

# Retina Hastalıklarında Genetik Tedavi

Prof Dr Ayşe Öner, FEBO  
Acıbadem Sağlık Grubu  
Atakent ve Kayseri Hastanesi  
KAYSERİ



# Finansal İlinti Beyanı

- Sunumda adı geçen ürünlerle herhangi bir finansal ilintim yoktur

# İÇERİK

- Genetik tedavi ile ilgili kısa bilgi
- Genetik tedavinin yapılabileceği hastalıklar ve alışmalar
- Genetik taramalar ile ilgili bilgi

- Gen tedavisi ile ilgili düşünceler DNA'nın keşfinden hemen sonra başlar.
- İnsanda gen tedavisi çalışmalarının geçmişi 1960-1970 yıllarına dayanır.
- Son 20 yılda değişik hastalık gruplarında 1500'den fazla gen tedavisi ile ilgili klinik çalışma başlatılmıştır.

- Genetik incelemelerdeki gelişmelerle birlikte, günümüzde retinal hastalıklarla ilişkisi bilinen 269 gen ve 300'den fazla lokus bulunmaktadır.
- Clinicaltrials.gov sitesinde kayıtlı retinal hastalıklarda gen tedavisini içeren 60 dan fazla klinik çalışma vardır.
- Hedeflenen hastalıklar arasında Leber'in konjenital körlüğü (LKK), retinitis pigmentosa (RP), koroideremi, akromatopsi, yaşa bağlı makula dejenerasyonu (YBMD) ve diyabetik retinopati (DR) gibi retina hastalıkları bulunmaktadır.

# Göz Gen Tedavisi İçin İdealdir.

- Göz küçük bir organdır ve dışarıya kapalıdır.
- Küçük miktarda vektör yeterlidir ve toksik etkiler de minimum olur.
- Cerrahi olarak göze yaklaşım kolaydır.
- İntraokuler bariyerler sayesinde oluşan ayrıcalıklı mikroçevre nedeniyle, oluşan immun yanıtlar lokal olarak inhibe edilir, vektörün göz dışına yayılımı engellenir ve sistemik yan etki oluşum riski azaltılır.
- Retinal hücreler post-mitotik hücreler olduğu için genler arası etkileşim olmadan uzun süreli gen ekspresyonu sağlanabilir.
- Çok sayıda retinal distrofi hayvan modelinin olması, prelinik çalışmalarla tedavinin etkinliğini değerlendirme sürecini hızlandırır.
- Gözün yapısı, ayrıntılı tetkiklerin olması tedavi sürecinin takibini kolaylaştırır.
- Distrofilerin bilateral ve simetrik olması bir gözün kontrol olarak kullanılmasını sağlar.”

- İntroakuler kullanımında en sık kullanılan 2 yol vardır.
- İntroavitreel
- Subretinal

# GEN TEDAVİSİNDE TEMEL YAKLAŞIMLAR

- 1. Gen replasmanı ile endojen mutasyonlu gen çıkarılmadan bu genin sağlam bir kopyası vektörler aracılığıyla dokuya uygulanır. Günümüzde en çok çalışma yapılan yöntem budur.
- 2. Gen silencing (susturma) yönteminde ise mutasyonlu genin ekspresyonu mRNA'nın modifikasyonu ile inhibe edilir.
- 3. Gen editing (düzenleme) ile de mutasyonlu genin mutasyonlu parçasında düzenleme yapılır.
- Mutasyon bağımlı ya da bağımsız, başarılı bir gen tedavisinde kilit noktası vektörlerdir.



# NON-VİRAL VEKTÖRLER

- Non-viral vektörlerde DNA, ya tek başına ya da diğer kimyasallarla kombine edilerek taşınır.
- Kimyasal madde olarak
  - lipozomlar
  - polimerler
  - nanopartiküller (NP) kullanılabilir.

