

Prof.Dr. Julide AKBUGA

Istanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nden 1971 yılında mezun oldu. 1972-1982 yılları arasında aynı fakültenin Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı'nda asistan olarak çalıştı. 1977 yılında doktorasını tamamladı. 1983 yılında Marmara Üniversitesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı'nda yardımcı doçent olarak görev yapmaya başladı. 1990 yılında doçent ve 1996 yılında profesör oldu. 1995 yılından beri Farmasötik Biyoteknoloji Anabilim Dalı Başkanı olarak görev yapmaktadır.

FARMASÖTİK BİYOTEKNOLOJİ ÜRÜNLERİ

Penisilin'in 1928'de Alexander Fleming tarafından üretilmesi ile başlayan biyoteknolojik yöntemle ilaç üretimi 1970'li yıllarda gerçekleşen iki önemli bilimsel gelişme sonucu bugünkü modern yapısına ulaşmıştır. İlk farmasötik biyoteknoloji ürünü bilindiği gibi "Humulin" adıyla tedaviye sunulan rekombinant insan insülinidir.

Biyoteknoloji, yeni ve çok düşük dozda etkili moleküller olan, biyoterapötiklerin endüstriyel boyutta üretimini sağlar. 1999 yılı dabil ABD'de 100 biyoteknoloji ürünü ilaç FDA'dan onay almıştır; 300'den fazla ilaç da klinik geliştirme denemelerinin son safhasındadır, bunların yaklaşık yarısına yakını kanser ilacıdır ve 77 civarında da aşı bulunmaktadır (1, 2).

Biyoteknolojik maddelerin büyük kısmı sağlıklı insan vücudunun normal fonksiyonlarının yerine getirilmesi için rutin olarak üretilen proteinlerin benzeridir. Diğer taraftan gen ilaçları olarak isimlendirebileceğimiz gen tedavisinde kullanılan ilaçlar da proteinlerin in vivo üretimini sağlar ve biyoteknolojik ürünlerin kapsamına girer. Bu yazıda özellikle modern biyoteknolojik yöntemlerle hazırlanan ilaçlar üzerinde durulacaktır. Biyoteknoloji ürünü ilaçları farklı başlıklar altında incelemek mümkündür.

1. Sitokinler (1,2)

Sitokinler hücreler arası reaksiyonları kontrol eden hormon benzeri moleküllerdir. Lenfosit ve makrofaj gibi immün sistem hücrelerini aktive ederler (1).

Rekombinant sitokinler;

* Interferon

Potent sitokinler olan interferonlar virüslere ve kontrolsüz hücre proliferasyonuna karşı etkilidir. Bütün geleneksel kemoterapötik maddeler direkt olarak kanser hücrelerini etkiler, interfero-

nun kanser hücresine etkisi ise, immün sistem fonksiyonlarını etkileme şeklinde, dolaylıdır. FDA, AIDS'e bağlı kaposi sarkoması, saçlı hücre lösemisi, hepatit B ve genital siğiller gibi değişik hastalıkların tedavisinde kullanılan rekombinant interferonların kullanımını onaylamıştır. Yeni rekombinant interferonlar ise geliştirme safhasındadır (2). Bunlar Hepatit C ve multiple skleroz için (β -IFN-1a) denenmektedir (1).

* Interlökinler

İnterlökinler (IL), lökositler arasında mesaj iletici fonksiyona sahiptirler. Başta kanser olmak üzere immün yetmezlik ve enfeksiyon hastalıklarının tedavisi açısından önemli sitokinlerdir. İnterlökin-2 (IL-2) T-lenfositleri stimüle eder. FDA, böbrek hücreleri karsinomunda kullanılmak üzere, rekombinant IL-2 preparatını (Proleukin) onaylamıştır (2). IL-2'nin antitümör etkisi direkt olarak dozla ilgilidir. Rekombinant insan interlökin-3 de kemoterapi amacıyla araştırılmaktadır.

* Granülosit-koloni uyarıcı faktör

Granülosit-koloni uyarıcı faktör (G-CSF) ise kemik iliğini stimüle ederek nötrofil üretimini sağlar. FDA tarafından onaylanan rG-CSF preparatı (Filgrastin) kemoterapi gören hastalarda (enfeksiyon kontrolü), kemik iliği transplantasyonunda ve nötropenili hastalarda kullanılır (1,2).

