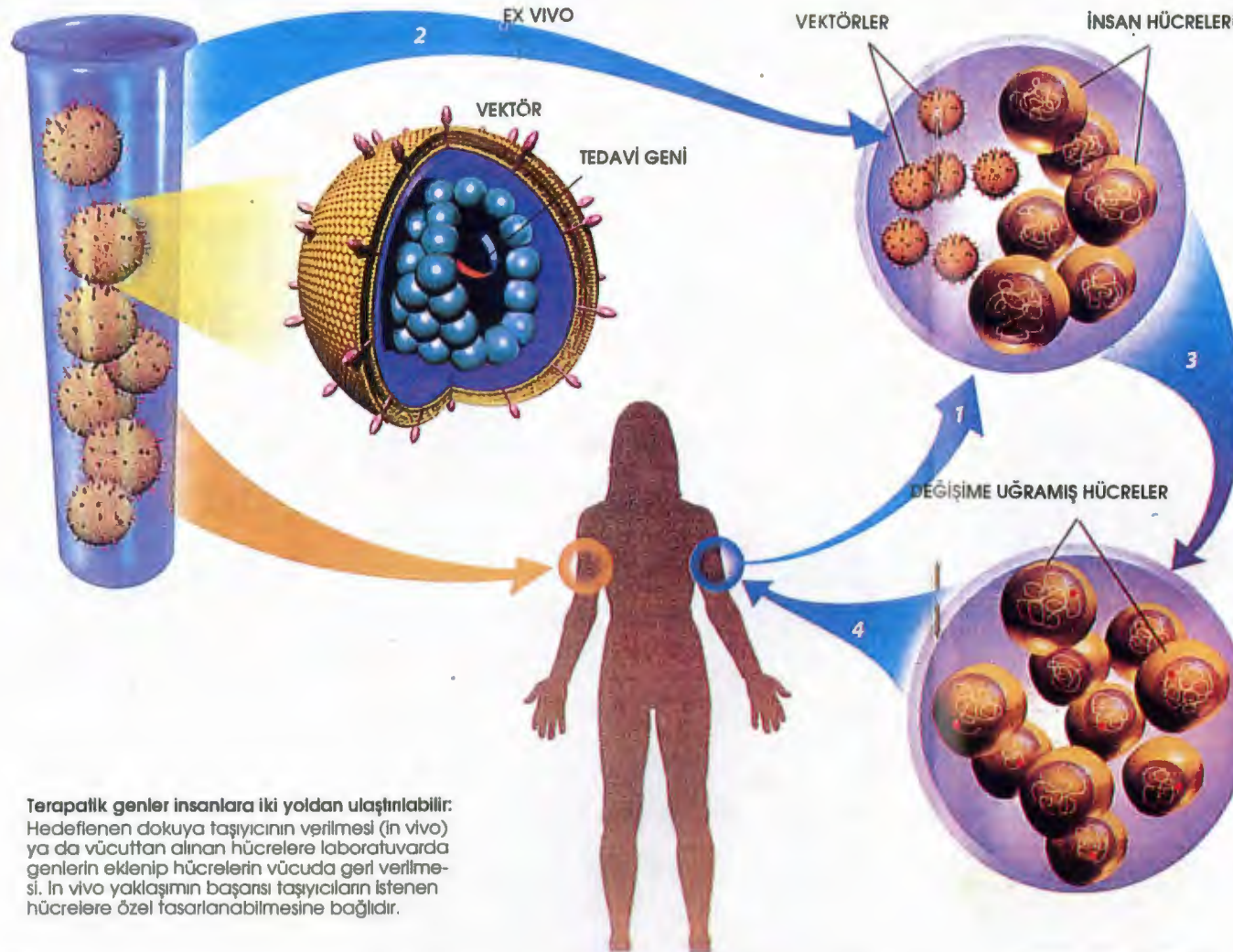


Sinir Sistemi Tedavisinde Gen Terapisi

Doğal virüsler zararlı olsa da bilimadamları bunları uysallaştırıp terapitik geni hücelere, hücreye zarar vermeden ulaştıran mikroskobik Truva atları haline getirebilmektedirler.



