

# Glokom Tedavisinde Yeni Bir Yaklaşım; Gen Tedavisi

## A New Approach for the Treatment of Glaucoma; Gene Therapy

Banu ÖNCEL<sup>1</sup>, Eylem PINARCI<sup>2</sup>, Yonca AYDIN AKOVA<sup>3</sup>

### ÖZ

Glokom, optik sinir başında ve/veya görme alanında ilerleyici değişikliklerle seyreden bir grup göz hastalığıdır. Halen mevcut olan tedaviler (ilaç tedavisi, lazer tedavisi, cerrahi tedavi) göz içi basıncı (GİB)'ni düşürmeye odaklanmıştır. Ancak bu tedavilerin her olguya tam cevap verememesi, tedavi ile yaşanan sorunlar ve glokomun patofizyolojisi ve genetiği üzerinde yapılan çalışmalar yeni tedavi seçenekleri arayışını başlatmıştır. Glokomun genetiğini anlamamızda yardımcı gelişmeler primer açık açılı glokomda 14 bağlantılı bölge (GLC 1A dan GLC 1N'ye kadar) ve bu loküslerde tespit edilen myosilin, optinörin ve WDR 36 adlı 3 adet genidir. Psödoeksfolyasyon glokomunda ise LOXL1 gen polimorfizmleri bulunmuştur. Gen tedavisinde mutasyona uğramış hastalıktan sorumlu gen direkt sağlıklı gen kopyasıyla değiştirilebilir, inaktive edilebilir veya tamamen ortadan kaldırılabilir. Yine bu tedavide endirekt olarak hastalığın patofizyolojisi ile alakalı genler eklenip çıkartılabilir. Oküler gen tedavisi tedavi edici proteinlerin üretiminden sorumlu genlerin göze sınırlandırılmış ve sürekli verimini de sağlayabilir. Gen tedavi çalışmaları glokom tedavisinde temel olarak GİB'ni düşürmeyi ve nöron korunmasını hedeflemektedir. İdeal gen sağlama sistemi çok özel ve güvenli olarak hedef dokuya etkili bir şekilde gen sağlayan sistemdir. Yapılan hayvan deneylerinde hem viral hem viral olmayan vektörler denenmiştir. Gen tedavisinin hedef dokuları trabeküler ağ, silyer cisim, silyer kas, retina ve optik sinirdir.

**Anahtar Kelimeler:** Glokom, gen tedavisi, vektör.

### ABSTRACT

Glaucoma is a group of diseases with progressive optic disk and /or visual fields changes. The mainstay of current therapies (medical, laser, surgery) are focused of lowering intraocular pressure (IOP). The problems and failures with such therapies and the studies on physiopathology and genetics of glaucoma started explorations for new therapeutic modalities. Advances in our understanding of the genetic basis of glaucoma include the discovery of 14 linked sites (GLC 1A through GLC 1N) in primary open-angle glaucoma with three genes identified at these loci: myocilin, optineurin, and WDR 36. In the secondary glaucomas such as pseudoexfoliation syndromes, LOXL1 gene polymorphisms have been identified. Gene therapy can be used to replace a mutated gene that causes disease with a healthy copy of the gene, to inactivate or wipe out the aberrant gene that is responsible for the disease. This therapy can also be used to add or remove genes that are indirectly related to the pathophysiology of the disease. Ocular gene therapy can also provide the advantage of delivery of genes that express therapeutic proteins in a localized and sustained way. Gene therapy studies for the treatment of glaucoma are focused on lowering intraocular pressure and neuroprotection. An ideal gene delivery system is one that is able to efficiently deliver the genes to the target tissue with specificity and safety. Both viral and nonviral vector delivery systems have been tested in the animal eyes. The target tissues of gene therapy are trabecular meshwork, ciliary body, ciliary muscle, retina and optic disk.

**Key Words:** Glaucoma, gene therapy, vector.

- 1- M.D. Asistant Professor, Başkent Üniuersity Hospital in İstanbul, Department of Ophthalmology İstanbul/TURKEY  
ÖNCEL B., banuoncel@superonline.com
- 2- M.D., Başkent Üniuersity Hospital in İstanbul, Department of Ophthalmology İstanbul/TURKEY  
PINARCI E., dreyaman@hotmail.com
- 3- M.D. Professor, Başkent Üniuersity Hospital in Ankara, Department of Ophthalmology Ankara/TURKEY  
AYDIN AKOVA Y., yoncaakova@yahoo.com

