

# Kanserde Gen Terapi



Bir AIDS hastasının ikizi, genetik olarak değiştirilecek ve kardeşine verilecek hücreleri bağışlıyor.

*Doç. Dr. Adil Denizli  
Hacettepe Üniversitesi  
Biyokimya Anabilim Dalı  
Sevil Dinçer  
Hacettepe Üniversitesi  
Biyomühendislik A.B.D..*

Yapılan bir araştırmaya göre 1997 yılında 1.38 milyon Amerikalıda kanser teşhis edileceği tahmin edilmektedir. Maalesef, ameliyat, ışın tedavisi, kemoterapi gibi mevcut tedavi yöntemleri bunların neredeyse yarısını tedavi edememektedir. Bu ciddi hastalığın tedavisi için bilimadamların tümörlerle savaşabilecek vücut genlerinin kullanıldığı gen terapisine yönelmektedirler.

Kanser mutasyonla edinilmesinin yanısıra birçok çeşitli de sigara kullanımı ve yüksek dozda radyasyona maruz kalınması sonucu ortaya çıkar. Bazen de tek neden kötü şanstır.

Hastalıklı hücreleri kurtarmak amacıyla tedavi edici bir protein elde edilmesine dayanan yöntem,

bakteriler, virüsler, bitkiler ve insanlar aynı genetik kodu paylaştıkları için mümkündür. Araştırmacılar belirli genlerin hayatın temel süreçlerini nasıl kontrol ettiğini ve hastalıklardaki rollerini tespit etmişlerdir. Bundan dolayı gen transferi yapılabilmekte ve tedavi geliştirilebilmektedir.

Kanser tedavisinde, deneysel gen terapileri değişik şekillerde olabilir, bazılarının bölünmeyen kanser hücreleri ile toksik moleküller veren genleri içerir. Diğerleri ise, edinilmiş genetik mutasyonları düzeltmeye yardım eder. Buradan akla bir takım sorular gelir, acaba tümörler bağışıklık sisteminin tanıma ve tahrip özelliğinden nasıl sakınıp yayılıyorlar, nasıl yeni bir kan desteği kazanıyorlar ve de yaşamlarını

sürdürmek, yayılmak için engelleri nasıl aşıyorlar.

Hekimler, müdahalelerini değerlendiren gen terapisi tekniklerinden yararlanmaktadır. Örneğin günümüzde kanserde kemik iliğinin değiştirilmesinde geleneksel tedavilere bel bağlanmıştır. Bu yöntem sıklıkla kan kanseri (lösemi) ile savaşmada kullanılır. Onkolojistler tarafından lösemi hastalarından kemik iliği alınır, hastalara yüksek dozlarda kemoterapi ya da radyasyon uygulanır ki bu yüksek dozlar normal kemik iliğine zarar verdiğinden hastaya kanser kadar kötü etki yapar. Tedaviden sonra korunmuş kemik iliği hastaya tekrar verilir ve hasta kurtarılmış olur. Bu metodla lösemi tedavisi edilebilmektedir ancak hastalık bazı yollarla

tekrarlayabilmektedir. Bu durumun sebebi araştırıldığında bir takım sorularla karşılaşmaktadır.

-Yüksek dozdaki radyasyon tedavileri kanser hücrelerini öldürmede bazen başarılı olamıyor mu?

-Tedavi süresince koruma altına alınan hastalık taşımayan kemik iliği, belirlenemeyen lösemi hücreleri mi taşıyor?

Bilimadamları bu olasılıktan ayırt edilebilir için toksik olmayan ve daimi bir etiket geliştirme ihtiyacı duymuşlardır. Böylece ayrılan kemik iliği hücreleri işaretlenecek ve daha sonra bunlar vücutta tanımlanabilecektir.

Memphis'teki St. Jude Çocuk Araştırma Hastanesinde Malcolm K.Brenner 1991 sonunda bu işleme başlamıştır. İnsanlarda bulunmayan bir bakteri DNA'sının tek bir dizisini hastaların ayrılmış kemik iliğine yerleştiren Brenner, iyileştirilen hastanın kanında ve kemik iliğinde bu bakteriyel DNA'yı transplantasyonu sonrası "belirli" geliştirmiş olacağını düşünmüştür.