# ADENO-ASSOCIATED VİRAL VEKTÖRLER

- Adeno-associated virus (AAV), küçük (25 nm) zarfsız, lineer tek sarmallı DNA genomu (4.7 kb) içeren ikosahedral bir virustür.
- Parvovirüs ailesindedir.
- Adeno, herpes ya da papillomavirus gibi yardımcı virüsler varlığında çoğaldığından bu adı almıştır.
- Günümüzde gen tedavisinde en çok kullanılan vektördür.
- Küçüktür ve subretinal alanlara rahatlıkla geçebilir.
- İmmunojenitesi düşük ve güvenlidir.
- Uzun dönem ekspresyonu nedeniyle tek uygulamada uzun süreli etkinlik gösterebilir.
- Çok sayıda varyantı ve her varyantın kendine özgü eksternal kapsid proteini vardır. Varyantlar arasında kapsid değişimi mümkündür bu da hibrid vektörlerin geliştirilmesine imkan tanımaktadır

# AAV Kısıtlamalar

- AAV'lerin en büyük sorunu 4.7 kb ile sınırlı taşıma kapasitesidir.
- Bu nedenle büyüklüğü 5 kb'ı geçen ABCA4, MYO7A, CEP290, USH1B gibi genlerin tedavisi için kullanılamamaktadır.
- Bu problemi çözmek için büyük genler iki parçaya bölünerek 2 ayrı vektöre yüklenmiş ve hibrid dual-AAV oluşturulması üzerine çalışılmaktadır.

# RETROVİRAL – LENTİVİRAL VEKTÖRLER

- Retrovirüsler 2 adet tek sarmallı RNA'ya sahip virüs ailesidir.
- Bu ailede 7 kuşak mevcuttur: alfaretrovirus, betaretrovirus, gammaretrovirus, deltaretrovirus, epsilonretrovirus, lentivirus ve spumavirus.
- Retroviral vektörler arasından sıklıkla lentivirüsler (LV) kullanılmıştır.

# ADENOVİRAL VEKTÖRLER

- Adenovirüsler lineer çift sarmallı DNA'ya sahip bir ailedir.
- Bu ailenin A-F arasında gruplanmış oldukça geniş 50 adet insan serotipi bulunmaktadır.
- Subgrup C içinde bulunan A2 ve A5, gen tedavisinde kullanılan ve nononkojenik olan virüslerdir.
- 37 kb'a kadar ulaşabilen oldukça büyük bir taşıma kapasitesine sahiptirler.
- Kolay üretilebilirler.
- Ancak kapasite büyük olunca vektör boyutu da büyük olmaktadır (~100 nm). Bu durum doku içindeki dağılımını olumsuz etkilemektedir.
- Vektörün diğer bir dezavantajı da immun reaksiyon oluşturma potansiyelidir.

# GENOM EDITİNG

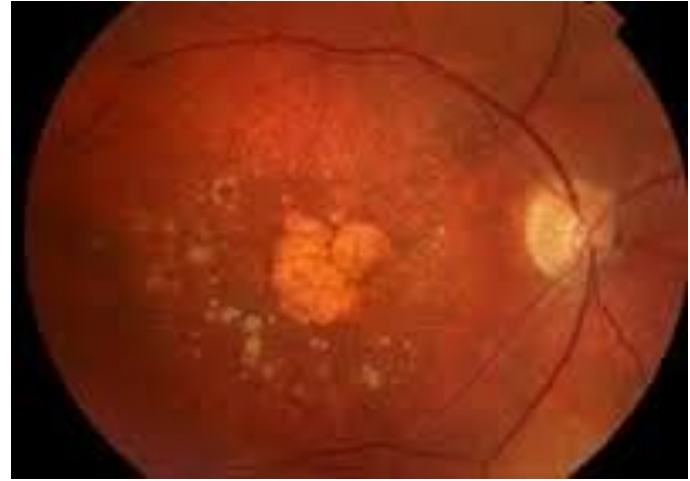
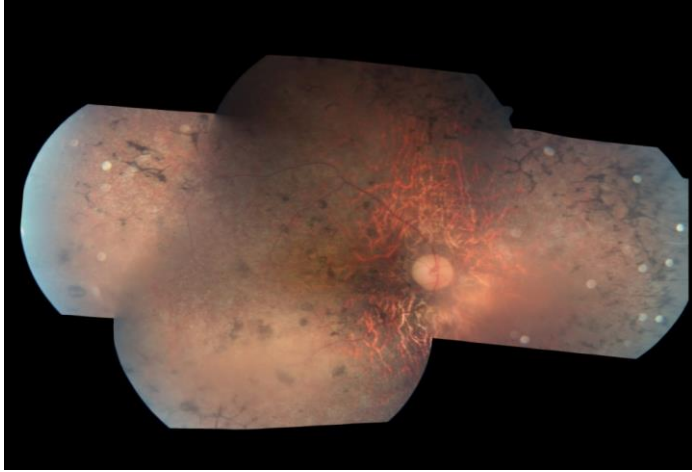
- Bu yöntemde öncelikle mutasyonlu gen bölgesi belirlenir.
- Nükleazlar yardımıyla bu bölgede DNA kesilir.
- Daha sonra da DNA onarımı yapılır.
- Bu teknolojiye DNA'yı kesmek için sıklıkla 4 nükleaz-bazlı yöntem kullanılır.
  - Zinc finger nükleaz (ZFN)
  - Transcription activator like efektör nükleaz (TALEN)
  - Meganükleaz
  - Clustered regularly interspaced short palindromic repeat (CRISPR) ile buna bağlantılı CRISPR-associated protein 9 (Cas9) (CRISPR/Cas9) sistemi.

