

Moleküler biyoloji ve genetikteki gelişmelerin ışığında göz hastalıklarında ileri tanı ve tedavi

Şefik Güran (*)

ÖZET

Göz hastalıklarının birçoğu etiyolojik olarak birçok gen ve faktörün etkilendiği hastalıklar grubundadır. Moleküler biyoloji ve genetikteki gelişmeler göz hastalıklarında etiyoloji ile ilgili yeni bulguları ortaya koymaktadır. Bu yazıda göz hastalıkları içinde önemli bir yer tutan retinoblastoma, retinal distrofi ve maküler dejenerasyon olgularında ileri tanı ve tedavi yöntemleri içinde yer alan yeni kılcal damar oluşturma ile ilgili uygulamalar, gen tedavi protokolleri ve kök hücre çalışmaları tartışılmaktadır.

Anahtar kelimeler: *Gen tedavisi, göz hastalıkları, kök hücre tedavisi, maküler dejenerasyon, retinitis pigmentosa*

SUMMARY

Proceeded diagnosis and therapy in eye diseases under the light of developments in molecular biology and genetics

Most of the eye diseases are in the group of diseases, in which many genes and factors are affected. Recent improvements in molecular biology and genetics reveal new findings associated with the etiology. In this article applications, gene therapy protocols and studies about stem cell regarding neoangiogenesis, which is one of the proceeded diagnosis and therapy methods in cases with retinoblastoma, retinal dystrophia and macular degeneration that are among the main topics of ophthalmology are discussed.

Key words: *Gene therapy, eye diseases, stem cell therapy, macular degeneration, retinitis pigmentosa*

Giriş

Genetik hastalık veya sendrom olarak tanımlanan hastalıkların çoğunda dismorfik göz yapısı veya bu hastalığın bir komponenti olarak göz hastalıkları vardır (1,2). Genetik bir hastalıkta çoğu zaman erken yaşlarda katarakt, retinitis pigmentosa, glokom, retinoblastoma tanımlanabilmektedir. Yalnız başına bir hastalık tablosu şeklinde de karşımıza çıkabilir. Bu olguların önemli bir kısmında ise heredite önemli bir faktördür (1,3). Herediter tip göz hastalıklarında genellikle pozitif aile öyküsü, erken yaşlarda görülen göz problemleri dikkat çekmektedir (3). Genetikte iki vuruş hipotezi ilk kez herediter retinoblastoma olgularında açıklanmıştır. Bu hipotezde herediter retinoblastoma olgularında retinoblastoma (*Rb*) geninde bir alel aileden mutant olarak aktarılmakta, diğer alelde ise hızla ortaya çıkan mutasyona bağlı erken yaşta ortaya çıkan genellikle her iki gözün de tutulduğu tümörler oluşmaktadır. Her genetik hastalıkta olduğu gibi pozitif aile öyküsü de tanıya yaklaştırır. Hastalıktan sorumlu *Rb* genine ait mutasyonların tanımlanması hastalık tanısını kesinleştirir (4).

Ancak göz hastalıklarının çoğu pek çok genin etkilendiği (multigenik), birçok faktörün olaya karıştığı (multifaktöriyel) hastalık grubundadır. Bu hastalıklarda genetik tanı günümüz yöntemleri ile öylesine kolay değildir. Bu grup içinde yer alan retinal distrofiler dünyada her yıl 1.5 milyon kişinin kör olmasına neden olmaktadır. Retinal dejenerasyonda rolü olan retinitis pigmentosa önceleri gece körlüğü ile karakterize, daha sonra körlüğe kadar giden komplikasyonların ortaya çıktığı bir hastalıktır. Olgularda aile ağacı incelemesi ("pedigree") ile otozomal dominant, otozomal resesif ve X kromozomu ile kalıtım (X-Linked) formları tanımlanmaktadır. Retinitis pigmentozada 185 farklı genetik lokus suçlanmaktadır (5). Hüresel bazda retinada fotosensitif hücrelerde nasıl başladığı tam da belli olmayan programlı hücre ölümü (apoptoz) suçlanmaktadır. Olgularda apoptoz öncesinde