**Geliş Tarihi - Received:** 28.04.2011

**Kabul Tarihi - Accepted:** 08.06.2011

**Glo-Kat 2012;7:1-6**

**Yazışma Adresi / Correspondence Address:** M.D. Asistant Professor,  
Banu ÖNCEL

Başkent Üniuersity Hospital in İstanbul, Department of Ophthalmology  
İstanbul/TURKEY

**Phone:** +90 532 273 43 94

**E-Mail:** banuoncel@superonline.com

## GİRİŞ

Glokom kronik bir hastalıktır. Her geçen gün yeni bir tedavi veya ilaç seçeneği biz göz hekimlerine sunulmaktadır. Bu yazının amacı glokomda gen tedavisi hakkında bilgilerimizi ve teknolojinin geldiği yeri gözden geçirmektir. Glokom optik sinir başında ve/veya görme alanında ilerleyici değişikliklerle seyreden bir grup göz hastalığıdır. Yükselmiş göz içi basıncı (GİB) sıktır ancak her zaman GİB yüksek değildir.<sup>1</sup>

Halen mevcut olan tedaviler (ilaç tedavisi, lazer tedavisi, cerrahi tedavi) GİB’i düşürmeye odaklanmıştır. Ancak bu tedavilerin her olguya tam cevap verememesi, tedavi ile yaşanan sorunlar ve glokomun patofizyolojisi ve genetiği üzerinde yapılan çalışmalar yeni tedavi seçenekleri arayışını başlatmıştır.<sup>2</sup> Retina gangliyon hücrelerinin (RGH) kaybını önlemeye yönelik sinir koruyucu ajanlar üzerinde çalışmalar halen yapılmaktadır. Memantine faz 3 çalışmalarında etkisiz bulunmuştur. Etki mekanizması tam olarak açıklanamasa da topikal brimonidine az da olsa sinir koruyucu etki göstermektedir.<sup>3</sup>

Son yıllarda Leberin konjenital amorozi tedavisine yönelik yapılan klinik çalışmalarda en önemli yeri gen tedavisi almıştır. Bu hastalık retina pigment epiteline (RPE) çok özel protein 65 kDa’yı (RPE 65) kodlayan gende bir defekt sonucu gelişmektedir. Bu çalışmalarda RPE 65 geni RPE’ni hedefleyen ve subretinal enjeksiyon yoluyla verilen adeno-birleşik viral (AAV) vektör sayesinde değiştirilir.<sup>4,6</sup> Bir çalışmada 3 olguya bu tedavi uygulanmış ve olgulardan birinde mikroperimetri ve karanlık adapte perimetride anlamlı görme fonksiyonu artışı olmuştur.<sup>4</sup> Bu çalışmalar glokomun genetiğinin araştırılmasına ve bu alanda gen tedavisi çalışmalarına umut vermiştir.

Glokomun genetiğini anlamamızda yardımcı gelişmeler primer açık açılı glokomda 14 bağlantılı bölge (GLC 1A dan GLC 1N’ye kadar) ve bu loküslerde tespit edilen myosilin, optinörin ve WDR 36 adlı 3 adet gendir.<sup>7-9</sup> Thorleifsson ve ark., psödoeksfolyasyon glokomunda lizil oksidaz-benzeri protein 1. geninde (LOXL1) gen polimorfizmleri bulunmuşlardır.<sup>10</sup>

Ekstrasellüler enzim ailesinden biri olan LOXL1 geni elastik fibril formasyonu ve kollajen çapraz bağlarının bağlanmasına izin veren enzimlerden biridir. LOXL1 gen defekti anormal elastik fibril sentezine ve psödoeksfolyasyon gelişmesine yol açabilir.<sup>10-12</sup>

Günümüze kadar pigmenter glokomda iki loküs tanımlanmıştır. Bunlar GPDS1 ve GPDS2 loküsleridir. Bu loküslerde glokomdan sorumlu genler hala bilinmemektedir. Bir nanoftalmus pedigrisindeki moleküler genetik çalışmalarda 11p lokalizasyonunda NNO1 loküsü saptanmıştır. Yine açılı kapanması ile giden kornea plana pedigrisinde 12q21 lokalizasyonuna dikkat çekilmiştir.

Ayrıca Nail patella sendromu ve glokom birlikteliğinde 9q34 lokalizasyonunda LMX1B geninin varlığı gösterilmiştir.<sup>13</sup> Yakın zamana kadar primer konjenital glokomdan sorumlu 2 loküs tanımlanmışken bir loküsün daha varlığından bahsedilmiştir.

