

Prof. Dr. Filiz BULUT ÖNER



Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nden 1974 yılında mezun olduktan sonra, aynı fakültenin Galenik Farmasi Bölümü'nden 1980 yılında doktor (Ph.D) derecesini aldı. 1988 yılında doçent, 1995 yılında profesör oldu. Londra'da Wellcome Foundation Ltd.'de, Amerika Birleşik Devletleri Illinois Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde ve Université de Paris Sud'de dispers sistemler ve protein downstream üzerinde doktora sonrası araştırmalar yaptı.

Halen FABAD farmasötik bilimler derneği başkanıdır ve Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Biyoteknoloji Anabilim Başkanı olarak görevini sürdürmektedir. Evli ve bir çocuk annesidir.

BİYOTEKNOLOJİNİN TIPTA VE ECZACILIKTAKİ UYGULAMALARI

Biyoteknoloji tıp, eczacılık, tarım, gıda ve çevre gibi alanlarda son yılların en hızlı gelişen, toplumu hızla etkileyen ve heyecan veren konularından birisidir. Biyoteknolojinin sağlık alanına yönelik uygulamaları en fazla tanı ve tedavi amaçlı uygulamalar ile ürünlerde yoğunlaşmaktadır. Bu yazıda tıp ve eczacılıktaki biyoteknoloji uygulamaları derlenmiştir.

Giriş:

Eski çağlardan beri yoğurt, peynir, şarap, sirke, bira ve benzeri fermentasyon ürünlerinin mikroorganizmalar aracılığı ile üretilmesi bir anlamda biyoteknolojinin en eski uygulamaları olarak kabul edilmekte, daha sonra 1940'larda antibiyotiklerin bulunuşu biyoteknolojideki önemli aşamalardan birisi olarak düşünülme-

tedir. Ancak, bugünkü anlamda modern veya moleküler biyoteknoloji canlı organizmalarda bir ürün geliştirmek veya sorunları çözmek üzere biyolojik sistemlerin (hücreler ve moleküller) kullanılmasıdır.

Bu konu sanıldığı kadar yeni olmamakla birlikte son birkaç yılda gelişmelerin çok hızlanması nedeniyle yaşamsal önemi olan ve inanılması zor buluşlarla toplumun gündemine girmiştir. Moleküler biyoteknolojinin tarihsel gelişim sürecinde 1953'de DNA'nın yapısının aydınlatılması, genetik kodun çözülmesi, 1973'de Boyer ve Cohen'in rekombinant DNA teknolojisini bulmaları (1), 1975'de Kohler ve Milstein'in monoklonal antikor üretimini başarmaları (2), 1982'de ilk rekombinant insan insülininin insanlarda kullanılmak üzere onay alıp piyasaya çıkması, 1988'de polimeraz zincir reaksiyonunun yayınlanması (3), 1990'da insan somatik hücre gen tedavisinin onaylanması, 1997'de Dolly adlı koyunun klonlanması (4) ve 2001 yılı Şubat ayın-

da insan genom projesinin tamamına yakınının bitirilmesi ve yayınlanması önemli kilometre taşlarını oluşturmaktadır. Moleküler biyoteknoloji; biyokimya, genetik mühendisliği, hücre biyolojisi, moleküler biyoloji, kimya mühendisliği ve bilgisayar teknolojileri gibi disiplinlerce beslenen bir teknikler havuzudur ve bu havuzdan araştırma ve üretim amacıyla yararlanan alanlar vardır. Bu alanlar tarım, eczacılık, tıp, veterinerlik ve çevrecilik alanlarıdır. Bu uygulamalar içerisinde farmasötikler pazar payı sıralamasında birinci sırayı tutmaktadır. (5)

Bu makalede biyoteknolojinin tıptaki ve eczacılıktaki uygulamalarına yer verilecektir.

BİYOTEKNOLOJİNİN TIPTAKİ UYGULAMALARI

Tıp alanındaki biyoteknoloji uygulamaları tanı, tedavi ve cerrahi amaçlı olmak üzere üç bölümde incelenebilir. Tanı amaçlı uygulamalar; polimeraz zincir reaksiyonu tekniği ile ve monoklonal antikorlar adı verilen moleküller kullanılarak yapılır.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) bir in vitro gen çoğaltma tekniği olup, çok sınırlı miktardaki DNA molekülünün üssel olarak kendini eşlemesi ile milyonlarca moleküle ulaşılmasını sağlayan bir yöntemdir (6). Çoğaltma sonucunda analiz ve karakterize edilecek yeterli materyale ulaşılır. Bu işlemde DNA çift sarmalı 95°C sıcaklıkta ısıtılarak ipliklerin ayrılması sağlanır ve her iplik ortama eklenen ve primer denilen küçük oligonükleotit dizinlerine bir kalıp görevi yapar. Bu oligonükleotidler çoğaltılacak DNA dizininin 3 ucuna yapışır ve karışım uygulanan yöntem uygun olarak 40-60°C'ye soğutulur, DNA polimerazlar ile reaksiyon katalizlenerek uçtaki ikili sarmal kısımdan başlayarak tamamlayıcı iplik oluşturulur ve birkaç dakika inkübasyon sonunda ikili sarmal DNA oluşarak

DNA miktarı iki katına çıkar. Süreç ısıtma soğutma döngüleri ile sürdürülerek her döngüde miktarın ikiye katlanması sağlanır ve n döngüde kuramsal olarak en fazla 2^n sayıda molekül elde edilir. Sıcaklığın yükseltip alçaltılması ile oluşan döngülerin sürekli olabilmesi, termofilik bir mikroorganizmadan elde edilen ve yüksek sıcaklıkta parçalanmayan bir enzim sayesinde kesiksiz olabilmekte ve her döngü dakikalar içerisinde bitip ara verilmeksizin yeniden başlatılabilmektedir. Burada anlatılan standart yöntemde değişiklik yapılarak geliştirilmiş farklı PZR esaslı yöntemler vardır.