* Granülosit makrofaj-koloni uyarıcı faktör

Granülosit makrofaj-koloni uyarıcı faktör (GM-CSF) ise kemik iliğinde nötrofil ve makrofaj üretimini stimüle eder. FDA, rekombinant GM-CSF-sargramostini-(Leukin) onaylamıştır, bu ilaç yoğun kemoterapi ve/veya radyoterapi sırasında kemik iliği tahrip olmuş hastalarda ve transplantasyonda kullanılır. Sargramostin, transplante edilen kemik iliği yeterli lökosit

üretinceye dek uygulanır. Lökosit seviyesi enfeksiyonu kontrol edecek kadar yükselince ilaç uygulaması kesilir (1,2).

* Diğer iki klinik deneme safhasındaki rekombinant büyüme faktörü, rekombinant insan insülin benzeri büyüme faktörü (rh IGF-1) ve rekombinant insan platelet türevi büyüme faktörüdür (r PDGF). Bunlardan PDGF özellikle yara iyileştirici etkisi nedeniyle önem taşımaktadır (1).

* FDA tarafından klinik denemesi uygun bulunan önemli bir sitokin de myeloid progenitör inhibitör faktör 1 (MPlF-1)'dir. MPlF-1 özellikle normal hücreleri, bölünen hücrelerden ayırt edebilir ve böylece antikanser ilaçların etkisinden koruyabilir (2).

* Rekombinant fibroblast büyüme faktörü (FGF-1) ise insanda damar oluşumunu indükleyerek kalbe kan ulaşımını artırır. "Biyolojik bypass" veya "bioby-pass" denilen bu tedavide FGF-1 önemlidir.

2. Enzimler

Rekombinant enzimler değişik hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır.

* **Alteplaz:** Dolaşım sisteminde kan pıhtısının çözünme işlemi, bir protein olan plazminojenin proteolitik enzimle plazmine dönüşü şeklinde yürür. Bu enzimin rekombinant teknoloji ile üretilmiş şekli, akut myokard enfarktüsünde ve pulmoner embolide bu dönüşümü hızlandırmaktadır. Alteplaz rekombinant doku tipi plazminojen aktivatörüdür. Alteplaz, diğer pıhtı giderici enzimlere (streptokinaz, ürokinaz), kıyasla, daha lokal etkiye sahiptir, böylece teorik olarak alteplaz vücutta daha az kanamaya neden olur (1-3).

* **Dornase α :** Sistik fibrosis (CF) fazla mukus sekresyonu ve sık sık oluşan akciğer enfeksiyon-

ları ile seyreden genetik bir hastalıktır. CF' li hastaların yaklaşık yarısının yaşam süresi 29 yıldan daha az olmaktadır. Dornase (Pulmozyme) aerosol şeklinde intrasellüler DNA' ya etki eder. Yoğun mukus sekresyonunda intrasellüler DNA' nın dekompozisyonu, sekresyonu daha az yapışkan hale getirir. Dornase (böylece akciğer enfeksiyonunda, süreyi ve enfeksiyona yakalanma sıklığını azaltabilir. Bu preparat FDA' nın 30 yıl içinde onayladığı ilk ilaçtır (1,2).

* **Imiglucerase:** Gaucher hastalığı kemik tahribatı ve karaciğer-dalak büyümesi ile karakterize edilen glukoserebrosidaz yetersizliğine bağlı kalıtsal bir hastalıktır. Bu enzimin bir varyantı insan plasentasından elde edilir. Fakat bir hasta için bir yılda 20,000 plasenta gerekir, bunun maliyeti yaklaşık yılda 160,000 \$' dir. Hastaların hayatları boyunca bu enzime ihtiyaç duydukları dikkate alınırsa ilaç maliyetinin büyüklüğü ortaya çıkmaktadır. FDA rekombinant glukoserebrosidazı (Imiglucerase) onaylayarak bu problemi sonlandırmıştır (1,2).

3. Hormonlar

Rekombinant insülin üretilen ilk ticari rekombinant preparattır. 1982'de FDA tarafından onaylanmıştır. Rekombinant insan insülini üretilmeden önce insülin kaynağı olarak hayvanlar (domuz, sığır vb.) kullanılırdı. Ancak hayvandan elde edilen insülin, insan insülininden farklılık gösteriyor ve ciddi immün cevap oluşturabiliyordu. Rekombinant insülin, insanda domuz insülini kadar çabuk ve etkilidir, fakat immün sistemle ilgili yan etkileri daha seyrek olarak ortaya çıkar (1).

Diğer rekombinant hormonlar arasında;

* **Lispro:** Kanda glukoz seviyesi kontrolü için regular insülin, yemeklerden 30-45 dakika önce enjekte edilmelidir. Lispro (Humalog) ise rekombinant insüline benzer ve daha çabuk etki eder.