Terapitik genler insanlara iki yoldan ulaştırılabilir: Hedeflenen dokuya taşıyıcının verilmesi (in vivo) ya da vücuttan alınan hücelere laboratuvarca genlerin eklenip hücrelerin vücuda geri verilmesi. In vivo yaklaşımın başansı taşıyıcının istenen hücelere özel tasarlanabilmesine bağlıdır.

*Doç. Dr. Adil Denizli
Hacettepe Üniversitesi Kimya Böl. Biyokimya ABD
Ahmet Gürzumar
Hacettepe Üniversitesi Biyomühendislik ABD*

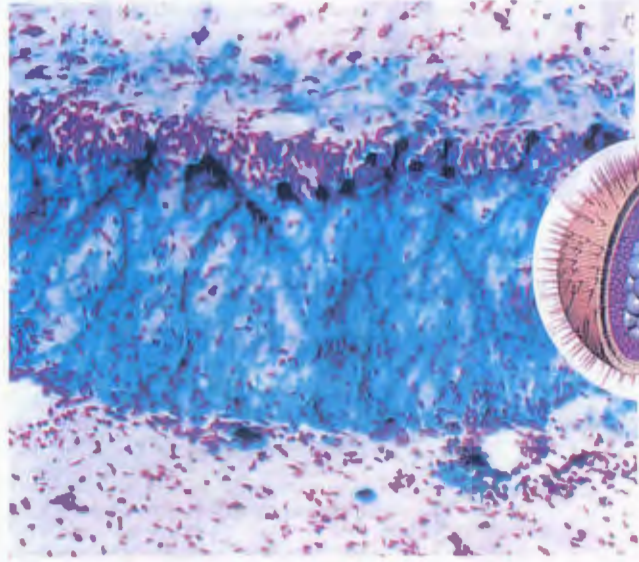
Çogu insan kronik bir hastalığa yakalanmaktan korkar. Nörolojik hasarların giderilememesi ise sinir hastalıkları ile ilgili endişeleri daha da artırır. En iyi bilinen sinir hastalıklarından olan Parkinson ve amyotropik lateral skleroz vücudun kontrolünün elden çıkmasına neden

olur. Alzheimer hastalığı da beyin entelektüel kısmına zarar verir.

Ne yazık ki, bu hastalıklarla mücadele için yapılan tıbbi araştırmalarda beyin ve omurganın çok hassas olması nedeni ile fazla ilerleme kaydedilememiştir. Diğer hücre türlerinin aksine, yetişkinlerde merkezi sinir sisteminde bulunan nöronlar (sinir hücreleri) bölünme yeteneğine sahip değildirler. Bu nedenle hasar görmüş beyin dokusunun ya da omurlüğün kendi kendine düzelmesi beklenemez.

Kaydedilen bilimsel ilerlemeler ise artık bu durumu değiştirecek düzeye gelmektedir. Hasarlı dokudan kaybedilmiş hücrelerin yerine nöron nakli yapmak ya da kalan nöronların etkin alanlarını ve yenilenme yeteneklerini arttıracak kimyasalların kullanılması nörolojide üzerinde çalışılan yararlı yöntemlerden olsa da uygulamanın rutinleşmesi yıllar alacaktır. Nöron kaybının önlenmesi ise gerçekleştirilmesi daha kolay bir hedefdir.

Geçen yıllarda araştırmacılar nöronların darbe, nöbet, kafa yaralan-



Fare beyninin hipokampal bölgesindeki nöronlara (parlak mavimsi kısım) kendilerini taşıyan herpes virüsleri verilmiştir. Virüslerin bu yeteneklerinin kullanılması ile beyin hastalıklarının genler ile tedavisi olasıdır.