Polimeraz zincir reaksiyonunun klonlama, RNA analizleri ve in vitro mutajenez gibi genetik araştırmalardaki uygulamalarının yanında; adli tıp, paleontoloji, arkeoloji ve tıpta klinik tanıda uygulamaları bulunmaktadır. Klinikte; kanserler, enfeksiyon hastalıkları ve genetik bozukluklarının tanısının konulmasında yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir.

Monoklonal Antikorlar (MoAk'lar)

Biyoteknoloji ürünleri arasında sağlık alanına sunulan en eski ürünlerden olan monoklonal antikorlar 1975'de ilk kez üretimi yapılan protein yapıda moleküllerdir (2,7). Bu maddelerin tıptaki uygulaması bu kısımda, eczacılıkla ilgili kısımları ise yazının ilgili kısmında açıklanmıştır. Antijenler üzerindeki epitop adı verilen birden fazla tanıma bölgesinden bir tanesine bağlanan ve hastalıkların tanı veya tedavisinde kullanılan maddelerdir. MoAk'lar steroid hormonların ölçümünde, viral suşlar arasında ayırım yapılmasında, bazı hastalıkların fazlarının belirlenmesinde, kan ve organ nakillerinde alıcı ile verici dokunun uyumunun belirlenmesinde, hamilelik tanısında, radyo işaretli monoklonal antikorlarla görüntüleme ve farklı kanser türlerinin tanınmasında kullanılırlar. Bunlar immunodiagnostikler olarak da adlandırılır ve tıbbi tanı malzemelerinin tahminen yarısını oluştururlar. Aşağı-

da MoAk tanı kitleri ile teşhis edilen bazı hastalıklar sıralanmıştır .

- Hamilelik (HCG)
- Viral hepatit
- Pankreas, kolon, mide, akciğer, karaciğer, prostat kanserleri
- Bitki virüsleri
- Büyüme hormonu anomalileri
- Romatizmal hastalıklar
- Hoçkin hastalığı
- Solunum yolu hastalıkları
- Zatürre
- Lejyoner hastalığı
- Frengi
- Herpes
- Lösemi
- Salmonella enfeksiyonları
- Immünglobulin E, prolaktin ve ferritin miktarları

Burada sayılanlar örnek olarak verilmiş en yaygın uygulamalardır. Bu liste daha çok uzatılabilir.

Doğum Öncesi Tanı

Doğum öncesinde amnion sıvısından veya plasentadan alınan örneklerde DNA analizleri yapılarak, PZR teknikleri uygulanarak ve monoklonal antikolar kullanılarak ailede yatkınlık olan genetik hastalıkların, Dawn sendromunun veya omurilik ve beyin gelişimi ile ilgili hastalıkların bebek doğmadan tanısı konulabilmektedir. Alfa fetoprotein (AFP) adı verilen bir maddenin fazla bulunması beyin omurilik hastalıklarına işaret ettiği için bu tip maddelerin miktarının belirlenmesine yönelik tanı yöntemleri bazı ülkelerde çok küçük yaşta ve 35 yaşın üzerindeki hamileliklerde olağan kontroller haline gelmiştir. Bu kontroller genellikle hamileliğin ilk üç ayında yapılmaktadır. Adli tıpta da DNA analiz teknikleri kullanılarak suçlunun ve suçun bulunması sağlanmaktadır (8).

Cerrahi Uygulamalar

Günümüzde biomedikal malzemeler kullanılarak cerrahi uygulamalar ile organ ve dokuların onarımı yapılabilmektedir. Biyoteknoloji ürünü polimerler veya etkin maddeler ortopedide ve diş hekimliğinde giderek artan uygulama alanları bulmaktadır. Rekombinant protein ve peptidler biyoparçalanabilir veya biyoparçalanamaz matriksler içerisinde kontrollü salın sistemler halinde hazırlanabilmekte ve yavaş salım ile tedavinin uzun sürede etkili olması başarılmaktadır (9,10).

Tıpta Tedavi Amaçlı Biyoteknoloji Uygulamaları

Tıp alanında tedaviye yönelik başlıca biyoteknoloji uygulamaları;

- * Biyoteknoloji ürünü ilaçların kullanılması
- * In vivo ve ex vivo gen tedavisi ile tedavi edilemeyen hastalıkların iyileştirilmesi
- * Mikroenjeksiyon yoluyla çocuk sahibi olamayan eşlerin çocuk sahibi olmalarının sağlanması şeklinde sıralanabilir.

Bu kapsamdaki ilaçların ve gen terapötiklerin hastaya uygulanmasından çok üretimi ve formülasyonu, farmasötik biyoteknoloji kapsamındaki çalışmalar olduğu için bu kısımlar eczacılık uygulamaları içerisinde anlatılmıştır.

Biyoteknolojinin Eczacılıktaki Uygulamaları

Eczacılıkta başlıca ilaç, aşı ve diagnostiklerin ve bunlarla ilgili taşıyıcı sistemlerin araştırılması ve üretimi amacıyla biyoteknolojiden yararlanılmakta ve biyoteknolojinin üretim amacıyla en fazla kullanıldığı iki alan tarım ve eczacılık olmaktadır.

