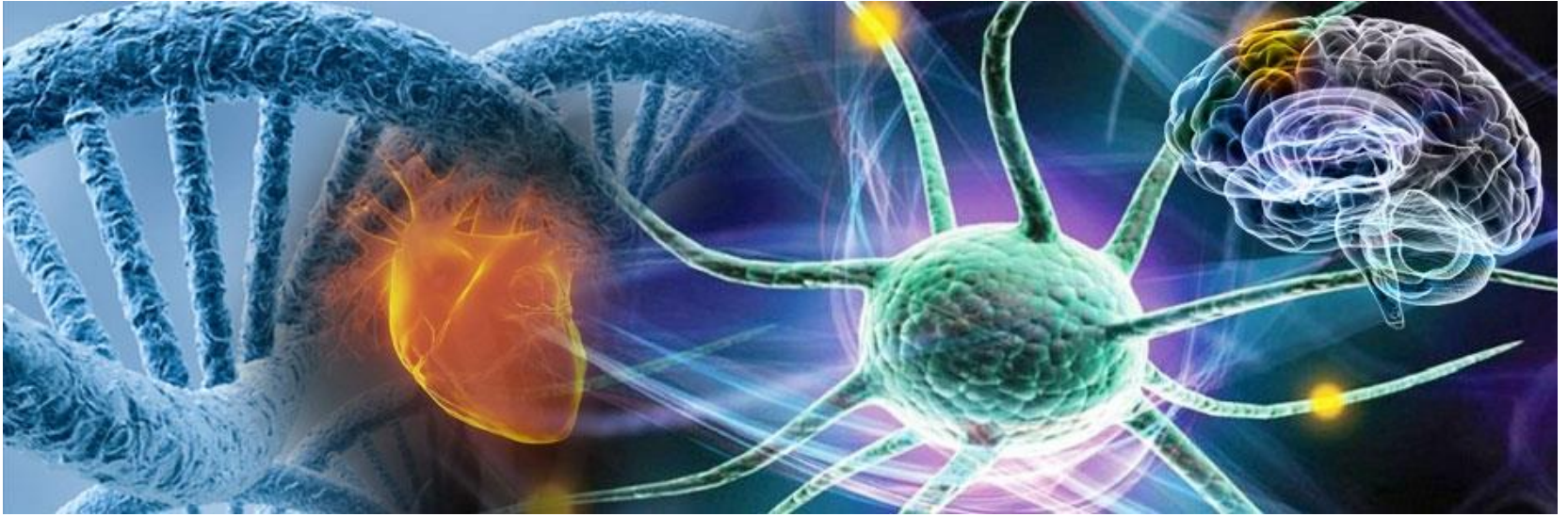


TIBBİ BİYOTEKNOLOJİ



Giriş

- Genomik, proteomik, farmakogenomik, kök hücreler ve klonlama süreçleri hakkındaki bilgilerimizin artışına bağlı olarak “terapötik” (therapeutics) adlı yeni bir alanın doğmasına yol açmıştır.

İZLE



Therapeutics

- Bu yeni alan;
 - Kistik fibrozis,
 - Parkinson,
 - Hemofili,
 - Ailesel hiperkolesterolemi,
 - Kalp hastalıkları
 - Kanser

gibi hem genetik hem de sonradan kazanılan hastalıklar üzerinde çalışmaktadır.

İZLE



Therapeutics

- Her ne kadar tedavi edici yeni yöntemler geleneksel yöntemlerin yerini tamamen alımlasalar da, hastalıklara karşı kullanılan silahların sayısını önemli ölçüde artıracaktır.

İZLE



GEN TERAPİSİ

İZLE



Gen terapisi

- Hastalıkların tedavisinde genlerin kullanımı 20 yıl öncesine kadar kurgusal bir hikayeden ibaret idi.
- Gelişen teknoloji ve çevresel uygulamalardaki düzenlemeler, araştırcıları gen terapisi yolunda cesaretlendirmiştir.

İZLE



Gen terapisi

- Spesifik bir bozukluğun düzeltilmesi için normal genin hücre içine transferi, ilaçla tedaviye alternatif bir yoldur.
- Yakın gelecekte genlerin, ilaçlar gibi reçete edilebileceği düşünülmektedir.

İZLE



Gen terapisi

- Gen terapisi, kanser ve AIDS gibi sonradan kazanılmış ve/veya genetik hastalıkların tedavisinde önemli bir noktadır.
- Gen terapisi etik açıdan tartişılmaya devam etse de, bu konuda yapılan çalışmalar kuruluşlar tarafından kabul görmeye başlamıştır.
- Etkili ve güvenli gen transferi yöntemlerinin geliştirilmesi için yoğun çaba ve para harcanmaktadır.

İZLE



Gen terapiŖi yöntemleri

- İki tip gen terapiŖi tanımlamak mümkündür:
 - Somatik gen terapiŖi
 - Germ hattı gen terapiŖi

İZLE



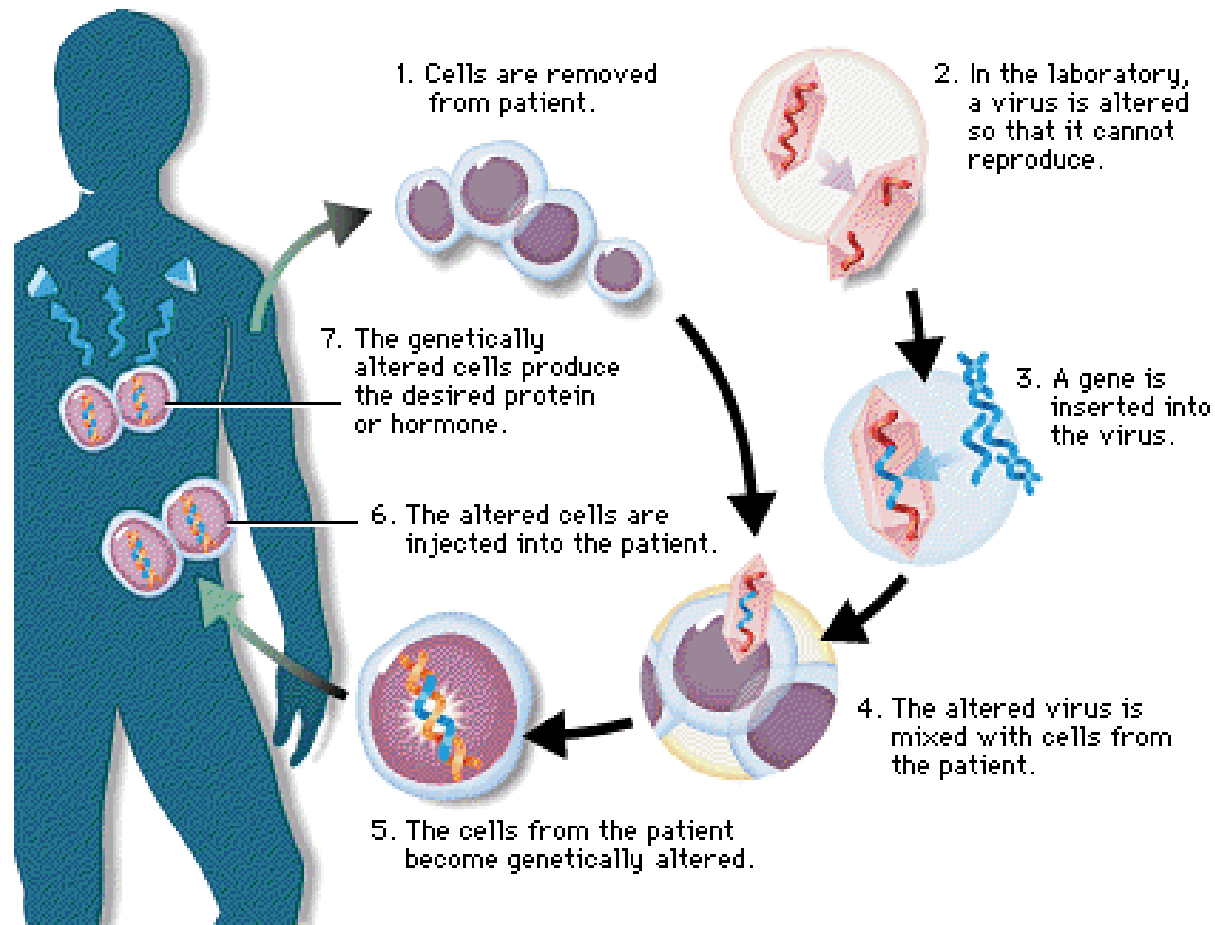
Somatik gen terapisi

- Bu tipte bireyin yalnızca somatik (vücut) hücreleri kullanılır.
- Embriyonik gen terapisi de somatik gen terapisi içerisinde yer alır.

İZLE



Somatik gen terapisi



İZLE



Germ hattı gen terapisi

- Bu tipte ise yumurta ya da sperm hücrelerinde kalıcı modifikasyonlar gerçekleştirilir.
- Bu değişiklikler doğrudan gelecek nesillere aktarılır.
- Günümüzde yalnızca çocuk ve yetişkinlerde somatik hücrelere uygulanan gen terapisine izin verilmektedir.

İZLE



Germ hattı gen terapisi

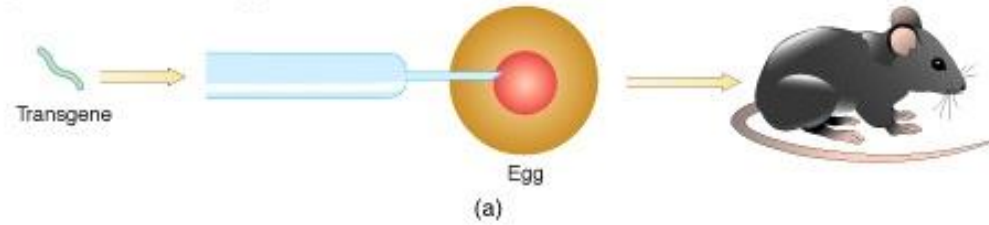
- Gamet hücrelerine uygulanan gen terapisi, günümüzün en sıcak tartışma konularından birisidir.
- Germ hücrelerinde genetik düzeltme ya da modifikasyon yapılması hem güvenlik hem de etik açıdan önemli sonuçlara yol açabilecektir.

İZLE

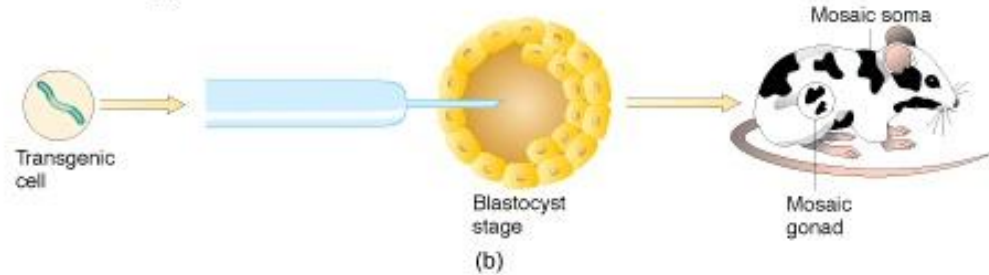


Germ hattı gen terapisi

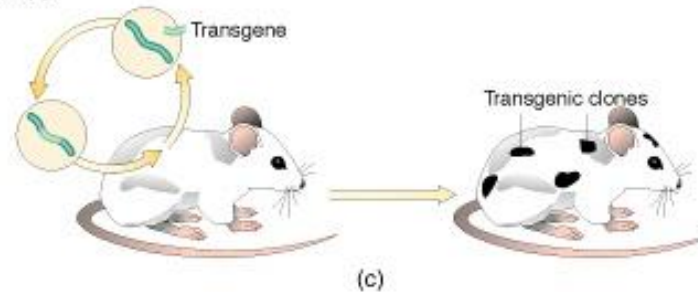
Injection of fertilized egg



Germinal therapy



Somatic therapy



İZLE



Genetik bozukluklar

- Bir ya da daha fazla sayıda gende veya kromozomda meydana gelen mutasyonlar sonucunda oluşan tıbbi problemlerdir.
- Mutasyonlar, DNA'da bulunan gen veya gen olmayan bölgelerdeki nükleotid sekanslarında meydana gelen değişikliklerdir.

İZLE



Genetik bozukluklar

- Birey doğuştan mutasyona sahip olabileceği gibi, yaşamının herhangi bir evresinde de kazanabilir.
- Mutasyonlar, genin normal fonksiyonunu veya ürünlerini etkiledikleri zaman soruna yol açarlar.
- Mutasyonların neden olduğu spesifik tıbbi hastalıklara “genetik hastalıklar” adı verilir.

İZLE



Kategoriler

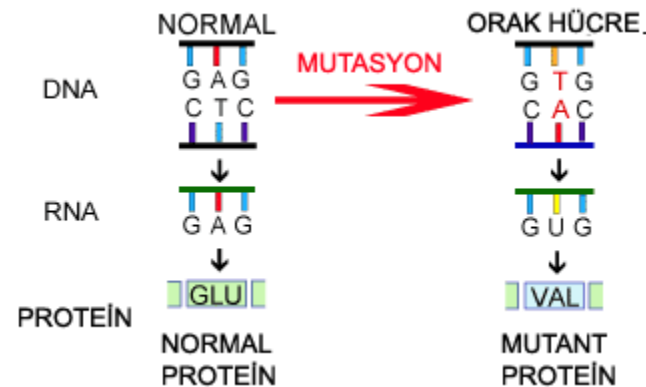
- Genetik hastalıklar dört kategoride toplanabilir:
 - Yalnızca bir gende meydana gelen mutasyonlar
 - Çoklu gen bozuklukları
 - Mitokondriyal bozukluklar
 - Kromozom anormallikleri

İZLE



Yalnızca bir gende meydana gelen mutasyonlar

- Bir gende meydana gelen tek bir mutasyon proteini etkileyebilir.
- Orak hücre anemisi bu tarz bir genetik bozukluktur.
- Bu hastalıkta yalnızca bir tek aminoasitlik değişiklik proteinin yapı ve fonksiyonunu etkilemek için yeterlidir.



İZLE



Çoklu gen bozuklukları

- Bu tarz hastalıklar genellikle çevresel etkilerle de birlikte, birden çok gende meydana gelen mutasyonlarla ortaya çıkar.
- Tedavisi oldukça güç durumlarıdır.
- Kanser, kalp hastalıkları ve diyabet yalnızca birkaç örnektir.

İZLE



Mitokondriyal bozukluklar

- Birçok organ sistemini etkileyen hastalıklardır.
- Mitokondriyal DNA'da meydana gelen mutasyonlar sonucunda oluşmaktadırlar.

İZLE



Kromozom anormallikleri

- Bazı durumlarda kromozomun kendisi ya da bir parçası kaybolabilir, miktarı iki katına çıkabilir veya modifiye olabilir.
- Down sendromu bu tarz hastalıklara örnek olarak verilebilir.



İZLE



Gen hedefinin seçimi

- Yalnızca tek bir gen bölgesi tarafından oluşturulan genetik bozukluklar gen terapisi çalışmalarlarıyla tedavi edilebilmektedir.

İZLE



Gen hedefinin seçimi

Hastalık	Görülme Sıklığı	Gen Ürünü	Hedef Doku
Kistik fibrozis	1/2.500 (kafkaslar)	Kistik fibrozis transmembran regülatör (CFTR)	Akciğer
Duchenne kas distrofisi	1/10.000 (erkek bireyler)	Distrofin	Kas doku
Ailesel hiperkolesterolemi	1/500	Karaciğer LDL reseptörü	Hepatositler
Hemoglobin eksiklikleri (örn: talassemi)	1/600 (bazı spesifik etnik gruplar)	Hemoglobin bileşenleri	Kemik iliği hücreleri
Hemofili	A 1/10.000 (erkek) B 1/20.000 (erkek)	Pıhtılaşma faktör VIII Pıhtılaşma faktör IX	Fibroblastlar veya hepatositler
Ağı kombine immün yetmezlik (SCID)	Çok nadir	Hastaların % 25' inde adenozin deaminaz (ADA)	Kemik iliği veya T lenfositler

İZLE



Gen hedefinin seçimi

- Ancak birden fazla gen bölgesi ya da kromozomda meydana gelen değişikliklerin yol açtığı bozuklukları tedavi etmek şimdilik oldukça güçtür.
- Bu tip durumlar daha komplekstir.

İZLE



Gen hedefinin seçimi

- Gen terapisi için öncelikle normal ve mutant genler tespit edilmeli ve özellikleri araştırılmalıdır.
- Mutasyonun yol açtığı hastalık oldukça iyi anlaşılmış olmalıdır.
- Olası tedavi yöntemlerini test etmek ve hastalıkları çalışmak için hayvansal modeller geliştirilmelidir.