Yemekten 15 dakika önce enjekte edilmesi yeterlidir (1).

* **Epoetin α :** Böbrekte üretilen bir hormon olan eritropoetin (EPO) kemik iliğini stimüle ederek kırmızı kan hücrelerinin üretimini sağlar. FDA, kronik böbrek yetmezliğinde kullanılmak üzere EPO'yu onaylamıştır (1-3).

* **Rekombinant insan büyüme hormonu:** İnsan büyüme hormonu (hGH), vücutta hGH eksikliğinden kaynaklanan büyüme bozukluklarının tedavisinde kullanılır. Rekombinant üretimden önceki yıllarda bu hormon insan kadavrasından hazırlanırdı. Kadavra kaynaklı hGH özellikle virüs kontaminasyonuna hassastır ve bu ilaçla gelen viral kontaminasyon bazı hastalarda ölümcül sonuçlara neden olabilmektedir. Rekombinant hGH ise çocukların uzun süreli tedavisinde rahatlıkla kullanılmaktadır (1).

Pıhtılaşma ile İlgili Faktörler

Vücutta pıhtılaşma faktörlerinden herhangi birisinin sentezinin uygun olmaması pıhtılaşmayı engelleyebilir. FDA pıhtılaşmayla ilgili iki rekombinant ürünü onaylamıştır (1,2);

Rekombinant antihemofilik faktör (rAHF) ise hayat boyu süren kalıtsal bir bozukluk olan, yaşlı pıhtılaşma ve kan kaybının kontrolünde karşılaşılan güçlüklerle karakterize edilen hemofili A' da kullanılır.

rAHF' nın üretilmesinden önce, hemofili A tedavisinde insan plazmasından elde edilen protein konsantratu kullanılırdı. Bu konsantratlar kontaminant (örneğin HIV) içerebiliyordu.

Hemofili B' de ise Faktör IX eksikliği söz konusudur. Bu hastalara kandan izole edilen veya hücre kültüründe üretilen faktör IX gereklidir. Rekombinant koagülasyon faktör IX (Benefix) de FDA tarafından onaylanmıştır.

1997' de ilk koyun klonlanması gerçekleştirilmiştir, bu klon faktör IX için bir insan geni taşıyor ve bu yaklaşım gelecekteki tedavi açısından çok yararlı olabilir.

AŞILAR

İmmünoloji ve yeni teknolojilerdeki gelişmeler aşı teknolojilerine çok önemli katkılarda bulunmuştur. Aşılar, sadece enfeksiyonlara karşı koruyucu amaçla değil, aynı zamanda tedavi amacıyla da kullanılmaya başlanmıştır, bunun yanı sıra aşı uygulamada yeni alanlarla ilgili çalışmalar da yoğunlaşmıştır.

Yeni yaklaşım, mikroorganizmanın tümü yerine, spesifik immün yanıt oluşturan yapının aşı olarak verilmesidir. Diğer taraftan alerji, otoimmün ve metabolik hastalıklara karşı da aşı geliştirme çalışmaları devam etmektedir.

Aşı hazırlanması konusunda uygulanan yeni teknolojiler aşağıda kısaca belirtilmiştir (4). Bunlar;

* Rekombinant DNA teknolojisi: Rekombinant antijen içeren rekombinant aşıların hazırlanmasında kullanılır.

* Patojenin moleküler attenüasyonu (zayıflatılması): Patojenlerin moleküler yapıları değiştirilerek zayıflatılabilir ve hastalık oluşturma kabiliyetleri yok edilebilir. Bu şekilde daha güvenli ve daha etkili aşı hazırlamak mümkündür.

* Vektörler: Patojenin antijen-kodlayan geni, bir vektöre yerleştirilerek taşınabilir. Burada vektör olarak Salmonella, Shigella ve BCG' nin atenüe şekilleri kullanılabilir.

* DNA Aşıları: Antijeni kodlayan plazmid DNA' nın kişiye uygulanmasını takiben antijenin organizmada üretilmesi tekniğine dayanır.

* Aşı uygulama alanları: Klinik olarak etkili, pratik ve ekonomik aşılar en iyi örnek oral uygulanan polio aşısıdır. Parenteral uygulamanın problemleri nedeniyle aşılar için yeni pratik uygulama yolları denenmektedir. Bunların başında intranazal uygulama gelmektedir; özellikle influenza aşısı intranazal uygulandığında çok iyi sonuçlar alınmıştır. Diğer taraftan oral uygulama ile ilgili yeni yöntemler (örneğin enkapsülasyon gibi) denenmektedir. Gelecekte aşılar için deriye uygulama da düşünülmektedir, aşıların transdermal yamalar halinde veya diğer iğne taşımayan sistemler ile cilde uygulanabileceği planlanmaktadır.