- **CRISPR/ Cas9 sisteminin avantajları:**
- 1- Bu sistemde kullanılan short guide RNA (sgRNA)'nın dizaynı ve üretimi diğer sistemlerden daha kolay ve çabuktur.
- 2- Bu yöntemle daha spesifik bir şekilde genom düzenleme yapılabilir.
- 3- CRISPR sistemi daha güçlü bir sistemdir. Aynı anda farklı sgRNA'lar kullanılarak çok sayıda gen aynı zamanda ve daha güçlü bir şekilde düzenlenebilir. Bu nedenle poligenik hastalıklarda kullanım için daha uygun ve etkin bir sistemdir.

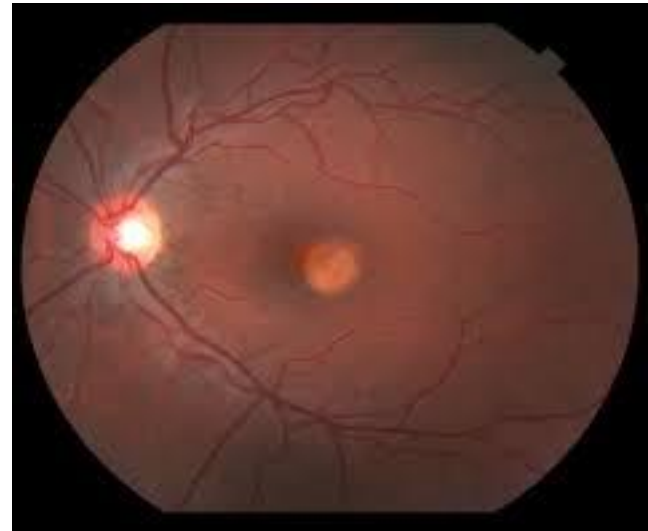
# Kaygılar ve Çözümleri:

- Off target (Hedef dışı) etkiler
- CRISPR/Cas9 hedeflenen sekansı tanısa da, hedeflenmeyen bazların kesilmesi ve istenmeyen gen kırılmalarının olması mümkündür. Bu kırılmalar tümör supresör genleri aktive edebilir. Klinik uygulamalara geçilmeden off-target etkilerin azaltılması gerekir. Bu amaçla hedef belirleyici bazı araçlar ve bazı yöntemler geliştirilmektedir.