İZLE



Gen hedefinin seçimi

- Hedef genin aktarımı için mutlaka onaylanmış bir protokolün bulunması gerekmektedir.
- Ayrıca aktarılan genin veya gen aktarım araçlarının potansiyel toksik etkileri ve oluşabilecek immün yanıtlar da göz önünde bulundurulmalıdır.

İZLE



Gen hedefinin seçimi

- Dikkat edilmesi gereken diğer durumlar şunlardır:
 - Genin doğru hücrelere aktarılması,
 - Genin konak kromozomuna entegre olması (dolayısıyla konak hücrede yıkılmaması),
 - Genin doğru yer ve zamanda aktive olması

İZLE



Gen aktarım metotları

- Günümüzde yapılan araştırmalarla kas hücreleri, lenfositler, hepatositler, hemapoietik kök hücreler ve fibroblastlar gibi hücre tiplerine etkili gen aktarım yöntemleri geliştirilmeye çalışılmaktadır.

İZLE



Gen aktarım metotları

- Gen aktarımında iki temel strateji kullanılmaktadır:
 - *Ex vivo* gen terapisi
 - *In vivo* gen terapisi

İZLE



Ex vivo gen terapisi

- Bu yöntemde hedef hücreler vücuttan izole edilir.
- Gen aktarımı vücut dışında gerçekleştirilir.
- Hücreler yeterli sayıya ulaşana kadar kültür ortamında çoğaltılır.

İZLE



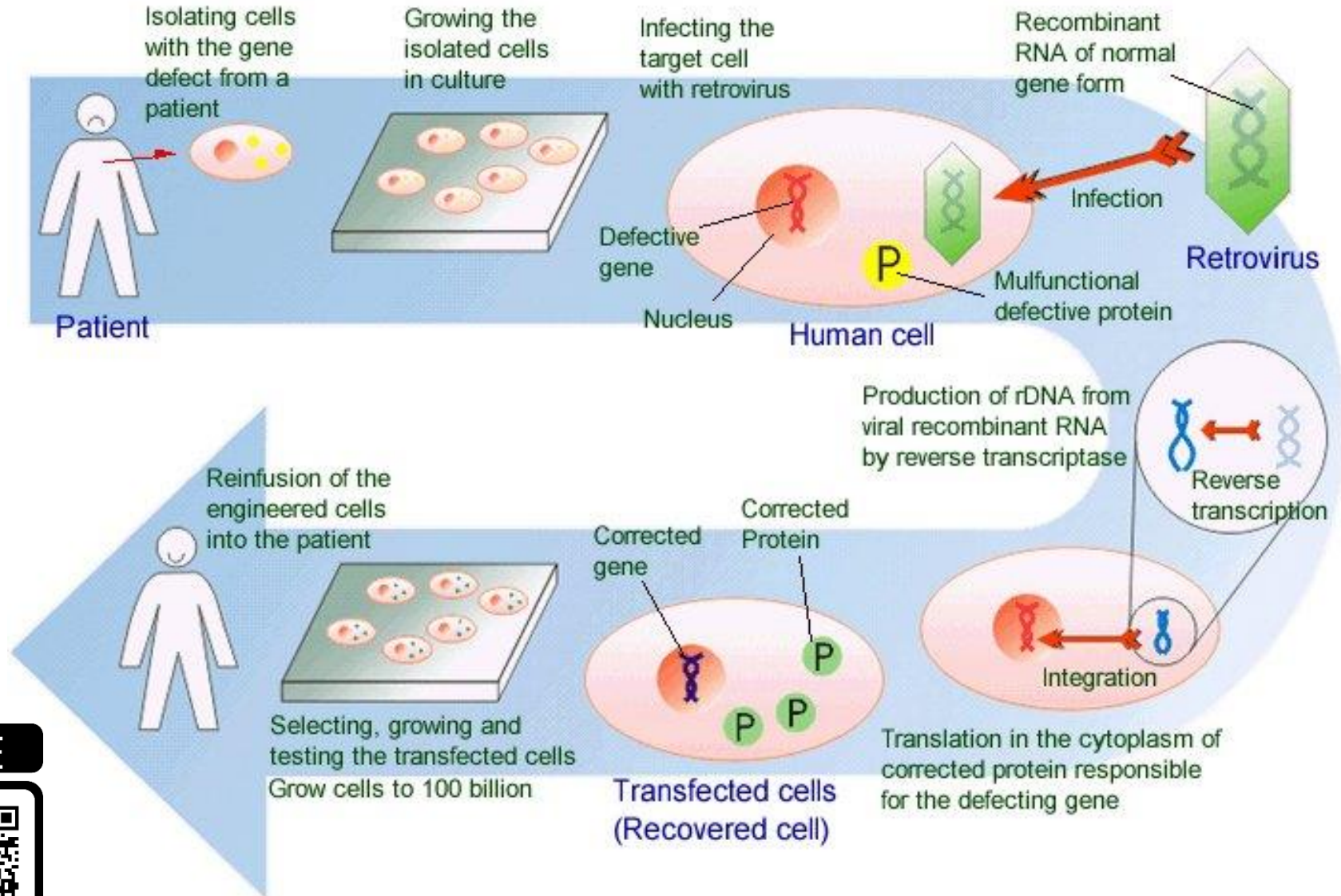
Ex vivo gen terapisi

- Daha sonra infüzyon veya transplantasyonla vücuda verilir.
- Bu teknikte eğer hastanın kendi hücreleri kullanılırsa genellikle immün yanıt ortaya çıkmaz.
- Karşılaşılan en büyük sorun genellikle aktarım yapılan hücrelerin transplantasyonudur.

İZLE



Ex vivo Gene Therapy



İZLE



Örnek: Transkaryotik terapi

- Bireyden cilt biyopsisi yoluyla elde edilen hücrelere hedef gen bölgesinin aktarımı gerçekleştirilir.
- Transforme hücreler *in vitro* ortamda kültüre alınır.
- Hedef proteini yeterli miktarda üreten hücre sayısı arttığında cilt altına tekrar enjeksiyon yapılır.
- Üretilen protein tüm vücuda yayılır.

İZLE



In vivo gen terapisi

- Bu teknikte hedef gen doğrudan vücutta bulunan spesifik bir hücreye aktarılır.
- DNA'nın spesifik hücrelere ulaştırılması için genellikle vektör kullanmak gerekmektedir.
- Bu yöntemde bazı teknik zorluklar yaşanmaktadır.

İZLE



In vivo gen terapisi

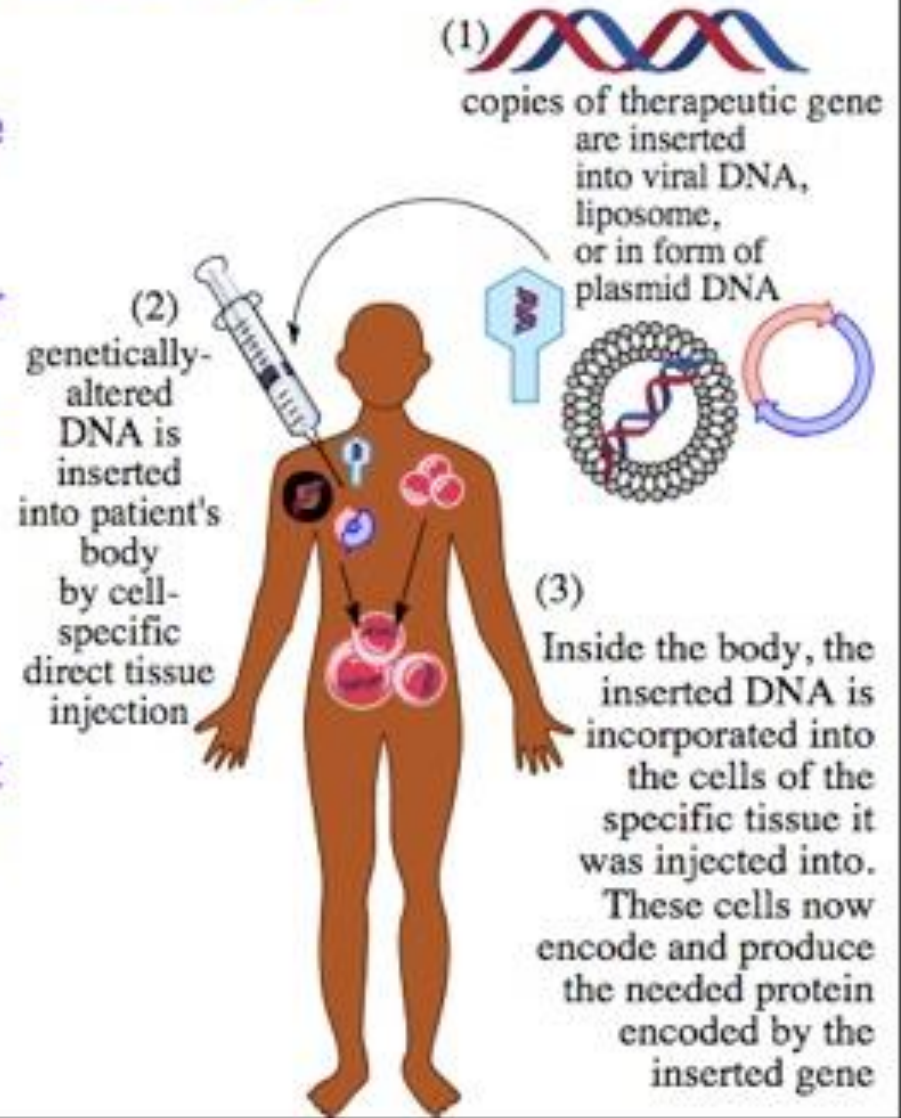
- Teknik zorluklar;
 - Aktarılan gen bazı durumlarda stabilitesini kaybedebilir.
 - Hücrenin yaşamı boyunca ifade edilmesi gerekirken yalnızca geçici olarak ifade edilebilir.
 - Hücreler vücuttan izole edilmeden transfekte edildiğinden, *ex vivo* gen terapisinde olduğu gibi spesifik değildir ve kontrol etmek daha güçtür.

İZLE



In Vivo Gene Therapy

In vivo gene therapy involves introduction of therapeutic DNA directly into the patient's body. The DNA is introduced by cell-specific direct injection into tissue in need. DNA in the form of a plasmid vector is introduced by a dermal vaccination. Modified liposomes are not currently used for gene therapy, but they will likely be the next advancement in therapeutic gene delivery as cell-specific receptor-mediated DNA carriers. Once inside the body and in contact with the specifically targeted cells, the inserted DNA is incorporated into the tissue's cells where it encodes the production of the needed protein.



İZLE



Ex vivo gen terapisinin avantajları

- En önemli avantajı vektörün yalnızca hedef hücre içerisine alınmasıdır.
- Bu yöntemde vektör, vücutta ya da dolaşım sisteminde hareket etmez (yer değiştirmez).
- Dolayısıyla bireyin immün sistemi vektör ile doğrudan temas kurmaz.

İZLE



Ex vivo gen terapisinin avantajları

- Ancak bu yöntem günümüzde halen oldukça pahalı ve zaman alıcıdır.
- Enjekte edilebilen in vivo tedavi yöntemleri daha pratiktir ve muhtemelen en çok tercih edilen metotlardan birisi olacaktır.

İZLE



Gen aktarım modelleri

- Çeşitli gen aktarım modelleri üzerinde araştırmalar yapılmakta ve bazıları için denemeler gerçekleştirilmektedir.
- Bilinen ve en sık değerlendirilen yöntemler şunlardır:
 - Virüslerin kullanımı (adenovirüsler, adeno bağlantılı virüsler, retrovirüsler, Herpes simplex virüs)
 - Lipozomların kullanımı
 - Çıplak DNA'nın aktarımı

Bu yöntemlerin her birinin kendine has avantajı veya dezavantajı vardır.

İZLE



Viral vektörler

- Viral aktarım sistemleri, birçok gen terapisi sürecinde başarı ile uygulanan metotlardır.
- Bu alandaki çalışmalar özellikle güvenilir ve etkili viral vektörlerin geliştirilmesi üzerine odaklanmaktadır.

İZLE



Retrovirüsler

- İnsanları enfekte eden RNA virüsleridir.
- Yalnızca bölünen hücreleri enfekte edebilirler.
- Dolayısıyla bölünme yeteneğini kaybetmiş hücreler için kullanılamazlar.
- Bu yöntemde transfer edilebilecek maksimum DNA uzunluğu 8 kb'dir.

İZLE

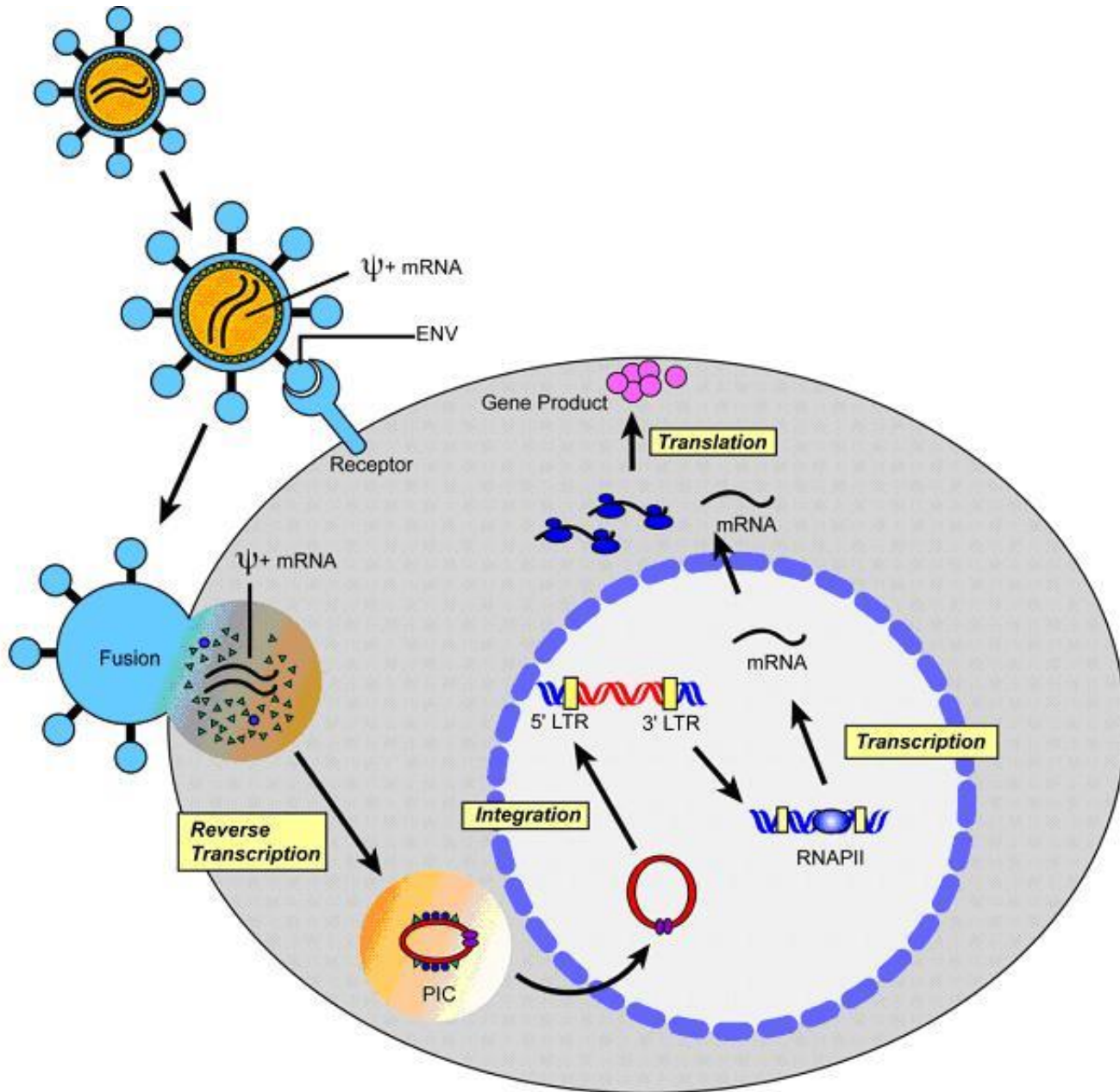


Retrovirüsler

- Aktarılan genin konak genomuna entegrasyonu rastgele gerçekleşir, kesin noktayı önceden tahmin etmek mümkün değildir.
- Viral gen entegrasyonu sonucunda tümör baskılayıcı genler inaktive olabileceği gibi, onkogenler de aktif hale gelebilir.

İZLE





İZLE



Retrovirüslerin dezavantajı !!!

- Bu yöntemin en önemli yan etkisi, virüsün, konak organizma immün sistemini uyarması olasılığıdır.

İZLE



Adenovirüsler

- Hem bölünen hem de bölünemeyen hücreleri enfekte edebilmektedirler.
- Bu nedenle *in vivo* gen terapisi için potansiyel araçlardandırlar.
- Virüsün hedef hücreye ulaşabilmesi için kılıf üzerindeki proteinler modifiye edilebilir.