* Adjuvanlar: İleriki bölümde bahsedildiği gibi immün yanıtı artırıcı madde veya preparatlarda da gelişmeler vardır.

Biyoteknolojik Aşı Hazırlanması

Konvansiyonel aşılarla ilişkin pek çok sorun biyoteknolojik aşılarla kısmen de olsa giderilmiştir.

Bu yeni yöntemle aşı hazırlamada 4 farklı yaklaşım vardır (5);

1. Enfeksiyon etkeni antijenin sentezini kodlayan genlerin klonlanması sonucu elde edilen gen ürünlerinden hazırlanan aşılar (Rekombinant aşılar). Bunlar;

a- Rekombinant bakteriyel aşılar.

b- Rekombinant virus aşıları: Rekombinant Hepatitis B, Şap aşısı ve enfeksiyöz bronşit virus aşıları bu teknikte hazırlanır.

c- Rekombinant paraziter aşılar: Özellikle rekombinant malarya aşıları üzerinde durulmaktadır.

2. Enfeksiyon etkeninin immunojenik komponentlerini oluşturan proteinlerin kimyasal sentezi ile elde edilen aşılar (sentetik peptid aşıları). Sentetik peptid aşıları da bakteriyel, viral ve parazit amaçlı olarak araştırılmaktadır.

3. Anti-idiotip antikor aşıları olarak isimlendirilen bu grup aşılar, enfeksiyon etkenleri veya antijenlerin immunojenik komponentlerinde bulunan, epitoplara gibi aktiviteye sahip monoklonal anti-idiotip antikorlardan ibarettir. Bu tip aşılar özellikle yeni doğanlar için önemlidir ve konu ile ilgili çalışmalar devam etmektedir. Ancak bu tip aşılarda ateş ve alerjik reaksiyonlar oluşturabileceği bildirilmiştir.

4. Mutant aşılar: Mikroroganizmalarda genetik düzeyde ortaya çıkan doğal veya suni mutasyonlar sonucu oluşan mutantlar aşı olarak kullanılmaktadır. Şarbon, BCG ve tavuk vebası aşılardan gibi.

Yukarıda belirtilen gruplar dışında aşıya yeni ve önemli bir yaklaşım da "genetik aşılar" veya "DNA aşılardan" olarak isimlendirilen ve yoğun olarak araştırılan gruptur. Klasik ve rekombinant aşılardan, toksisite, enfeksiyon oluşturucu ajan mevcudiyeti, zayıf immün yanıt ve maliyetinin yüksek olması gibi çeşitli dezavantajlarına karşın, genetik aşılarda, antijeni kodlayan plazmid DNA'nın kişiye uygulanmasından sonra, antijen organizmada üretilmekte ve koruyucu humoral (sıvısal) ve hücresele bağıışıklık sağlamaktadır. Bu amaçla kişiye antijeni kodlayan plazmid DNA, ya direkt olarak enjekte edilmekte veya bu tip enjeksiyonda DNA'nın stabilitesi gibi bazı sorunlar nedeniyle, DNA bir taşıyıcı (örneğin lipozomla) ile formüle edilmiş şekilde enjekte edilmektedir. Özellikle influenza, HIV-1, hepatit ve kansere karşı DNA aşılardan araştırılmaktadır (5,6).

Aşılardan için yeni klinik hedefler (7-9) :

Tümör Aşılardan

Enfeksiyon hastalıklarına karşı koruyucu amaçla kullanılan geleneksel aşılardan farklı olarak tümör aşılardan, tedavi edici, tümöre karşı hücresele ve humoral immüniteyi harekete geçiren özelliğe sahiptir.

Terapötik tümör aşılardan kapsamına; çok antijenli preparatlar, saflaştırılmış proteinler, sentetik peptidler, gangliosidler, viral ve plazmid esaslı rekombinant ürünler ile antijen taşıyan lipozomlar girmektedir.