Farmasötik Biyoteknoloji 1990 yılından beri tüm dünya ülkelerinde eczacılık fakültelerinde yapılandırılmaya başlanan, ülkemizde eczacılık fakültelerinin bazılarında 1993'den beri kurul-

muş olan ve 2000 yılı Nisan ayında Avrupa Farmasötik Biyoteknoloji Derneği (EAPB-European Association of Pharmaceutical Biotechnology) çatısı altında örgütlenen bir akademik ve endüstriyel dal olarak gelişmesini sürdürmektedir.

Farmasötik biyoteknoloji, biyoteknoloji ürünü ilaç, aşı ve tanı malzemelerinin süreç geliştirme, karakterizasyon, üretim ve ruhsatlandırma gibi yasal işlemleri ile ilgili tüm bilimsel ve teknik konuları kapsayan bir alandır.

Avrupa Farmakopisi ve Amerikan Farmakopisi 23'de biyoteknoloji ürünleri;

- Rekombinant DNA teknolojisi ürünleri,
- Hibridoma teknolojisi ürünleri ve
- Transforme olmuş sürekli hücre kültürlerinde üretilen ürünler olmak üzere ele alınmakta ve ileri teknoloji ürünleri olarak adlandırılmaktadır.

Bu ürünlerle ilgili resmi standartlar; tanıma, potens, nitelik ve saflık üzerinde yoğunlaşmıştır ve kaynak, bileşim ve amaçlanan kullanım önemlidir.

Eczacılık alanında araştırılan, üretilen ve kullanılan ürünler aşağıda sınıflandırılmıştır (11).

Peptid ve Protein Yapıda İlaçlar

- Rekombinant DNA teknolojisi ile üretilen protein ve peptitler
- Monoklonal antikorlar
- Peptidomimetikler
- Transgenik hayvanların sütünde salgılanan peptid ve proteinler

Aşılar

- Rekombinant aşılar
- DNA aşılar

Gen İlaçlar

- Plazmid DNA
- Oligonükleotidler,
- Antisense oligonükleotidler

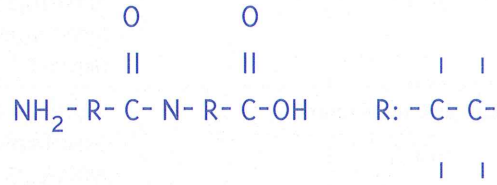
Küçük Biyolojik Moleküller

- Antibiyotikler
- Aminoasitler
- Vitaminler

Bu ürünlere makalede kısa kısa değinilecektir.

Peptit-Protein İlaçlar

Peptit ve proteinler büyük molekül ağırlığına sahip, dayanıksız, biyolojik ortamda kolay metabolize olan ve zor absorblanan biyoetkin maddelerdir. Amino asitlerin peptit bağları ile birbirine bağlanması sonucunda oluşan bu polimerik biyomateryaller vücudun yapı, işlev ve düzenini sağlayan temel yapı taşlarıdır. Şekil 1'de bir peptit molekülü görülmektedir.



Şekil 1: Peptit molekülü

Tamamına yakını parenteral yoldan uygulanan protein farmasötikler dolaşımdan karaciğer ve retikuloendotelyal sistem yoluyla hızla temizlenirler.

Rekombinant DNA Teknolojisi

Rekombinant DNA teknolojisi en basit açıklaması ile bir canlının genlerini diğer bir canlıya aktararak istenilen gen ürününü in vitro koşullarda bakteri, maya veya hayvan hücrelerinde üretebilmektir (12). Bu yöntemle üretilmiş yüzlerce ilaç etkin maddesi uygun formülasyonlar içerisinde hastaya ulaştırılmayı beklemektedir. Amerika Birleşik Devletlerinde FDA (Food and Drug Administration) onayı alıp piyasaya çıkmış biyoteknoloji ürünü ilaçlar Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. FDA Onayı Alarak Piyasaya Çıkmış Olan Biyoteknoloji Ürünü İlaçlar