İZLE



Adenovirüsler

- Bu yöntemle aktarılabilecek DNA'nın maksimum uzunluğu 7.4 kb'dir ve ifade edilme oranı çok yüksektir.
- Solunum sisteminin bölünemeyen hücreleri enfekte edilebildiğinden adenovirüsler özellikle kistik fibrozis ve diğer akciğer hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır.

İZLE



Adenovirüsler

- Adenovirüsler konak genomuna entegre olmazlar.
- Dolayısıyla mutasyon riski daha düşüktür.
- Ancak bu virüsler, enfekte ettikleri hücreleri lizise uğratırlar.

İZLE



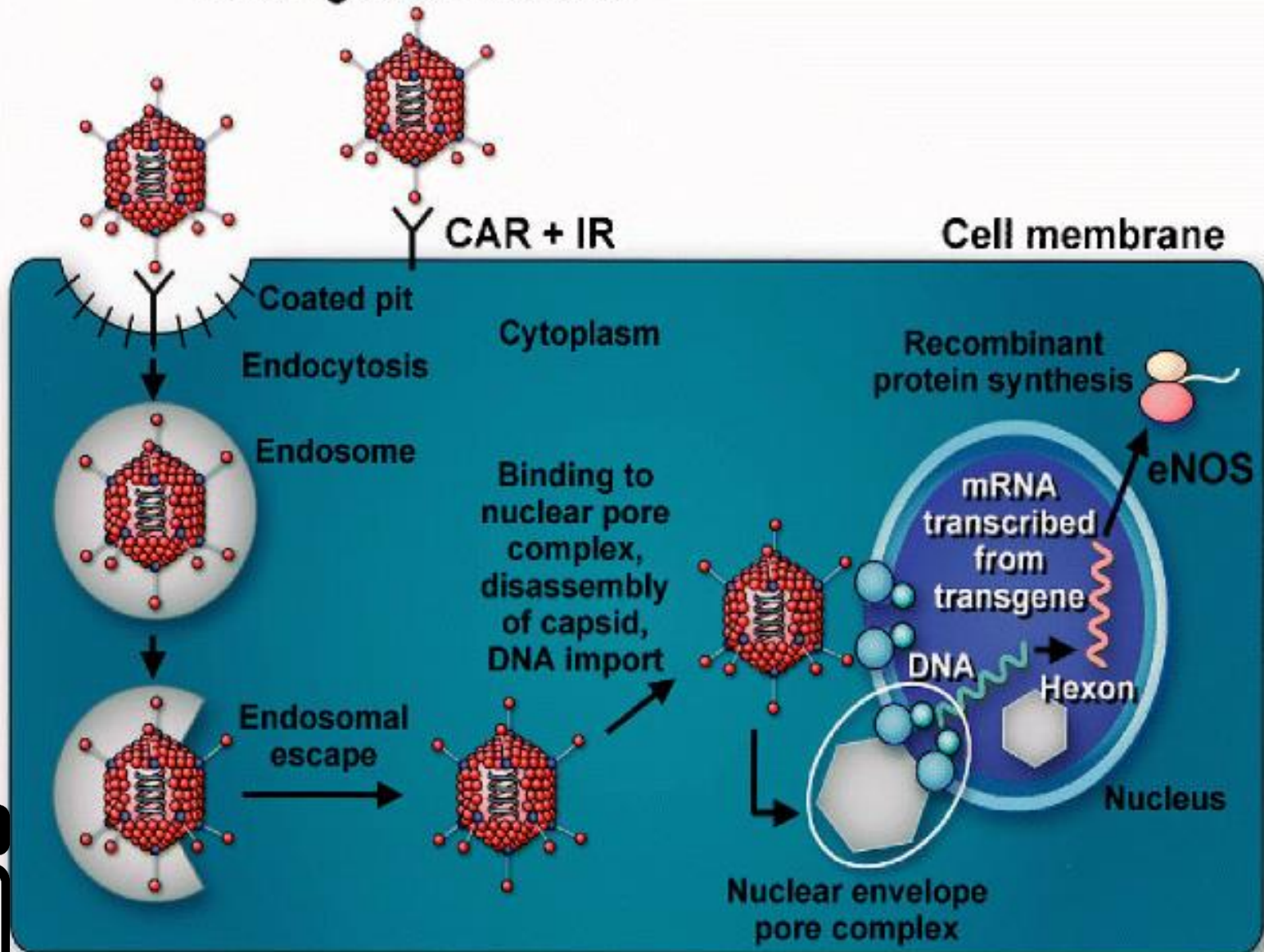
Adenovirüsler

- Dolayısıyla bu virüslerin konak hücreyi öldürmeyen formları geliştirilmiştir.
- Bu yöntemin bazı sakıncaları mevcuttur.

İZLE



Binding to cell surface



İZLE



Adenovirüslerin dezavantajları !!!

- Aktarılan gen konak kromozomuna entegre olmadığından gen ifadesi geçici olabilir.
- Bazı gen ürünleri, konak hücrenin, tümör hücresi potansiyeli kazanmasına yol açabilir.
- Bu gen ürünleri ayrıca hücreler için toksik olabilir veya immün yanıt gelişimini tetikleyebilir.

İZLE



Adeno-bağlantılı virüsler

- Bu virüsler bölünebilen ve bölünemeyen çok sayıda hücre tipini yüksek etkinlikte enfekte edebilir.
- Ancak konak hücre içinde replikasyon için yardımcı bir virüse ihtiyaç duyarlar.
- Bu yöntemle transfer edilebilecek maksimum DNA uzunluğu 5 kb'dir.

İZLE



Adeno-bağlantılı virüsler

- Bu virüsler genetik materyali konak hücre genomuna entegre edebilirler.
- Ama enfeksiyonların % 95'inde entegrasyon 19 no'lu kromozomun spesifik bir bölgesine gerçekleşir.
- Genellikle virüs herhangi bir immün yanıt oluşumuna yol açmaz.

İZLE



Viral olmayan aktarım metotları

- Bu tarz yöntemler, viral yöntemlere göre daha güvenli olabilmektedir.
- Günümüzde yapılan çalışmalar özellikle spesifik hücre tiplerine gen aktarımı üzerine yoğunlaşmıştır.

İZLE



Viral olmayan aktarım metotları

- Aynı zamanda genetik materyalin immün yanıt oluşturmaması ve kişinin dolaşım sisteminde zarar görmeden hedef hücreye kadar ulaşması gerekmektedir.
- Bu nedenle lipozomlarla gen aktarımı gündeme gelmiştir.

İZLE



Lipozomlarla gen aktarımı

- Bu yöntemde DNA, membran kürecikleri (lipozomlar) içerisine paketlenir.
- Lipozomlar, hücreler ile karıştırıldığında hücre membranı ile kaynaşabilir.
- Böylelikle hedef DNA transfer edilmiş olur.

İZLE



Lipozomlarla gen aktarımı

- Bu yöntemde, istenilen büyüklükte DNA parçası transfer edilebilir.
- Ayrıca lipozomlar, hücre tipi ayırmaksızın tüm hücrelerle kaynaşabilirler.

İZLE



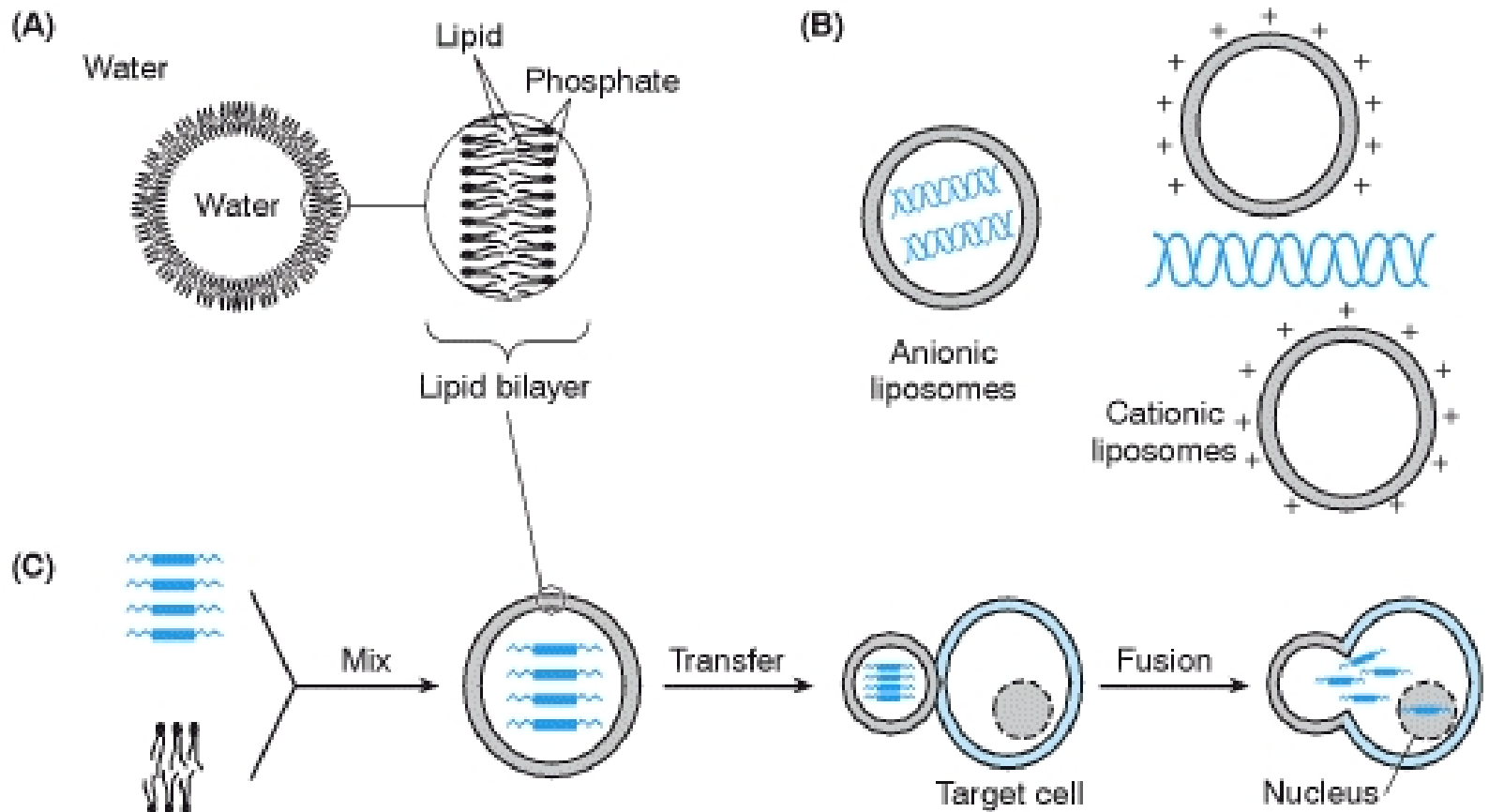
Lipozomlarla gen aktarımı

- Yöntemin etkinliği viral yöntemlere göre daha düşüktür.
- Lipozomlar genellikle immün yanıt oluşturmazlar.
- Bu yöntem, daha ziyade ex vivo gen terapisi için uygundur.

İZLE



Lipozomlarla gen aktarımı



İZLE



Gen terapisi rnekleri

- Günümüzde yapılan çalışmalarla kalp hastalıkları, AIDS ve kansere ilave olarak 13 farklı genetik hastalığa karşı gen terapisi protokolü geliştirilmiştir.
- Bu alandan yıllık 400 milyon dolardan daha fazla para harcanmakta ve 100'den fazla klinik insan deneyi yapılmaktadır.

İZLE



Gen terapiyi rnekleri

- Ancak şimdiye kadar tedaviyi tam anlamıyla gerçekleştirebilecek bir metot geliştirilememiştir.
- Sadece bazı vakalarda sınırlı ölçüde başarıya ulaşılabilmiiştir.

İZLE



İlk gen terapisi !!!

- İlk gen terapisi, 1990 yılında Birleşik Devletler Ulusal Sağlık Enstitüsünde (US-NIH);
 - Dr. W. French Anderson,
 - Dr. Michael Blaese ve
 - Dr. Kenneth Culver tarafından gerçekleştirilmiştir.

İZLE



İlk gen terapisi !!!

- Araştırmacılar, Ashanthi de Silva adlı 4 yaşındaki kız çocuğunun ciddi kombine immün yetmezlik [SCID veya adenozin deaminaz eksikliği (ADA)] sorunu olduğunu tespit etmişlerdir.
- Bu hastalık, adenozin deaminaz genindeki bir mutasyondan kaynaklanmaktadır.

İZLE



İlk gen terapisi !!!

- Hastalık sonucunda toksik bir metabolik atık olan adenozin birikimi gerçekleşmektedir.
- Normal ADA genine sahip olmayan bireyler fonksiyonel ADA enzimi üretmez.
- ADA, immün sistemin normal fonksiyonlarını gerçekleştirebilmesi için gereklidir.

İZLE



İlk gen terapisi !!!

- Bu bozukluğa sahip çocuklar ciddi immün yetmezlikler yaşar ve yaşamı tehdit eden enfeksiyonlardan çabuk etkilenir.
- ADA eksikliği, enzimin sentetik bir formu olan polietilen glikol (PEG)-ADA ile tedavi edilebilir.

İZLE



İlk gen terapisi !!!

- PEG-ADA yönteminin yıllık maliyeti 100.000 dolardan fazladır.
- Hasta, tüm yaşamı boyunca enjeksiyon olmak zorundadır.
- ADA eksikliği gen terapisi için ilk aday olmuştur.
- Çünkü;

İZLE



İlk gen terapisi !!!

- Bu hastalıkla ilgili klinik araştırmalar 1970'lerde başlamıştır ve artık çok iyi bilinmektedir.
- Bu hastalık, tek bir gen bölgesinde meydana gelen bir mutasyonla ortaya çıkmaktadır.

İZLE



İlk gen terapisi !!!

- Genin regülasyonu çok karmaşık değildir ve sürekli ifade edilmektedir.
- Vücutta gereksinim duyulan ADA miktarı tam olarak kontrol altında tutulmak zorunda değildir.
- Küçük bir miktar ADA tedavi için yeterlidir, ama yüksek miktarları toksik de değildir.

İZLE



İlk gen terapisi !!!

- Ashanthi, ADA geni içeren modifiye T-lenfositlerle tedavi edilmiştir.
- 4 ay sonra ikinci bir hastaya (11 yaşındaki Cynthia Cuthall) da aynı tedavi uygulanmıştır.
- Hastaların her ikisine de yaklaşık 11-12 uygulama tekrarı gerçekleştirilmiştir.

İZLE



İlk gen terapisi !!!

- Terapi yalnızca birkaç ay boyunca tedavi sağlamış, sonrasında tekrar edilmesi gerekmiştir.
- Ancak tedaviden 3 yıl sonra, Ashanthi'nin kan dolaşımında bulunan T hücrelerinin % 50'den fazlasının normal ADA genini içerdiği belirlenmiştir.

İZLE



İlk gen terapisi !!!

- Ancak bu hasta halen PED-ADA enjeksiyonu olmaya devam etmektedir.
- Cynthia'da ise durum biraz farklıdır.
- Bu hastanın dolaşımdaki T hücrelerinin yalnızca % 0.1-1.0'ı rekombinant ADA geni taşımaktadır.

İZLE



İlk gen terapisi !!!

- Bu da terapinin etkinliğinin bireyler arasında değiştiğini göstermektedir.
- 2003 yılına gelindiğinde Ashanthi'nin hücreleri halen fonksiyonel ADA ekspresyonu yapmaktaydı.
- Cynthia, retrovirüs gen aktarım sistemine karşı immün yanıt geliştirmiştir.
- Bugün Ashanthi halen yaşamına devam etmektedir.

İZLE



ADA gen terapisi !!!

- 1993 yılında araştırmacılar, ADA eksikliği ile doğan iki bebeğin göbük kordonu kök hücrelerini kullanmışlardır.
- ADA geni kök hücrelere aktarılmış ve tedavi amacıyla bu çocuklarda kullanılmıştır.