Tanımlanmış loküsler GLC3A (2p21) ve GLC3B (1p36)’dir.<sup>14,15</sup> Ancak günümüze kadar bu alanlarda tanımlanabilen tek gen, GLC3A loküsündeki CYP1B1 (sitokrom p450 1 b1) genidir. Bu gen sitokrom p450 ailesindedir, genin tamamı 12 kb olup, 3 ekzondan oluşmaktadır. Mutasyonlar sıklıkla 2 ve 3. ekzonlarda saptanmıştır.<sup>16</sup>

Gen tedavi çalışmaları glokom tedavisinde temel olarak GİB’ni düşürmeyi ve nöron korumayı hedeflemektedir. Ön kamera içi gen sağlama sistemleri GİB’ni düşürmek için ön segment dokularını hedef alırken, vitreus içi gen sağlama sistemleri ise sinir korunmasını hedef almaktadırlar. Glokomun moleküler patogenezi anlamak gen tedavi yaklaşımını geliştirecektir.

## Gen Tedavisinin Neye Dayanır?

Gen tedavisi çok özel bir hastalığı tedavi etmek hatta mümkünse önlemek için kullanılabilir. Bu tedavide mutasyona uğramış hastalıktan sorumlu gen direkt sağlıklı gen kopyasıyla değiştirilebilir, inaktive edilebilir veya tamamen ortadan kaldırılabilir. Gen tedavisinde indirekt olarak hastalığın patofizyolojisi ile alakalı genler eklenip çıkartılabilir. Oküler gen tedavisi tedavi edici proteinlerin üretiminden sorumlu genlerin göze sınırlandırılmış ve sürekli verimini de sağlayabilir.

## Gen Sağlama Sistemleri Nelerdir?

İdeal gen sağlama sistemi çevre göz dokularına toksik yan etki göstermeden çok özel olarak hedef dokuya etkili bir şekilde gen sağlayan sistemdir. Gözde hem viral hem viral olmayan vektörler denenmiştir.

Viral sağlama sistemleri modifiye edilmiş adenoviral, herpes simpleks (HSV), AAV ve lentiviral vektörlerdir. Adenoviral vektörlerin kullanımı hedef dokuya zayıf spesifite ve sebep oldukları güçlü immün ve inflamatuvar reaksiyon nedeniyle sınırlıdır. Oluşturdukları immün reaksiyon mükerrer kullanıma da maniştir. Etki süreleri ise kısadır.

HSV vektörleri de yüksek toksisite gösterirler ve kalıt aktarımının dışı vurum süresi kısadır.<sup>17</sup> Etki süresi uzun olan vektörler AAV ve lentiviral vektörlerdir. AAV vektöründe sağlanan tek sarmal DNA, lentiviral vektörde ise RNA konağın genomuna entegre olur ve yıllarca sürebilecek kadar uzun süre gen dışı vuru- ma sağlanır.<sup>18,19</sup>

AAV ve lentiviral vektörlerin trabeküler ağ dokusunu çevre dokulara zarar vermeden etkiledikleri gösterilmiştir. AAV vektörleri ayrıca Müller hücreleri ve retina gangliyon hücrelerini hedefleyerek nöroproteksiye için başarılı bir şekilde kullanılmıştır.<sup>20</sup> Viral olmayan gen sağlama sistemleri lipozomlar/sentetik polimerler, çıplak DNA'nın dokulara direkt enjeksiyonu, RNA interferansı ve elektroporasyondur.

Katyonik lipidler veya polimerler gibi sentetik vektörler daha güvenli, üretimi daha kolay, üretimi daha ucuz ve viral vektörlerden daha az immunojeniktirler. Ancak bu vektörlerin gen transfer etkinliği ve üretim ölçekleri düşüktür.

LacZ geni taşıyan fusojenik lipozomlar tavşan ve primat trabeküler ağ dokularını dönüştürmektedir.<sup>21</sup> Küçük engelleyici RNA'lar (siRNA) çift sarmal RNA yapısındadırlar ve çok özel bir gen dışavurumunu engellerler. Tavşanlarda karbonik anhidraz genini hedefleyen topikal siRNA'lar test edilmiş ve oküler hipertansiyon modelinde göz içi basıncını düşürdükleri tespit edilmiştir.<sup>22</sup> Mekanik tekniklerin gelişimiyle kontakt lens tipi elektroda uygulanan elektroporasyon glial hücreden elde edilen nörotrofik faktör (GDNF)'ün retina gangliyon hücrelerine verilmesinde efektif olarak kullanılmış ve sıçanlarda optik sinir transeksiyonundan sonra retina gangliyon hücrelerinde sağkalımı iyileştirdiği gösterilmiştir.

