.<sup>40,41</sup> Özellikle bugün için tedavi şansı olmayan tip 3 hastaları için

önümüzdeki birkaç yılda tamamlanmak üzere çalışmalara başlanmıştır. Lentivirüs vektörleri kullanılarak istenilen genler otolog hematopoetik kök hücrelerine ulaştırılmaktadır. Hastalığın diğer tiplerinde de uzun süreli tedavi için gen düzenleme tedavileri devam etmektedir.

Sonuç olarak, genetik hastalıkları gen tedavisi ile iyileştirme çalışmaları uzun yıllardan beri istenilen düzeye gelmemiş olmakla birlikte günümüzde yeni tedavi metotlarının geliştirilmesi ile önemli bir ivme kazanmıştır. Önümüzdeki süreçte hızlı bir şekilde bugünkü zorluklar aşarak kalıtsal ve edinsel tüm hastalıkların genetik tedavisinin mümkün olması beklenmektedir.

### KAYNAKLAR

1. Alnasser SM. Review on mechanistic strategy of gene therapy in the treatment of disease Gene. 2021Feb15;769:145246.
2. Privolizzi R, Chu WS, Tijani M, Ng J. Viral gene therapy for paediatric neurological diseases: progress to clinical reality. Dev Med Child Neurol. 2021 Apr 9. doi: 10.1111/dmnc.14885.
3. High KA, Roncarolo MG. Gene Therapy. N Engl J Med. 2019;381:455.
4. Flomenberg P, Daniel R. Overview of gene therapy, gene editing, and gene silencing. Uptodate. 2021.
5. Walther W, Stein U. Viral vectors for gene transfer: a review of their use in the treatment of human diseases. Drugs. 2000;60(2):249-71.
6. Piguet F, Alves S, Cartier N. Clinical Gene Therapy for Neurodegenerative Diseases: Past, Present, and Future. Hum Gene Ther. 2017;28(11):988-1003.
7. Penaa SA, Iyengara R, Rebecca S, et al. Gene therapy for neurological disorders: challenges and recent advancements. J Drug Targeting. 2020;28:111-128.
8. Alnasser SM. Review on mechanistic strategy of gene therapy in the treatment of disease. Gene. 2021;15:769:145246.
9. Walther W, Stein U. Viral vectors for gene transfer: a review of their use in the treatment of human diseases. Drugs. 2000 Aug;60(2):249-71.
10. Ojala DS, Amara DP, Schaffer DV. Adeno-associated virus vectors and neurological gene therapy. Neuroscientist. 2015Feb;21(1):84-98.
11. Weinberg MS, Samulski RJ, McCown TJ. Adeno-associated virus (AAV) gene therapy for neurological disease. Neuropharmacology. 2013;69:82-8.
12. Padhy SK, Takkar B, Narayanan R, Venkatesh P, Jalali S. Voretigene Neparvovec and Gene Therapy for Leber's Congenital Amaurosis: Review of Evidence to Date. Appl Clin Genet. 2020Nov 25;13:179-208.