Tümör hücreleri kullanılarak birinci jenerasyon tümör aşılardan hazırlanmış ve melanoma da olumlu sonuçlar alınmıştır ancak değişik sorunlarla da karşılaşmıştır. Bu aşılardan bir adjuvan veya büyüme faktörü ile birlikte uygulanabilir, bazı tümörlerde zayıf immunojenik olan tümör hücreleri genetik olarak değişikliğe uğratarak sitokin, büyüme faktörü salgılaması ve MHC antijen ekspresyonu yapması sağlanır. Diğer tip hücresele tümör aşılardan arasında tümör infiltr eden lenfositleri, LAK hücreleri ve dendritik hücreleri sayabiliriz.

Multi-antijen (çok antijenli) tümör aşılardan grubunda ise tümöre spesifik antijenler yer almaktadır. Tümör hücresi lizatları, tümör antijen salgıları veya apoptetik cisimcikler bulunmaktadır. Çok saf proteinler ve peptidler, direkt olarak hücreden veya rekombinant DNA teknolojisi ile hazırlanan GD1, GD2, GM1 ve GM2, multi-antijen tümör aşılardan örneklerdir. Burada da antijenin çok iyi karakterize edilmesi problemi bulunmaktadır.

Ayrıca, ısı-şoku proteinleri, idiotipik ve anti-idiotipik antikorlar, füzyon proteinleri ve sentetik peptidler tek başlarına veya adjuvanlarla

karişim halinde enjekte edilerek tümör aşısı olarak kullanılabilirler.

Istenilen terapötik geni içeren virüsler veya plazmid vektörleri de tümör aşısı olarak kullanılabilirler. Viral vektörler arasında adenovirus, adenovirus ile ortaklaşan virus ve herpes simplex virüsünü sayabiliriz.

Multi-antijen preparatları veya saf tümör antijen preparatları lipozomlar içinde enkapsüle edilebilir veya lipitlerle karıştırılarak tümör aşısı hazırlanabilir.

Son yıllarda tümörün immünolojik tedavisinde RNA esaslı aşilar ile olumlu sonuçlar alınmıştır (10).

Alerji: Allerjene karşı güvenli aşı geliştirme hedeflerinden biridir.

Kontraseptif Aşilar (11): Antijen tanımı ve üretimindeki son gelişmeler kontraseptif aşı gelişimini daha güncel hale getirmiştir. Bu tip aşilar, yaşamı tehdit eden hastalıklardan ziyade, fertilitiyi kontrol ederek gebeliği önler. Kontraseptif aşilar, fertilizasyonu, spermatozoa taşınmasını etkileyerek önleyebilir. Bu tip aşiların en gelişmiş β HCC' ye karşı antikorlardır.

Alzheimer Aşıları (12): Alzheimer demans ve beyinde anormal fiziksel değişikliklerle karakterize edilir. Bu hastalığa karşı son yıllarda, β -amyloid aşiları kullanılmış ve hayvanlarda başarılı sonuçlar elde edilmiştir.

Kanser: Kanser tedavisinde aşı uygulanması gen tedavisinin hedeflerinden biridir.

Otoimmün hastalıklar, hiperkolesterolemi gibi metabolik ve kronik hastalıklar için de aşilar araştırılmaktadır.

Sigara ve ilaç bağımlılığında örneğin nikotin ve kokain bağımlılıklarında da tedavi amaçlı aşı geliştirilmesi çalışmaları yapılmaktadır.

Adjuvanlar (13, 14)

Kuvvetli bir immün yanıt oluşturmak için aşı preparatlarında, adjuvan denilen taşıyıcı sistemlerin veya yardımcı maddelerin bulunması gerekir, çünkü antijen tek başına kullanıldığında zayıf bir immün yanıt oluşturur.

Adjuvanları, antijen ile birlikte verildiğinde, antijene karşı spesifik olmayan immün yanıt oluşturan maddeler veya preparatlar olarak tanımlayabiliriz. Kendileri antikor oluşturmayan birer immün uyarıcıdır. Kısaca kendisi bağışık yanıt oluşturmaz ancak bu yanıtın uyarılmasına yol açar. Düşük dozda antijen ile yüksek antikor titresinin elde edilmesini sağlarlar. Bunlar, antijenin enfeksiyon bölgesinde daha uzun süre kalarak, immün sistemin uzun süreli stimüle edilmesini sağlar ve antikor yanıtını artırır.

Adjuvanların ilk örnekleri alüminyum bileşikler; özellikle de alum, alüminyum fosfat ve alüminyum hidroksittir. Bu maddeler antijeni adsorbe ederek enjeksiyondan sonra yavaş yavaş serbestleştirirler. Alüminyum bileşikler halen insana uygulanan lisanslı tek adjuvandır, ancak problemleri bulunmaktadır. Bazı uygulamalarda nodül ve apse oluşumu kaydedilmiştir. Yeni olarak lisans aldığı bilinen adjuvan MF59 (Squalene / Su emülsiyonu) dur. Gelecekte MF59 ve diğer yeni adjuvanların geliştirilmesi beklenmektedir örneğin LTK63 gibi.