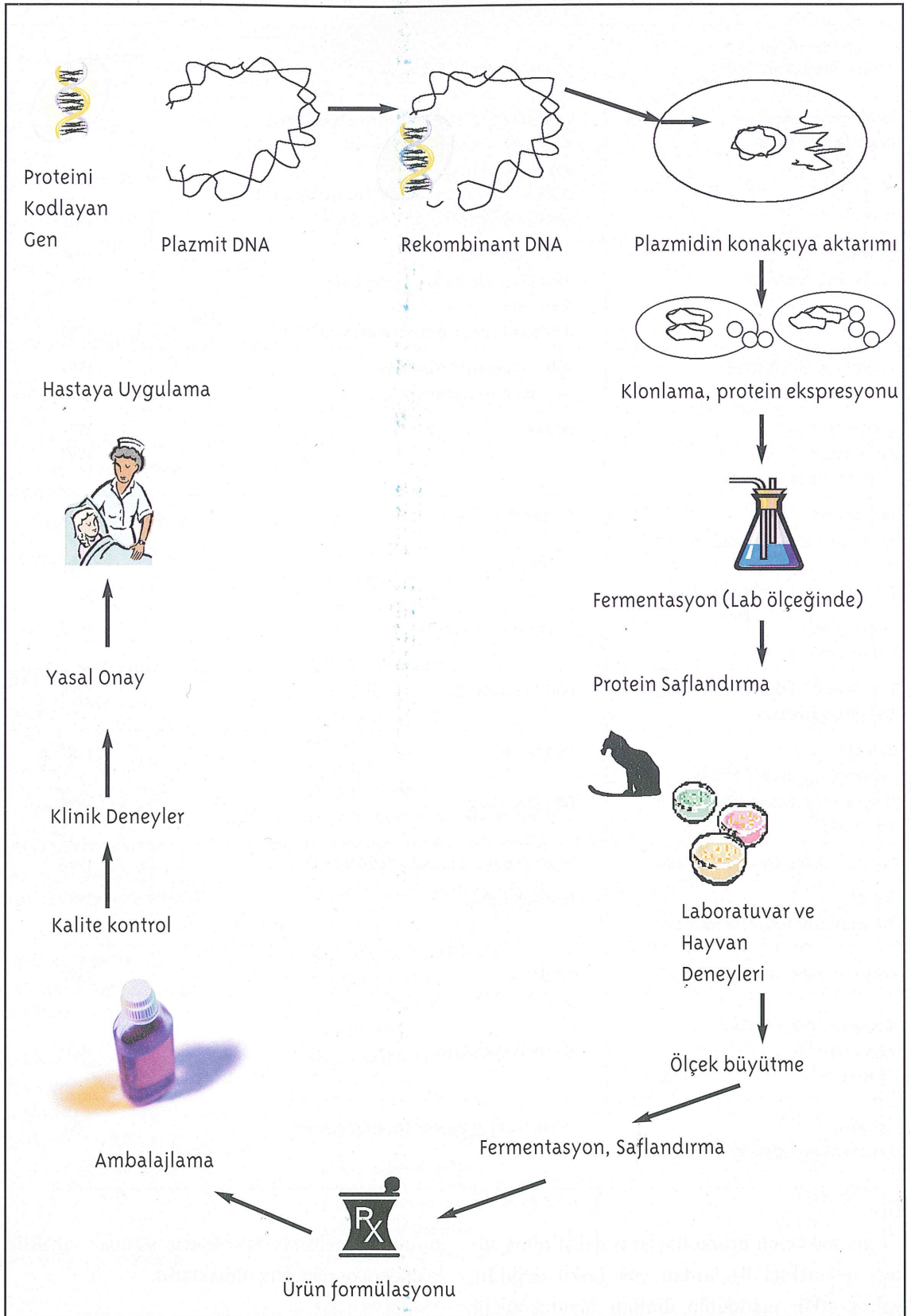
Ürün Adı ve Kategorisi	Endikasyon	Onaylandığı yıl
Humulin® Novolin®70/30, L, N, R Humalog® Rekombinant İnsan İnsülini	Diabet	1982 1991 1996
Protropin® , Somatrem, Humatrope®, Somatropin BioTropin® Genotropin® Norditropin® Nutropin®, Nutropin AQ® Saizen® Rekombinant insan büyüme hormonu Geref®Rekombinant insan büyüme hormonu salan faktör Serostim® Rekombinant insan büyüme hormonu	Çocuklarda büyüme hormonu yetersizliği Çocuklarda AIDS'e bağlı büyüme bozukluğu	1985 1987 1995 1995 1995 1997 1996 1997 1998
Roferon® A, Interferonα-2a	Saçlı hücre lösemisi AIDS'e bağlı sarkoma Kronik myelojen lösemi Hepatit C	1986 1988 1995 1996
Intron® A, Interferonα-2b Wellferon, Interferon α-n1 Actimmune, Interferon-1b PEG-Intron, Peginterferon α-2b	Saçlı hücre lösemisi Genital siğiller AIDS'e bağlı sarkoma Hepatit C Hepatit B Malign melanom Kemoterapiye bağlı foliküler lenfoma 18 yaşın üzerindeki kronik hepatit C tedavisinde Malign osteopetrozisin geciktirilmesi Kronik hepedit C'de ribavirin ile birlikte	1986 1988 1988 1991 1992 1995 1997 2000 2001
Activase®, alteplase Rekombinant doku plazminojen aktivatörü Retevase® Reteplase Rekombinant doku plazminojen aktivatörü TNKase, Tenecteplase	Akut miyokard enfarktüsü Pulmoner emboli Akut miyokard enfarktüsü, hızlı infüzyon İskemik darbe Akut miyokard enfarktüsü Akut miyokard enfarktüsü	1987 1990 1995 1996 1996 2000
Alferon®, Interferon α-n3	Genital siğillerin tedavisi	1989
Epogen® Prokrit® Rekombinant Eritropoetin	Kronik böbrek yetmezliği ve AIDS'e bağlı anemilerin tedavisinde Kemoterapiye bağlı anemilerde Cerrahiye bağlı kan kayıplarında Çocuklarda kullanılma	1989, 1990 1993 1996 1999
Aranesp®, Darbepoetin alfa	Kronik böbrek yetmezliğine bağlı anemilerde	2001