HERPES VİRÜSÜ
HİPPOCAMPUS



ması. Parkinson ya da Alzheimer hastalıkları gibi etkiler sonucu nasıl öldüğü hakkında birçok bilgi elde ettiler. Bu bilgiler ışığında tehdit altındaki nöronları korumak için ilaç kullanımı ya da nörolojik bir kriz sırasında hassas hücreleri korumak için beyin ısısını düşürme önerileri yapılmıştır. Nöronların hastalıklara nasıl yenik düştüğü ile ilgili yeni bilgilerin ışığında nöronların genlerinde değişiklik yaparak onları koruma şansı doğmuştur.

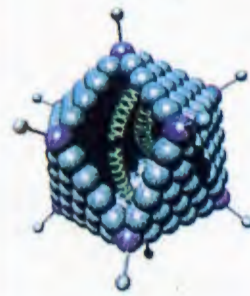
Hücreleri Kurtarmak İçin DNA'nın Yeniden Programlanması

Genler hücreleri, enzim gibi özel proteinler yapmaları için yönlendirirler. Örnek olarak sinir hücreleri, iki nöron arasındaki sinaptik boşluk adı verilen boşluktan kimyasal sinyalleri taşıyan nöroiletken maddeleri sentezleyen enzimleri üretirler. Hasarlı nöronları hedefleyen gen terapisi, nöronları olası tehditlerden koruyacak bir proteinin sentezini sağlayabilir.

Araştırmacıların bu aşamada karar vermesi gereken konu hangi tür proteinlerin tedavide en çok yararlı olacağıdır. Kimi zaman bir beyin proteininin eşdeğerinin üretilmesi amaçlanır, kimi zamanda diğer dokularda ya da canlılarda bulunan bir proteinin eklenmesi ulaşılacak istenen hedeftir. Diğer bir yol ise nöronların kendini öldürmesine ve hasara yol açan proteinlerin sentezini kısıtlamaya çalışmaktır.

Nöronları hasar görmekten kurtarması olası genlerin listesine sahip olmak yeterli değildir. Asıl sorun bu genlerin nasıl hedefe ulaştırılacağıdır. Prensipte ilgili saf DNA kısmını beyin dokusuna enjekte etmek çözüm

gibi görünse de nöronlar çıplak DNA'yı ortamdan verimli bir şekilde alamazlar. DNA'yı lipozom adı verilen yağ kabarcıklarına yerleştirip yollamak, lipozomların hedeflenen nöronların zarlarına yapışarak DNA'yı zarları içerici bırakmaları sayesinde daha iyi bir tekniktir. Sebebi tam olarak anlaşılmasa da dışarıdan DNA'yı



	Retrovirüsler	Adenovirüsler	Adeno grubu virüsler	Lipozomlar	Çıplak DNA
Bazı Avantajları	Genleri kromozomlara etkili bir şekilde entegre ederler. Bu şekilde kararlılığın uzun sürmesini sağlarlar.	Çoğu önemli hastalıklara sebep olmazlar ve gen taşıma kapasiteleri yüksektir.	Genleri başan ile kromozomlara entegre ederler, hiçbir hastalığa sebep olmazlar.	Virüs genleri olmadığından hastalığa sebep olmazlar.	Lipozomlarla benzerdir, aşılama yararlı olması umulmaktadır.
Bazı Dezavantajları	Genlerin düzensiz entegre olması alıcı hücrenin genlerine zarar verebilir, sadece bölünen hücrelerde etkilidirler.	Genlerin etkinliğinin geçici olması sonucu uyumsuzluk ve immün sistem tepkisi oluşması.	Gen taşıma kapasiteleri düşüktür.	Virüslere göre gen iletim verimleri düşüktür.	Gen iletiminde verimsizdirler ve çoğu dokuda kararsızdır.

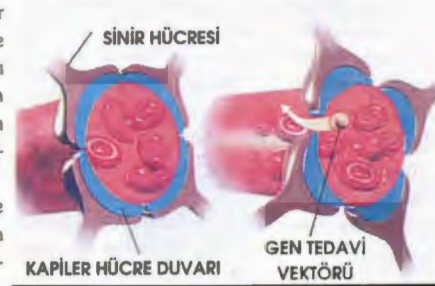
alan hücre bunun bir kısmını çekirdeğine alır ve kendi DNA'sı çekinik kaldığından terapeütik proteinin sentezini gerçekleştirir.

