

# Çocuklarda genetik hastalıklar ve yeni eğilimler

**Doç. Dr. İbrahim Akalın**



1977'de Düzce'de doğdu. 2002'de Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İngilizce Tıp Bölümünden mezun oldu. Tıbbi Genetik ihtisasını Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalında 2007 yılında tamamladıktan sonra ABD'de Houston/Texas'da bulunan Baylor College of Medicine'da gen tedavisi alanında iki yıla yakın çalıştı. 2009 yılında Türkiye'ye dönerek mecburi hizmetini yaptığı Trabzon Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Hastanesinde Genetik Hastalıklar Tanı Merkezi Laboratuvarını kurdu. 2012 yılında İstanbul Medeniyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalını kurdu, 2013 yılında doçent oldu. Ayrıca 2018 yılında İstanbul Medeniyet Üniversitesi Hukuk Fakültesi Tıp Hukuku Anabilim dalında da yüksek lisansını tamamladı. Dr. Akalın halen İstanbul Medeniyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Başkanı olarak görev yapmaktadır.

**G**enetik hastalıkları alta yatan nedenlerine göre kromozomal hastalıklar, tek gen hastalıkları ve hem genetik hem de çevresel faktörlerin etkisinde ortaya çıkan multifaktöryel hastalıklar olarak üç sınıfta incelemek mümkündür (1). Bu oluş nedenleri günümüzde Tıbbi Genetik hekimleri tarafından genetik tanı merkezleri bünyesinde gerek kromozomların incelenmesi gerekse moleküler düzeyde kodlayan ve kodlamayan DNA bölgelerinde bulunan mutasyonların saptanması yolu ile ortaya konulmakta ve genotip-fenotip ilişkileri yapılarak hastalıklara tanı konulabilmektedir.

Bu aşamada tanı koymak hastalığa sahip birey açısından bazı hastalıklarda çok önemli olmakla birlikte birçok genetik hastalıkta DNA'da meydana gelmiş olan değişikliklerin normale dönüşü ya da wild yani yaban hale getirilmesi henüz rutine girebilmiş bir uygulama değildir. Ancak moleküler biyolojide yapılan yoğun çalışmalarda kaydedilen son ilerlemeler bu konuda oldukça umut vericidir. Bu nedenle şimdiye kadar tanı için yapılan gerek yoğun çabalar gerekse maliyeti yüksek harcamalar boşuna olmayıp ileride rutine girebilmesi durumunda bu yeni tedavi yaklaşımlarının uygulanması için olmazsa olmaz olacaktır. Genetik hastalıkların ise bazı yaş faktörü gözetilen hastalıklar dışında (örneğin Huntington hastalığının ileri yaşta ortaya çıkması ya

da multifaktöryel bir hastalık olan tip II diyabetin kırklı yaşlarda ortaya çıkması gibi) birçok tipi çocukluk çağında klinik bulgu vermekte ve bu nedenle çocuk genetik hastalıkları olarak sınıflanabilmektedir. Bu kapsamda özellikle tek gen hastalıkları büyük bir pay olmakta ve bu grup içinde ise enzim eksiklikleri ve depo hastalıkları geniş yer tutmaktadır. Bu gruplara iskelet displazileri, hematolojik kanserler ile diğer onkolojik hastalıkların yanı sıra sık görülen ve yaşla bağdaşan kromozom anomalilerini de ekleyebiliriz. Genel anlamda ise aslında 2000'de bir sıklıktan daha az görülen hastalıklar nadir hastalıklar olarak adlandırılmaktadır ki sonuçta hemen hemen bütün genetik hastalıklar bu grupta yer almaktadır (2). Klinikte görülen yukarıda bahsedilen hastalıklar başta olmak üzere genetik hastalıkların temelinde DNA da meydana gelen tek bir nükleotid (baz) değişimi (Single Nükleotid Polimorfizm-SNP) değişiminden tutunda tüm bir kromozomun kaybı ya da kazanımı kadar geniş bir ölçekte değişikliğe neden olan mutasyonlar yer almaktadır. Bu açıdan yazımı bu nedenlere yönelik olarak dizayn edecek ve gerek önleme gerekse günümüzdeki genetik tedavilerinden bahsetmeye çalışacağım.