1937'de S/Y tipi bir emülsiyon olan Freund's Incomplete Adjuvant (FIA) geliştirildi. Bunun öldürülmüş tüberküloz basili içeren şekli Freund's Complete Adjuvant (FCA) dır. Primer immünizasyon için antijen içeren FCA, repel için FIA kullanılır. Ancak bu adjuvanlar alüminyum tuzla-

ından daha etkili olmalarına karşın insanda istenmeyen etkiler (ağrı, ateş ve granülom gibi) oluşturdukları için kullanılmamaktadırlar.

FCA komponentleri çok güçlü immün stimülasyonu yapabilen maddelerdir. Buradan hareketle yeni adjuvanlar geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bunlar arasında en iyi bilinen mukobakteriyel adjuvan muramil dipeptid (MDP) ve trehalos dimikolat (TDM) dir; bu adjuvanlara ilişkin araştırmalar sürmektedir.

Diğer taraftan lipit formüller de antijen sunan hücrelerin fonksiyonunu arttırıcı özelliğe sahiptirler.

Sentetik maddeler arasında Pluronic olarak bilinen noniyonik blok kopolimerler ve yüzey etken maddeler ile de olumlu sonuçlar alınmıştır.

Antijenlerle birlikte uygulandığında immün yanıtı arttıran maddeler arasında rekombinant sitokinlerin önemli bir yeri vardır (6). Sitokinler arasında İnterlökin-1 (IL-1) etkili bulunmuştur. İnterlökin-2 (IL-2)' nin aşılamaı takiben en az 5 gün süre ile veya aşı ile emülsifiye edilerek uygulandığında adjuvan özelliği gösterdiği saptanmıştır. Diğer taraftan İnterlökin-12 (IL-12) humoral immüniteyi sağlamada etkili bir adjuvandır.

Diğer önemli adjuvan interferon-gamma (IFN- γ) dır. Malarya aşısı ile birlikte kullanıldığında olumlu yanıt elde edildiğine ilişkin bulgular vardır.

Aktif immüno stimulanlar arasında bitkisel kökenli maddeler özellikle de saponinlerle iyi sonuçlar alınmaktadır. Bu gruptan ISCOM (Bağışıklığı uyaran kompleks) la yapılan çalışmalarla da olumlu sonuçlar alınmaktadır (14). ISCOM (Immunostimulan kompleks) lipit/kolesterol/saponin/antijen içeren yapıya sahip olup çok kü-

çük doz antijenle, çok güçlü immün yanıt oluştururlar. ISCOM' lar tipik kafes benzeri çok küçük (30-40 nm) taşıyıcı yapıları ile karakterize edilirler. Çok değişik viral zarf antijeni -influenza, HIV-1, hepatit B, kuduz, bovine leukemia virus- gibi ISCOM yapısına girebilir. Hazırlamada kullanılan saponinin özelliği ISCOM' ların toksik, immünojenik, hemolitik özelliği ve güvenilirliğini etkileyebilir.

Gen Tedavisi İlaçları (1)

Farmasötik biyoteknolojinin en büyük potansiyel alanı gen tedavisidir. Gen tedavisi, hastalıkları özellikle de genetik hastalıkları önleme, kontrol ve tedavi amacıyla genetik materyalin hücre içine yerleştirilmesidir. Bu yöntem genetik defektli genlerin tamir veya yenisi ile değiştirilmesi ve tümörleri diğer tip tedaviye daha hassas hale getirmeyi de kapsar. Böylece, gen tedavisi hastalıklardan korunmayı ve tedavi potansiyelini artırır. Gen tedavisi bazı genetik hastalıkların örneğın kistik fibrozis ve kalıtsal hiperkolesterolemi tedavisinde de yararlıdır.

Terapötik genlerin taşıyıcıları:

a) Zararsız virüsler

b) Viral olmayanlar; lipozomlar-enjekte edilebilir mikroskobik yağlı globuller-polikatyonlar

Gen tedavisinde normal hücrelerin ilacın zararlı etkisine karşı dayanıklılığı artırılabilir. Örneğın multiple rezistans genleri oluşturdukları proteinler ile hücreleri değişik yabancı kimyasallardan temizlerler. İlerlemiş bir kanser hastasında; kemik iliğı hücrelerine MDR genlerinin sokulması güvenlidir ve kemoterapinin toksik yan etkisinden kemik iliğini koruyabilir. Böylece yüksek doz kemoterapiyi daha güvenli hale getirir.