İZLE



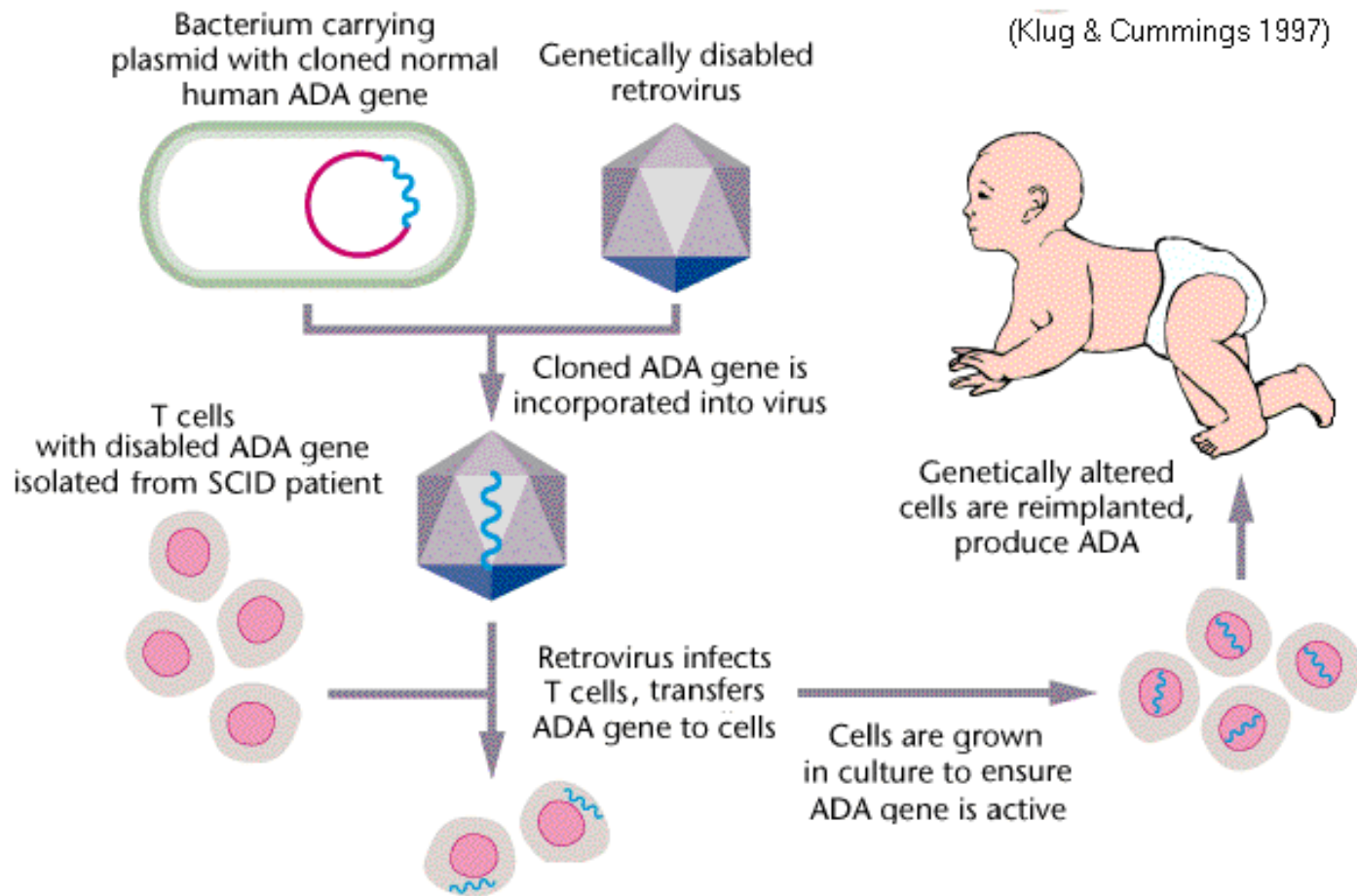
ADA gen terapisi !!!

- Her iki birey de T hücrelerinde ADA genini ifade etmeyi başarmıştır.
- Bu gelişmeden sonra başka bireyler de bu yöntemle başarıyla tedavi edilebilmiştir.

İZLE



ADA gen terapisi !!!



İZLE



Kistik fibrozis

- *In vivo* gen terapisi yöntemleri, solunum yollarını etkileyen hastalıkların tedavisinde araştırılmıştır.
- Genler, pamuk sıçanlarının solunum yolu epitel hücrelerine adenovirüs vektörleri yoluyla etkili bir biçimde aktarılmıştır.

İZLE

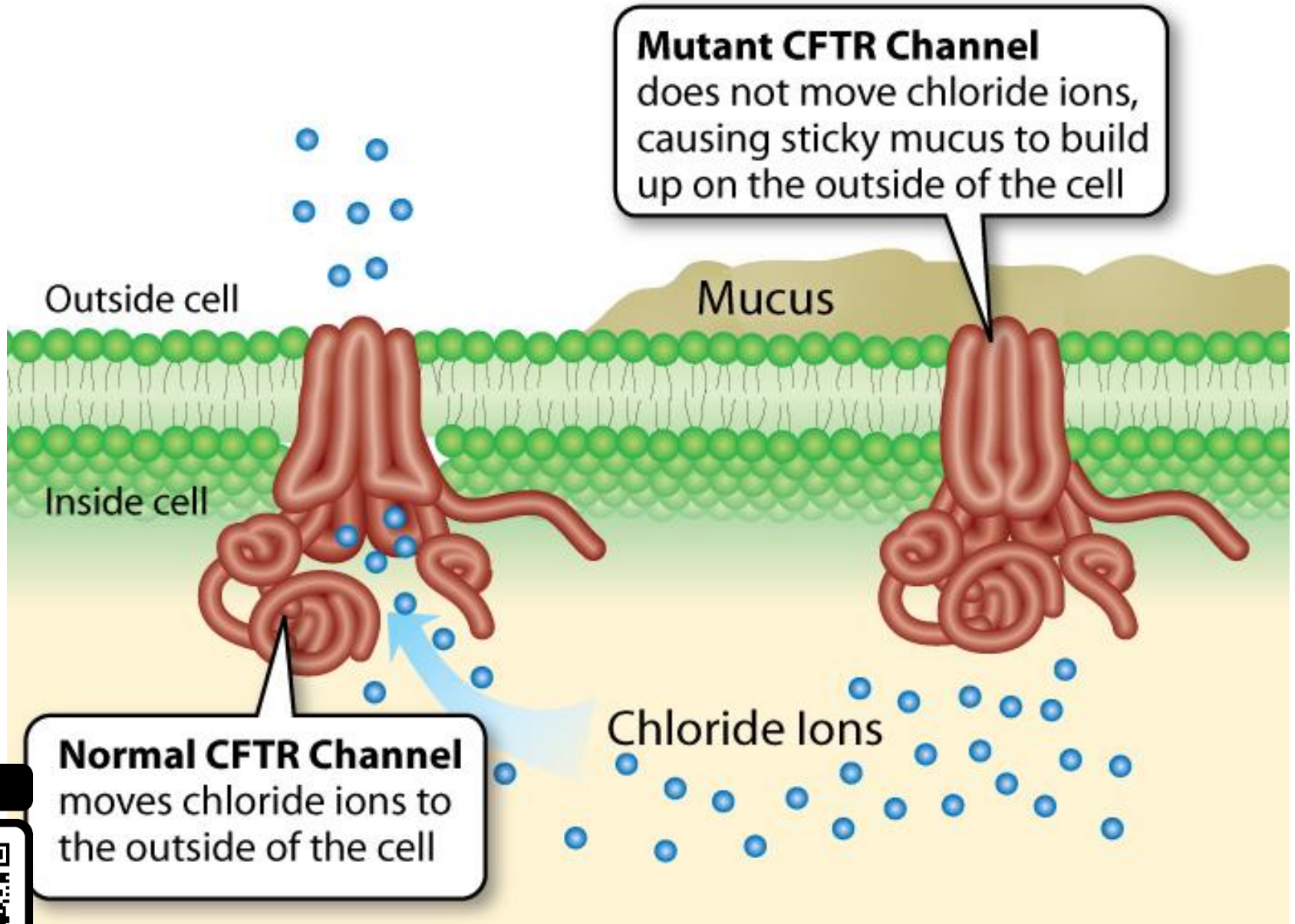


Kistik fibrozis

- Bu denemelerde genler yalnızca sınırlı bir süre ifade edilebilmiştir.
- Kistik fibrozis (CF), Birleşik Devletler'de yaklaşık 30.000 kişiyi ilgilendiren genetik bir hastalıktır.
- Bu hastalarda hücrenin plazma membranında bulunan iyon taşıyıcı molekülde bozukluk söz konusudur.

İZLE





İZLE



Kistik fibrozis

- CF, solunum yollarını ve pankreas, bağırsaklar gibi diğer bazı organları etkiler.
- 1989 yılında CF geninin 7. kromozom üzerinde bulunduğu belirlenmiştir.
- Bu aşamadan sonra araştırmacılar, gen bölgesinin kodladığı proteinin fonksiyonunu araştırmaya başlamıştır [kistik fibrozis transmembran iletkenlik düzenleyici (CFTR)].

İZLE



Kistik fibrozis

- Bu protein, hastalık semptomlarına karşı etkili tedavi yöntemi geliştirilmesi ve genetik bozukluğun kalıcı olarak düzeltilmesi amacıyla kullanılmaktadır.
- CFTR, halkasal (cyclic) AMP'ye duyarlı, düşük iletkenliğe sahip bir klor kanalı proteindir.

İZLE



Kistik fibrozis

- Ter bezleri, bağırsaklar, akciğer ve pankreasta bulunan salgı epiteli hücrelerinin membranlarında normal şartlarda bulunmaktadır.
- CF hastalarında ortamda cAMP bulunmasına yanıt olarak klor iyonları epitel hücreleri tarafından düzenli bir şekilde taşınamaz.

İZLE



Kistik fibrozis

- CF hastalarında bazı belirgin fenotipik semptomlar ortaya çıkar:
 - Mukus üretiminde artış,
 - Akciğerlerde bakteriyel enfeksiyonlar,
 - Bağırsak epitel dokusunu etkileyecek şekilde, epitel hücrelerin iyon transfer sisteminde bozukluk.

İZLE



Kistik fibrozis

- Burada en önemli soru şudur:
 - Bu sorunlar, doğrudan mutant CFTR proteininden mi kaynaklanmaktadır?

İZLE



Kistik fibrozis

- Bu nedenle CF hastalığına neden olan 200'den fazla mutasyon belirlenmiştir.
- Bu mutasyonlar arasında şunlar bulunmaktadır:
 - Protein işleme aşamasındaki düzensizlikler,
 - Gen ifadesinin düzenlenmesindeki aksaklıklar,
 - Proteinin aşırı ifadesi,
 - Splice mutasyonlar (pre-mRNA'nın hatalı kesimi)

İZLE



Kistik fibrozis

- Yoğun araştırmalar sonucunda hastaların % 70'inde F508 mutasyonunun bulunduğu belirlenmiştir.
- Bu mutasyon, 3 n¼kleotidlik bir delesyon anlamına gelmektedir.
- Sonuçta CFTR proteininde fenilalanin aminoasidinin eksikliği ortaya çıkmaktadır.

İZLE



Kistik fibrozis

- Fenilalanin eksikliđine bađlı olarak protein, dűzenli bir post-transkripsiyon sűrecinden geçemez.
- Ŭ boyutlu katlanmasını dűzgűn gerçekleřtirmeyen protein, hűcre membranına yerleřtirilemez.

İZLE



CF ve gen terapisi

- CF, gen terapisi için mükemmel bir adaydır.
- Birçok genetik hastalıkta büyük miktarlarda fonksiyonel proteine ihtiyaç duyulmaktadır.
- Ancak bu hastalıkta hücre başına 10-100 protein molekülü yeterlidir.
- Bu da çok düşük bir ifade düzeyi demektir.

İZLE



CF ve gen terapisi

- Gen terapisi denemeleri hem epitel hücre kültürlerinde hem de transgenik CF farelerde başarılı olmuştur.
- CFTR geni deneysel olarak lipozomlarla paketlenmiş ve çeşitli CFTR bozukluğu tiplerine sahip farelerin akciğer epiteline, alveollerine ve trakealarına transfer edilmiştir.

İZLE



CF ve gen terapisi

- Aktarılan CFTR geni başarıyla ifade edilmiştir.
- Epitel hücrelerinin sodyumu absorbe etme ve klor salgılama etkinlikleri normal epitel hücrelerine özdeş olmuştur.
- Ancak gen ifadesi geçici düzeyde kalmıştır.

İZLE



CF ve gen terapisi

- Etkili bir tedavi için daha uzun süreli CFTR ifadesi gerekmektedir.
- Bu da denemelerin tekrarlanması anlamına gelmektedir.

İZLE



Adenovirüslerle CFTR tedavisi

- Bu alanda yapılan bir başka deneme de, normal CFTR geni taşıyan adenovirüslerin, hasta bireylerin burnundan sprej şeklinde uygulanmasıdır.
- Böylelikle CFT geni, nazal bölgedeki hücre hattına transfer edilebilir.

İZLE



CF ve gen terapisi

- Rekombinant hücreler geni ifade edebilir ve kısmen de olsa hastalık semptomlarını ortadan kaldırabilir.
- Ancak maalesef transfer edilen gen, daha uzak bölgelerdeki organlarda (örn; pankreas) semptomları ortadan kaldırmaya yeterli değildir.

İZLE



CF ve gen terapisi

- Ayrıca gen aktarımı yapılan hücreler, birkaç haftadan daha uzun süre yaşayamamaktadır.
- Dolayısıyla hastalar sürekli terapiye maruz kalmak zorundadır.

İZLE



CF ve aerosol enjeksiyonu

- Bu hastalığın tedavisindeki diğer bir yöntem ise hastanın aerosol (DNA-lipozom) enjeksiyonuna maruz bırakılmasıdır.
- Aerosoller daha düşük maliyetlidir ve daha kısa zamanda hazırlanır.

İZLE



CF ve aerosol enjeksiyonu

- Tedavinin tekrarının gerektiği durumlarda uygulamaları daha basittir.
- Akciğer dışındaki organların (örn; pankreas) tedavisi için daha gelişmiş yöntemlere gereksinim vardır.

İZLE



Karaciğer hastalıkları

- Gen terapisi uygulanan hepatositleri tekrar karaciğer veya dalağa aktarabilmek başarılı olamamıştır.
- Enjekte edilen hücrelerin yalnızca % 10'u karaciğer dokusu ile bütünleşebilmiştir.
- Hepatosit aşısı, transforme hücreleri karaciğer dokusuna aktarma konusunda daha etkili olmuştur.

İZLE



Karaciğer hastalıkları

- LDL reseptör geni (LDLR) retroviral ve adenovirüs vektörler yoluyla hem (*in vivo* hem *ex vivo*) hepatositlere transfer edilmiştir.
- LDLR geninin ifadesi hücrelerde geçici düzeyde kalmıştır.
- Ancak kısmi hepatektomi uygulandığında (karaciğerin bir parçasının alınması) ekspresyon daha uzun süre devam etmiştir.

İZLE



Ailesel hiperkolesterolemia (FH)

- Haziran 1992'de Michigan Tıp Merkezi'ne, 29 yaşında bir hasta başvurmuştur.
- Bu hastada nadir görülen bir genetik koroner arter hastalığı tespit edilmiştir (Ailesel Hiperkolesterolemi-FH).
- FH, LDLR eksikliği sonucunda ortaya çıkmaktadır.

İZLE



Ailesel hiperkolesterolemia (FH)

- Kandaki LDL kolesterol seviyesinin normalin 10 katı düzeyine çıkmasına neden olmaktadır.
- Bu da genellikle ani ölümlere neden olan kalp hastalıklarının oluşmasına öncülük etmektedir.

İZLE



Ailesel hiperkolesterolemia (FH)

- Hasta, LDLR gen mutasyonu açısından homozigottur.
- Sonuçta hücreler kolesterolü dolaşımdan alamamakta ve metabolize edememektedir.
- Hastanın LDL/HDL kolesterol oranı normalden daha yüksek tespit edilmektedir.

İZLE



FH-Gen terapisi

- Hasta karaciğerinin yaklaşık 250 g'lık kısmı çıkarılarak kültüre alınmıştır.
- Hepatositler, normal LDLR geni taşıyan retrovirüslerle karıştırılmışlardır.
- Hücrelerin yaklaşık % 25'i virüs ile enfekte olmuştur.

İZLE



FH-Gen terapisi

- Transfekte hücreler, portal vena'ya girilen bir kateter yardımıyla hastaya transfer edilmiştir.
- Daha sonra yapılan testlerde hücrelerin normal LDLR genini ifade ettikleri doğrulanmıştır.

İZLE



FH-Gen terapisi

- Hastanın LDL/HDL oranı düşmeye başlamıştır.
- Daha sonra iki farklı hasta daha bu yöntemle tedavi edilmiştir.
- Sonuçlar, Aralık 1992'de Birleşik Devletler Rekombinant DNA Danışma Komitesi'ne sunulmuş ve onay alınmıştır.

İZLE



KLİNİK DENEMELER

İZLE



Klinik denemeler

- Gen terapisi ticarileştirilmeden önce, hayvanlar ve daha sonra da insanlar üzerinde çok sayıda çalışma yapılmalı, güvenliği ve etkinliği belirlenmelidir.
- Klinik denemeler, gönüllü insanların kullanıldığı araştırma çalışmalarıdır.