## **Kromozomal Hastalıklarda**

Çocukluk çağı kromozom hastalıklarında en sık karşımıza çıkan klinik bulguları, yaşla bağdaşması nedeni ile Turner Sendromu, Down Sendromu, Edward ve

Patau Sendromları gibi monozomi ya da trizomilerdir (1). Burada gametogenez sırasında kromozom segregasyonunda gerçekleşen mayotik ayrılmama (nondisjunction) en önemli nedenlerdir ki konvansiyonel kromozom analizleri ile tanı koyulabilmektedir. Daha nadir olarak ise önemli dismorfik bulgular veren kromozom düzeyinde basit sitogenetik analiz dışında floresan insitu hibridizasyon, kromozom microarray ya da array CGH (comperative genomik hibridizasyon) gibi moleküler sitogenetik analizler ile tanı konulabilen kromozomal mikrolelesyon sendromlarıdır. Buna ek olarak daha nadir ve de aileye özgü olan dengeli translokasyon taşıyıcısı ebeveynlerden doğan dengesiz translokasyon taşıyıcısı çocuk hastalardır. Bu son durumda parsiyel trizomiler ya da monozomiler eşlik edebilmekte ve etkilenen kromozom boyutuyla bağlantılı klinik bulgular görülebilmektedir. Bu tür hastalarda basit sitogenetik analizler ile tanı koyulabilse de farklı durumlarda algoritmik olarak FISH ya da array CGH uygulamaları gerekebilmektedir.

Ayrıca DNA dizileme teknolojisinde son 10 yılda yaşanan sıçrayıcı gelişmeler özellikle anne kanında dolaşan serbest DNA'nın (cfDNA) saptanmasına ve bu DNA üzerinde genetik analizlerle analizlerle bazı trizomi ve monozomiler ile bir kısım mutasyonların varlığının gebelik sırasında anne kanından saptanmasına imkân sağlamıştır. Ancak yine de bu çalışmalar tarama niteliğinde kalarak

amniyosentez ile doğrulanması gerekliliğini korumuştur.

Bu noktada gerek mayotik ayrılmama gerekse benzer DNA dizisi nedeniyle eşit olmayan çaprazlanma (unequal crossing over) ya da doğru eşleşmeme (misalignment) nedeniyle veya bir translokasyon nedeniyle olduğu kabul edilsin kromozom anomalilerini kromozom düzeyinde henüz tedavi edici yetimiz ya da yöntemimiz bulunmamaktadır. Bu nedenle etkilenmiş bir bireye tedavi imkânı bulunmamaktadır. Ancak bir sonraki nesil için önleyici ya da koruyucu tedavi düşünülebilir ki burada daha öncelleri etkilenmiş ancak henüz doğmamış bireyin gebeliğinin sonlandırılması uygulanagelmekte iken günümüzde yardımcı üreme tekniklerinin genetik tanı yöntemleri ile birleştirilmesiyle sağlıklı olan embriyonun anne rahmine yerleştirilmesini öngören preimplantasyon genetik tanı (PGD) yöntemi kullanılabilir. Bu sayede hasta olmayan bireylerin doğması sağlanabilir ki tedaviden ziyade tanı destekli önleyici tedavi olarak tanımlanabilir. Bu yöntemde taşıyıcı anne ve babadan tüp bebek yöntemiyle elde edilen yumurta ve spermeler dış ortamda birleştirilir ve dördüncü günde sekiz hücre aşamasındaki embriyodan alınacak tek hücrede genetik tanı yöntemleri kullanılarak kromozom anomalisi bulunmayan embriyolar anne rahmine yerleştirilerek gebelik sağlanmış olur. Böylece ilgili kromozomal hastalığı bulunmayan bireylerin yaşam bulması sağlanabilir.

### Tek Gen Hastalıklarında

Moleküler genetikte yaşanan gelişmeler ve keşfedilen yeni yöntemler tek gen hastalıklarının tedavisi adına önleme ve korunmadan ziyade hasta birey için de tedavide yeni umutlar doğurmuştur. Önceleri gen tedavisi olarak bilinen ve DNA'yı düzeltme çabaları için kullanılan Çinko Parmak (Zinc-Finger), TALEN'ler ve transpozon yöntemlerinin yerine günümüzde son 5 yılda keşfedilen ve geliştirilen daha ucuz ve daha kolay uygulanabilir olan CRISPR-CAS9 sistemi kullanılmaya başlanmıştır (3). Özellikle bakteriler bir immün yanıt gibi kendilerini enfekte eden virüsleri yeniden tanıyabilmek adına kendi genomlarına o virüse ait belirli DNA parçalarını entegre etmesi ve bu yolla bir sonraki aynı virüse efekte olmaları durumunda virüsün DNA'sını parçalayabilme yeteneği kazandıkları bu yöntemde düzenli aralıklarla serpiştirilmiş