Genleri hücrelere yerleştirmek için daha da iyi bir yol, virüslerin kullanılmasıdır.

Tipik bir viral enfeksiyonda virüsler, yeni viral partikülleri canlıya sentezletmek için kendi genetik kodlarını canlıların hücrelerine sokarlar. Doğal virüsler zararlı olsa da bilimadamları bunları uysallaştırıp terapeütik geni hücrelere, hücreye zarar vermeden ulaştıran mikroskobik Truva atları haline getirebilmektedirler. Bilimadamları merkezi sinir sistemine gen terapisi uygulamak için adeno ve herpes virüslerini de içeren yeni virüs türleri üzerinde çalışmaktadırlar.

Parkinson Hastalığı

Dağıtım araçları adı verilen viral taşıyıcılar ile yapılan deneyler gen terapisinin sinir sisteminde iyi sonuç vereceğini göstermiştir. Araştırmanın ümit veren bir alanı da Parkinson hastalığıdır. Hastalar beyin substantia nigra adı verilen kısmının zamanla özelliğini



Kan-Beyin Bariyeri: Beyin ile kılcal damarları ayıran hücre yığını olup, hücrelerin arasında bulunan küçük boşluklar sadece küçük moleküllerin geçişine izin verirler. Viral taşıyıcıların geçmesi için boşlukların geçici olarak büyütilmesi olasıdır.

kaybetmesi sonucu motor kontrolün ve koordine hareketlerin başlatmada ve gerçekleştirilmede zorluk çekerler. Ayrıca hastalarda Parkinsona özgü titreme de görülür.

Parkinson hastalığı nöroiletken depamini salgılayan nigral nöronların ölümü ile başlar. Karışık sebeplerden dolayı bu nöronlar hücreye zarar veren reaksiyonlara sebep olan oksijen radikalleri ve aktif kimyasal gruplar salgılamaya başlarlar. Substantia nigranın yaşlanmayla zarar görmesi doğaldır ve yaşlılardaki titremeyi de açıklar. Bazen de Parkinson hastalığı beyin dokusunda çevresel toksinler yüzünden fazla oksijen radikali bulunan ya da radikal seviyesi düşük olsa da antioksidan savunması güçsüz kişilerde görülür.

Parkinson hastalığı semptomlarının görülmesine

yol açan dopamin azlığını gidermek için dopamin ilavesi, geçici bir çözüm olsa da uygulanmaktadır. Dopamin bir protein değildir, ama onu sentezleyen enzimler proteinlerdir. Öyleyse bu proseteki önemli bir enzimin (titrosin hidroksilaz) üretimini artırılması, substantia nigranın dopamin sentezleyen hücreleri yaşadığı sürece, dopamin üretimini artırır. Dopaminin temeli ve etkili olan L-dopa'nın kullanımı ise beyinde yan etkilerin oluşmasına neden olmuştur. Gen terapisinin çekici tarafı ise substantia nigrada görülen düzelmelerdir.

Sürdürülen ortak çalışmalarda 5 araştırma ekibi cerrahi müdahale ile bazı Parkinson hastalığı özellikleri oluşturulmuş farelerdeki semptomları gidermede herpes virüslerinin kullanımının başarılı olduğunu yayınlamışlardır. Gen terapisi uygulaması düzeltici enzimin sentezini arttırmış, buna paralel artan dopamin seviyesi farelerde görülen hareket düzensizliklerini azaltmıştır.