İZLE



Klinik deneme türleri

- Klinik deneme türleri şunlardır:
 - Teşhise yönelik denemeler: Hastalıkların teşhisine yönelik yöntemler test edilir.
 - Tedaviye yönelik denemeler: Yeni terapi veya ilaçlar test edilir (örn; AIDS'in antiviral ilaç kokteylleri ile tedavisi).
 - Önlemeye yönelik denemeler: Hastalıkların oluşmasını önlemeye yönelik yöntemler test edilir (örn; daha önce hiç menenjit geçirmemiş bir bireyde menenjit aşısının denenmesi).

İZLE



Klinik deneme türleri

- Yaşam kalitesine yönelik denemeler: Kronik hasta bireylerde yaşam kalitesinin artırılmasına ilişkin yöntemler test edilir.
- Taramalar: Spesifik hastalıkların tespitine ilişkin yollar test edilir (örn; yüksek kan basıncı, yüksek kolesterol, kanser türleri vb).

İZLE



“Faz” testleri

- Tedavi edici her protokol, geniş ölçekli kullanıma sunulmadan önce çeşitli düzeylerde test edilmelidir.
- İlk önce pre-klinik çalışmalar gerçekleştirilmelidir.
- Bu araştırmalar, hayvansal organizmalar üzerinde gerçekleştirilen in vitro deneylerdir.

İZLE



“Faz” testleri

- Klinik denemeler řu sırayı izlemelidir:
 - Faz I denemeler
 - Faz II denemeler
 - Faz III denemeler
 - FDA onayının alınması
 - Faz IV denemeler

İZLE



Faz I denemeler

- Süreç, 20-30 kişilik gönüllü hasta bireyler üzerinde denenir.
- Böylelikle doz limitleri, uygulama şekli, sürecin toksik etkileri ve güvenilirliği test edilir.

İZLE



Faz II denemeler

- Sürecin etkinliği tespit edilir.
- Daha fazla sayıda hastadan oluşan bir grup üzerinde (100-300 hasta) toksik etkiler ve güvenlik açısından ilave bilgiler edinilir.
- Eğer tedavi yönteminin etkin ve güvenilir olduğu tespit edilir ise Faz III'e geçilir.

İZLE



Faz III denemeler

- Daha fazla sayıda hastadan oluşan bir grup test edilir (1000-5000 kişi).
- Elde edilen sonuçlar Faz I ve Faz II'den gelenlerle birleştirilir.
- Böylelikle uygulanan yöntemin/maddenin tedavi edici rolüne ilişkin tutarlı bilgiler ortaya konulur.

İZLE



FDA onayının alınması

- Faz III çalışmalardan sonra onay için FDA'ya (Food and Drug Administration) başvuru yapılır.

İZLE



Faz IV denemeler

- FDA veya diğer ÷lkelerdeki yetkili kurumlardan onay alındıktan sonra,
- Yöntemin/maddenin etkinliği veya güvenilirliği hakkında herhangi bir soru işareti kalmışsa, bu aşamada giderilmeye çalışılır.

İZLE



Uzun ve zahmetli bir yol

- Bu süreç oldukça uzun ve pahalıdır.
- ADA eksikliğine yönelik çalışmalar 30 yıldan daha eskiye dayanmaktadır.
- Bu hastalığın gen terapisi ile tedavisinin onaylanması için 15 yıldan uzun süren klinik testler gerçekleştirilmiştir.

İZLE



Uzun ve zahmetli bir yol

- Doğrusu, bu hastalığın tedavisi için Faz III klinik denemeler yapılmamıştır.
- Dolayısıyla ADA gen terapisi, hastalığın tıbbi tedavisinde genel kabul görmüş bir yöntem olamamıştır.

İZLE



GEN TERAPİSİNDEKİ GÜNCEL BAŞARILAR

İZLE



Gen terapisinde durum !!!

- Bugüne kadar henüz hiçbir hasta gen terapisi yöntemleriyle tedavi edilebilmiş değildir.
- Bu alanda şimdiye kadar yoğun araştırmalar yapılmış, çok zaman harcanmış ve çok para aktarılmıştır.
- Ancak yine de günümüzde elde edilen başarılar, gen terapisinin, gelecekte tedavisi zor hastalıkların üstesinden gelebileceğini düşündürmektedir.

İZLE



Gen terapisinde durum !!!

- Vektör teknolojilerinde gelişmeler kaydedilmesi ve daha uygun hayvansal modellerin kullanılması ile (köpek, primatlar vb) önemli pre-klinik sonuçlar elde edilebilecektir.

İZLE



Gendicine-İlk lisanlı ürün !!!

- Ekim 2003'de Çin hükümeti, dünyanın ilk ticari lisanslı gen terapisi uygulamasını geliştirmiştir:
 - Shenzen SiBono Gene Technologies Co.
- Bu terapi "Gendicine" adı altında pazarlanmış ve kalp ve boyun hücre kanserlerinde kullanılmıştır.
- İlaç, 5 yıldan daha uzun süren klinik denemeler sonucunda lisanslanmıştır.

İZLE



Gendicine-İlk lisanlı ürün !!!

- İlaç bir yıl içerisinde 100 milyon dolar ticari hacime ulaşmıştır.
- Gendicine, p53 tümör baskılayıcı gen taşıyan bir adenovirüs içeren enjekte edilebilir bir yöntemdir.

İZLE



Gendicine-İlk lisanlı ürün !!!

- Hastalıkta son safhaya gelmiş bireylerde enjeksiyondan 8 hafta sonra hastaların % 64'ünde tümör tamamen ortadan kalkmıştır.
- % 32'sinde ise tümörün hacmi küçülmüştür.
- 3 yıllık periyodun sonunda hastalarda tümör oluşumu tekrarlamamıştır.

İZLE



Gendicine-İlk lisanlı ürün !!!

- İlacın rapor edilen tek yan etkisi düşük dereceli nezleye yol açmasıdır.
- İlaç, kemoterapi ve radoterapi ile birlikte kullanılabilir.
- Böylelikle ilacın etkinliği daha da artmaktadır.

İZLE



GEN TERAPİSİNDE YENİ YAKLAŞIMLAR

İZLE



Gen terapisinde yeni yaklaşımlar

- Gen terapisinde temel hedef, mutant genin normal kopyasını vücuda yerleştirerek ifade edilmesini sağlamaktır.
- Diğer yandan genin mutant formu da vücutta ifade edilmeye devam eder.
- Bazı durumlarda genin normal kopyasını transfer etmek hastalık semptomlarını ortadan kaldırmaz.

İZLE



Dominant negatif genler

- Mutant gen ürünü tarafından, normal proteinin fonksiyonunun gerçekleştirilmesi engellenebilir.
- Böylesi mutant genlere “dominant negatif genler” adı verilmektedir.
- Bu durumda gen terapisine farklı bir yaklaşımda bulunulması gerekmektedir.

İZLE



Splaysozom aracılığıyla gerçekleştirilen RNA trans-splicing

- Kısaca SMART olarak da bilinir.
- Bu yöntem temelde, hastalığa yol açan mutant gen tarafından sentezlenen mRNA'yı hedef alarak tamir etmeye çalışır.
- Splaysozom, RNA ve proteinden oluşan bir mekanizmadır.

İZLE



Splaysozom aracılığıyla gerçekleştirilen RNA trans-splicing

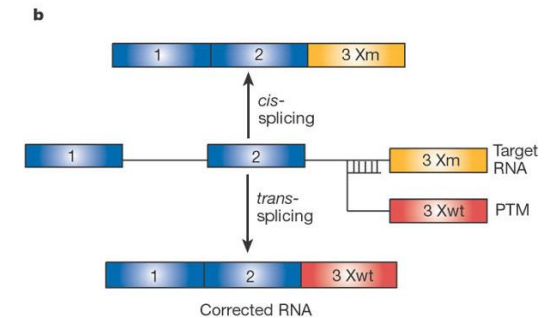
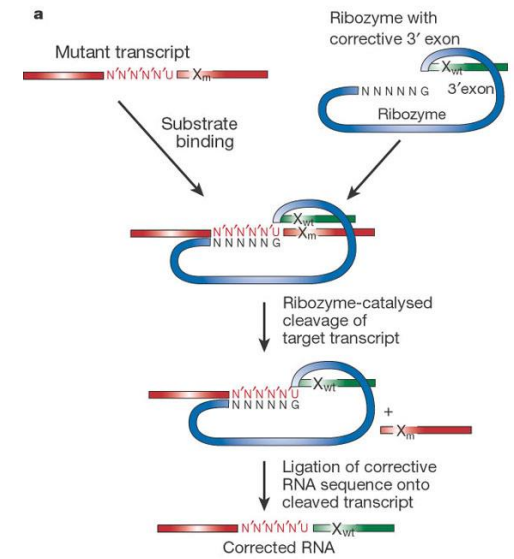
- Transkripsiyondan sonra pre-mRNA'daki intronlar uzaklaştırılır ve ekzonlar birbirine bağlanır.
- Bu yöntemde genin normal kopyasını vücuda transfer etmekten ziyade, mRNA'nın etkilenen bölgesi tamir edilmeye çalışılır.

İZLE



Splaysozom aracılığıyla gerçekleştirilen RNA trans-splicing

- Bu yöntemde;
 - mRNA'nın mutant ekzon bölgesinin bitişinde bulunan intron bölgesine komplementer bir RNA zinciri bağlanır.
 - Bu RNA zinciri, komşu introna bağlanabilecek küçük bir komplementer bölge içerecek şekilde modifiye edilmiştir.
 - Bu zincir aynı zamanda normal ekzonu da içermektedir.

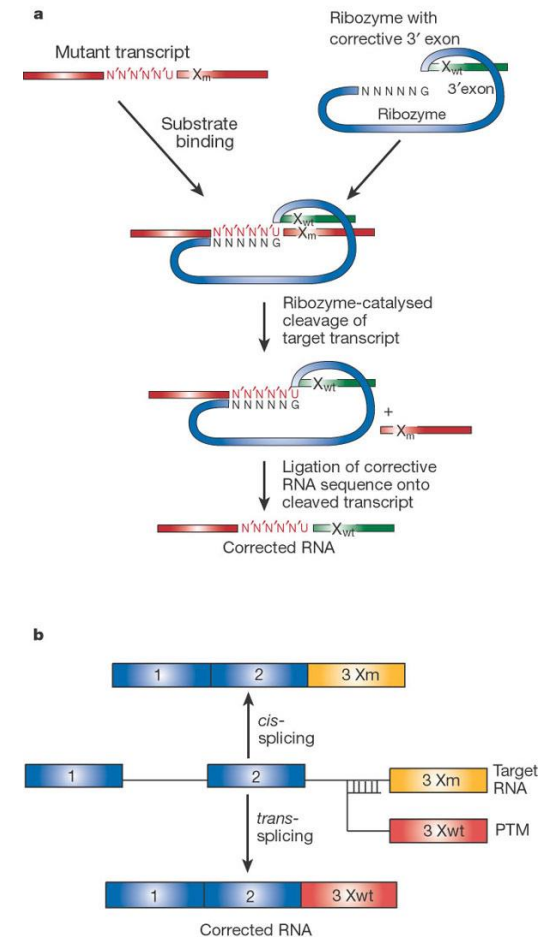


İZLE



Splaysozom aracılığıyla gerçekleştirilen RNA trans-splicing

- RNA zinciri introna bağlandığında, oluşan çift zincirli yapı splaysozomun hedefi olur.
- Böylelikle intron ve mutant ekzon kesilerek uzaklaştırılır.
- Geri kalan ekzonlar, normal ekzonu da içerecek şekilde birleştirilir.
- Böylelikle fonksiyonel mRNA molekülü sentezlenmiş olur.

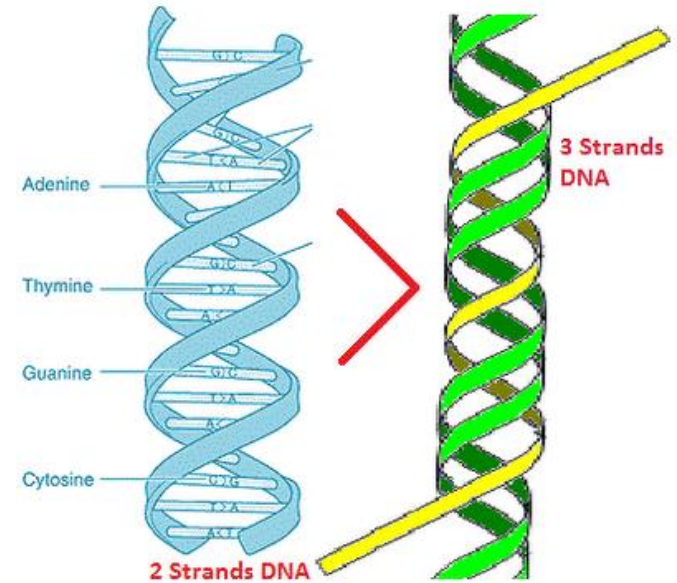


İZLE



Üçlü heliks oluşturan oligonukleotid terapisi

- Bu yöntemde sentetik oligonükleotidler, DNA'nın spesifik bazı kısımlarına bağlanarak üç zincirli (tripleks) yapılar oluştururlar.
- Bu bölgeler sayesinde bazı mRNA'ların sentezi geçici olarak bloke edilmiş olur.

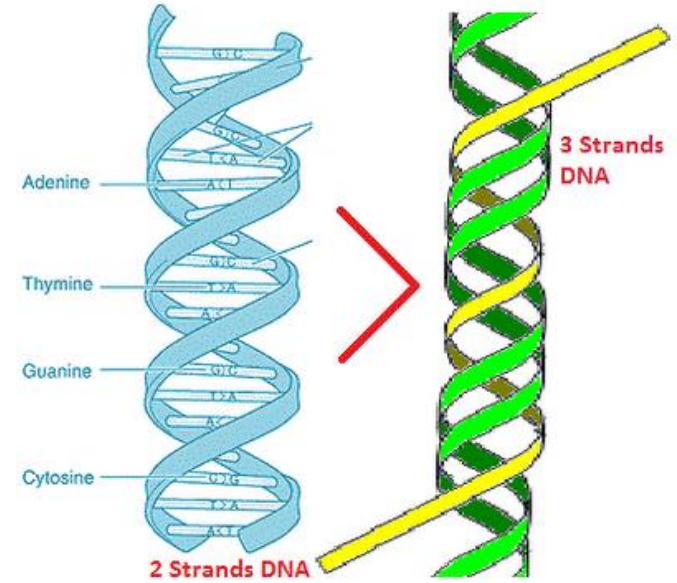


İZLE



Üçlü heliks oluşturan oligonukleotid terapişi

- Tek zincirli oligonükleotidin bağlanması sonucunda oluşan üç zincirli yapı DNA'nın mRNA'ya transkribe olmasını engeller.
- Böylelikle mutant protein üretilemez.
- Bu aşamada normal genin transfer edilmesi, bu proteinin tek başına ifadesine olanak sağlayacaktır.

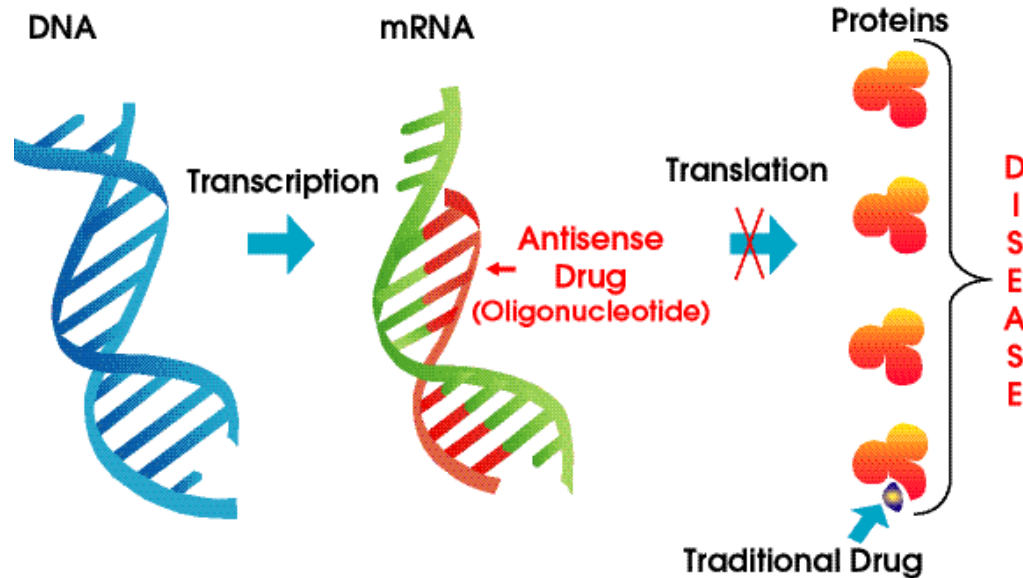


İZLE



Antisens terapi

- Doğrudan mutant mRNA'yı hedef alan bir yöntemdir.
- Böylelikle protein sentezi translasyon aşamasında bloke edilmiş olur.