Vektör iletim sistemlerinin gelişmesi ve biyolojik uyumluluk, hedef doku özgülüğünün geliştirilmesi gen tedavisinin gelişimini sağlayacaktır. Gen tedavisinin hedef dokuları trabeküler ağ, silyer cisim, silyer kas, retina ve optik sinirdir.

Bunları hedefleri sırasıyla irdelersek:

### Trabeküler Ağ

Trabeküler ağ aktin hücre çatısı, bağ dokuları ve hücre dışı matriks materyallerinden oluşur. Aköz hümenin gözden drenajını (%50-75) ve GİB'nı düzenler. İlk çalışmalar trabeküler ağı hedefleyen adenoviral vektörlerin kullanımı üzerine odaklanmıştır. Ancak son çalışmalar AAA ve lentiviral vektörlerde yoğunlaşmıştır çünkü bu vektörlerle dokuda daha uzun süre gen dışavurumu görülmüştür.<sup>23</sup>

Primatlarda yapılan bir çalışmada ise ön kamara içi enjekte edilen lentiviral vektör kalıtım iletimi trabeküler ağ, iris ve silyer cisimde 15 aya kadar tespit edilmiştir.<sup>18</sup> Trabeküler ağı hedef alan AAV vektörleri son zamana kadar başarısızdı. Yeni kuşak kendini tamamlayan AAV vektörleri maymunlarda intrakameral enjeksiyon sonrası trabeküler ağ, silyer cisim, iris arka yüzünde kalıtım aktarımı sağladılar. Sıçanlarda maymunlara ek olarak kornea endoteli ve iris ön yüzünde de kalıtım aktarımı görüldü.<sup>19</sup>

Trabeküler ağın aktin hücre çatısı ve ekstrasellüler matriks'i aköz hüme dışı akımını artırmak ve sonuçta GİB'nı düşürmek için hedeflenebilir. Riyo kinaz yolu inhibisyonu, aktin tropomyozin aktivasyon sistemi inhibisyonu ve matriks metalloproteinaz (MMP) /doku inhibitör metalloproteinaz (MMP) dengesinin bozulması bu amaçla uygulanabilecek stratejilerden birkaçıdır.

### Riyokinaz Yolu

Trabeküler hücre morfolojisi ve aktin hücre çatısını değiştirerek aköz dışı akımını değiştirir. Gen tedavisi aktin dinamiklerini regüle eden ve aktomyosin kasılma yeteneğini artıran riyo guanozin trifosfatı (GTPaz) hedefler. Clostridium'dan elde edilen ekzoenzim C3'ü taşıyan adenoviral vektör GTPaz'ı inhibe eder ve kültüre edilmiş maymun gözlerinde aköz dışı akımını %90 artırdığı gösterilmiştir.<sup>24</sup>

Caldesmon Ca<sup>2+</sup> olsun olmasın F aktine reverzible bağlanabilen bir proteindir. 2 izoformu vardır ve ikisi de aktin-tropomyozinle aktive edilen myozin MgATPaz'ın kuvvetli inhibitörleridir.

İzoformları düz kas ve kas olmayan şeklindedir. Kas olmayan formu mikrofilament ağda düzenleyici bir faktördür.<sup>25</sup> Caldesmonun adenoviral vektörle fazla sağlanması kültüre insan ve maymun trabeküler ağında aktin hücre çatısı ve hücre matriks bağlantılarını bozarak aköz dışı akımını artırmaktadır.<sup>26</sup>

Primer açık açılı glokom ile birliktelik gösteren mutasyonlar trabeküler ağda bulunan myosilin (Myoc) gen olarak da bilinen indüklenbilir glikokortikoid cevap geninde (TIGR) tespit edilmiştir. Myosilin salgısal bir glikoproteindir.

İlk olarak deksametazon ile tedavi edilen kültüre edilmiş insan trabeküler ağ hücrelerinde bulunmuş ve hücre çatısı fonksiyonuna rol oynadığı düşünülmektedir. RNA interferans yaklaşımı küçük sentetik (siRNA) ve kısa firkete RNA lar (shRNA) myosilin genini inhibe etmek için kullanılmıştır.