Antikanser stratejileri arasında, antiangiogenesis gen tedavisi de araştırılmaktadır, bu şekilde sınırlı alana yerleştirilen genetik materyal, kan damarı oluşmasını azaltır. Tümörde angiogenesisin azalması tümörün büyüme ve gelişmesini azaltır.

Kan damarı oluşmasını azaltıcı tedaviye zıt etkili bir gen tedavisi yöntemi de geliştirilmiştir. Ön araştırmalar, "terapötik angiogenesis" veya VEGF gen tedavisi, nötropatiye karşı ve kritik limb iskemiyeye (bacaktaki O₂-zengin kan damarlarının azalması) etkili olabilir. Böyle bir azalma gangrene neden olabilir, angiogenesisi indükleyen bir protein olan VEGF koroner arter hastalıkları için umut kaynağıdır.

1998' de telomerase'ın hayati bir komponenti olan hTERT insan telomerase reverse transkriptase'ı kodlayan aktif genin normal insan hücrelerine transferi sonucu, diğer hücrelerde değişiklik yapmaksızın sadece uygulandığı hücrelerin hayat süresini uzattığı kaydedilmiştir. İnsan hücrelerinin büyük kısmı hTERT üretmez, fakat telomerase'ın diğer komponentlerini içerir. Yaş ile ilgili değişik hastalıkların tedavisinde örneğin kalp hastalıklarında hTERT geni yararlı olabilir. Bu şekilde hastadan alınan spesifik hücreler işlenerek, arteriyel dokular, yanmış ya da zedelenmiş dokular onarılabilir.

Antisens Oligonükleotidler

Antisens oligonükleotidler kullanılarak genetik ekspresyonun kontrolü son yıllarda ilgi çeken bir teknik olmuştur. Bu teknikle, özellikle kanser hücrelerinin ve virüslerin hücre içi üremelerinin inhibisyonu sağlanmaktadır. Bugün kullanılan ilaçların büyük kısmı hücre DNA'sına bağlanmakta, ancak özel genlerin ekspresyonuna engel olamamaktadır. Sentetik tek iplikçikli moleküller olan antisens oligonükleotidler ise, hücre içinde mRNA üzerindeki spesifik se-

kanslara bağlanarak ekspresyonu engelleyebilmektedir. Özellikle modifiye şekillerine ilişkin çok yoğun araştırma-geliştirme çalışmaları sürdürmektedir. Kanser, alzheimer gibi değişik ciddi hastalıklara karşı antisens oligonükleotidler kullanılabileceği belirlenmiştir (15). Yeni bir teknoloji olmasına rağmen 9 adet antisens oligonükleotid preparatı FDA tarafından klinik araştırma için onaylanmıştır.

Monoklonal Antikorlar (1, 16)

Hibridoma teknolojisi monoklonal antikorlar olarak adlandırılan homojen antikor moleküllerinin geniş çapta üretimini sağlamıştır. Monoklonal antikorlar (MoAb) spesifik hedef antijene bağlanırlar ve poliklonal antikorlara kıyasla, hedef antijene çok daha hassastırlar. Bunlar hibridomaların (melez hücrelerin) (kemik iliği tümör hücrelerinin ve B lenfositlerin biyoteknolojik füzyonu ile oluşan hücreler) ürünüdür. Hibridomalar spesifik monoklonal antikorları sürekli olarak üretmeye ayarlanabilirler. Antikorlar biyolojik materyallerin teşhis, saflaştırma ve analizlerinde yararlı maddelerdir. Ayrıca enfeksiyon hastalıklarının teşhisinde kullanılan anahtar elementlerdir.

Teorik olarak, kanser hücrelerindeki belli bir antijen için dizaynı yapılan monoklonal antikorlar normal hücrelere zarar vermeksizin, kanser hücrelerini tahrip ederek immün cevabı başlatabilirler. Bugüne kadar çok sayıda monoklonal antikor antikanser amaçlı olarak klinik teste tabi tutulmuştur. Ancak kanser dışındaki hastalıklar için de monoklonal antikorlar önemli bir potansiyeldir. Örneğin; FDA bir monoklonal antikor preparatı olan muromonab CD-3' ü kalp, böbrek ve karaciğer transplantasyonundan sonra immün-sistem reddinin önlenmesi için onaylamıştır. Benzer şekilde immüsupresant dactinimab (Zenapax) böbrek transplantasyonlarından sonra doku reddini önlemek için FDA

tarafından onaylanmıştır. Daclizumab'ın etken maddesi bir insan monoklonal antikorudur ve amino asit yapısının % 90'ı insaninkine benzer, bu şekilde allerjik reaksiyon olasılığı azaltılmıştır (2).