palindromik tekrar kümelerini ve bir kesim enzimi olan Cas9 sistemini kullanmaktadır (4). Rehber bir RNA parçasıyla hangi DNA bölgesine bağlanacağını belirlediği bu yöntem günümüze gen susturulmasına ya da bir DNA bölgesine istenilen uzunlukta bir genom parçası yerleştirebilmeye olanak sağlamaktadır (4-6). Bu yolla genom düzenlemede yeni ufuklar açmış ve tengen hastalıklarında mutasyonlu bölgenin yeniden yaban hâle getirilebileceği öngörülmüştür (3-7). Bu kapsamda yapılan bazı çalışmalarda başarı elde edilebilmiş ancak henüz spesifitesi üzerinde %10'luk başarı düzeyi aşılamamıştır. Bütün bir genom içinde tek bir noktayı spesifik olarak hedeflemek yerine hedef dışında bilinmeyen başka bölgelere de bağlanabilme özelliği yöntemin uygulanabilirliğini kısıtlamaktadır. Bu sebeple oluşabilecek görülemeyen yan etkiler nedeni ile daha spesifik bağlanma bölgesini tanıyabilecek referans RNA'lar geliştirilmeye çalışılmaktadır (8). Tahmin ederim ki gelecek on yılda birçok genetik hastalık genetik nedeni düzeltilmek yoluyla tedavi edilebilir olacaktır.

Öte yandan preimplantasyon genetik tanı ile ilişkilendirilerek de genomu mutasyonlu embriyonun elimine edilmesine yönelik etik kaygıların da önüne geçilebilecek, ilgili embriyo üzerinde CRISPR yöntemi kullanılarak yapılabilecek genom düzenleme ile embriyonun ve hatta daha geriden yumurta ve spermin hastaliksız hale getirilmesi bir nevi embriyonun

Kanser hücrelerinin doğası gereği genetiği farklı yollarla bozulmuştur ve tedavide bu hücrelerin şimdilik öldürülmesi amaçlanmaktadır. Bu bakımdan hücresel tedaviler önem kazanmış ve T hücre mühendisliği geliştirilmiştir. T hücre mühendisliği ile geliştirilen ve kimerik antijen reseptörü (CAR) ile donatılmış sitotoksik hücrelerin ilgili kanser hücrelerine karşı daha özgün ve etkili öldürücü gücü başarıyla tatbik edilmektedir.

genetik tedavisi mümkün olabilecektir. Bu sayede hem tedavi hem de önleme ve korunma sağlanmış olabilecektir.

Ancak bu aşamada eşey hücreleri üzerinde yapılabilecek genom düzenlemenin yeni etik ve hukuki kaygıları da doğuracağı aşıkardır. Nitekim ülkemizin de imzaladığı Biyotıp Sözleşmesi'nin 13. maddesine göre "insan genomunu değiştirmeye yönelik bir müdahale, yalnızca, önleme, teşhis ve tedavi gayeleriyle ve sadece amacının, herhangi bir altsoyun genomunda değişiklik olmaması hâlinde yapılabilir" denilmektedir (9). Bu kapsamda embriyo ya da öncesinde sperm veya yumurta genomunda yapılacak bir düzenleme tedavi amacı gütsen bile bir altsoyun genomunda dişilik yapılması anlamı kazanacaktır. Bu durum hukuki süreçleri de beraberinde getireceğinden tıbbın gelişmesine bağlı yeni ulusal ve uluslararası hukuki düzenlemelerin de gerekliliği ortadadır. Bu aykırılıkları "Karşılaştırmalı Hukukta Genom Düzenleme" başlıklı tıp hukuku yüksek lisans tezimde etraflıca tartıştığım burda kısaca değindim (10). Bu kapsamda CRISPR yöntemi kullanılarak genetik hastalıklarda yapılmaya çalışılan bazı çalışmaları ve elde edilen başarıları özetleyebiliriz. Gerek nadir hastalıkların hayvan modelleme çalışmalarında gerek ilaç endüstrisinde gerekse genom düzenleme ile genomdaki mutasyonların düzeltilmesinde yaygın bir araştırma alanı olarak yer bulmuştur (11-13).