Çıplak siRNA lar intrakameral perfüzyonla insan sağlam trabeküler ağına ulaştırılmış ve myosilin geninin inhibisyonu sağlanmıştır.<sup>27</sup> Myosilin-özgül shRNA plasmid vektörleri kültüre edilmiş trabeküler ağ hücrelerindeki mutant veya vahşi-tip myosilinlerin dışavurumunu efektif olarak baskılar.<sup>28</sup> shRNA'lar uzamış gen baskılanması, güçlü ve sürdürülebilir etki sağlarlar.<sup>28</sup>

Steroide bağlı glokom tedavisinde yeni bir yaklaşım sunulmuştur. Kortikosteroid varlığında metalloproteinaz 1(MMP 1) dışı vurumunda azalma gözlemlenmiş ve oküler hipertansiyonda rol oynadığı bildirilmiştir.<sup>29</sup>

Kuzuda oluşturulan kortikosteroide bağlı oküler hipertansiyon modelinde glikokortikoid -indüklenen rekombinant MMP1 nakleden adenoviral vektörün intrakameral enjeksiyonu ile artmış GİB'in tersine çevrilmesi ve böylece basınca karşı koruma sağlanmıştır.<sup>30</sup> Bu çalışma bir hastalığın moleküler patogenezini bilmenin gen terapisinin gelişmesindeki önemini göstermektedir.

### Silyer Cisim ve Epitel Hücreleri

GİB'ni kontrolünde silyer cisim ve silyer epitel hücreleri diğer bir hedefi oluşturur. Silyer cismin tabanında yer alan silyer kasın kasılması lensin ve trabeküller ağın şeklini değiştirir. Silyer kas tonusunda değişiklikler aynı zamanda aköz hümörün dışa akımını da etkiler. Adenoviral vektör aracılığında stromelinin (Trabeküler ağ proteoglikanlarını yıkan MMP) sıçanlarda ön kamara içine enjekte edilmiş ve trabeküler ağ, silyer cisim ve uveaskleral dışa akım yolunu değiştirdiği bulunmuştur.<sup>31</sup>

Silyer epitel hücreleri silyer cisimden uzanan silyer uzantıları kaplayan pigmentli ve pigmentsiz iki katlı tabakadır. Aköz hümör arka kamaraya pigmentsiz epitel hücrelerinden salgılanır. Maymunlarda LACz geni taşıyan HSV vektörünün kamara içi enjeksiyonu trabeküler ağ ve silyer epitel hücrelerinde kalıtım aktarımı yaparken silyer kas hücrelerini etkilemiştir.

Ancak bu vektör ciddi inflamasyona neden olmuştur.<sup>17</sup> RNA interferens teknolojisi aköz hümör sekresyonunu engellemek içinde kullanılmıştır. Tavşanda oküler hipertansiyon modelinde karbonik anhidraz 4 ve b2 -adrenajik reseptörleri hedefleyen siRNA ların topikal sağlanımı GİB'i düşürmüştür.<sup>22</sup>

Oküler gen tedavisi göze bilinen tedavi edici proteinlerin uzun süre ve sürekli sağlanması içinde bir yoldur. Prostaglandin analogları günümüzde glokomun medikal tedavisinde en sık kullanılan ajanlardır. Prostaglandinler göz içi basıncını silyer kasın ekstrasellüler matriksi üzerindeki etkileri yoluyla düşürürler. MMP'lar ve MMP'ların doku inhibitörleri arası dengeyi değiştirerek MMP'ların seviyesini artırır ve aköz hümör dışa akımını güçlendirirler.

Endojen prostaglandin sentezi hızını sınırlayan siklooksijenaz -2 (COX-2) enzimidir. Primer açık açılı glokomu olan olgularda pigmentsiz silyer epitel hücrelerinde COX-2 dışa vurumunda kayıp mevcuttur. Son zamanlarda kedilerde yapılan bir çalışma COX-2 ve prostaglandin F reseptör taşıyan lentiviral vektörlerin intrakameral kullanımı trabeküler ağ ve pigmentsiz silyer epitele kalıt aktarımı ve GİB'nda süreklilik gösteren bir düşüş sağlamıştır.<sup>32</sup> Bu çalışmada gen tedavisi için umut verici çalışmalardan biri olmuştur.

### Retina Gangliyon ve Müller Hücreleri

Glokomda görme kaybına retina gangliyon hücre kaybı neden olur. RGH apoptozisine birçok faktör katkıdır. Bunlar nörotrofik faktörler, iskemi, otoimmün cevap, astrositik değişikliklerdir. Deneysel glokomda RGH ölümünü azaltmak için apoptoz basamağını hedefleyen gen tedavi yaklaşımı kullanılmıştır. Burada RGH'lerine direkt veya çevreleyen retina Müller glial hücrelerine tedavi edici gen aktarımı hedeflenir.