RP, Leber KA, YBMD, BEST, STARGARDTS' MD, AKROMATOPSI, KOROİDEREMİ



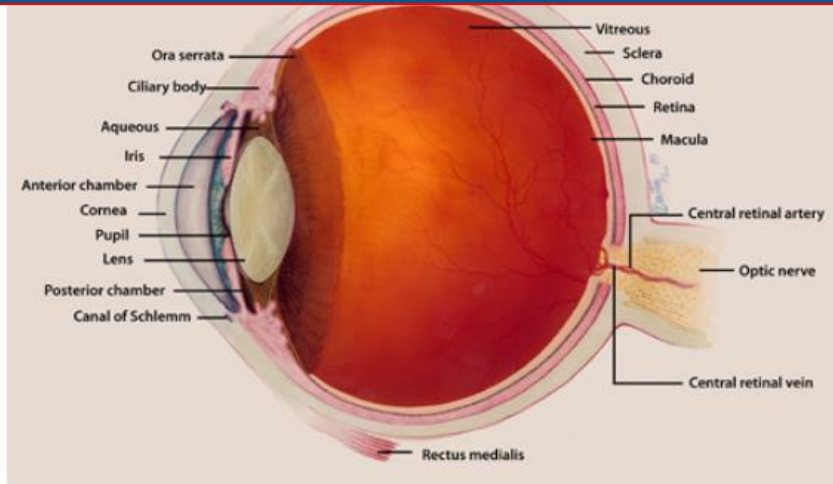


Diagram of Eye

## Rare Diseases that Affect the Eye

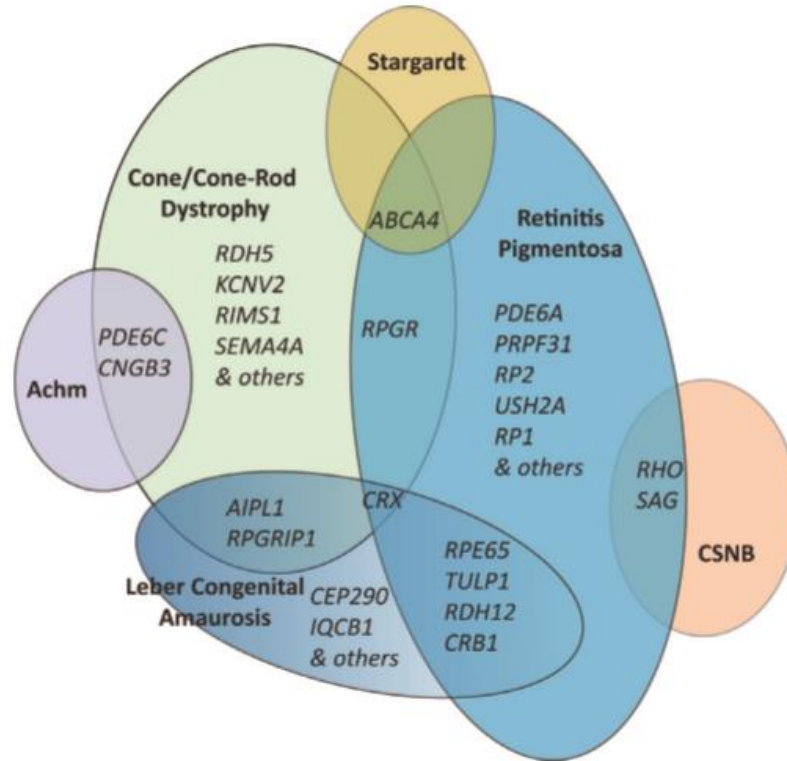
- Anophthalmia and Microphthalmia
- Bietti's Crystalline Dystrophy
- Behçet's Disease
- Idiopathic Intracranial Hypertension
- Retinitis Pigmentosa
- Retinoblastoma
- Stargardt Disease
- Usher Syndrome
- Uveal Coloboma



- 1-Orphan Disease-Yetim hastalıklar grubunda
- RP: 1/4000 Türkiye'de tahmini rakam : **20 bin**
- Tedavisi olmayan hastalıklar

# GEN TEDAVİSİ

- Hastalığa neden olan mutasyonlu geni tespit etmek gerekir.



- Bu genin sağlam formu bir vektöre yüklenerek göze uygulanır.
- Vektör olarak adenovirus, lentivirus ve adeno-associated virus (AAV) kullanılabilir.
- Okuler gen tedavisinde en çok rekombinant adeno-associated virus (rAAV) kullanılmaktadır.
- Diğer viral vektörlerden daha küçük bir volüm gerektirir.

# LEBER'İN KONJENİTAL KÖRLÜĞÜ VE RP

- Leber'in konjenital körlüğü (LKK) nadir görülen (1 / 50-100 bin), çok ağır seyreden, konjenital RP formudur.
- Erken yaşta total körlükle sonuçlanır.
- Günümüze dek LKK'ne neden olan 20 gen, 65 de mutasyon saptanmıştır.
- Bu genlerden sadece RPE'ye spesifik protein 65 kDa (RPE65) genine yönelik bir tedavi mevcuttur.

- RPE65 geni, RPE hücrelerinde eksprese edilir ve all-trans retinil esterinin 11-cis retinale dönüşümünü sağlayan izomerohidrolazı kodlar. 11-cis retinal olmadan opsinler ışığı yakalayıp elektriksel uyarıya çeviremez.
- RPE65 mutasyonu görme siklusunu bozarak, RPE hücrelerinde lipid damlacıkları içinde retinil ester birikimine, lipofuksin granüllerinde artışa neden olur.
- Sonuçta progresif bir retinal dejenerasyon ve görme kaybı meydana gelir.
- RPE65 gen mutasyonu O-R RP'lerin %1-2'sinde, LKK olgularının da %7-16'sında görülür.

- **RPE65 Geni İle İlgili Klinik Çalışmalar**

- Hayvan deneylerinde elde edilen cesaret verici sonuçlardan sonra 2008 yılında RPE65 gen tedavisi ( voretigene neparvovec: VN ) ile ilgili klinik çalışmaları başlatılmıştır.