Actimmune®, Interferony1b	Kronik granulamatoz hastalık	1990
Neupogen®, Filgastrim Rekombinant G-CSF	Kemoterapi ile indüklenmiş nötropenide Kemik iliği transplantasyonunda Kronik ciddi nötropenide Periferel kan hücresi transplantasyonunda Çocuklarda akut miyeloid lösemide	1991 1998
Leukine® Rekombinant GM-CSF	Kemik iliği nakli Akut lösemide kemoterapiye bağlı nötropeni Allojenik kemik iliği transplantasyonu	1991 1995 1995
Proleukin®, Interlökin-2	Böbrek hücresi karsinoması Metastatik melanoma	1992 1998
KoGENate® Recombinante® Rekombinant Faktör VIII	Hemofili A	1993 1992
Betaseron®, Rekombinant Interferonβ-1b Avonex®, Rekombinant interferonβ-1a	Multipl skleroz	1993 1996
Pulmozyme® Rekombinant DNase	Kistik fibröz tedavisinde	1993, 1996
Cerezyme®, Rekombinant Glucocerebrosidaz	Gaucher hastalığı	1994
BeneFIX™ Rekombinant insan faktör IX NovoSeven®, Rekombinant faktör VIIa	Hemofili B Hemofili A ve B	1997 1999
Carticel™, Otolog kondrosit kültürü	Klinik önemi olan cartilaj defektlerinde	1997
Enbrel Tümör nekroz faktör reseptörü	Romatoid artrit	1999
Gonal-F®, rekombinant FSH	Kısırlık	1997
Infergen®, Rekombinant interferon Alfacon -1	Kronik hepatit C'de	1997
Refludan™ Rekombinant lepirudin	Heparin ile indüklenmiş trombositopeni tip II'de	1998

Biyoteknoloji ürünü ilaçların geliştirilme süreci geleneksel ilaçlardan çok farklı değildir, yalnız etkin maddenin üretimi biyoteknolojik yöntemlerle yapılmakta ve her aşamada çok ay-

rıntılı ve gelişmiş tekniklerle yapılan analitik işlemlere gereksinim olmaktadır.

Bu süreç Şekil 2'de şematize edilmiştir.



Şekil 2. Rekombinant DNA teknolojisi ile protein ilaç geliştirme sürecinin şematik gösterimi

Biyoteknoloji ürünlerinde de her ilaç gibi saf-
lık, güvenilirlik ve etkinlik temel ölçütlerdir ve
bunların ortaya konulmasında klasik yöntemlere
ek olarak biyoteknolojiye özel yöntemler kulla-
nılır.

Biyoteknoloji ürünü peptit ve proteinlerin tü-
müne yakını parenteral olarak uygulanmakta,
oral, nazal, bukkal, rektal ve vajinal yol gibi
farklı uygulama yollarından verilebilmeleri üze-
rinde çalışmalar sürmektedir (13), (14).

Monoklonal Antikorlar

Monoklonal antikorlar immünglobulin G ya-
pısında, iki ağır, iki de hafif zincirin disülfid
bağları ile birarada tutulduğu, antijene bağlan-
ma bölgeleri olan, glikoproteinlerdir. Tanı, te-
davi ve saflandırma amacı ile kullanılırlar. Bir
antijen üzerinde bulunan ve epitop denilen an-
tijenik determinantlardan bir tanesine hedeflen-
dikleri için enfeksiyon hastalıklarının veya
tümörlerin tanısında etkin olarak kullanılırlar
(Şekil 3 ve 4). Hibridoma teknolojisi adı verilen
ve fare kaynaklı olan ilk MoAk'lardan sonra re-
kombinant DNA teknolojisi ile elde edilen insan
kaynaklı veya bir kısmı insana özgü bölgeler
içeren tipleri üretilmektedir.

Monoklonal Antikorlar

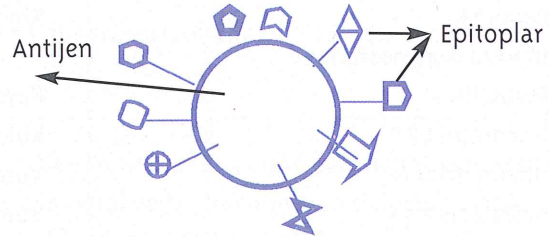
* pasif bağışıklama

* kanserler, enfeksiyon hastalıkları, kardiyovasküler hastalıklar ve derin ven trombozlarında in vivo görüntüleme

* kanserler, organ nakilleri ve kalp-damar hastalıklarında tedavi amaçlarına yönelik olarak uygulanmaktadır (15).

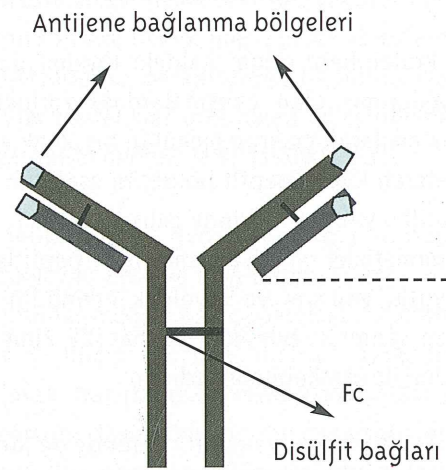
Monoklonal antikorların antikanser ilaç ile konjuge edilerek tümöre hedeflenmesi için ge-

liştirilen kontrollü sistemlerde gereken doz ve sağlıklı hücreler üzerindeki toksik etki azaltılabilecektir, ancak konjugatın stabilitesi, farmakokinetiği, fizyolojik engelleri aşabilmesi ve uygulama yolu ile ilgili çözüm bekleyen sorunlar vardır(16).



Şekil 3. Bir antijen bağışık yanıtı başlatan bir yabancı moleküldür ve bunun yüzeyinde o antijene özgü epitop denilen belirleyici bölgeler vardır.

Monoklonal antikorların pepsin ve papain gibi enzimlerle kesildikten sonra elde edilen Fab ve Fc olarak adlandırılan parçaları da tedavi amaçlı olarak kullanılmaktadır.



Şekil 4. Monoklonal antikorun şematik görünümü.

Tablo 2. Onaylanarak Tedaviye Sunulmuş Monoklonal Antikorlar

Ruhsat alarak piyasaya çıkmış monoklonal antikorlar Tablo 2’de görülmektedir.