Diğer bir çalışmada ise fare fetüslerinin substantia nigrasından alınan nöronlar kullanılmıştır. Genç ve sağlam nöronlar büyüyebildiği ve çevresindeki hücreler için bile dopamin üretebilmesi sayesinde ulaşılan başandan sonra bilinmeyen bir nedenden dolayı aşılana nöronlar apoptösis adı verilen bir iç yıkım süreci başlatmışlardır. Araştırmacılar bu eğilimi durdurmak için nakledilen nöronlara iç yıkımı baskılayan bir protein olan bcl-2'yi üretmeleri için gen terapisi uyguladılar. 4 hafta sonra alınan sonuçlarda standart nöronların verildiği farelerde sadece biraz görülen düzelmeye, gen terapisi görmüş nöronları alan farelerde ise önemli derecede sağlanmıştı. Parkinson hastalığının tedavisinde eklenen hücrelerin etkinliğinin yıllarca sürmesi istenmektedir. Ağır Parkinson hastalarında insan fetüsünden alınan hücre-

Nöbet ya da darbe sırasında sinaptik boşlukta nöroiletken glutamatın (mavi) aşırı miktarda birikmesi krizi beraberinde getirir. Alıcı nöronda bulunan glutamat reseptörlerinin kalsiyum iyonlarının hücre içine geçişine izin vermesi ile hücrede kalıcı hasar oluşur. Gen terapisi ile glukoz taşınımının hızlandırılması ya da kalsiyumu bağlayan bir proteinin sentezinin artırılması olası çözümlerdir.



lerle yapılan deneylerde karmaşık sonuçlar alınmıştır. Hücrelere yapılacak gen terapileri ile daha iyi sonuçlar alınması ise olasıdır.

Darbe ve travmalar

Gen terapisi Parkinson gibi beyinde tahribat yaratan hastalıkların dışında oksijen eksikliği, nöbet ve darbelerde oluşan doku hasarını gidermede de etkilidir. Çok güçlü nöroiletken olan glutamat'a duyarlı nöronlar beyinin en değerli hücreleri olarak kabul edilebilirler. Glutamat alıcı nöronların kalsiyum almasını sağlar ve böylece sinapsların uyarılabilirliklerini uzun süreli olarak değiştirir. Bu işlemin hafızanın hücresel temeli olduğu düşünülmektedir.

Nöbet ya da darbelerde ise nöronlar sinapslardan glutamati ve beyin hücrelerini kaplayan kalsiyum dalgasını temizleyemezler. Sinapslarda ve nöronlarda oluşan ciddi hasarı oksijen radikallerinin yarattığı tahribat ve hücre ölümleri izler.

Gen terapisi ile bu yıkım mekanizmasının durdurulması için yapılan deneylerde petri kabındaki fare beyin hücresi kültürüne, hücre zarından glikoz iletimi yapan bir proteinin geninin yerleştirildiği geliştirilmiş herpes virüsü verilir. Bu tür bir terapi ile nörolojik krizdeki bir hastanın zor durumdaki nöronlarının fazla kalsiyumun atılması gibi işlemlerde fazlasıyla ihtiyaç duyduğu enerjiyi alması amaçlanır.

Yapılan deneylerde nöronlara verilen glikozun hücre metabolizması üzerindeki olumlu etkisi gözlenmiştir. Her ne kadar darbe ya da nöbetin ne zaman geleceği belli olmasa da viral taşıyıcının önceden verilmesi, olası hasarı azaltmaktadır. Yine de darbe ya da nöbetten birkaç saat sonra viral taşıyıcının verilmesi farelerde beyin hasarını azaltmış olup, gelecekte bu yöntemin insanlarda da uygulanabileceği umudunu doğurmuştur.

Gen terapisi sinir hücrelerinin travma ya da darbe sonrası kendi kendilerini yok etmelerini önlemede de kullanılmaktadır. İç yıkım mekanizmasını baskılayan bir gen olan bcl-2'yi taşıyan herpes vi-

Sinir Hücrelerine Genlerin Ulaştırılması İçin Kullanılan Virüsler

Adenovirüs: Genelde solunum sistemi hastalıklarına yolaçan bir (patojen) virüs olup, nöronları enfekte edebilmektedir. Doğal hali ile kullanımı hücre hasarına ve immün sistemin tepkisine sebep olacağından etkinliğinin azaltılması gereklidir.