- **Faz Çalışmaları**

- Bu hasta grubunda yapılan çalışmalarda sonuçları değerlendirmek için görme keskinliği, görme alanı yanında FDA tarafından onaylanan multiluminance mobility test (MLMT) ve full-field light sensitivity testi (FST) kullanılmıştır.
- RPE 65 geni ile ilgili üç farklı grup tarafından az sayıda olgu içeren faz 1 sonuçları yayınlanmıştır.


## Faz III çalışma: MLMT testi.

Başlangıçta: 4 lux (**Geçemedi**)

voretigene neparvovec uygulamasından 1  
yıl sonra: 4 lux (**Geçti**)



14431 A



18986 A



# Faz I

- Bainbridge ve ark. larının yaptığı faz I çalışmada 3 olgu
- Hauswirth ve ark.'nın yaptığı faz I çalışmada 3 olgu
- Maguire ve ark.'nın yaptığı diğer faz I çalışmaya yine 3 olgu
- Olguların çoğunda görme duyarlılıkları artmış
- Karanlık adapte FST testinde tüm olgularda tedavi edilen gözlerde belirgin artış görülürken, kontrol gözlerde farklılık bulunmamıştır.
- Tüm olgularda retinal fonksiyonlarda orta dereceli iyileşme olmuştur.

## Faz II

- Maguire ve ark. yaşları 8 ile 44 yıl arasında değişen 12 hastada doz belirleme çalışmasını yaparak 3 farklı dozdan 0.3 ml'de  $1.5 \times 10^{11}$  vg seçilmiştir.
- Maguire ve ark.'nın uzun dönem takip sonuçlarını sundukları çalışmada faz I alışma grubundan 11 olgunun 4 yıl, faz III alışma grubundan ise 29 olgunun 2 yıllık takip sonuçları sunulmuştur. MLMT testinde belirgin iyileşme, FST testinde ışık hassasiyetinde artış saptanmıştır.
- Hiçbir olguda virusa karşı immün reaksiyon görülmemiştir. Elde edilen verilerle tedavinin etkisinin uygulamadan 30 gün sonra başladığı ve 4 yıl süreyle korunduğu belirtilmiştir.<sup>77</sup>

# Faz III

- 2012 yılında Spark Therapeutics sponsorluğunda Faz III çalışması planlanmıştır.
- ABD’de 2 ayrı merkezde yapılan, randomize, kontrollü çalışmaya 3 yaş ve üzeri olgular dahil edilmiştir.
- Görme keskinliği 20/60’ın altında, görme alanları 20 derecenin altında, biallelik RPE65 mutasyonu olan, yeterli canlı retinası olan, testleri yapmaktan problemi olmayan olgular çalışmaya dahil edilmiştir.
- Cerrahi işlem bilateral uygulanmış, subretinal olarak 0.3 mL içinde  $1.5 \times 10^{11}$  vg içeren VN yapılmıştır.
- 1 yıllık takip sonunda MLMT skorundaki değişim tedavi grubunda (1.8), kontrol grubundan (0.2) anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur.
- Tedavi grubunda olguların % 65’i MLMT’de en düşük aydınlatmada bile başarılı olmuşlardır. Tedavi sonrasında ilk 1 ayda başlayan iyileşmeler 4 yılın sonuna dek korunmuştur.
- Tedavi edilen olgularda ayrıca nistagmus sıklığında azalma, multifokal ERG yanıtlarında artış ve mikroperimetride fiksasyon stabilitesinde artış saptanmıştır. En iyi sonuçlar retinal yanıtları daha iyi olan genç hastalarda alınmıştır.

# Yan Etkiler

- Faz çalışmalarına dahil edilen toplam 41 olgunun 81 gözünden elde edilen veriler incelendiğinde, olguların %66'sı, gözlerin %57'sinde yan etkiye rastlandığı bu yan etkilerin VN enjeksiyonu, cerrahi işlem, kortikosteroid kullanımı ile ilgili olduğu belirtilmiştir.
- Ciddi okuler yan etki olarak 1 olguda foveal incelme, 1 olguda da steroidlere bağlı glokom ve optik atrofi, 1 olguda retina dekolmanı görülmüştür.