Tedavi amaçlı MoAk’lar	Kullanılışları
Anti-CD3 antikor (Orthoclone OKT3®) ReoPro® Panorex® In vivo diagnostikler Myoscint® Oncoscint CR® Oncoscint OV® Indimacis 125® Prostacint® CeaScan® Tecnemab K-1®	Böbrek nakillerinde organ reddini önlemede Koroner anjioplasti sonrası tedavide Kolorektal kanserlerde Kardiyak görüntüleme ajanı Kolorektal kanserlerin tanı ve izlenmesinde Yumurtalık kanserlerinin tanı ve izlenmesinde Yumurtalık adenokarsinomunun görüntülenmesinde Prostat kanserlerinin görüntülenmesinde Birçok kanser türünde tümör yüzeyinde bulunan karsino embriyonik antijenin(CEA) tanınmasında Melanomanın tanınması ve izlenmesinde

Bunların dışında otoimmün hastalıklar, kan hastalıkları, AIDS, alerji, astım, lenfomalar ve benzeri tedavi edilemez hastalıklar için klinik deneme aşamasında Faz I, II ve III’e gelmiş olan çok sayıda tedavi amaçlı MoAk üzerinde çalışmalar sürmektedir.

Peptidomimetikler

Proteinlerin doğal haldeki üretimi üzerinde odaklanmış olan çalışmalardaki zorluklardan yola çıkılarak makromolekülün biyolojik etkinlik gösteren küçük peptit bölgesini esas olarak geliştirilen yapılar üzerinde çalışılmaktadır. Peptidomimetikler olarak adlandırılan, peptitlerin üç boyutlu yapısını ve biyolojik etkinliğini taklit eden sentetik bileşikler farmasötik kimya teknikleri ile üretilebilmektedir (6).

Transgenik hayvanların sütünde de farmasötik proteinler sentezlenip süte salgılanmaktadır. Transgenik hayvanlar yabancı bir genin katılımı ile genetik içeriği değiştirilmiş canlılardır. Önceleri hastalıklara dirençli, etinde az kolesterol içeren, sütünde laktoz içermeyen veya yüksek

oranda kazein içeren hayvanlar geliştirmek üzere kullanılan teknoloji daha sonra sütünde farmasötik proteinleri üreten çiftlik hayvanlarının üretiminde kullanılmıştır. Farmasötik proteinlerin üretimi ve saflandırılması için kolay ve zarsız bir yöntem olan transgenез ile faktör VIII, faktör IX, insan serum albumini, alfa-1-antitripsin, protein C ve daha pek çok protein ilaç etkin maddesi üretilebilmektedir (17).

Aşılar

Aşılar bir enfeksiyona karşı konakçıda antikor ve bağışık yanıt oluşmasına yol açarak canlıların korunmasını sağlayan farmasötik yapımlardır ve geleneksel canlı veya cansız mikroorganizmaları ve onların parçalarını içeren aşıların yerini bugün, altbirim aşılar, rekombinant antijenler ve hatta antijeni kodlayan geni içeren DNA aşılar almaya başlamıştır. Tablo 3’de piyasada bulunan biyoteknoloji ürünü aşılar sıralanmıştır. Bu aşıların saf ve güvenilir olmalarına karşı antijenik etkilerinin zayıf olması gibi bir yetersizlikleri vardır. Bu sorunun giderilmesi için etkili adjuvanlar üzerinde çalışılmaktadır.

Tablo 3. Biyoteknoloji Ürünü Aşılar

Rekombinant Hepatit B yüzey antijeni (Recombivax HB®)	Hepatit B virüs enfeksiyonunun önlenmesi	1986
Hemofilus b konjugat aşısı (Comvax®)	Meningokokkal protein konjugatı ve hepatit b rekombinant aşısı	1996
Rekombinant Hepatit B yüzey antijeni (Engerix-B®)	Hepatit B virüs enfeksiyonunun önlenmesi	1989

DNA Aşılar

Aşılarda bir yenilik de, antijeni kodlayan DNA'nın deri veya kas içersine enjekte edilmesi yoluyla aşılanan canlı hücrede hem antijenin ekspresyonunun hem de ona ait bağışık yanıtın oluşmasıdır (18). Gen ürünü konakçıda genel olarak istenilen şekilde üretilir ancak çıplak DNA uygulaması ile ekspresyon verimi düşük olur bu nedenle kontrollü salın sistemler gereklidir.

Gen Tedavisi ve Gen İlaçlar

Gen tedavisi ex vivo ve in vivo olmak üzere iki yöntemle yapılabilmektedir. Ex Vivo gen tedavisi, hasta dokuların canlı dışına alınıp in vitro kültürleri yapıldıktan sonra bozuk genlerin onarılacak canlıya yeniden nakledilmesidir (19,20). In vivo gen tedavisi ise hastalıklı bölgelere doğru çalışan genlerin ilaç taşıyıcı sistemler içerisinde uygulanmasıdır.

Gen tedavisinde başarılması gereken en önemli aşama uygun taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesidir. Gen ilaçlar veya gen terapötikler adı verilen ilaç sistemleri ile DNA'nın, RNA'nın veya oligonükleotidlerin enzimlerden korunarak hedefe ulaştırılması gerekir. Protein ifadesinin başarılabilmesi için DNA'nın çekirdeğe, RNA'nın sیتoplazmaya ulaştırılabilmesi gerekmektedir. Sistem ayrıca toksik olmamalıdır.