Herpes virüsü: Genel olarak soğuk algınlığı hastalıklarının sebebidir ve hastalıklar arasında duyu sinirleri üzerinde pasif durumda bekler. Genleri sinir hücrelerine rahatlıkla ulaştırılmalarına karşın hücreye zarar vermemeleri için üzerlerinde çalışılması gereklidir.

Retrovirüs: Kendi genlerini enfekte ettiği hücrenin DNA'sına sokar. Çoğu retrovirüs sadece düzenli olarak bölünen hücreleri enfekte eder ve bu sebepten dolayı nöronlarla kullanılamazlar. Diğer grup retrovirüsler (Lentivirüs grubu; HIV-AIDS virüsü) bölünmeyen hücreleri de enfekte edebildiğinden sinir sistemin gen terapisinde kullanılabilirler.

Adeno-grubu virüsler: Sinir hücrelerine zarar vermedikleri gibi immün sistemde uyarmazlar. Diğer virüslere göre küçük olmaları kan-beyin bariyerindeki küçük deliklerden geçmelerini kolaylaştırır da genetik bilgi taşıma kapasitelerinin az olmasına yol açmaktadır.

rüsünün farelere çarbeden sonra verilmesi bile farelerin beynini zarardan korumuştur.

Gen terapisinin sinir sisteminde kullanılmasında atılan cesaretlendirici adımlara rağmen viral taşıyıcıların kullanımı gibi problemler hala vardır. Fazla pasifleştirme virüsün hücreler üzerindeki etkisini yok edecek, az pasifleştirme ise nöronları tahrip edecektir. Şu anda kullanılan virüslerdeki sorunların giderilmesi gen terapisinin insanlar üzerinde güvenle denenmesinin birinci koşuludur.

Diğer bir zorluk ise beyine ulaşmaktır. Kafatasına delik açılarak ilacın hasarlı bölüme verilmesi yöntemi hayvanlarda kullanılmasına rağmen insanlarda, rutin bir tedavi şekli olduğundan dolayı, daha az yıpratıcı bir yol olan taşıyıcıyı damardan verme yöntemi uygulanmak istenmektedir. Taşıyıcının sadece sinir dokusuna girmesi sağlansa da kan-beyin bariyerini aşması olası görünmemektedir. Bu da viral taşıyıcının bir yarar sağlayamadık kaybı demektir.

Bu zorluklar aşılabilmek için viral taşıyıcı nöronlara ulaşsa da daha ileriye gidemez. Çoğalabilen virüsler tüm beyin dokusuna dağılabilse de bağışıklık sisteminin zararlı tepkisine neden olurlar. Kullanımı güvenli bir virüs sınırlı bir alana yayılır ve doğal olarak sınırlı

sayıda nörona ulaşır. Birkaç hafta süren etkinlik süresi de yavaş ilerleyen, fakat yıkım yaratan sinirsel hastalıkların tedavisinde yetersiz kalmaktadır. Bu da araştırmacıların viral sistemlerin hız, etkinlik ve dayanıklılık parametrelerinin geliştirilmesi üzerinde çalışmaları gerektiği anlamına gelmektedir.

Gen terapisinin geleceği

Birçok olumsuzluğa rağmen elde edilen başarılar, beyin için gen terapisinin ileride sıradan bir işlem olacağını kanıtı olarak kabul edilmektedir. Yetişkin fareler üzerinde yapılan bir deneyde farelere, sinir gelişme faktörü üretecek fetüs nöronları verilmiş ve bunlar farelerin beyinlerinin öğrenme ve hafıza bölgelerine hedeflenmişlerdir. Sonuçta farelerin yaşlanma ile azalan öğrenme ve hafıza özelliklerinin tedaviden sonra yaşanmaya karşı korunduğu kaydedilmiştir.

Elde edilen bu başarıdan sonra gen terapisinin sadece hastalıklarda değil, yaşlı insanların ve hatta gençlerin zeka, hafıza ve koordinasyon özelliklerinin iyileştirilmesinde de kullanılması umudu doğmuştur. Elbette öncelik sağlıklı insanların beyinlerinin geliştirilmesi değil, sinirsel hastalıkların tedavisidir. ●