*GATF Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Aynı basım isteği: Dr. Şefik Güran, GATF Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Etilik-06018, Ankara

E-mail: sefguran@yahoo.com

Makalenin geliş tarihi: 07.01.2010 • **Kabul tarihi:** 25.02.2010

hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun arttığı gözlenmektedir. Bunun sonunda hidrojen peroksid, süperoksid dismutaz gibi reaktif oksijen moleküllerinin arttığı ortaya konmuştur. Hücre içi harabiyeti artıran bu moleküllerin ortama çıkmasına bağlı olarak hücre endoplazmik retikulum üzerinden apoptozu tetikleyen “glucose-regulated protein-78 (GRP78/BiP)”, “caspase-12”, “phospho-eukaryotic initiation factor 2 alpha (eIF2 alpha)”, ve “phospho-pancreatic ER kinase (PERK)” stres proteinlerini sentezler (6). Hücrede moleküler olarak bu değişikliklere DNA, RNA ve protein bazında aynı anda bakmak, ancak geliştirilen mikroarray teknolojisi ile mümkün olacaktır (7).

Mikroarray teknolojisi ile örnek nükleik asid materyalinde amaca uygun olarak hazırlanan problemler aracılığı ile bir anda, birçok örnekte, birçok bölgeye, daha ucuz olarak bakılabilir (7,8). Bu teknoloji ile birçok genin etkilendiği retinal dejenerasyon veya maküler dejenerasyon gibi toplumda sık gözlenen hastalıkların taranması gündeme gelmektedir. Bu yolla genetik değişikliklerin ortaya konması ileri tedavi protokollerinin uygulanabilirliğini artıracaktır. Günümüzde viruslar birçok göz hastalığının nedenidir. Bu olgularda viral etiolojinin ortaya konması da etken viral faktörlerin bir arada aranabileceği mikroçipler sayesinde mümkün olacaktır (9). Leber’in konjenital amorozisi ve juvenil tip retinitis pigmentosa toplumda görülme sıklığı az olan, ama etkilenen bireylerde önemli görme problemi oluşturan hastalıklar grubundadır. Bu hastalar için hazırlanan mikroçipler ile tüm genomda olası mutasyon/delesyon araması yapılabilecektir (10). Yaşa bağlı ortaya çıkan maküler dejenerasyon etiolojisinde rol alan genlerdeki mutasyonları gösterecek benzer çalışmalar vardır (11).

Günümüzde kılcal damarlanma (neovaskülogenezis) mekanizması büyük oranda ortaya konmuştur. Neovaskülogenezde vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve epidermal büyüme faktörünün (EGF) rolü ortaya konmuş, kök hücre ile neovaskülogenezis oluşturma mekanizması gösterilmiştir. Hücre harabiyetinde etken faktörler maküler dejenerasyon etiolojisinde ortaya konmaya başlanmıştır. Burada hücrede ortaya çıkan problemleri en aza indirmek için ortamda neovaskülogenezis oluşturma fikri ortaya atılmıştır. En çok çalışma kemik iliği dokusundan elde edilen mezenşimal kaynaklı kök hücreler ile bu dokuda kılcal damarlanma oluşturma esasına dayanmaktadır. Burada mezenşimal kaynaklı kök hücreler elde edilmesi kolay ve tamir dokusu oluşturmada önemli olmaları nedeniyle tercih edilmektedir (12,13). Bilindiği gibi bu tür tedaviler ilk kez miyokard enfarktüsü hastalarda yapılmış ve kalpte kök hücreler ile doku harabiyeti olan bölgede tamir dokusu oluşturulmuş, damarlanma yapılmıştır (14).