Kemirgende glokom modelinde rekombinant AAV vektörleri antiapoptotik genlerin iletiminde kullanılmıştır. Antiapoptotik protein Bcl-X(L), Bcl -2 ailesinin bir üyesi olan mitokondri membran bütünlüğünü koruyan medyatördür. AAV vektör aracılığıyla ile erişkin sıçan retinasına Bcl-X(L) iletimi optik sinir transeksiyonundan sonra RGH lerinin nöroproteksiyonu ile sonuçlanmıştır. Aksonlar diseksiyondan sonra morfolojik olarak normal kalmışlardır.<sup>33</sup>

Kaspazlar apoptozda majör rol oynarlar ve RGH sağkalımının artması için engellenebilirler. Güçlü bir kaspaz engelleyici olan insan bakuloviral apoptoz engelleyici (IAP)-tekrar-muhtevi protein-4 (BIRC4) bir AAV vektörü ile sıçanların RGH'lerine sunulmuştur. Bu yaklaşım sıçanlarda kronik oküler hipertansiyon modelinde optik sinir sağkalımıyla sonuçlanmıştır.<sup>34</sup>

Apoptoz inhibitör proteinleri (IAP) kaspaz basamağının sonunu aşmasını engellerler. XIAP en güçlü IAP dir ve sıçanda artmış göz içi basıncı ile oluşturulan retina iskemisi modelinde IAP nin AAV vektör aracılı iletimi nöroproteksiyon ile sonuçlanmıştır.<sup>35</sup> Diğer bir yaklaşım RGH 'lerine nörotrofik faktörlerin iletimi ile nöroproteksiyondur.

Beyin-kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) santral ve periferik sinir sisteminde bulunan nöronların yaşamaını desteklemeye yardım eden bir proteindir. BDNF taşıyan adenoviral vektörün erişkin sıçanlara intravitreal enjeksiyonu Müller hücrelerine selektif gen aktarımına neden olmuştur. Müller hücreleri RGH'leri ile sıkı temas gösteren sitoplazmik uzantılar içerdiği için sonuçta Müller hücrelerinin salgıladığı BDNF sıçanlarda aksonları yok edilmiş RGH'de sağkalımı 4,5 kat artırmıştır. Ancak etki geçicidir ve immün supresyon ile güçlendirilememektedir.<sup>36</sup>

Yine sıçanlarda yapılan bir çalışmada BDNF taşıyan AAV vektörünün intravitreal enjeksiyonu sonra RGH'ne kalıt aktarımı oluşmuş ve bu olgularda iki hafta sonra trabeküler ağ dokusuna lazer ile oküler hipertansiyon oluşturulup 1 ay sonra RGH sağkalımında artış saptanmıştır.<sup>37</sup>

Tropomyozin-reseptör-kinaz B reseptörü (TrkB) BDNF'yide içeren birçok nörotrofinlerin katalitik reseptörüdür. Nörotrofin reseptörlerinin travmaya bağlı downregulasyonu nörotrofik faktörlere cevabı sınırlayabilir.

Bir çalışma BDNF ye RGH'lerinin cevap kapasitesini bu hücrelere TrkB taşıyan AAV vektörü ile kalıt aktarımı sağlayarak artırmıştır. TrkB upregulasyonu aksotominin sebep olduğu hücre ölümünden RGH'lerin korunması ile sonuçlanır.<sup>38</sup>

Gliyal hücre- çizgi kaynaklı nörotrofik faktör (GDNF) değiştirici büyüme faktör  $\beta$  superaillesinin bir üyesidir ve optik sinir aksotomisinden sonra RGH'lerini koruduğu bilinmektedir.

Sıçan GDNF geni taşıyan adenoviral vektörün aksotomi kaynaklı hücre ölümünden sıçan RGH lerini koruduğu saptanmıştır.<sup>39</sup>

Silyer kaynaklı nörotrofik faktör (CNTF) nöron koruyucu özellikleri olan bir proteindir ve travma sonrası RGH sağkalımını artırır. Sıçanlarda lazer ile oluşturulan oküler hipertansiyon glokom modelinde CNTF taşıyan AAV vektör'ün intravitreal injeksiyonu RGH akson sağkalımı ile sonuçlanmıştır.

CNTF ve BDNF vektörlerinin birlikte uygulanması denenmiş ancak RGH sağkalımını daha fazla artırmadığı görülmüştür. Bu bulgu belki birleşim halinde uygulamada CNTF'nin kalıt aktarım etkinliğinde azalmaya bağlı olabilir.<sup>20</sup>

Doku hipoksisi ve/veya artmış GİB'nın başlattığı bir oksidatif komponentin glokomda RGH ölümüne sebep olduğuna inanılmaktadır. Reaktif oksijen radikalleri mitokondride hücre metabolizması sonucu oluşur. Glokom gibi hastalıklarda nörodejenerasyon gelişiminde bu radikallerin lipidlere, proteinlere ve DNA'ya sitotoksik etkilerinin rol oynadığı düşünülmektedir.<sup>40</sup> Antioksidatif gen tedavisinin bu nedenle glokom tedavisinde potansiyeli olabilir.