İZLE



Antisens terapi

- 1980'li yılların başlarında araştışıcılar, bazı mikroorganizmaların, gen ifadesini düzenlemek için antisens RNA ürettiklerini tespit etmişlerdir.
- Daha sonraki yıllarda bitki ve hayvan hücrelerinin de gen ifadesini düzenlemek için antisens RNA kullandığı anlaşılmıştır.

İZLE



Antisens terapi

- Antisens terapi, herhangi bir genin aşırı ifade edildiği durumlarda (pek çok kanser hücresinde) kullanılabilmektedir.
- Kanser türlerine özgü antisens terapi yöntemleri de geliştirilmektedir.

İZLE



Antisens terapi

- Ekim 2003'de, Genta (Berkeley Heights, New Jersey) Aventis ile birlikte (Stresbourg, Fransa), "Genasense" adı verilen antisens ajanın faz III klinik çalışmalarını tamamlamıştır.



İZLE



Antisens terapi

- Genasense, son aşamaya gelmiş kötü huylu (malign) melanoma türlerinde kemoterapi ile birlikte kullanılmaktadır.
- Bu antisens terapinin; akciğer, prostat, karaciğer, pankreas, kolon, göğüs, böbrek ve özafagus kanserlerine karşı linik denemeleri gerçekleştirilmiştir.

İZLE



Antisens terapi

- Genasense, pek çok farklı kanser türünde aşırı ifade edilen mRNA moleküllerini hedef almaktadır.
- Aşırı ifade edilen gen ürünü (bcl-1) apoptoz sürecini bloke etmekte ve kemoterapiye direnç göstermektedir.

İZLE



Ribozim terapisi

- Ribozim terapisi, antisens terapi ile birlikte bazı genlerin mRNA'larını elimine eder.
- Ribozimler, enzimatik aktivite gösteren mRNA molekülleridir.
- Bu moleküller normal hücresel süreçte pre-mRNA'dan intronların kesilerek uzaklaştırılmasında kullanılır.

İZLE



Viroterapi

- Virüsler, hücrelere girebilen ve enfeksiyona yol açan etkili ajanlardır.
- Pek çok hastalığa yol açarlar (viral menenjit, SARS vb).
- Çoğu zaman da halk arasında büyük paniklere yol açarlar (örn; 2003'deki influenza pandemisi).

İZLE



Viroterapi

- Virüsler genellikle konak hücre yüzeyinde bulunan spesifik bir reseptöre bağlanır.
- Enfeksiyondan sonra çoğunlukla konak hücreyi öldürürler.
- Her bir virüs tipi, genellikle farklı reseptör tiplerine bağlanmaktadır.
- Böylelikle virüsler hücre tiplerine özgü spesiflik göstermektedirler.

İZLE



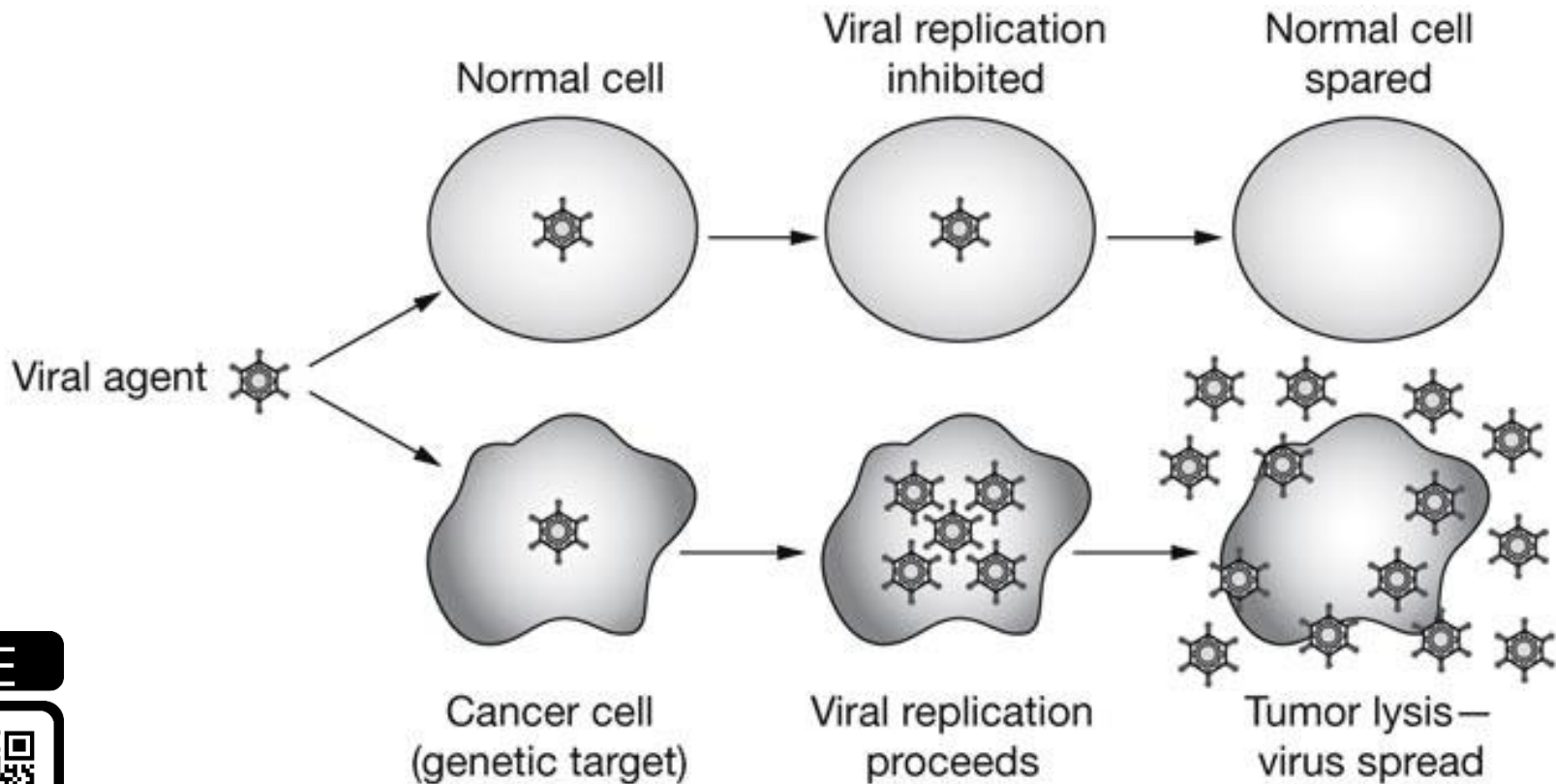
Viroterapi

- Araştırmacılar, virüslerin bu özelliklerinden faydalanarak kanser hücrelerini ortadan kaldırabilecek bir yöntem üzerinde çalışmaktadırlar (Viroterapi).
- Bu yöntemde virüsler, tümör hücrelerini seçici olarak enfekte ederek öldürebilecek düzeyde modifiye edilmeye çalışılmaktadır.

İZLE



Viroterapi



İZLE



Kök hücreler

- Günümüz araştırmalarının bir çoğunda, genetik açıdan modifiye edilmiş, farklılaşmamış kök hücrelerin tedavi edici ajanlar olarak kullanılması hedeflenmektedir.
- Bu kök hücreler, çok sayıda farklı hücre tipine dönüşebilirler.

İZLE



Kök hücreler

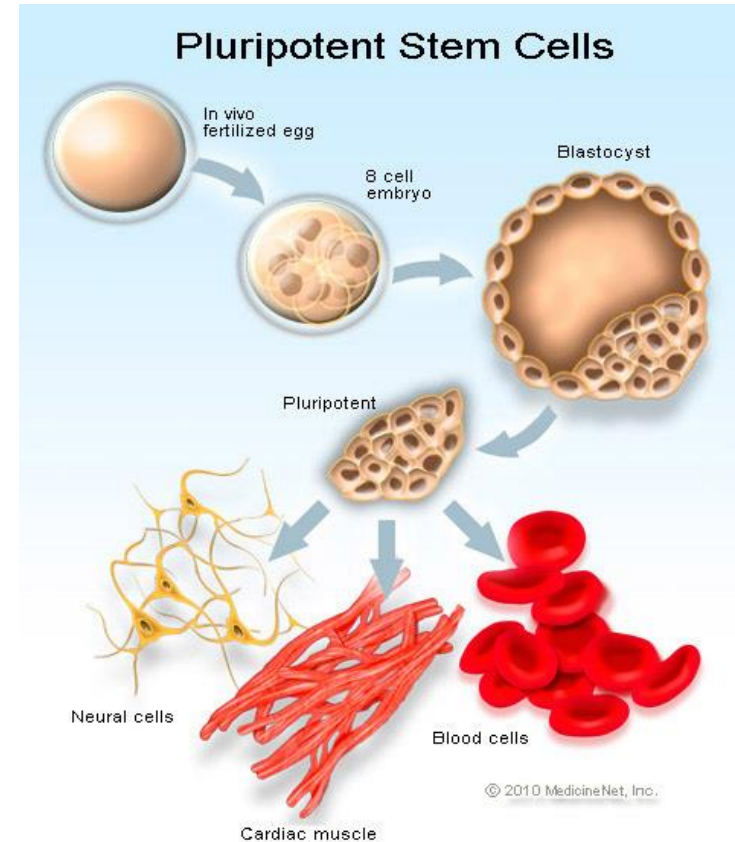
- Örneğin; kemik iliği kök hücrelerinden kırmızı ve beyaz kan hücreleri elde edilebilir.
- Bazıları da beyin ve sinir dokusu hücrelerini meydana getirebilir.

İZLE



Kök hücreler

- Günümüz teknolojisi ile kök hücreleri kültürde yetiştirmek ve transforme etmek mümkündür.
- Yapılan çalışmalarla kök hücrelerin plastisite'ye sahip olduğu kanıtlanmıştır.
- Yani pek çok farklı hücre tipine dönüşebilme yetenekleri vardır.



İZLE



Kök hücreler

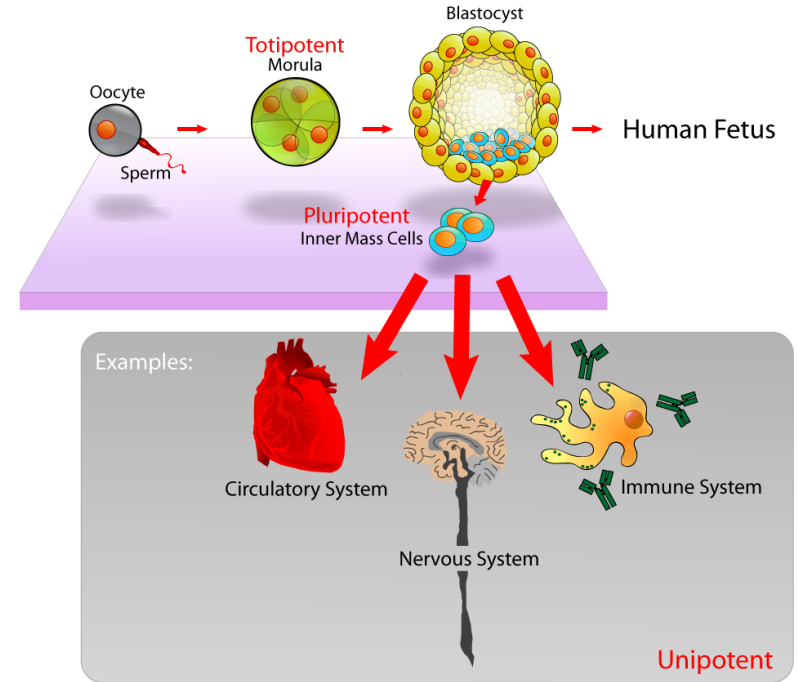
- Örneğin; kemik iliği kök hücrelerinden karaciğer veya böbrek hücreleri elde etmek mümkündür.
- Eğer hasta bireyin kendi kök hücrelerinden rejenerasyon edilen doku transplante edilirse, immün yanıt meydana gelmeyecektir.

İZLE



Kök hücreler

- Diğer yandan gen aktarımı yapılan kök hücrelerin bireye aktarılması ile çeşitli dokularda sağlıklı hücrelerin sayısını artırmak mümkündür.
- Araştırmacılar, kök hücreleri 5 günlük embriyodan (blastosist) izole etmektedir.

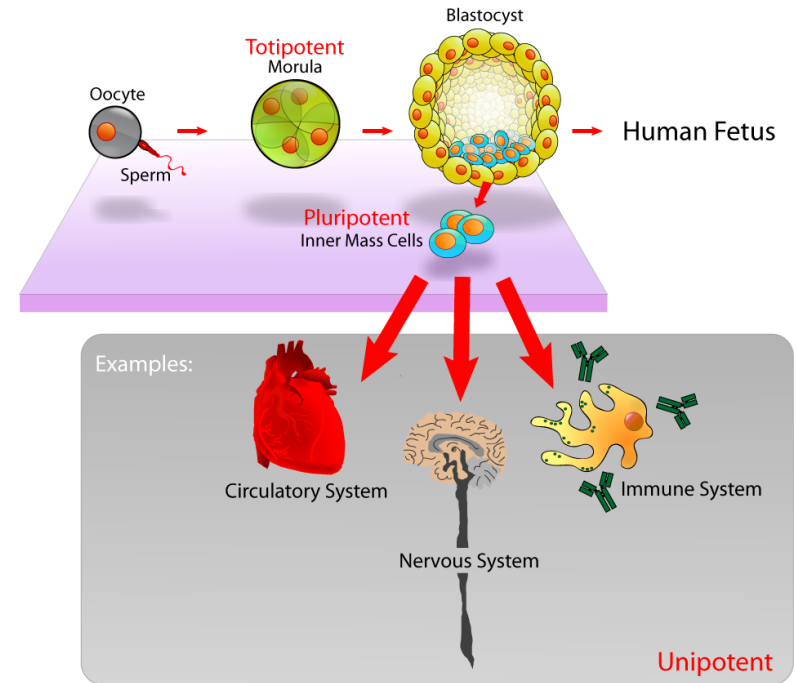


İZLE



Kök hücreler

- Bu hücelere, embriyonik kök hücreler adı verilmektedir.
- Yetişkin dokulardan elde edilen kök hücrelerin aksine, embriyonik kök hücreler, vücuttaki tüm hücre tiplerini oluşturabilecek yeteneğe sahiptir.

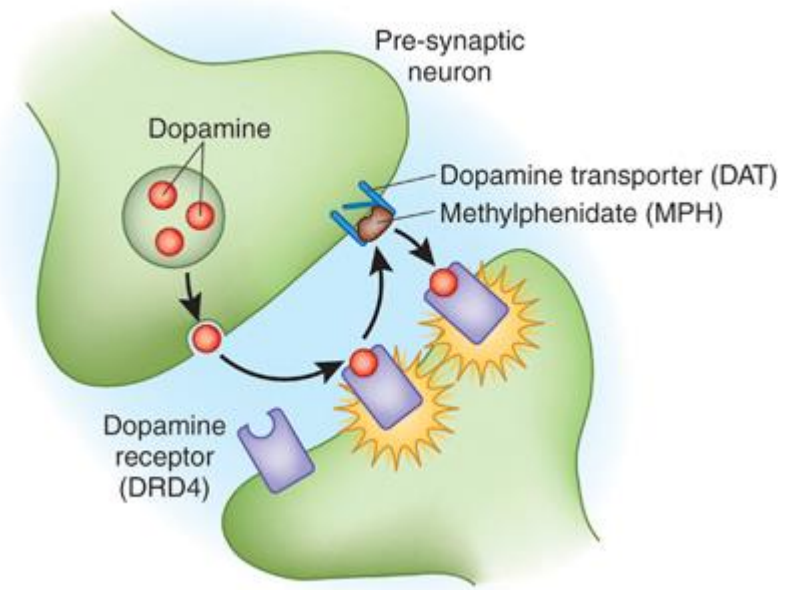


İZLE



Parkinson hastalığı

- Kök hücre terapisinde temel hedef, hasarlı dokuyu tamir etmektir.
- Parkinson hastalığında dopamin nöronları adı verilen beyin hücrelerinin ölümü meydana gelmektedir.



İZLE



Parkinson hastalığı

- Dopamin, kas hareketlerini kontrol eden bir kimyasal habercidir.
- Semptomların üstesinden gelebilmek için hastaya dışarıdan dopamin verilse bile, hastalık hızla ilerler ve tedavi edilemez.
- Muhtemel tedavi yöntemlerinden ilk akla gelen, dopamin üreten kök hücrelerin transplantasyonudur.