- On yıldan fazla süren çalışmaların sonucunda 2017 Aralık ayında ilk gen tedavisi ilacı olan voretigene neparvovec-rzyl (VN) (Luxturna, Spark Therapeutics, Philadelphia, PA, USA) Amerika'da FDA tarafından onaylanmıştır.
- İlaç homozigot (biallelik) RPE65 gen mutasyonu ile ilişkili herediter retina hastalıklarında günümüzde kullanılan tek farmakolojik ajan olup 2018 yılında da Avrupa Birliği tarafından onaylanmıştır.
- İlaç sağlam RPE65 genini taşıyan modifiye AAV2 içermektedir.
- Ömür boyu tek doz olarak uygulanan ilaç, 1 yaşından büyük olan, canlı retinal hücresi olan ve genetik olarak uygun olan tüm olgularda önerilmektedir.

Tablo 1: RP ile ilgili devam eden klinik gen tedavi çalışmaları

Hedef Hastalık	Faz/ Durum	Hedef Gen	Vektör	Uygulama Yolu	Sponsor	Klinik çalışma No
LKK	I-II Aktif	RPE65	AAV-RPE65	Subretinal	MeiraGTx UKII Ltd	NCT02781480 NCT02946879 (5 yıl takip)
LKK	I-II Aktif	CEP290	QR-110 (RNA antisens oligonükleotid)	İntravitreal	ProQR Therapeutics	NCT03140969
RP	I-II Henüz inaktif	RLBP1	CPK850 (rAAV8 - hRLBP1)	Subretinal	Novartis Pharmaceuticals	NCT03374657
RP	I-II Aktif	PDE6B	AAV2/5-hPDE6B	Subretinal	Horama S.A.	NCT03328130
XLRP	I-II Aktif	RPGR	AAV2/5hRKp.RPGR	Subretinal	MeiraGTx UK II Ltd	NCT0325284
XLRP	I-II Aktif	RPGR	rAAV2tYF-GRK1- RPGR	Subretinal	Applied Genetic Technologies Corp.	NCT03316560
XLRP	I-II Aktif	RPGR	AAV-RPGR	Subretinal	Nightstar Therapeutics	NCT03116113
İleri RP	I-II Aktif	RST-001	AAV2 -rodopsin2	Intravitreal	Allergan	NCT02556736
Non Sendromik RP	I-II Aktif		rAAV2.7m8-CAG	Intravitreal	GenSight Biologics	NCT03326336

# STARGARDT'IN MAKULA DİSTROFİSİ

- Stargardt'ın makula distrofisi (SMD) hem erişkinlerde hem de çocuklarda en sık görülen herediter makula distrofisidir.
- Prevalansı 1 / 8 bin ile 1 / 10 bin arasında değişmektedir.
- O-R geçiş gösterir.
- Olgularda her iki gözde santral görme kaybı, renkli görmede bozukluk, karanlık adaptasyonunda gecikme, makulada atrofi ve arka kutupta RPE düzeyinde sarı beyaz lekelenmelerle seyreder.
- Hastaların büyük bir kısmında (yaklaşık %80'inde) ABCA4 mutasyonu mevcuttur.
- ABCA4 geni ABCR proteinini kodlar. Bu protein ise fotoreseptör spesifik ATP-bağlayıcı kaset taşıyıcısıdır. All- transretinaldehitin (RAL) diskten sitoplazmaya taşınmasını kolaylaştırır.
- SMD, monogenik tutulumu nedeniyle genetik tedavi için elverişli bir hastalıktır. Gen tedavisi için en önemli kısıtlama ABCA4 geninin büyüklüğüdür. (6.8 kb) Ancak yapılan bazı çalışmalarda başarılı sonuçlar alınmıştır.

- SMD, monogenik tutulumu nedeniyle genetik tedavi için elverişli bir hastalıktır. Gen tedavisi için en önemli kısıtlama ABCA4 geninin büyüklüğüdür. (6.8 kb)
- Gen tedavilerinde en sık kullanılan vektör olan AAV'ün maksimum kapasitesi yaklaşık 4.7 kb civarındadır.
- Dual vektör DNA'nın iki parçaya bölünüp vektörlere yüklenmesi ile yapılır. DNA'nın ortak çakışan parçaları uygulama sonrasında birleşir. Bu yöntemle ABCA4 geninin dual vektöre yüklemesi mümkün olabilmiştir.
- Kullanılan diğer bir vektör, kapasitesi daha yüksek olan (8 kb) LV'tür.
- LV'lerin en büyük dezavantajı genom içine rastgele integre olmasıdır. Bunu çözmeye yönelik çalışmalar yapılmaktadır.