Kanserin bazı çeşitlerinde transplantasyondan önce kemik iliğini bulaşıcı kanser hücrelerinden kurtarmak için ek tedaviler gerekmektedir. Bu amaçla ilk "gen işaretleme" çalışmaları en iyi çözümü bulmada yardımcı olur. Sonuç olarak hekimler tedavi sonrası temizlenebilir.

#### Gen aşılama

Bilimadamları 30 yıldan fazla bir süredir bağışıklık sisteminin kansere karşı koymasını sağlamada, immünoterapi ve aşılama tedavisi gibi yöntemler çalışmışlardır. Hasta vücudundaki kanser hücrelerinin tümör bölgesinden kaçmaları ya da klinik olarak hastalığın hafifletilme-

sinin ardından kanserin tekrarlama-sı durumlarında bağışıklık sistemi kanser hücrelerini yok edebilir. Problem, bağışıklık sisteminin bu hücreleri tanıyamamasıdır. Günümüzde, kanser hücrelerini belirli genlerle işaretleyip onları bağışıklık sistemi tarafından tanınacak hale getirmek mümkündür.

Bir gen terapisinde, kod çözücü sitokinlerden oluşan genlerle kanser hücreleri modifiye edilir. Çalışmada, tümör hücrelerinin içine sitokin yapıcı genler yerleştirilir (T hücre büyüme faktörü interleukin-2 ya da granülosit-makrofaj koloni-uyarıcı faktör, GM-CSF denilen dendritik hücre aktivatörü). Değiştirilmiş tümör hücreleri, hastanın derisine ya da kasına verilir. Bunlar tümör bölgesindeki etkin immün hücre aktivitesini bozarlar, aktive hücreler kansere karşı daha dikkatli olurlar, vücutta dolaşarak diğer tümörlerle etkileşirler.

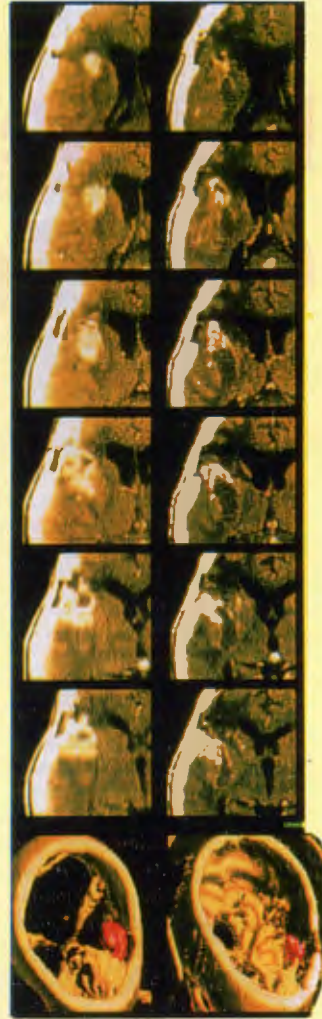
Gen modifiye edilmiş tümör aşıları sayesinde, bağışıklık sistemi kanser mevcudiyetine karşı dikkatli davranır. Bu yöntemde hastanın tedaviye vereceği cevaplar tahmin edilemez ve bu cevap bir tümörden diğer çeşidine değişir. Gen-modifiye tümör aşılarının minimum tümör durumunda ve bağışıklık sistemi güçlü hastalarda yararlı olabildiği düşünülmektedir.

Tümörle ilgili antijenlerin tanımlanabilmesiyle de artık, kanseri engellemek için aşı geliştirme imkanı artmaktadır.

#### Engelleme İmmünizasyonları

Sitokin aşıları gibi antijen-bazı kanser aşıları gen transferini gerektirmektedirler. Philip L. Felgner, Jon A. Wolff ve meslektaşları, sıçanda yabancı bir antijen için kodlanmış bir DNA parçasını doğrudan antijene enjekte ederek, antijene etkili bir immün cevap başlatmışlardır.