Gen tedavisi amacıyla hazırlanabilen taşıyıcılar viral veya viral olmayan sistemler olabilir. Viral Taşıyıcılar; Adenovirüsler, Retrovirüsler ve herpes simpleks virüs gibi virüsleri içeren sistemlerdir. Viral olmayan taşıyıcılar ise elektroporasyon veya gen tabancası ile fiziksel yolla yapılabileceği gibi katyonik lipidler (Lipofektin, Transfektam), hidrofilik polimerler, poliaminler ve peptidler aracılığı ile kimyasal yolla yapılabilir ve bu amaçla lipozomlar, mikroküreler, nanoküreler ve emülsiyonlar gibi taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesi üzerinde çalışılmaktadır (21).

Gen tedavisi ile iyileştirilebilecek hastalıklar; AIDS, ateroskleroz, meme kanseri, akciğer kanseri, kolon kanseri, hemofililer, yüksek kolesterol, lösemi, osteoporoz, parkinson, kistik fibroz, kardiovasküler hastalıklar gibi halen iyileştirilemeyen ve yaşamsal önemi olan hastalıklardır.

Oligonükleotidler, gen ekspresyonunu doğrudan etkileyen DNA ve RNA'lardır. Eksojen oligonükleotidler nükleik asit bağlayıcı reseptörler aracılığı ile hücre içersine alınırlar. Terapötik ürün olarak hazırlanmalarında başlıca sorun hücre içersine taşınabilmeleridir. Antisens oligonükleotidler genin çevrilmesini durdurarak hastalığa neden olan genlerin ekspresyonunu engelleyen yapılardır. Bu yapılar onkogenleri kontrol altına alabilmekte ve virüs DNA'sının çevrilmesini engelleyebilmektedirler.

Eczacıların Farmasötik Biyoteknoloji Ürünlerinin Uygulanmasında Dikkat Etmesi Gereken Konular

Eczacılar ilaçların hazırlanması ve dağıtımı konusunda sorumlu ve yetkili meslek mensupları olarak eczanede ve hastanelerde görev yapmaktadırlar. Biyoteknoloji ürünleri biyolojik makromoleküller oldukları ve kolayca denatüre olarak biyoetkinliklerini kaybedebildikleri için özel hazırlama ve uygulama teknikleri gerektirmektedirler. Bu ürünler eczanelere girmeye başladığından beri eczacıların biyoteknoloji ürünü ilaçlar konusunda bilgilendirilmelerinin gerektiği vurgulanmaktadır. Eczacıların özellikle bağışıklık sistemi ile ilgili hastalıkları ve mekanizmaları, rekombinant DNA teknolojisinin ve monoklonal antikorların ne olduğunu, bu konulara ilişkin ürünleri ve hangi hastalıkları ne şekilde iyileştirdiklerini anlamak ve biyoteknoloji alanında yapılan bilimsel çalışmaların ayrıntılarına girmeksizin genel bilgi edinmek üzere meslek içi eğitim almaları önerilmektedir. Biyoteknoloji sözcüğünün içerdiği yüksek teknoloji kavramının insanlarda karmaşık ve anlaşılması zor çağrışımlar yaptığı, oysa bu teknoloji ile ilgili ürünlerin günlük yaşama girdiği ve sağlık alanında biyoteknoloji ürünlerinin geleneksel ürünlerden farklı yanlarının bilinmesi gerektiği belirtilmektedir. Proteinlere özel saklama koşullarının anlaşılabilmesi için protein kimyası hakkında da fikir sahibi olunması gerekmektedir.

En önce dikkat edilmesi gereken durum; proteinlerin dayanıksız olması ve raf ömürlerinin kısa olması nedeniyle özel koşullarda saklanmalarının sağlanmasıdır. Üretim sırasındaki sıcaklık değişiklikleri de önemlidir. Biyoteknoloji ürünü protein ve peptitlerin çoğu (alteplase, eritropoetin, filgastrim, somatropin, somatrem, interferon- α vb). 2-8°C aralığında dayanıklı olup saklanma ve taşınma sırasında sıcaklık koşulu sağlanmalıdır. Yüksek sıcaklıklarda dayanıksız olan bu maddeler aşırı soğuklarda da dayanıksızdır,

dondurma da aynı şekilde zararlıdır. Proteinlerin bir kısmı -80°C sıcaklıklara kadar değişik sıcaklıklarda saklama gerektirebilir ancak bunların da çözülmesi sırasında denatürasyon ve etkinlik kaybı olabilir. Dondurma çözme işlemleri dikkatli yapılmalı, dondurulmaması gereken preparatlar kesinlikle dondurulmamalıdır. Nakliye sırasında soğuk zincir uygulanmalı, ancak kuru buz ve uçakların derin dondurma bölümleri kullanılmamalıdır, preparat donabilir (22).

Proteinler yüzeylere adsorbe olmaları nedeniyle de etkinlik kaybına uğrarlar. Bunu engellemek için genellikle çözeltilere insan serum albumini eklenir. Hangi materyale adsorpsiyon olduğu biliniyorsa o malzemeden kaçınılmalıdır. Örneğin insülin plastik yüzeylere çok fazla adsorbe olur, somatropin ve eritropoetin plastik şırıngalarda dayanıklı iken, alteplaz cam ve PVC kaplarda dayanıklıdır.