İZLE



Kök hücre kullanımına ilişkin sınırlama

- 2000 yılında Birleşik Devletler Ulusal Sağlık Enstitüsü (NIH), embriyonik kök hücrelerin kullanımına ilişkin çeşitli düzenlemeler getirmiştir.
- Bu düzenlemelere göre, *in vitro* döllenme ile meydana gelen dondurulmuş embriyolardan elde edilen hücrelerin araştırmalarda kullanılabileceği öngörülmüştür.

İZLE



Kök hücre kullanımına ilişkin sınırlama

- 2001 yılında dönemin ABD Başkanı Bush, NIH yönetmeliğinde yapılan değişikliği bizzat duyurmuştur.
- Bu tarihten sonra araştırmacılar, embriyonik olmayan kök hücreleri kullanabilecek şekilde sınırlandırılmıştır.
- Kök hücre araştırmalarına getirilen sınırlamalar ile araştırmalar daha yavaş ilerlemeye başlamıştır.



İZLE



Kök hücre tipleri

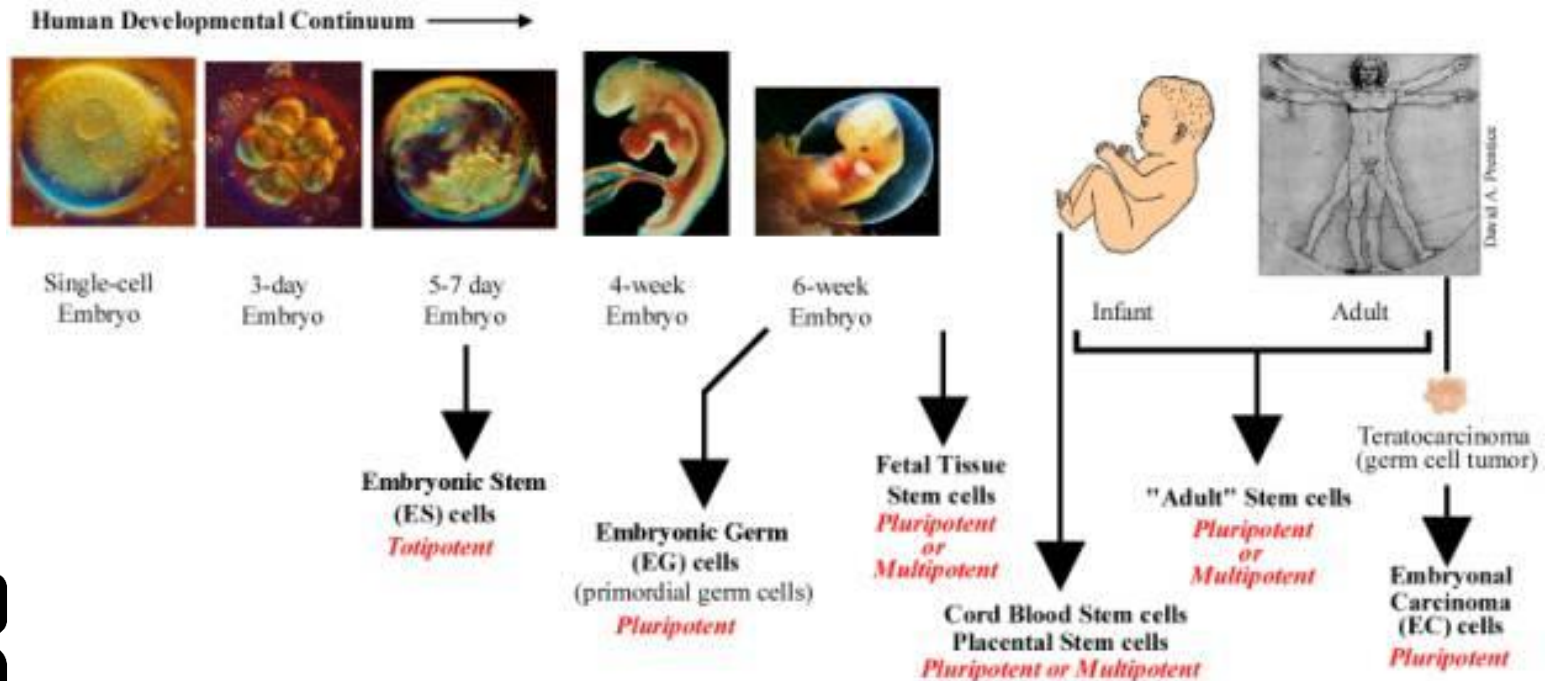
- Embriyonik kök hücreler
- Fetal kök hücreler
- Göbek kordon kanı kök hücreleri
- Yetişkin kök hücreleri

İZLE



Kök hücre tipleri

Stem Cells

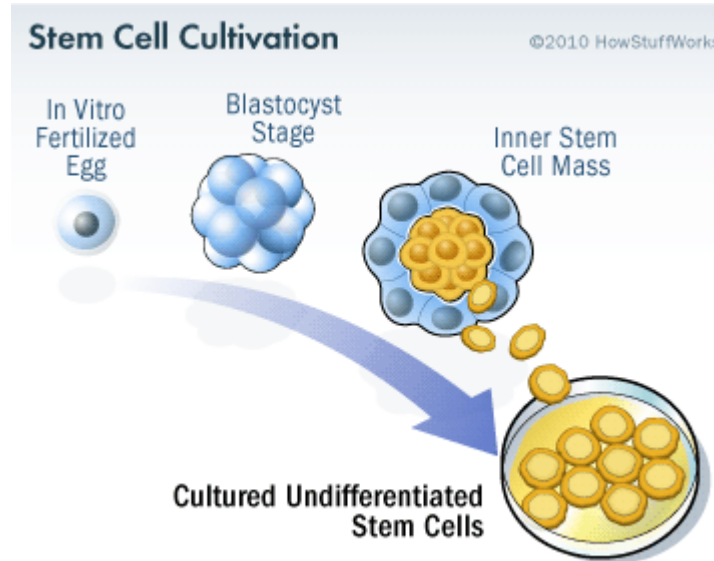


İZLE



Embriyonik kök hücreler

- Vücuttaki tüm hücre tiplerine dönüşebildikleri için en değerli kök hücreler olarak bilinmektedirler.
- İlk insan embriyonik kök hücreleri 1998 yılında kültürde üretilmiştir.

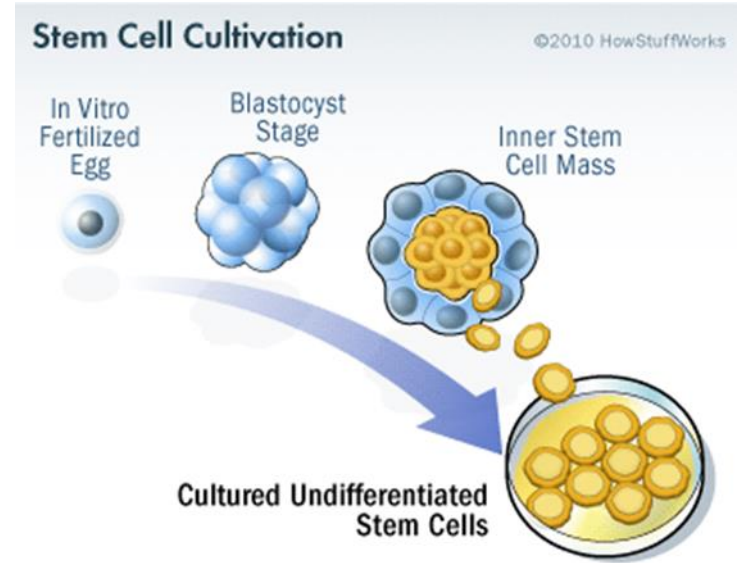


İZLE



Embriyonik kök hücreler

- Bu hücreler, ekstra döllenmeler sonucunda elde edilen ve implante edilmeyen embriyolardan izole edilmektedir.
- Çiftlerin yasal izniyle bu hücreler bilimsel araştırmalarda kullanılmaktadır.



İZLE



Fetal kök hücreler

- Bu tip pluripotent kök hücreler, fetüs beyin dokusunda bulunmaktadır.
- Dopamin nöronlarının doğal kaynağını teşkil ederler.
- Parkinson hastası bireyler için oldukça önemlidirler.

İZLE



Fetal kök hücreler

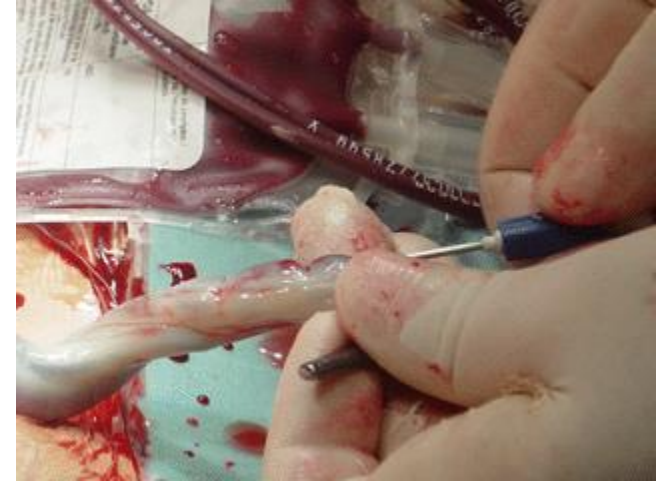
- Bu hücreler, prematüre Şekilde sonlandırılan gebeliklerde fetüsten izole edilmektedir.
- İnsan embriyosu döllenme olayından 8 hafta sonra fetüs olarak adlandırılmaktadır.

İZLE



Göbek kordon kanı kök hücreleri

- Kordon kanı kök hücreleri multipotent kök hücreler olarak bilinmektedir.
- Bu hücreler kan hücreleri ve immün sistem hücrelerine dönüşebilecekleri gibi, diğer pek çok hücre tipine dönüşme potansiyelleri de vardır.



İZLE



Göbek kordon kanı kök hücreleri

- Kordon kanı kök hücreler açısından zengindir.
- Bu hücrelerin yüzeyinde, immün sistem tarafından tanınan antijenler henüz gelişmemiştir.
- Bu nedenle immün yanıt oluşturma olasılığı daha düşüktür.

İZLE



Göbek kordon kanı kök hücreleri

- Ayrıca göbek kordon kanı, alıcının vücudunda reaksiyona yol açabilecek olgun immün sistem hücreleri içermez.
- Günümüzde insanların kordon kanları, kordon kanı bankalarında saklanabilmektedir.



İZLE



Yetişkin kök hücreleri

- Vücutta çeşitli multipotent yetişkin kök hücreleri bulunmaktadır.
- Bunların her biri, farklı bir spesifik doku tipinin hücrelerine dönüşebilir.

İZLE



Yetişkin kök hücreleri

- Bu hücreler, meydana getirebilecekleri doku tiplerinin çeşitliliği açısından diğer kök hücrelere göre daha düşük esnekliğe sahiptir.
- Günümüzde yapılan araştırmalarla yetişkin kök hücrelerin diğer hücre tiplerine dönüşebilmesi için yeni protokoller geliştirilmeye çalışılmaktadır.

İZLE



Kök hücre hatları

- Kök hücre deneylerinin çoğunda hücreler, steril petri plaklarında kültüre alınır.
- Bu hücreler, insan kaynaklı olabileceği gibi, fareler gibi çeşitli hayvanlardan da elde edilebilir.

İZLE



Kök hücre hatları

- Kök hücreler laboratuvarlarda sürekli büyüme gösteren “kök hücre hatları” şeklinde üretilir.
- Kök hücreler doğal olarak ikiye bölünürler ve farklılaşmadan kalmayı başarırlar.
- Transplantasyonun başarılı olması için kök hücreler uygun doku tipine farklılaşmış olmalı ve kontrollü bir şekilde bölünebilmelidir.

İZLE



Kök hücre kaynakları

- Günümüzde kök hücreler çeşitli kaynaklardan elde edilebilmektedir:
 - Kemik iliği
 - Periferal kan
 - Göbek kordon kanı

İZLE



Kemik iliği transplantasyonu

- En yaygın ve geleneksel transplantasyon tipi, kemik iliği transplantasyonudur.
- Bu yöntem, lösemi ve çeşitli kan hastalıklarını tedavi edebilmek için kullanılmaktadır.
- Lösemi, beyaz kan hücrelerinin kanserleşmesi olayıdır.



İZLE



Kemik iliği transplantasyonu

- Beyaz kan hücrelerinin kökeni kemik iliğidir.
- Kemik iliğinde bulunan kök hücreler beyaz kan hücrelerine dönüşerek kan dolaşımına verilirler.
- Lösemi tedavi yöntemlerinden birisi de kemoterapi yoluyla kanserli hücreleri öldürmektir.

İZLE



Kemik iliği transplantasyonu

- Kemoterapinin, tüm kanserli hücreleri ortadan kaldıramadığı durumlarda kemik iliği transplantasyonu gerçekleştirilir.
- Sağlıklı bir donör bulunduktan sonra, hastanın kemik iliği ve anormal beyaz kan hücreleri güçlü ilaçlar ve radyasyon kullanılarak ortadan kaldırılır.

İZLE



Kemik iliği transplantasyonu

- Donör kök hücreler, hastanın kemik iliğine göç edecek, bölünecek ve kemik iliği popülasyonu meydana getirmeye bağlayacaktır.
- Daha sonra da sağlıklı beyaz kan hücrelerini oluşturmaya başlayacaklardır.

İZLE



Kemik iliği transplantasyonu



İZLE



Kan dolaşımındaki kök hücreler

- Bazı kök hücreler kan dolaşımından da elde edilebilmektedir.
- Bu hücreler, kemik iliğinden elde edilenlere benzer Şekilde kullanılabilirler.

İZLE



Kan dolaşımındaki kök hücreler

- Bu yöntemin en büyük sıkıntısı, kan dolaşımından yeterli miktarda hücrenin toplanamamasıdır.
- Çünkü bu hücreler kanda çok düşük miktarlarda bulunurlar.

İZLE



Tedavi edici klonlama ve embriyonik kök hücreler

- Daha önce de belirtildiği gibi, genetik hastalıkları tedavi etmenin yollarından birisi, bireyin mevcut kök hücrelerini manüple ederek kullanmaktır.
- Terapötik (tedavi edici) klonlama ise, embriyonik kök hücre üretiminin bir başka yoludur.

İZLE



Tedavi edici klonlama ve embriyonik kök hücreler

- Bu tarz klonlama uygulamaları önemli ölçüde tıbbi potansiyele sahiptir ve “tedavi edici klonlama” veya “somatik hücre nukleus transferi (SCNT)” olarak adlandırılır.

İZLE



Tedavi edici klonlama ve embriyonik kök hücreler

- Bu yöntemde, yetişkin donör hücrenin nukleusu, çekirdeği çıkarılmış alıcı yumurta hücresine transfer edilir.
- Yumurta hücresi bölünme için uyarılır.
- Yeni transfer edilen nukleusun yönetiminde embriyo oluşumu ile sonuçlanan bir süreç başlatılmış olur.

İZLE



Tedavi edici klonlama ve embriyonik kök hücreler

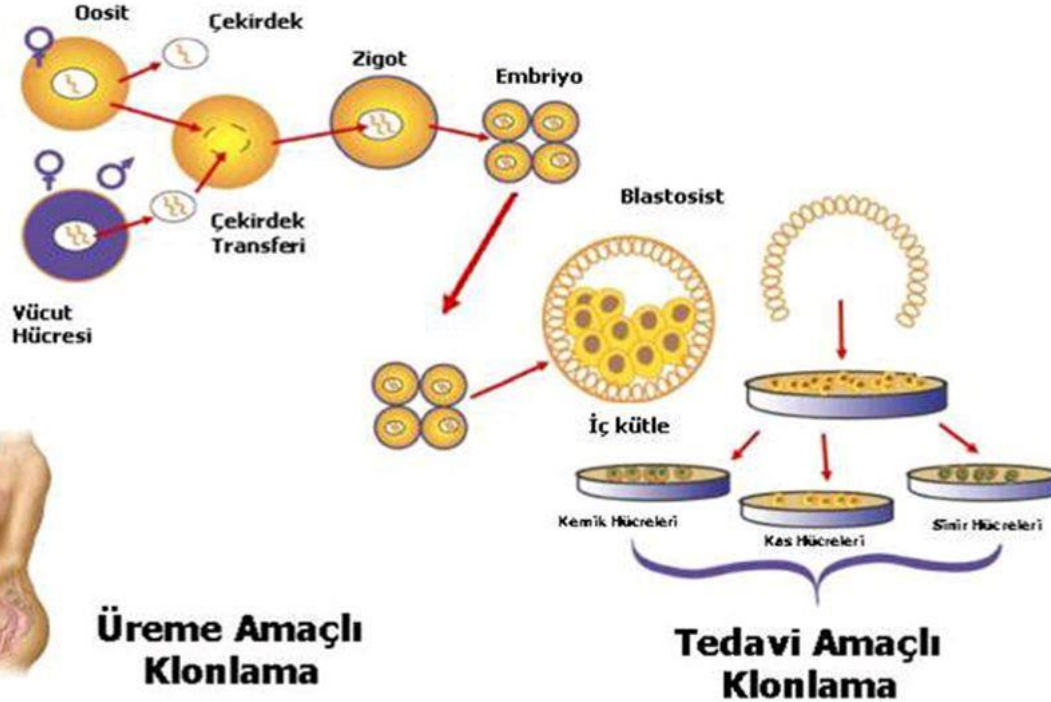
- Bu hücreler dişi bireye implante edilmez, kültür ortamında tutulur ve sürekli bölünmeleri sağlanır.
- Bu sayede donör hücreye özdeş bir hücre hattı elde edilir.
- Çekirdek transferinden 5-6 gün sonra kök hücreler toplanabilir.