Aynı temel strateji, birçok bulaşıcı



**BEYİN TÜMÖRÜ (Beyaz)** Hastaya deneysel bir "intihtar" gen terapisi uygulanmadan önce (sol) ve 2 hafta sonra (sağ) alınmış MRI görüntüleri. Blaese ve meslektaşları, hastanın beyin hücrelerine, herpes virüsünden elde edilen ve timidin kinaz enzimi üretecek olan gen yerleştirdiler, daha sonra, hastaya genciclovir verdiler. "tk" enzimi, zararsız ilacı toksik bir metabolite dönüştürür ki, bu metabolit tk geni içeren kanser hücrelerinin yanında çevredeki kanser hücrelerini de öldürme yeteneğine sahiptir. Altta iki görüntü ise, aynı tümörün bilgisayarından elde edilen görüntüleridir (pembe).

hastalığı engellemek için aşıların gelişimini hızlandırmaktadır. DNA immünizasyonları kansere karşı nedimlerinde teşhis edilen tümör antijenleri için genler, aşılama ya da adenovirüs partikülleri yoluyla vücutta doğrudan salınır.

Kanserde diğer gen immünoterapisi hastalarda ve laboratuvarlarda test edilmektedir. Bilimadamları bazı kanser hücrelerinin zarlarında doğal olarak bulunan antibadilere, antibaditler oluşturmayı denemişlerdir. Elde edilen bu antibadiller tedavi edilen bazı hastalarda da olumlu cevaplar alınmıştır. Ancak anti-idiotipe adı verilen bir antibadillerin kullanımı sınırlıdır.

Günümüzde gen transferi tekniği daha da yeni yöntemler sunmaktadır, bilimadamları, antibadillerin genetik ürün olmasından yararlanarak kanser DNA'sını çözebilecek anti-idiotipe DNA aşıları geliştirmişlerdir. Bu DNA dizisi daha sonra sitokin GM-CSF'yi çözen bir genle bağlanır. Bu tekniğe dayanan çalışmalar henüz hayvan deneyleri aşamasında olsa da bunlardan ümit verici sonuçlar alınmaktadır.

Diğer tedavi şekli ise antibadileri ve T limfositlerini bağlama üzerine çalışmaktadır. Az rastlanan kimi durumlarda hastaların kendi T hücreleri tanımayı yaparlar, ancak bu hastalardan alınan T hücreleri sadece kendi tümör hücrelerine saldırabilirler.

İnsanlar nadiren tümörlere antibadi üretirler. İnsan kanser hücreleri ile immünize edilen farelerle yapılan deneylerde bunların oluşturduğu antibadillerin aynı kanser hücreleri ile etkileştiği gözlemlenmiştir. Benzer deneylerle elde edilen sonuçlara göre, hayvanlarda oluşturulan antibadillerin insanda kanser öldürücü etkisi görülmüştür; ancak bu etkinin sürekli olmadığı da belirlenmiştir.

Bu yüzden onkolojistler insan T

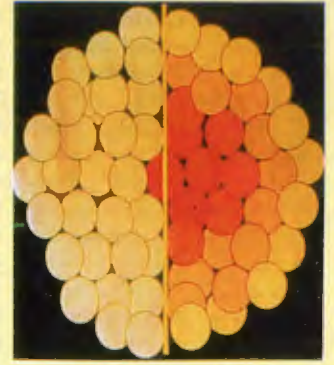
hücrelerinin yok edici etkisiyle murine antitümör antibadilerinin hedefleyici etkisini birleştirmeyi amaçlamışlardır. Rekombinant DNA teknolojisi bize bu olanığı sağlamaktadır. Araştırmacılar bu amaçla farelerden antitümör antibadilerini izole etmişler ve yok edici T hücrelerinin tanıyıcı reseptörleriyle birleştirmişlerdir. Bu modifiye edilmiş reseptör genler T hücrelerinin tek başına tanıyamadığı kanser hücrelerini böylece tanıyabilmekte ve deney tüplerinde kanser hücreleri öldürülebilmektedir. Bu deneysel yöntem son günlerde klinik aşamasına gelmiş ve kanser hastalarının yanısıra HIV virüsü ile enfekte olmuş hastalarda da kullanılmaktadır.