Biyoteknoloji ürünü ilaçların tamamına yakını çözelti veya liyofilize toz halinde parenteral ürünlerdir. Liyofilize haldeki proteinlerin sıvı kısım ile karıştırılırken çalkalanıp köpürmesine izin verilmemelidir. Çalkalama ve köpük oluşumu proteini denatüre eder. Seyreltici yavaş yavaş eklenip yavaşça döndürülmelidir. Taşıma sırasında çözelti haldeki preparatlar sarsılmadan taşınmalıdır. Üretim sırasında ise süzme işlemi zarar verir, dikkatli olunmalıdır. Koruyucular ve iyonik yapıdaki katkı çözeltileri de proteinleri çöktürebilir.

Sonuç

Bu makalede eczacıların meslek içi eğitim yoluyla yenilikleri izleyebilmeleri amacıyla yakın bir gelecekte çok fazla sayıda ilacın kullanıma sunulması ile, sayıları ve önemi çok artacak olan biyoteknoloji ürünleri ve biyoteknolojinin sağlık alanındaki uygulamaları hakkında gereksinim duyulacak bilgileri kapsayan genel bir derleme yapılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Cohen S, Chang, A.C.Y., Boyer H. W., Helling R. B., Construction of biologically functional bacterial plasmids in vitro, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 70, 3240-3244 (1973)
2. Köhler G., Milstein C., Continuous culture of the fused cells secreting antibodies of predefined specificity, Nature, 256, 495-497 (1975).
3. Saiki R. K., Gelfand D. H., Stoffel., Scharf S., Higuchi R., Horn K. B., Mullis K.B., Erlich H. A., Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase, Science, 239, 487-491 (1988).
4. Wilmut I., Schniekei A. E., McWhir J., Kind A. J., Campbell, K.H.S., Viable offspring derived from fetale and adult mammalian cells, Nature, 385, 810-813, (1997)
5. Directory of Biotechnology Companies, Genetic engineering News, Mary ann Liebert Publishers, NY (1999).
6. Sindelar R.D., "Additional biotechnology related techniques" Pharmaceutical Biotechnology, Eds.: J. A. Crommelin and R. D. Sindelar, Harwood Akademik Publishers, UK, 136-140 (1997).
7. Groves D. J., " Monoclonal antibodies" Pharmaceutical Biotechnology-Fundamentals and Essentials, Eds.: M. E. Klegerman , M. J. Groves, Interpharm Press, IL, 104-114 (1992).
8. Woodbury C. P., " Recombinant DNA technology" Pharmaceutical Biotechnology-Fundamentals and Essentials, Eds.: M. E. Klegerman , M. J. Groves, Interpharm Press, IL, 77-103 (1992).
9. Park Y.J., Lee Y.M., Park S.N., Sheen S.Y., Chung C.P., Lee S.J., "Platelet derived growth factor releasing chitosan sponge for periodontal bone regeneration" Biomaterials, 21, 153-159 (2000).
10. Laffargue P.H., Hildebrand H.F., Rtaimate M., Frayssinet P., Amoureux J.P., Marchandise X., "Evaluation of human recombinant bone morphogenic protein-2-loaded tricalcium phosphate implants in rabbits bone defects" Bone, 25, 555-585 (1999).
11. Öner F., "Kontrollü Salım sistemlerinin biyoteknoloji alanındaki uygulamaları" Kontrollü Salım Sistemleri, Eds: A. Gürsoy (Basıma hazırlanıyor).
12. Glick B.R., Pasternak J.J., "Recombinant DNA technology" Molecular Biotechnology; Principles and Applications of Recombinant DNA, ASM Press, Washington DC, 5-15 (1994).
13. Reddy I.K., "Protein and peptide delivery" Pharmaceutical Biotechnology, Ed.: W. S. Zito, Technomic Publishing, Basel (1997).
14. Doğru T., Çalış S., Öner F., "Oral W/O/W multiple emulsion formulation of salmon calcitonin: in vitro-in vivo evaluation" Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics, 25, 435-443 (2000).
15. Roche V, Zito S. W., Medicinal chemistry and pharmaceutical biotechnology" Pharmaceutical Biotechnology, Ed.: W. S. Zito, Technomic Publishing, Basel (1997).
16. Conti S., Polonelli L., Frazzi R., Artusi M., Bettini R., Cocconi D., Colombo P., "Controlled delivery of biotechnological products" Current Pharmaceutical Biotechnology, 1, 313-323 (2000).
17. Glick B.R., Pasternak J.J., "Development and use of transgenic animals" Molecular Biotechnology; Principles and Applications of Recombinant DNA, ASM Press, Washington DC, 5-15 (1994).
18. Davis H.L., "Immune responses with direct gene transfer, DNA vaccines and implications for gene therapy" Targeting of Drugs 5: Strategies for Oligonucleotide and Gene Delivery in Therapy, Eds.: G. Gregoriadis , B. McCormack , Plenum Press, New York, 21-27 (1995).
19. Rolland A.P., "From genes to gene medicines: Recent Advances in nonviral gene delivery" Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 15, 143-198 (1998).
20. Anwer K., "Targeted gene delivery. Two pronged approach" Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 17, 377-424 (2000).
21. Barut K.D., Cořkun-Arı F.F., Öner F., "Plazmid DNA/CTAB complex formulation and development of cationic emulsions as potential gene delivery systems" Proceedings of the 10th International Pharmaceutical Symposium, 225-226 (2000).
22. Groves M. J., "Pharmaceutical biotechnology: Drugs for the Future" Innovations in Drug Delivery; Impact on Pharmacotherapy, Eds: A. P. Sam and J. G. Tokkens, Pharmaceutical Biotechnology, Anselmus foundation, Hauten The Netherlands, 146-158 (1996).