# YAŞA BAĞLI MAKULA DEJENERASYONU

- YBMD, progresif seyreden, merkezi görmeyi bozan, ileri yaş grubunda geri dönüşümsüz görme kaybına yol açan, dejeneratif makula hastalığıdır. 2 grupta incelenir. 1:Kuru tip (Nonneovasküler) 2:Yaş tip (Neovasküler)
- Neovasküler YBMD'de (nYBMD) koroidal ya da retinal damarlardan gelişen anormal vaskülarizasyon söz konusudur. VEGF'in bu mekanizmada kilit rolü oynadığı bilinmektedir.
- Hipoksi varlığında retinal nöronlardan, Müller hücreleri ve mikroglialardan VEGF salınımı artar. Bunun yanında plasental growth faktör (PIGF), platelet-derive growth faktör (PDGF- $\beta$ ), angiopoietin-1 (Ang1) and angiopoietin-2 (Ang2) gibi faktörler de neovaskülarizasyon gelişiminde etkili olur.
- VEGF reseptörlerinden VEGFR1 (FLT1) and VEGFR2 (FLK1/KDR) endotelial hücreler ile nöronlarda eksprese edilir ve hücre proliferasyonu, migrasyonu ve vasküler geçirgenlik artışından sorumludur.
- nYBMD'de gen tedavileri ya direk olarak ya da reseptörleri yoluyla VEGF'i hedef alır.

Tablo 2: nYBMD'ye yönelik gen tedavisi ile ilgili klinik çalışmalar

Kayıt no	Eksprese ettiği gen	Vektör	Faz	Veriliş yolu	Durumu	Sponsor	Yer	Hasta sayısı
NCT00109499	PEDF	AAV5	I	Intravitreal	Tamamlanmış	GenVec	ABD	28
NCT01494805	sFLT01	AAV2	I/II	Subretinal	Tamamlanmış	Lions Eye Institute, Adverum Biotechnologies	Australia	40
NCT03748784	Aflibercept	AAV2	I	Intravitreal	Devam ediyor	Adverum Biotechnologies	ABD	30
NCT01024998	sFLT01	AAV2	I	Intravitreal	Tamamlanmış	Sanofi Genzyme	ABD	19
NCT03066258	Anti-VEGF Fab	AAV8	I/IIa	Subretinal	Devam Ediyor	Regenxbio	ABD	42
NCT01301443	Endostatin ve angiostatin	EIAV	I	Subretinal	Tamamlanmış	Oxford BioMedica	ABD	21
NCT03585556	sCD59	AAV2	I	Intravitreal	Devam ediyor	Hemera Biosciences	ABD	25

# KOROİDEREMİ

- Koroideremi X'e bağlı geçiş gösteren erkeklerde ortaya çıkan, progresif retinal dejenerasyonla seyreden 50 binde bir görülen bir retina hastalığıdır. Etkilenen erkek bireylerde gece görmede azalma, periferal görme kaybı ve 6. dekatta total görme kaybı ile seyreder.
- CHM geni Rab escort protein-1 (REP1) proteinini kodlar. REP1 proteini Rab GTPaz enziminin düzenlenmesinde retinada ve RPE'de vezikül taşınmasında kilit rol aynar.
- Preklinik çalışmalarda elde edilen cesaret verici sonuçlar sonrasında planlanan bir klinik çalışmada sağlam CHM geni vektör ile (AAV-REP1) subretinal alana enjekte edilmiştir.

Tablo 3: Koroideremide gen tedavisi ile ilgili klinik çalışmalar

Kayıt no	Faz	Yer	Hasta Sayısı	Vektör	Başlama tarihi
NCT01461213	I/II	İngiltere	14	rAAV2.REP1	2011
NCT02341807	I/II	ABD	15	rAAV2.hCHM	2015
NCT02077361	I/II	Kanada	6	rAAV2.REP1	2015
NCT02553135	I/II	ABD	6	rAAV2.REP1	2015
NCT02671539	I/II	Almanya	6	rAAV2.REP1	2016
NCT02407678	II	İngiltere	30	rAAV2.REP1	2016

# AKROMATOPSİ:

- Akromatopsi O-R geçişli olup görülme oranı 1/30 bindir. Bu hastalarda ileri düzeyde gündüz görme bozukluğu, azalmış görme keskinliği, fotofobi, nistagmus ve renk ayırt etmede güçlükler saptanır.
- Kon fotoreseptörlerinde değişken düzeylerde dejenerasyon mevcuttur. Günümüze dek 6 gende mutasyon saptanmıştır (ATF6, CNGA3, CNGB3, GNAT2, PDE6C ve PDE6H). Hastaların %80'inde CNGA3 ve CNGB3 genlerinde mutasyon görülür.
- CNG kanalları fototransdüksiyon kaskadının önemli bir komponentidir ve ışıkla uyarılan değişikliklerin yönetiminde rol alır.
- Günümüze dek CNGA3'te 100'den, CNGB3 'te de 50'den fazla mutasyon saptanmıştır.