Yapılan bir deneysel otoimmün ensefalomyelit modelinde AAV vektörü ile intravitreal verilen insan ekstraselüler superoksit dismutaz ve katalaz gibi antioksidan genler RGH de ölümü %29 azaltmıştır.<sup>41</sup>

Sonuç olarak kronik bir hastalık olması, uzun süreli tedavi ihtiyacı ve hali hazırdaki tedavi seçenekleriyle yaşanan sıkıntılar nedeniyle glokom gen tedavisi için önemli bir hedef haline gelmiştir.

Gen tedavisi ile ilgili çalışmaların hız kazanması ve hayvan deneylerinden elde edilen sonuçlar gelecek glokom gibi birçok kronik hastalıkta gelecek vaat eder gibi görünmektedir.

## KAYNAKLAR/REFERENCES

- Schoenleber DB. Preventing vision loss from glaucoma: Putting data from clinical trials into practice. *Mo Med* 2005;102: 51-4.
- Varma R, Peeples P, Walt JG, et al. Disease progression and the need for neuroprotection in glaucoma management. *Am J Manaq Care* 2008;14:15-9.
- Danesh -Meyer H. Neuroprotection in glaucoma. Recent and future directions. *Curr Opin Ophthalmol.* 2011;22:78-86.
- Bainbridge JW, Smith AJ, Barker SS, et al. Effect of gene therapy on visual function in Leber's Congenital Amourosis. *N Engl J Med* 2008;358:2231-9.
- Stein L, Roy K, Lei L. Clinical gene therapy for the treatment of RPE65-associated Leber Congenital Amourosis. *Expert Opin Biol Ther* 2011;11:429-39.
- Li X, Li W, Dai X, et al. Gene therapy rescues cone structure and function in the 3<sup>rd</sup> -month old rd12 mouse: a model for midcourse RPE65 leber congenital amaurosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:7-15.
- Fan BJ, Wiggs JL. Glaucoma: Genes, phenotypes and new directions for therapy. *C Clin Invest* 2010;120:3064-72.
- Pandaranayaka PJ, Prasanthi N, Kannabiran N, et al. Polymorphisms in an intronic region of the myocilin gene associated with primary open angle glaucoma-a possible role for alternate splicing. *Mol Vis* 2010;16:2891-902.
- Fan BJ, Wang DY, Cheng CY, et al. Different WDR36 mutation pattern in Chinese patients with primary open-angle glaucoma. *Mol Vis* 2009;15:646-53.
- Thorleifsson G, Magnusson KP, Sulem P, et al. Common sequence variants in the LOXL1 gene confer susceptibility to exfoliation glaucoma. *Science* 2007;317:1397-400.
- Khan TT, Li G, Navarro ID, et al. LOXL1 expression in lens capsule tissue specimens from individuals with pseudoexfoliation syndrome and glaucoma. *Mol Vis* 2010;16:2236-41.
- Aragon-Martin JA, Ritch R, Liebmann J, et al. Evaluation of LOXL1 gene polymorphisms in exfoliation syndrome and exfoliation glaucoma. *Mol Vis* 2008;14:533-41.
- Vincent A, Heon E, Trope G. Genetic testing and a molecular perspective on glaucoma. In: Boyd BF, Luntz M, Boyd S, eds. *Innovations in the glaucomas-etiology, diagnosis and management.* Bogota: Colombia. 2002:221-224.
- Sarfarazi M, Akarsu AN, Hossain A, et al. Assigment of a locus (GLC3A) for primary congenital glaucoma (Buphthalmos) to 2p21 and evidence for genetic heterogeneity. *Genomics* 1995;30:171-7.
- Akarsu A, Turaçlı ME, Aktan SG, et al. A second locus (GLC3B) for primary congenital glaucoma (Buphthalmos) maps to the 1p36 region. *Hum Mol Genet* 1996;5:1199-203.
- Sarfarazi M, Stoilov I. Molecular genetics of primary congenital glaucoma. *Eye* 2000;14:422-8.
- Liu X, Brandt CR, Gabelt BT, et al. Herpes simplex virus mediated gene transfer to primate ocular tissues. *Exp Eye Res* 1999;69:385-95.
- Barraza RA, Rasmussen CA, Lowen N, et al. Prolonged transgene expression with lentiviral vectors in the aqueous humor outflow pathway in nonhuman primates. *Hum Gene Ther* 2009;20:19-200.
- Buie L, Rasmussen CA, Porterfield EC, et al. Self-complementary AAV virus safe and long-term gene transfer in the trabecular meshwork of living rats and monkeys. *IOVS.* 2010;51:236-247.
- Pease ME, Zack DJ, Berlincke C, et al. Effect of CNTF on retinal ganglion cell survival in experimental glaucoma. *IOVS* 2009;50:2194-200.
- Hangai M, Tanihara H, Honda Y, et al. Introduction of DNA into the rat and primate trabecular meshwork by fusogenic liposomes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:509-16.
- Demetriades AM. Gene therapy for glaucoma. *Curr Opin Ophthalmol* 2011;22:73-7.
- Budenz DL, Bennett J, Alonso L, et al. In vivo gene transfer into murine corneal endothelial and trabecular meshwork cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995;36:2211-5.