Kök hücreler ilk etapta embriyonik ve erişkin kök hücreler olarak ikiye ayrılmaktadır. Genellikle günümüzde elde edilme kolaylığı nedeni ile erişkin kök hücreler yaygın olarak kullanılmaktadır. Erişkinde krista iliyakadan alınan kök hücrelerin bir kısmı kan hücrelerini yapan hematopoietik kök hücre (“hematopoietic stem cell”) iken, bir kısmı tamir dokusu yapan mezenşimal kök hücrelerdir (“mesenchymal stem cell”). Mezenşimal kök hücreler doku hasarının olduğu yere gelerek tamir dokusu oluşturabilmekte, ortama VEGF veya EGF verilirse kılcal damar oluşumunu desteklemektedir (14,15). Deneysel çalışmalarda retina harabiyeti olan farelerde mezenşimal kök hücreler kök hücre naklinden sonra bu bölgeye göç etmişler, tamir dokusu oluşturmuşlardır (16). Kök hücre aktarıldığı dokuda önce hasarlı bölgeye gider, farklılaşır, burada fonksiyonlarını sürdürür. Günümüzde bu amaçla yapılan deneysel çalışmalarda embriyonik, nöral, mezenşimal ve retinal kök hücreler kullanılmaktadır. Bu çalışmalarla gözde retinaya benzer doku oluşturulmakta, sinaptik tekrar bağlanmalar (“reconnection”) oluşturulmakta ve görme kısmi olarak düzeltilmektedir (17).

Son 30 yılda geliştirilen rekombinan DNA teknolojisi ile iki farklı kaynaktan alınan DNA’ların birleştirilmesi mümkün olmuştur. Burada aktarılması istenen belli bir DNA bölgesi (örneğin insan *Rb* geni) onu hücreye taşıyacak uygun bir taşıyıcı vektöre (bir DNA virusu) aktarılır. Bu yolla gen tedavi protokolleri oluşturulmuş ve deneysel bazda uygulama alanı bulmuştur (18). Burada aktarılmak istenen geni istenilen hücrelere götürmesi gereken en uygun viral vektörün yapılması başarı için en önemli parametredir. Leber’in konjenital amorozisi retinal distrofiler içinde erken dönemde yer alan gruptandır ve görme kaybı, nistagmus, retinal disfonksiyon bulguları ile karakterizedir. Günümüzde bu hastalıkla ilgili 15 farklı gen ortaya konmuştur. Hastalıklarda genetik tanı ve buna bağlı gen tedavileri esastır (19). Leber’in konjenital amorozis olgularında “in vivo” deneylerde adenovirüslerden oluşturulan gen tedavi yöntemleri başarı ile uygulanmaktadır (20). Retinal dejenerasyon olgularında da benzer klinik uygulamalarda başarılı sonuçlar alınmaktadır. Bu konuda 2008 yılında üç farklı klinik çalışma yayınlanmıştır. Her üç çalışmada da vektör olarak adenovirüsler kullanılmış ve elde edilen başarılı sonuçlar sunulmuştur. Her üç çalışmada da vektöre bağlı bir yan etkinin ortaya konmaması bu tür çalışmaların başarısını gösteren önemli parametrelerdir. Çalışma yapılan birçok olguda da görme alanı düzelmiştir. Halen süren çalışmalarda bu sonuçları daha iyiye taşıyacak vektör dizaynları üzerinde durulmaktadır (21).

Gelinen noktada toplumda görülme sıklığı fazla olan hastalıklarda ileri tanı ve tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinin yolu moleküler biyoloji ve genetik bilgilerimizin artmasına bağlıdır. Bu yolla elde edilecek bilgiler göz hastalıklarında uygulama alanına girebilecek ileri tanı ve tedavi protokollerinin bulunmasını sağlayacaktır. Bu nedenle özellikle kök hücre tedavisi ve gen tedavisi yöntemleri umut vaat etmektedir.