### **Çocukluk Çağı Tümörlerinde T Hücre Mühendisliği ile Hücresel Tedaviler ve Gen Tedavileri**

Kanser hücrelerinin doğası gereği genetiği farklı yollarla bozulmuştur ve tedavide bu hücrelerin şimdilik öldürülmesi amaçlanmaktadır. Bu bakımdan hücresel tedaviler önem kazanmış ve T hücre mühendisliği geliştirilmiştir. T hücre mühendisliği ile geliştirilen ve kimerik antijen reseptörü (CAR) ile donatılmış sitotoksik hücrelerin ilgili kanser hücrelerine karşı daha özgün ve etkili öldürücü gücün başarıyla tatbik edilmesi kemoterapilerin etkinliğinin yanında özellikle son dönem hastalara yeni umutlar doğurmuştur (14-15). Bu konuda geliştirilen CAR-T cell'ler lösemiler yanında beyin gibi solid tümörleri ve diğer metastatik kanserlerde de etkinlik gösterebilmiştir (16). Burada strateji hastanın kendi immün hücrelerini alıp onların genetik modifikasyonlarla yine

hastanın kendi kanserine karşı daha etkin hale getirilmesi ve kanser aşısı olarak bu hücrelerin yine hastanın kendisine verilmesi yoluyla antikanser tedavi yaklaşımı olarak sunulmasıdır (17). Bu yöntemler henüz son safhada son çare şekliyle hastalarda denenmeye başlanmış ve son birkaç yıldır elde edilen sonuçlarda tümörler küçültülebilmıştır. Özellikle son birkaç yılda bu yeni stratejiler CRISPR yöntemi ile de birleştirebilmiş ve genetik modifikasyonlara ek olarak regülatör T hücrelerinde yapılan CRISPR aracılı gen susturması ile sitotoksik hücrelerin etkinliği artırılarak antikanser çabada önemli başarılar elde edilmeye başlanmıştır (18).

### **İskelet Displazilerinde Yeni Umutlar**

DNA üzerindeki hasarların giderilmesine yönelik çabalar sürerken bir yandan hala sinyal iletiminde görev alan kaskadlarda aktif olan ve mutasyon etkisini de gerek fonksiyon kazanımı (gain of function) ile aktif olan gerekse fonksiyon kaybı (loss of function) ile sonuçlanan proteinleri hedef alan moleküllerin de geliştirilmesine devam edilmektedir. Bu kapsamda yakın bir zamanda geliştirilen C-tip natriüretik

Önümüzdeki on yıl, insan genom projesi ile insan genom haritasının ortaya konulmasını takiben geçtiğimiz son 20 yılda keşfedilen yeni genom düzenleme yöntemleri ile gerek çocuk genetik hastalıkları için gerekse erişkin çağa ulaşmış genetik hastalıkları için gen tedavisi uygulamalarında önemli gelişmelerin yaşanacağı bir zaman dilimi olacaktır.







peptit analogunun çocukluk çağında tanı konulmuş ve henüz erken yaşta uygulanması ile FGFR3 mutasyonuna bağlı cücelikte (akondroplazi) boy kısalığı sorununu aşabilecek tedavi edici uygulaması Faz 1 aşamasına gelmiştir (19). Bu konuda da önceleri büyüme hormonu tedavisi, ortopedik ekstremize uzatma çabalarının önüne geçerek akondroplazinin tedavisinde yeni umutlar belirmiştir. Aynı molekülün kafa kemiklerinin erken kapaması (kraniyosinozoz) ile giden Crouzon Sendromu'nda da etkili olabileceğine de dikkat çekilmiştir (20).

Sonuç olarak moleküler genetikte yaşanan hızlı teknolojik gelişmelerle gerek DNA düzeyinde gerekse protein düzeyinde yeni tedavi modaliteleri gelişmektedir. Önümüzdeki on yıl, insan genom projesi ile insan genom haritasının ortaya konulmasını takiben geçtiğimiz son 20 yılda keşfedilen yeni genom düzenleme yöntemleri ile gerek çocuk genetik hastalıkları için gerekse erişkin çağa ulaşmış genetik hastalıkları için gen tedavisi uygulamalarında önemli gelişmelerin yaşanacağı bir zaman dilimi olacaktır.

#### Kaynaklar

1) Turnpenny P, Ellard S. *Emery's Elements of Medical Genetics*. 15th ed: Elsevier; 2017. 416 p.