24. Liu X, Hu Y, Filla MS, et al. The effect of C3 transgene expression on actin and cellular adhesions in cultured human trabecular meshwork cells and on outflow facility in organ cultured monkey eyes. *Mol Vis* 2005;11:1112-21.
25. Huber PA. Caldesmon. *Int J Biochem Cell Biol* 1997;29:1047-51.
26. Gabelt BT, Hu Y, Vittitow JL, et al. Caldesmon transgene expression disrupts focal adhesions in HTM cells and increases outflow facility in organ-cultured human and monkey anterior segments. *Exp Eye Res* 2006;82:935-44.
27. Comes N, Borrás T. Functional delivery of synthetic naked siRNA to the human trabecular meshwork in perfused organ cultures. *Mol Vis* 2007;13:1363-74.
28. Yuan C, Zins EJ, Clark AF, et al. Suppression of keratoepithelium and myocilin by small interfering RNAs (siRNA) in vitro. *Mol Vis* 2007;13:2083-95.
29. Spiga MG, Borrás T. Development of gene therapy with a glucocorticoid inducible MMP1 for the treatment of steroid glaucoma. *IOVS* 2010;51:3029-41.
30. Gerometta R, Spiga MG, Borrás T, et al. Treatment of sheep steroid induced ocular hypertension with glucocorticoid-inducible MMP1 gene therapy virus. *IOVS* 2010;51:3042-8.
31. Kee C, Sohn S, Hwang JM. Stromelysin gene transfer into cultured human trabecular cells and rat trabecular meshwork in vivo. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:2856-60.
32. Barraza RA, McLaren JW, Poeschla EM. Prostaglandin pathway gene therapy for sustained reduction of intraocular pressure. *Mol Ther* 2010;18:491-501.
33. Malik JM, Shevtova Z, Bahr M, et al. Long-term in vivo inhibition of CNS neurodegeneration by Bcl-XL gene transfer. *Mol Ther* 2005;11:373-81.
34. McKinnon SJ, Lehman DM, Tahzib NG, et al. Baculoviral IAP repeat-containing-4 protects optic nerve axons in a rat glaucoma model. *Mol Ther* 2002;5:780-7.
35. Renwick J, Narang MA, Coupland SG, et al. XIAP-mediated neuroprotection in retinal ischemia. *Gene Ther* 2006;13:339-47.
36. Di Polo A, Aigner LJ, Dunn RJ, et al. Prolonged delivery of brain-derived neurotrophic factor by adenovirus-infected Müller cells temporarily rescues injured retinal ganglion cells. *Proc Natl Acad Sci* 1998;95:3978-83.
37. Martin KR, Quigley HA, Zack DJ, et al. Gene therapy with brain-derived neurotrophic factor as a protection: retinal ganglion cells in rat glaucoma model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:4357-65.
38. Cheng L, Sapiéha P, Kittlerova P, et al. TrkB gene transfer protects retinal ganglion cells from axotomy-induced death in vivo. *J Neurosci* 2002;22:3977-86.
39. Schmeer C, Straten G, Kugler S, et al. Dose-dependent rescue of axotomized rat retinal ganglion cells by adenovirus-mediated expression of glial cell-line derived neurotrophic factor in vivo. *Eur J Neurosci* 2002;15:637-43.
40. Tezel G. Oxidative stress in glaucomatous neurodegeneration: Mechanisms and consequences. *Prog Retin Eye Res* 2006;25:490-513.
41. Qi X, Sun L, Lewin AS, et al. Long term suppression of neurodegeneration in chronic experimental optic neuritis: Antioxidant gene therapy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:5360-70.