Kaynaklar

1. Rimoin DL, Connor JM, Pyeritz RE, Korf BR. Emery and Rimoin's Principles and Practice of Medical Genetics. New York: Churchill Livingstone, 2007: 29-46.
2. Guran S, Torun D, Mutlu FM, Uysal Y, Ugurel MS, Bahce M. A new syndrome associated with absence of lower lid lacrimal punctum, ptosis, elevation deficiency of both eyes and mild facial dysmorphism. *Ophthalmic Genet* 2009; 30: 146-151.
3. Marin S. Inherited Eye Diseases: Diagnosis and Management. New York: Taylor and Francis Group, 2005: 46-104.
4. Poulaki V, Mukai S. Retinoblastoma: genetics and pathology. *Int Ophthalmol Clin* 2009; 49: 155-164.
5. Koenekoop RK, Lopez I, den Hollander AI, Allikmets R, Cremers FP. Genetic testing for retinal dystrophies and dysfunctions: benefits, dilemmas and solutions. *Clin Experiment Ophthalmol* 2007; 35: 473-485.
6. Yang LP, Wu LM, Guo XJ, Li Y, Tso MO. Endoplasmic reticulum stress is activated in light-induced retinal degeneration. *J Neurosci Res* 2008; 86: 910-919.
7. Guran S. Hastalıklara yeni bir tanı yaklaşımı: protein-çip teknolojisi. *Gülhane Tıp Derg* 2005; 47: 243-245.
8. Yoo SM, Choi JH, Lee SY, Yoo NC. Applications of DNA microarray in disease diagnostics. *J Microbiol Biotechnol* 2009; 19: 635-646.
9. Natarajan K, Shepard LA, Chodosh J. The use of DNA array technology in studies of ocular viral pathogenesis. *DNA Cell Biol* 2002; 21: 483-490.
10. den Hollander AI, Lopez I, Yzer S, et al. Identification of novel mutations in patients with Leber congenital amaurosis and juvenile RP by genome-wide homozygosity mapping with SNP microarrays. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; 48: 5690-5698.
11. Cantsilieris S, Schache M, Ashdown ML, Baird PN. Recent patents relating to diagnostic advances in age related macular degeneration (AMD). *Recent Pat DNA Gene Seq* 2009; 3: 102-113.
12. Torquetti L, Castanheira P, de Góes AM, Marcio N. Stem cells: potential source for retinal repair and regeneration. *Arq Bras Oftalmol* 2007; 70: 371-375.
13. Guran S. Kalp yetmezliğinde anjiyogenezis ve gen tedavisi. *Gülhane Tıp Derg* 2004; 46: 84-87.
14. Naldini L. Medicine. A comeback for gene therapy. *Science* 2009; 326: 805-806.
15. Baker PS, Brown GC. Stem-cell therapy in retinal disease. *Curr Opin Ophthalmol* 2009; 20: 175-181.
16. Castanheira P, Torquetti L, Nehemy MB, Goes AM. Retinal incorporation and differentiation of mesenchymal stem cells intravitreally injected in the injured retina of rats. *Arq Bras Oftalmol* 2008; 71: 644-650.
17. Cremers FP, Collin RW. Promises and challenges of genetic therapy for blindness. *Lancet* 2009; 374: 1569-1570.
18. Chung DC, Lee V, Maguire AM. Recent advances in ocular gene therapy. *Curr Opin Ophthalmol* 2009; 20: 377-381.
19. Montana CL, Corbo JC. Inherited diseases of photoreceptors and prospects for gene therapy. *Pharmacogenomics* 2008; 9: 335-347.
20. Smith AJ, Bainbridge JW, Ali RR. Prospects for retinal gene replacement therapy. *Trends Genet* 2009; 25: 156-165.
21. Chung DC, Traboulsi EI. Leber congenital amaurosis: clinical correlations with genotypes, gene therapy trials update, and future directions. *J AAPOS* 2009; 13: 587-592.