#### Diğer Gen Terapileri

İmmünoterapinin yanında kanserle diğer genetik yollarla da savaşılabilir. Bilimadamları, kansere neden olan DNA kusurlarını teşhis etme konusuna çok fazla eğilmişler ve bazı mutasyonların kanserin spesifik çeşitlerine sebebiyet verdiğini tespit etmişlerdir.

İnsan kanserinde en bilinen mutasyona uğramış tümör önleyici gen p53'tür. DNA'ya zarar verildiğinde, p53 proteini tahrip durana ya da azalana dek hücre bölünmesini durdurabilir. p53'ün normal bir kopyası, doku kültüründe kanser hücrelerine yerleştirildiğinde, bu hücrelerin büyümesi daha düzenli bir hale gelir ya da bunlar kendilerini yoketmeye başlarlar.

Ancak bu çalışmalarda halen bazı engellerle karşılaşmaktadır. Friedmann'a göre spesifik organlara ya da hücre popülasyonlarına genlerin salınımı için kullanılan günümüz teknolojisi verimsizdir. Bunun yanında Friedmann vücudun diğer bölgelerine genlerin lokal salınımını etkilerini yaymanın da bir anlamı olmadığını, bu yapıları dek gen terapilerinin sadece izole bölgelerdeki



**BYSTANDER EFFECT-**Şematik olarak gösteriliyor Solda, bağlantılı boşluklar, tümör hücrelerinin arasında ilgi kurar. Gen-Modifiye edilmiş bir hücrede (koyu pembe) oluşan toksin, çevresindeki "seyirci" tümör hücrelerine yayılabilir. Sağdaki tümör, boşluk bağlantılarından yoksun olduğu için, terapetik gen her kanser hücresine ulaşamayacaktır ve iyileşme sağlanamayacaktır.

tümörleri tutmaya yardım edeceğini de belirtiyor.

Buna rağmen hayvanlar, p53 geni kan yoluyla ya da tümörlere doğrudan salındığında belirli gelişmeler göstermişlerdir. Son çalışmalar sonucunda lokal bölgelerde bir takım regresyonları olduğu belirtilmiştir. Teoride tümör büyümesini engelleyicileri aktive etmek ya da onkojenleri nötralize etmek için kullanılan gen transferlerinde önemli bir sınırlama vardır. Çünkü ulaşamayan hücreler büyümeye devam ederler. Günümüz teknolojisini kullanarak, her tümör hücresindeki genleri edeltmek mümkün değildir. Ek tedaviler daha fazla tümör hücresini düzeltmeye yardımcı olabilece de, modifiye virüsler kullanan tekrarlanan gen transferleri uygun değildir. Çünkü immün sistem ikinci kere de virüsü tanıyabilir ve onu tahrip eder.

Kanserde çok çeşitli deneysel gen terapileri sonucunda bir "by stander effect" ortaya çıkmıştır. Ancak, p53 genleri eğer "by stander effect" oluşturursalar da kanser-

rin ilk aşamada gelişmeyeceği kanısı da araştırmacılar tarafından belirlenmiştir. Buna karşılık bu etki ciddi bir şekilde "intihar gen terapisi" gibi başka tedavilerle birlikte çalışılmaktadır.

Intihar gen terapisinin orijinal uygulamalarında hastanın kanserli beyin hücrelerine, herpes virüsünden elde edilen ve timidin kinaz enzimi üretecek olan gen yerleştirilir. Herpes virüsü ile enfekte olan hücrelerde bu enzim toksik olmayan ürünleri metabolite ya da yan ürüne dönüştürür. Bu toksik metabolitin bölünen kanser hücrelerini, bazı tümörlerde de komşu kanser hücrelerini öldürebildiği belirlenmiştir. "bystandereffect" yaratmak için toksik metabolit, ürettiği hücrelerden komşulara boşluklar boyunca yayılır. Beyin tümörlerindeki orijinal klinik denemelerde, hastaların yaklaşık dörtte biri tedaviye cevap vermiştir. Hekimler farklı antikanser maddeler içeren diğer intihar gen terapilerini test etmektedirler.