## **Akromatopside gen tedavisi için yapılan klinik çalışmalar:**

- Başarılı deneysel çalışmalardan sonra 2015 yılında Almanya'da Tübingen Üniversitesi ve Ludwig-Maximilian Üniversitesi birlikte RD-CURE çalışma grubu faz I/II çalışmasını başlatmışlardır (NCT02610582). Bu çalışmada CNGA3 mutasyonu olan olgulara subretinal olarak tek doz rAAV8.hCNGA3 uygulaması yapılmıştır.
- Applied Genetic Technologies Corp (AGTC) ve National Eye Institute (NEI) işbirliği ile CNGB3 mutasyonu olan olgulara rAAV2tYF-PR1.7-hCNGB3 uygulaması yapılmıştır (NCT02935517).
- Tüm olgularda değişken derecelerde kon fonksiyonlarında, kontrast duyarlılık testlerinde artış ve ortalama görme keskinliğinde 2.9 harf artış saptanmıştır.

# GEN TEDAVİLERİNE GENEL BAKIŞ:

- Gen tedavisi ile ilgili ilk sonuçlar iyi olsa da bazı soruların cevabı henüz bilinmemektedir.
- Viral vektörler gen taşımada diğer vektörlerden daha etkilidir. Ancak AAV'ler RPE hücrelerine çok iyi uyum göstermesine rağmen diğer retinal hücrelere uyumu yeterli değildir. RPE dışında diğer retinal hücrelere özellikle de fotoreseptörlere uyum sağlayacak yeni vektörlere ihtiyaç vardır.
- AVV'ün mevcut kapasitesi 4.7 kb'dır ve bu kapasite daha büyük genlerin tedavi edilmesi için yeterli değildir. Dual AAV, LV, adenovirüsler ve non-viral vektörler kullanılarak kapasite problemi aşılmaya çalışılmaktadır. Bu sayede LKK'de CEP290, SMD'de ABCA4, ve Tip 1 Usher sendromunda MYO7A gibi genler şu anda kapasite dahilindedir.
- Yapılan çalışmalarla X geçişli RP için RPGR, MERTK, akromatopsi için CNGA3 ve CNGB3 SMD için ABCA4 ve Usher 2A için MYO7A tedavisi de mümkün olacaktır.
- Gelişen diğer teknoloji de CRISPR/Cas9-bazlı genom editing teknolojisi. Bu yöntemle çoklu DNA mutasyonlarının da tedavi edilmesi mümkün olacaktır.

HASTALARI NASIL BELİRLEYECEĞİZ



# Whole Exome Sequencing-WES TESTİ

## TÜM EKZOM DİZİLEME

- İnsan genomu yaklaşık olarak 180,000 ekzom içermektedir. Bütün ekzonlar genomun sadece %2'sine yakın bir kısmını oluştururlar.
- Fakat buna rağmen, hastalıklarla ilgili olduğu bilinen değişikliklerin yaklaşık %85'i bu bölgelerde yer alır.

# Clinical Exome Sequencing-CES

## Klinik Ekzom Dizileme

- Maliyeti daha düşük
- Daha kısa zamanda yapılabiliyor.
- Klinik anlamlılığı bilinen ekzomlar taranıyor.
- 180 bin ekzom içinden 4500-5000 ekzom değerlendiriliyor.

# IGSR and the 1000 Genomes Project



Populations: ● - African; ● - American; ● - East Asian; ● - European; ● - South Asian;

## Available data

### 1000 Genomes Project

1000 Genomes Release	Variants	Individuals	Populations	VCF	Alignments	Supporting Data
Phase 3	84.4 million	2504	26	<a href="#">VCF</a>	<a href="#">Alignments</a>	<a href="#">Supporting Data</a>
Phase 1	37.9 million	1092	14	<a href="#">VCF</a>	<a href="#">Alignments</a>	<a href="#">Supporting Data</a>
Pilot	14.8 million	179	4	<a href="#">VCF</a>	<a href="#">Alignments</a>	<a href="#">Supporting Data</a>