İZLE



Tedavi edici klonlama ve embriyonik kök hücreler

İnsan somatik hücre nükleus transferi (SHNT) (klonlama)



İZLE



Etik tartişmalar

- Kök hücre araştırmaları, etik tartişmaları da beraberinde getirmiştir.
- Sıklıkla gündeme getirilen sorulardan bazıları şöyledir:

İZLE



Etik tartışmalar

- İnsan embriyonik kök hücreleri araştırmalarda kullanılmalı mıdır?
- İnsan hayatını oluşturan etmenler nelerdir?
- Embriyonik kök hücrelerin kullanımı insan hayatına sınırlamalar getirir mi?

İZLE



Etik tartışmalar

- Hükümetler, embriyonik kök hücre araştırmalarını düzenlemeli midir?
- *In vitro* dölllenme yoluyla elde edilen dondurulmuş embriyolar kök hücre araştırmalarında kullanılmalı mıdır?
- Tedavi edici klonlama, embriyonik kök hücre elde etmek için tıbbi olarak kullanılabilir mi?

İZLE



AŞILAR

İZLE



Aşılar

- Aşılar, enfeksiyon hastalıklarını tanıması ve savaşması için vücuda yardım eden etkenlerdir.
- Klasik aşılarda patojenitesi zayıflatılmış ya da öldürülmüş mikroorganizmalar kullanılarak immün sistem uyarılır ve hastalık direncinden sorumlu antikorların oluşturulması sağlanır.

İZLE



Aşılar

- Rekombinant DNA teknolojisinde yaşanan gelişmeler ile yeni jenerasyon aşılar geliştirmek mümkündür.
- Bu sayede yeni aşı vektörleri, immüno-enhansörler (immün sistem kuvvetlendiricileri) ve hatta nükleik asitler kullanılabilir.

İZLE



Aşılar

- Şimdiye kadar pnömoni, sıtma, herpesvirüs, ishal, solunum sistemi enfeksiyonları, kızamık ve kolera gibi pek çok hastalığa karşı aşı geliştirilmiştir.
- Son günlerde biyoterörizm saldırı ajanlarından olan şarbon ve SARS üzerinde yoğunlaşmaya başlanmıştır.

İZLE



Aşılar

- Araştırmalarda ayrıca diyabet, Alzheimer ve kanser türlerinin aşılarla tedavi olasılıkları da ele alınmaktadır.
- Yeni nesil aşıların büyük bir kısmında mikroorganizmanın kendisinden ziyade ilgili antijen kullanılmaktadır.

İZLE



Aşılar

- Bu aşılarda genellikle genetik olarak manöple edilmiş mayalar ve diğer konak hücreler kullanılarak protein ya da antijen üretilmeye çalışılır.
- Daha sonra protein saflaştırılır ve ticari olarak satışa sunulur.

İZLE



DNA aşıları

- Yalnızca antijen içeren aşılar örnek olarak hepatit B aşısı verilebilir.
- Bir diğer aşı türü de DNA aşılarıdır.
- Mikroorganizmalardan elde edilen küçük bir parça DNA enjeksiyonu sonrasında da antikor üretimi uyarılabilmektedir.
- HIV ve sıtmaya karşı geliştirilen DNA aşılarının klinik denemeleri devam etmektedir.

İZLE



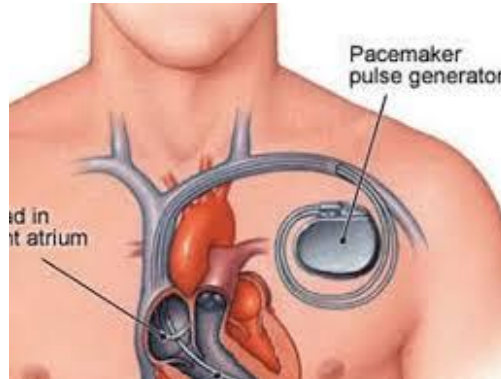
DOKU MÜHENDİSLİĞİ

İZLE



Doku mühendisliği

- Milyonlarca insan, doku ya da organlarının fonksiyonlarını yitirmeleri sonucunda sıkıntı çekmektedir.
- Bunlardan bazıları hayatlarını mekanik aygıtlar kullanarak devam ettirebilmektedir.
- Örneğin; diyaliz makinesi, kalp pili, yapay kalp vb.



İZLE



Doku mühendisliği

- Diğer bazı hastalar da organ transplantasyonları veya rekonstrüktif cerrahi yoluyla hayata tutunmaya çalışmaktadır.
- Doku ve organ hasarları genellikle ölümcüldür.
- Hastaları tedavi etmenin maliyeti oldukça astronomiktir.
- Bu rakam tahminen yıllık 400 milyar doları aşmaktadır.

İZLE



Doku mühendisliği

- Birleşik Devletlerde her yıl doku ve organ sorunlarıyla ilgili 8 milyondan fazla cerrahi operasyon gerçekleştirilmektedir.
- En önemli sorunlardan birisi uygun donör bulmadaki zorluktur.
- Bu nedenle organ bekleyen adayların çoğu hayatını kaybetmektedir.

İZLE



Doku mühendisliği

- Doku mühendisliği, bu problemin aşılması için önemli bir alternatif sunmaktadır.
- Bu teknik, mühendislik ile biyolojinin temel prensiplerini bir araya getirir.



İZLE



Doku mühendisliği

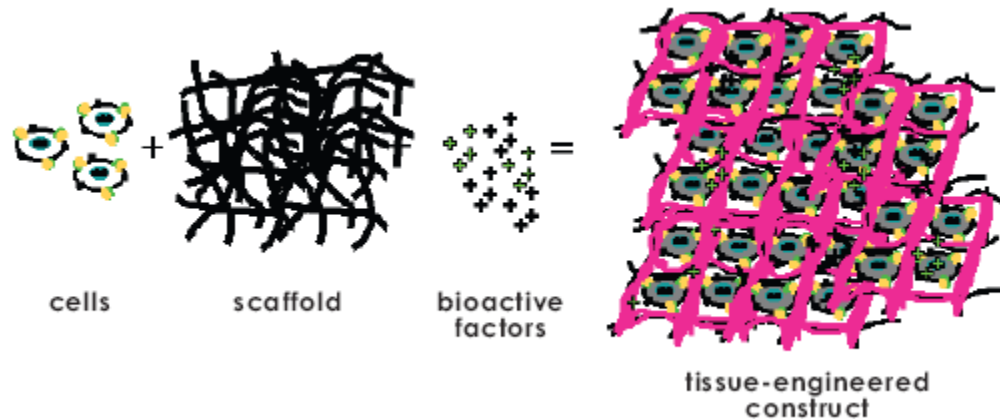
- Büyüme faktörleri gibi doku uyarıcı bileşenler, farklı dokuların büyüme ve gelişmelerini uyarmak için sinyal görevi yaparlar.
- Gerekli görülmesi halinde izole edilen hücreler, transplantasyondan önce modifiye edilir ve fonksiyonunu kaybetmiş hücrelerle değiştirilebilir.

İZLE



Doku mühendisliği

- Hücreler kollajen veya sentetik polimer gibi hücre dışı bir matrikse tutundurulularak hasta dokuya entegre edilebilirler.
- Uygun koşulların mevcut olması durumunda, bu hücreler orijinal doku yapısını tekrar oluştururlar.

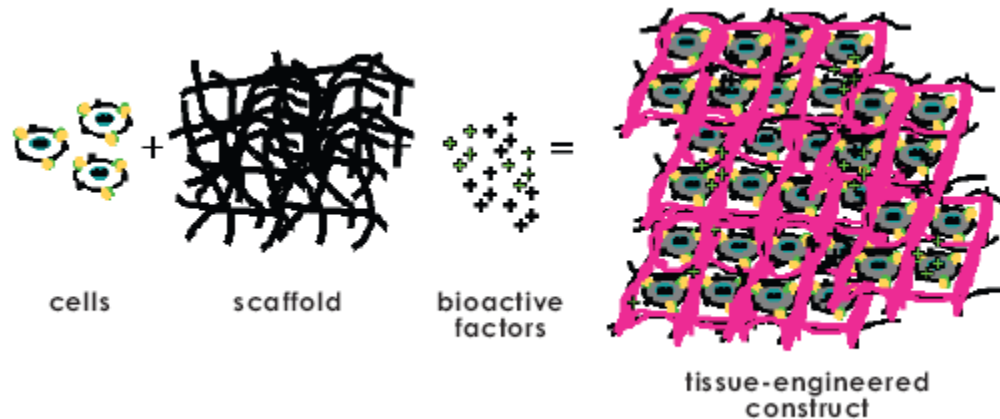


İZLE



Doku mühendisliği

- Bu aşamada kullanılan sentetik polimerler, doku bütünlüğünün sağlanmasına yardımcı olurlar.
- Polimerler, çeşidine göre hasta vücudunda kalıcı olarak yer alabilir veya ilerleyen aşamalarda vücut tarafından yıkılabilir.



İZLE



Doku mühendisliği

- İmplantasyondan sonra kan damarları gelişerek yeni dokuya oksijen ve besin maddelerini sağlarlar.
- Devam etmekte olan çalışmalarla; sinir sistemi, cilt, kornea, karaciğer, pankreas, kemikler ve kıkırdak, kaslar ve kan damarları gibi çok sayıda doku için ümit vaat eden sonuçlar elde edilmektedir.

İZLE



Diyabet

- Bu konudaki en önemli gelişmelerden birisi de diyabettir.
- Amerikalıların birçoğu diyabetten dolayı hayatını kaybetmektedir.
- Pankreastaki adacık hücreleri zarar gördüğünde kandaki glukoz seviyesini kontrol etmek mümkün olamamaktadır.

İZLE



Diyabet

- Diyabetik glukoz seviyesi normalde diyet veya insülin enjeksiyonu yoluyla kontrol altına alınabilir.
- Ancak maalesef semptomlar yaşlanmayla birlikte ağırlaşır.

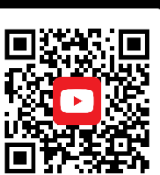
İZLE



Diyabet

- Doku mühendisliği araştırmaları kapsüllenmiş fonksiyonel adacık hücrelerinin transplantasyonu üzerine yoğunlaşmıştır.
- Pankreasın insülin üreten Langerhans adacık hücreleri, aljinat ile kaplandıktan sonra deneysel olarak kullanılmışlardır.

İZLE



Diyabet

- Yöntemin, diyabet hastaları için güvenilir ve etkili olduğu sonucuna varılmıştır.
- Aktarılan hücreleri çevreleyen yarı geçirgen kapsül, glukozun geçişine izin vermektedir.
- Diğer yandan hücreler, yine bu kapsül sayesinde konak organizmanın immün sistem saldırılarından korunabilmektedir.

İZLE



Diyabet

- Bu yöntemde donör hücreler olarak genelde domuz adacık hücreleri kullanılmaktadır.
- Ancak günün birinde genetik olarak dizayn edilmiş insülin üreten insan adacık hücrelerinin kullanılabilceği ümit edilmektedir.
- Ratlar üzerinde yapılan denemelerde 2 yıldan daha uzun bir süre boyunca glukoz ve insülin seviyesinin normal düzeylerde kaldığı belirlenmiştir.

İZLE



Xenotransplantation

- Son verilere göre dünyada organ bekleyen hasta sayısı resmi rakamlarla 60.000 civarındadır.
- Diğer yandan bu sayıya 100.000 yeni hasta ekleneceği tahmin edilmektedir.

İZLE



Xenotransplantation

- İhtiyacı karşılayabilmenin bir yolu da hayvanlardan insanlara doku transplantasyonu anlamına gelen "xenotransplantation"dur.
- Bu yöntemde en önemli engel, alıcının immün sistem reddinin hızlı gelişmesidir.

İZLE



Xenotransplantation

- Ancak araştırcılar bu sorunu aşabilmek için yoğun çaba göstermektedir.
- Araştırcılar, organları immün sistem saldırılarından koruyacak insan savunma proteinleri üzerinde çalışmaktadırlar.

İZLE



Xenotransplantation

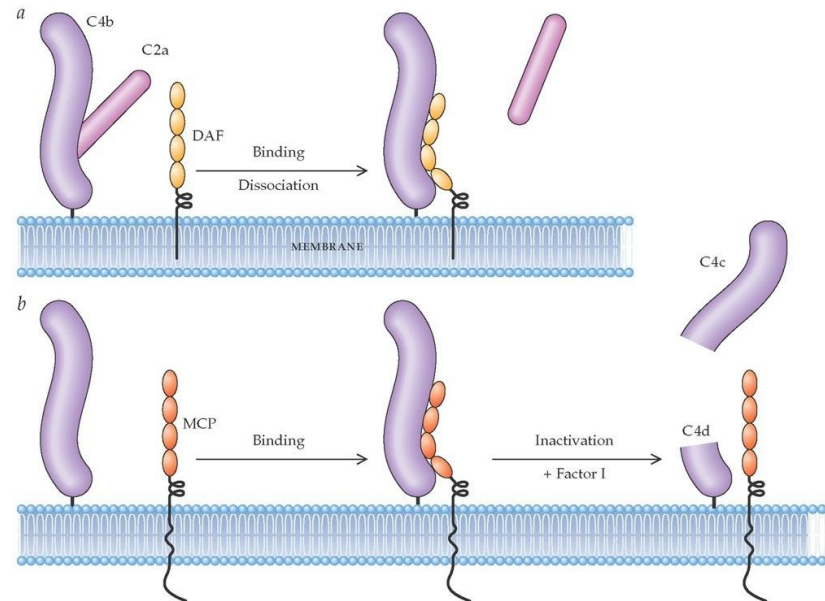
- Bu proteinlerin sentezinden sorumlu gen bölgeleri donör hayvana aktarılabilirse, elde edilecek organlar insan proteinleri sentezleyebilecektir.
- Böylelikle immün sistem reddine ilişkin problemler azalacaktır.
- Primatlar ve farelerde yapılan denemelerin sonuçları oldukça ümit vericidir.

İZLE



Membran kofaktör proteini (MCP)

- Membran kofaktör proteini (MCP) ve çürüme hızlandırıcı faktör (decay accelerating factor-DAF) gibi koruyucu proteinler insanlarda hücre yüzeyine bağlı halde bulunmaktadır.



İZLE



Membran kofaktör proteini (MCP)

- Bu proteinler, hücreyi immün sistem saldırılarına karşı koruyan diğer bazı proteinler ile işbirliği içerisinde çalışırlar.
- Domuzlar en elverişli donörlerdir.
- Domuz organları şekil ve büyüklük açısından insan organlarına en fazla benzerlik gösterenlerdir.

İZLE



Membran kofaktör proteini (MCP)

- Ayrıca domuzlardan insanlara transfer olma riski bulunan hastalık sayısı da oldukça azdır.
- Deneysel olarak MCP ve DAF genlerinin yanı sıra CD46 ve CD59 genleri de domuzlardan aktarılmış ve söz konusu proteinlerin üretimi sağlanmıştır.

İZLE



Astrid-ilk MCP transgenik domuz

- 23 Aralık 1992'de doğan "Astrid", koruyucu proteinleri sentezleyen ilk transgenik domuzdur.
- 1994 yılında çeşitli koruyucu proteinleri sentezleyen iki farklı transgenik domuz hattı üretilmiştir.

İZLE



Astrid-İlk MCP transgenik domuz

- 1996 yılında Astrid'den yeni bir jenerasyon üretilmiştir.
- Bu hat, klinik çalışmalarda donör organ kaynağı olabilecek ölçüde koruyucu protein üretmeyi başarmıştır.
- 1999 yılında 160 kişiye domuz hücreleri aktarılmıştır.

İZLE



Astrid-İlk MCP transgenik domuz

- Deneye katılan bireylerden hiçbirinde transplantasyona reaksiyon gelişmemiştir.
- Bu alandaki gelişmeler her ne kadar hızla ilerlese de, etik tartışmalar sürmeye devam etmiştir.
- Genetik olarak manüple edilmiş hayvanların, insan vücut parçalarının üretimi için kullanılabilme olasılığı halen tartışılmaktadır.

İZLE