13. Cehajic Kapetanovic J, McClements ME, Martinez-Fernandez de la Camara C, MacLaren RE. Molecular Strategies for RPGR Gene Therapy. *Genes (Basel)*. 2019;4;10(9):674.
14. Lidonni MR, Ferrari G. Gene therapy and gene editing strategies for hemoglobinopathies. *Blood Cells Mol Dis*. 2018May;70:87-101.
15. Makita S, Imaizumi K, Kurosawa S, Tobinai K. Chimeric antigen receptor T-cell therapy for B-cell non-Hodgkin lymphoma: opportunities and challenges. *Drugs Context*. 2019Feb 13;8:212567.
16. Karimian A, Azizian K, Parsian H, et al. CRISPR/Cas9 technology as a potent molecular tool for gene therapy. *J Cell Physiol*. 2019Aug;234(8):12267-12277.
17. Perez Rojo F, Nyman RKM, Johnson AAT, et al. CRISPR-Cas systems: ushering in the new genome editing era. *Bioengineered*. 2018;9(1):214-221.
18. Bi H, Yang B. Gene Editing With TALEN and CRISPR/Cas in Rice. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2017;149:81-98.
19. Morris KV. Long antisense non-coding RNAs function to direct epigenetic complexes that regulate transcription in human cells. *Epigenetics*. 2009;1;4(5):296-301.
20. Weinberg MS, Morris KV. Long non-coding RNA targeting and transcriptional de-repression. *Nucleic Acid Ther*. 2013Feb;23(1):9-14.
21. Lee BH, Collins E, Lewis L, et al. Combination therapy with nusinersen and AVXS-101 in SMA type1. *Neurology*. 2019; 93:640.
22. Chen TH. New and Developing Therapies in Spinal Muscular Atrophy: From Genotype to Phenotype to Treatment and Where Do We Stand? *Int J Mol Sci*. 2020; 21.
23. Matesanz SE, Curry C, Gross B, et al. Clinical Course in a Patient With Spinal Muscular Atrophy Type 0 Treated With Nusinersen and Onasemnogene Apeparovvec. *J Child Neurol*. 2020; 35:717.
24. Bodamer OA, Spinal muscular atrophy. *Uptodate*. 2021.
25. Finkel RS, Mercuri E, Darras BT, et al. Nusinersen versus Sham Control in Infantile-Onset Spinal Muscular Atrophy. *N Engl J Med*. 2017;377:1723.
26. Stevens D, Claborn MK, Gildon BL, Kessler TL, Walker C. Onasemnogene Apeparovvec-xioi: Gene Therapy for Spinal Muscular Atrophy. *Ann Pharmacother*. 2020Oct;54(10):1001-1009.
27. Dhillon S. Riskdiplom: First Approval. *Drugs*. 2020;80(17):1853-1858.
28. Heslop E, Turner C, Irvin A, et al. Gene therapy in Duchenne muscular dystrophy: Identifying and preparing for the challenges ahead. *Neuromuscul Disord*. 2021Jan;31(1):69-78.
29. Verhaart IEC, Aartsma-Rus A. Therapeutic developments for Duchenne muscular dystrophy. *Nat. Rev Neurol*. 2019;15:373-386.
30. Salmaninejad A, Valilou S.F, Bayat H, et al. Duchenne muscular dystrophy: An updated review of common available therapies. *Int. J Neurosci*. 2018;128:854-864.
31. Mendell JR, Rodino-Klapac LR, Sahenk Z, et al. Eteplirsen for the treatment of Duchennemuscular dystrophy. *Ann Neurol*. 2013;74:637.
32. Frank DE, Schnell FJ, Akana C, et al. Increased dystrophin production with golodirsen inpatients with Duchenne muscular dystrophy. *Neurology*. 2020; 94:e2270.
33. Dhillon S. Viltolarsen: First Approval. *Drugs*. 2020;80:1027.
34. Bushby K, Finkel R, Wong B, et al. Ataluren treatment of patients with nonsense mutation dystrophinopathy. *Muscle Nerve*. 2014;50:477.
35. McDonald CM, Campbell C, Torricelli RE, et al. Ataluren in patients with nonsense mutation Duchenne muscular dystrophy (ACT DMD): a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet*. 2017;390:1489.
36. McNally EM. Powerful genes--myostatin regulation of human muscle mass. *N Engl J Med*. 2004; 350:2642.
37. Buyse GM, Voit T, Schara U, et al. Efficacy of idebenone on respiratory function in patients with Duchenne muscular dystrophy not using glucocorticoids (DELOS): a double-blind randomised placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet*. 2015;385:1748.
38. Holley RJ, Wood SR, Bigger BW. Delivering Hematopoietic Stem Cell Gene Therapy Treatments for Neurological Lysosomal Diseases. *ACS Chem Neurosci*. 2019;10:18.
39. Sawamoto K, Chen HH, Almciga-Díaz CJ, Robert W, Mason RW, Tomatsu S. Gene therapy for Mucopolysaccharidoses. *Mol Genet Metab*. 2018;123:59.
40. Eichler F, Duncan C, Musolino PL, et al. Hematopoietic Stem-Cell Gene Therapy for Cerebral Adrenoleukodystrophy. *N Engl J Med*. 2017;377:1630.
41. Gong Y, Mu D, Prabhakar S, et al. Adenoassociated virus serotype 9-mediated gene therapy for x-linked adrenoleukodystrophy. *Mol Ther*. 2015;23:824.