Gen terapi teknolojisinde araştırmacılar, yaptıkları değişik incelemeler sayesinde bu teknolojinin potansiyeli ve sınırlamaları hakkında bilgi sahibi olmaya başlamışlardır. Bundan sonra da, artan teknolojik olanaklar sayesinde, bilimin çok çeşitli yeni ve keşfedilmemiş alanları kullanarak birçok fikir uygulanır hale getirilebilecektir.

#### AIDS ve Gen Terapisi

HIV için yapılan deneysel gen terapileri, iki stratejiden birini gerçekleştirme amacıyla çalışılmaktadır, enfekte hücrelerdeki HIV kopyalanmasını durdurmak ya da virüsün sağlıklı hücrelere yayılmasını önlemek. Bu çalışmalarda baş hedef, bağışıklık (T hücreleri gibi) ve kan hücrelerinin (monositler gibi) yapıldığı kök hücrelerdir. Bu hücreler olgunlaşmadan evvel HIV'ye karşı uzun süre dayanabilirler.

Bir kişinin kanından T hücrelerini ayırıp, terapotik bir gen vermek ve bunu tekrar aynı kişiye ya da başka bir alıcıya vermek günümüzde mümkündür. Araştırmacılar da çeşitli virüsler (HIV gibi retrovirüsler) gibi vektörler kullanarak in-vivo olarak tedavi edici genlerin vücuda tatbik edilebileceğini ümit etmektedirler. Kullanılacak bu virüslerin özelliği hala genetik bilgi taşıyor olmaları ancak patojenik özellik göstermemeleridir. Çeşitli genler HIV'i tahrip etmelerine göre test edilmektedirler. Bunlardan bir tanesi baskın negatif mutasyon denilen ve HIV'nin normalde kopyalanmada kullandığı proteinlerin inaktif versiyonlarını oluşturan gen çeşiddir ki, HIV geni rev'in baskın negatif mutasyonu için klinik testler 1995'te başlamıştır.

Bilimadamları, virüs DNA'sını taktik eden kısa RNA parçalarının

kopyalanmasını sağlayacak genlerin salınımını yaratan üzerinde durmaktadırlar. Bu yöntemde, bu RNA tuzaklarının HIV düzenleyici proteinlerine bağlanıp onların fonksiyonunu bozmaları beklenmektedir. Benzer bir fikir de üretilen ve HIV ile etkileşebilen proteinlerin kodunu çözücü genlerin salınımı araştırmaktadır.

Bilimadamları ayrıca kanser gen terapisinde bahsi geçen ancak oradakinden farklı olan "intihar genleri"nin HIV tedavisi için kullanımını incelemektedirler. Burada, seçilen vektör tarafından istihale edilmiş herhangi bir hücreye gen yerleştirilmektedir.

Kanserdeki gen terapilerine benzer olan bir yöntem de, yardımcı T hücrelerinin enfekte hücreleri farketmelerini sağlamak ve bir immün cevap oluşturmak için bunların fonksiyonlarını arttırmayı amaçlamaktadır. İncelenen diğer tedavi edici genler ise, enfekte hücrelerde hareket eden antibadi parçalarını artırmaktadır. Üretilen bazı viral proteinlere bağlanarak bu hücre içi antibadiler ya da intrabadiler, virüs partiküllerini enfekteler. Sonunda, AIDS'i önlemek amacıyla yapılan gen aşılmasının klinik denemeleri onaylanmıştır. Diğer gen aşılama çalışmalarında, bu immünizasyonlar, virüsü yabancı bir istilacı olarak ayırdeden HIV molekülleri kodlayan immün sistem genleri tarafından atak yaptırılan hücreleri desteklemektedir. İmmün sistem vücutta gezinen antibadiler üreterek bu antijenlerle etkileşir, antijen bulunduran herhangi bir hücreye atak yapmaya hazırdır.

**Kaynak:**  
Scientific  
American •

### Kanser Hastaları Üzerinde Çalışılan Gen Terapileri

Tedavi Yöntemi	1988'den bu yana ABD'de uygulanan tedavi sayısı
Antisens terapi	4
Kemokoruma	7
İmmünoterapi	58
Ön-ilaç ya da intihar geni terapisi	21
Tümör engelliyici genler	6
Antibadi genleri	2
Onkojenik regülasyon	2