Diğer monoklonal antikor preparatı Infliximab (cA2) bir immün sistem bozukluğu olan Crohn hastalığında etkilidir (2).

Monoklonal antikorların tıbbi yararları ilaçlar ile sınırlı değildir; çünkü bunların spesifik anti-jenlere bağlanma kabiliyetleri vardır. Bu nedenle antijen taşıyan hastalıkların teşhisinde de kullanılırlar. Son zamanlarda göğüs kanserinde, lenf nodüllerine yayılma olup olmadığının saptanmasında monoklonal antikorlar kullanılmaktadır. İç organların görüntülenmesi ve tümör-

lerin teşhisinde de monoklonal antikorlardan yararlanılmaktadır.

Monoklonal antikorlar, ilaç zehirlenmelerinde, yılan ve böcek sokmalarında, toksin ve yılan zehiri gibi spesifik maddelerin kan dolaşımından uzaklaştırılması için kullanılabilirler. Ayrıca veteriner hekimlikte kontraseptif amaçlı da kullanılmıştır.

Sonuç olarak rekombinant DNA ve hibridoma teknolojisinin tıpta oluşturduğu devrim sonucu insanın doğal olarak ürettiği pek çok biyokimyasal çok daha güvenli, saf ve etkili olarak üretilmektedir. Bunun yanısıra gen tedavisi biyoteknolojik ilaçlar için de önemli bir potansiyeli oluşturmaktadır. Gelecekte bu konuda önemli gelişmeler beklenmektedir.

KAYNAKLAR

1. Steinberg, F. and Raso, J., "Biotech pharmaceuticals and biotherapy: An overview", J. Pharm. Pharmaceutical Sci., 1, 48-59, (1998).
2. FDA Biological Licence Application Approvals, (1996-2001).
3. Hedayberdiyev, H and Öner, F., "Rekombinant DNA teknolojisi ile üretilen peptid-protein ilaçlar", Fabad J. Pharm Sci., 22, 27-38, (1997).
4. Liu, M., "Vaccines in the 21st century", British Med. J., 319, (1-4) (1999).
5. Arda, M., "Biyoteknoloji", Kükem Derneği Yayınları, Ankara, II. Baskı, (1994).
6. Powell, M. F., Drug Delivery Issues in Vaccine Development, Pharm. Res., 13, 1777-1785, (1996).
7. Pardoll, D. M., "Cancer Vaccines", TIPS, 14, 202-208, (1993).
8. Razzaque, A., Dye, E. and Puri, R. K., "Characterization of tumor vaccines during product development", Vaccine, 19, 644-647, (2001).
9. Kılıçturgay, K., "İmmünolojiye Giriş", Nobel Kitabevi, 3. Baskı, (1994).
10. Saenz-Badillos, J., Amin, S. P. and Granstein, R. D., "RNA as a tumor vaccine: a review of the literature", Experimental Dermatol., 10, 143-154, (2001).
11. Alexander, N. J. and Bialy, G., "Contraceptive vaccine development", Reprod Fertil. Dev., 6, 273-280, (1994).
12. Morgan, D., Diamond, D. M., Gottschall, P. E., Ugen, K. E., Dickey, C., Hardy, J., Duff, K., Jantzen, P., DiCarlo, G., Wilcock, D., Connor, K., Hatcher, J., Hope, C., Gordon, M. and Arendash, G. W., "A(peptide vaccination prevents memory loss in an animal model of Alzheimer's disease", Nature, 408, 982-984, (2000).
13. Mowat, A. M. and Maloy, K. J., O'Hagan, D. T. (ed.), "Novel Delivery Systems for Oral Vaccines", Immune stimulating complexes as vectors for oral immunization, CRS Press, USA, (1994).
14. Bowersock, T. L. and Martin, S., "Vaccine delivery to animals", Advanced Drug Del. Reviews., 38, 167-194, (1999).
15. Agrawat, S. and Zhao, Q., "Antisense therapeutics", Current Opinion Chem. Biol., 2, 519-528, (1998).
16. Zito, S. W., "Pharmaceutical Biotechnology" Technomic; Lancaster, Pennsylvania, (1992).