2) Pogue RE, Cavalcanti DP, Shanker S, Andrade RV, Aguiar LR, de Carvalho JL, et al. *Rare Genetic Diseases: Update on Diagnosis, Treatment and Online Resources*. *Drug Discov Today*. 2018;23(1):187-95.

3) Doudna JA, Charpentier E. *Genome editing. The New Frontier of Genome Engineering with CRISPR-Cas9*. *Science*. 2014; 346(6213): 1258096.

4) Wiedenheft B, Sternberg SH, Doudna JA. *RNA-Guided Genetic Silencing Systems in Bacteria and Archaea*. *Nature*. 2012; 482 (7385): 331-8.

5) Jiang F, Doudna JA. *The Structural Biology of CRISPR-Cas Systems*. *Curr Opin Struct Biol*, 2015; 30: 100-11.

6) Jennifer Doudna, *Tailoring the Genome*. *Trends Cancer*. 2016; 2(10): 536-7.

7) Wright AV, Nunez JK, Doudna JA. *Biology and Applications of CRISPR Systems: Harnessing Nature's Tool-box for Genome Engineering*. *Cell*. 2016; 164(1-2): 29-44.

8) Gorski SA, Vogel J, Doudna JA. *RNA-based Recognition and Targeting: Sowing the Seeds of Specificity*. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2017; 18(4): 215-28.

9) Metin S. *Biyo-tıp Etiği ve Hukuk*. İstanbul: XII Levha; 2010.

10) Akalin I. *Karşılaştırmalı Hukukta Genom Düzenleme*. İstanbul Medeniyet Üniversitesi, İstanbul, 2018.

11) Ruan GX, Barry E, Yu D, Lukason M, Cheng SH, Scaria A. *CRISPR/Cas9-Mediated Genome Editing as a Therapeutic Approach for Leber Congenital Amaurosis*. *Mol Ther*. 2017;25(2):331-41.

12) Izmiryan A, Ganier C, Bovolenta M, Schmitt A, Mavilio F, Hovnanian A. *Ex Vivo COL7A1 Correction for Recessive Dystrophic Epidermolysis Bullosa*

*Using CRISPR/Cas9 and Homology-Directed Repair*. *Mol Ther Nuc-leic Acids*. 2018; 12:554-67.

13) Papasavva P, Kleanthous M, Lederer CW. *Rare Opportunities: CRISPR/Cas-Based Therapy Development for Rare Genetic Diseases*. *Mol Diagn Ther*. 2019; 23(2):201-22.

14) Lee DW, Kochenderfer JN, Stetler-Stevenson M, Cui YK, Delbrook C, Feldman SA, vd. *T Cells Expressing CD19 Chimeric Antigen Receptors for Acute Lymphoblastic Leukaemia in Children and Young Adults: A Phase 1 do-se-Escalation Trial*. *Lancet*. 2015; 385(9967): 517-28.

15) Gardner RA, Finney O, Annesley C, Brakke H, Summers C, Leger K, vd. *Intent-to-treat Leukemia Remission by CD19 CAR T Cells of Defined Formulation and Dose in Children and Young Adults*. *Blood*. 2017; 129(25): 3322-31.

16) Ahmed N, Brawley V, Hegde M, Bielamowicz K, Kalra M, Landi D, et al. *HER2-Specific Chimeric Antigen Receptor-Modified Virus-Specific T Cells for Progressive Glioblastoma: A Phase 1 Dose-Escalation Trial*. *JAMA Oncol*. 2017; 3(8): 1094-101.

17) Akalin I, Perna SK, Angelis BD, Okur FV, Rooney CM, Heslop H, vd. *Effects of Chimeric Antigen Receptor (CAR) Expression on Regulatory T Cells*. *Molecular Therapy*. 2009; 17(S1): S25.

18) Rupp LJ, Schumann K, Roybal KT, Gate RE, Ye CJ, Lim WA, vd. *CRISPR/Cas9-mediated PD-1 Disruption Enhances anti-tumor Efficacy of Human Chimeric Antigen Receptor T Cells*. *Sci Rep*. 2017;7(1):737.

19) Legeai-Mallet L. *C-Type Natriuretic Peptide Analog as Therapy for Achondroplasia*. *Endocr Dev*. 2016; 30:98-105.

20) Holmes G, Zhang L, Rivera J, Murphy R, Assouline C, Sullivan L, vd. *C-type Natriuretic Peptide Analog Treatment of Craniosynostosis in a Crouzon Syndrome Mouse Model*. *PLoS One*. 2018;13(7): e0201492.