

## INTERFERON, BAŞARILAR ve CEVAPSIZ SORULAR

Doğal protein yapısında olan İnterferon bileşikleri son yıllarda hem bilim adamlarının, hem de halkın yoğun ilgisini çekmiştir. İnsan ve hayvanda değişik iki virüs enfeksiyonunun aynı anda ortaya çıkmadığı bilinen bir gerçektir. Örneğin hiç kimse kızamık ve su çiçeğini aynı anda geçiremez. Bu nedenle bir virüs enfeksiyonunun diğer başka bir virüs enfeksiyonuna karşı organizmayı koruduğu "Bir doğal müdahale olayı" fikri ortaya çıkmıştır.

1956 yılında Dr. Alec İsaacs ve Jean Lindenmann Londra'da Mill Hill'de Tıbbi Araştırma Laboratuvarlarında kuluçka tavukların yumurtalarının bir virüsle enfekte olduğu takdirde, diğer virüs enfeksiyonlarına bağırsıklık gösteren ve o zamana dek keşfedilmemiş bir protein maddesi ürettiğini saptadılar. "İnterferon" diye adlandırılan bu madde antikor olmayıp fakat bir çeşit durdurucu etki göstermektedir.

Bir virüs yaşayan bir hücrenin içine girince, hücrenin biyokimyasal enerji üreten mekanizmasını kendi çoğaltması için kullanmaya başlar. Hücre ise virüs saldırısı altında yok olurken İnterferon üretir. Bu İnterferon üretiminin vücudun kimyasal alarm sisteminin bir parçasıdır. Enfekte olan hücrenin salgıladığı İnterferon diğer sağlıklı hücrelerin biyokimyasal mekanizmalarını hareketlendirerek virüsün üremesini önleyecektir. İnterferon çeşitli virüslere karşı etkinliği olan geniş spektrumlu bir maddedir. Bu açıdan virüs aşılı ile karşılaştırılabilir çünkü virüs aşılı geniş spektrumlu olmayıp bir tip virüse karşı bağırsıklık sağlamaktadırlar. İnterferonun virüs enfeksiyonları zincirini kıran bu direkt etkisinden başka, vücudun bağırsıklık sistemleri üzerinde başka etkileri de mevcuttur.

İnterferonun tümörlere karşı olan etkisi, bilimsel olarak saptanabildiği kadarıyla, bu hücre gelişmesini önleyici özelliğinden gelmektedir. İnterferonun virüslü olmayan tümörler üzerinde bir etkisi olup olmadığı şimdiki dek bulunamamıştır.

İnsan vücudu en azından üç çeşit İnterferon salgıla-

maktadır. Bunlar akyuvarlar İnterferonu (virüs tarafından uyarılan akyuvarlar tarafından salgılanan), fibroblast İnterferonu (bağ dokusu tarafından salgılanan), ve bağırsıklık İnterferonu (harekete geçirilen lenf dokuları tarafından salgılanan).

On yıl kadar önce ABD, New Jersey'deki Roche Moleküler Biyoloji Enstitüsünde Dr. Sidney Pestka başkanlığında bir grup tarafından İnterferon üzerinde sistematik araştırmalar yapılmıştır. Bu ekip ilk defa aktif İnterferon-RNA izole edebilmiştir. M-RNA genetik matris olduğundan İnterferon üretimi için bir anahtar kabul edilebilir. Kısa bir süre sonra, insan akyuvarları kültürlerinden elde edilen İnterferon, bu maddenin fiziksel ve kimyasal niteliklerini incelemeye yetecek miktarda idi. Roche'da elde edilen bu sonuçlar daha sonra yapılan ve İnterferonun gen manipulasyonu ile üretilmesini sağlayan çalışmalar için çok önemliydi.

Şon birkaç yıl içerisinde geliştirilen gen Transferi yöntemleri DNA'nın genetik olarak birbirinden farklı iki organizmadan alınabilmesini mümkün kılmaktadır. Bütün hücrelerde mevcut olan DNA her yaşayan organizmadaki genetik bilgiyi ihtiva eden iki uzun ve paralel molekül şeridinden ibarettir. Bugün bu DNA şeritlerini kesip belirli parçaları başka bir DNA şeridine bağlamak mümkün olmaktadır. Böylelikle, genetik tek bir özelliği taşıyan bir parça DNA (veya başka türlü ifade edersek tek bir gen) bir insan veya hayvan hücresinden alınıp bir mikroorganizma ya (bakteri gibi) transfer edilebilir.

Bu yöntem gen transplantasyonu veya DNA yeniden birleşmesi denmektedir. Mikroorganizma yeni DNA parçasının çoğaltması ile bölünür ve ürer.

Eğer bu eklenen gendeki DNA bilgisi aktive edilirse, bakteri yeni yabancı protein (İnterferon) yapmaya başlar. Mikroorganizmalar uygun kültürlerde çok hızlı üreyip yüksek bir metabolizma hızına sahip olduklarına göre, İnterferonun yukarıdaki yöntemle E. coli bakterisinden elde edilmesi kan hücrelerinden elde edilmesinden (klasik yöntem) daha hızlıdır. Bütün bunlara ek olarak

**Doç.Dr. Fatma İnci ŞENGÜN**  
**İ.Ü. Eczacılık Fakültesi**  
**Analitik Kimya**  
**Kürsüsü Öğr. Üyesi**  
**TEB. II. Başkanı**

bakterinin daha hızlı İnterferon üretebilmesi için yeni yollar aranmaktadır.

1978 yılından beri Nutley'deki Hoffmann-La Roche şirketi ile San Fransisco'daki Genentech şirketi arasında İnterferon araştırması ve geliştirmesi açısından çok önemli bir işbirliği yapılmaktadır. 1976'da kurulan Genentech'in iki yılda DNA yöntemleri ile hormon üretmede çok büyük adımlar atmış, ve çeşitli insan hormonlarını üretebilen birçok mikroorganizma geliştirmiştir.

Roche ve Genentech araştırmacılarının amacı gen Teknolojisi sayesinde akyuvar ve bağ dokusu İnterferonu üretmektir. 1981 başında Takeda Kimyasal Maddeler İşletmesi ile de İnterferonun Japonya'da yapılması ile ilgili bir anlaşma imzalanmıştır.

İnterferonun laboratuvarından kliniğe getirilebilmesi için ön kontrol prosedürlerinin ve tekniklerinin gelişmesi gerekiyordu. Çok ufak miktar İnterferonla toksikoloji uzmanları maddenin tolere edilip edilmeyeceğini ölçmeye çalıştılar. Hücre biyolojisi uzmanları ise virüsleri üretmeye çalıştılar; bu virüsler çeşitli İnterferonların biyolojik etkilerini incelemek için Roche bilim adamları tarafından kullanıldı. İmmunoloji uzmanları da çok ufak miktarlarda İnterferonun ölçülmesini mümkün kılacak antikorlar ürettiler; böylelikle klinik çalışmalar için bu maddenin arılaştırılması da mümkün oldu. Mikrobiyoloji uzmanları ise laboratuvar fermentasyonu hacminin üstünde fermentasyon için uygun şartlar aradılar.

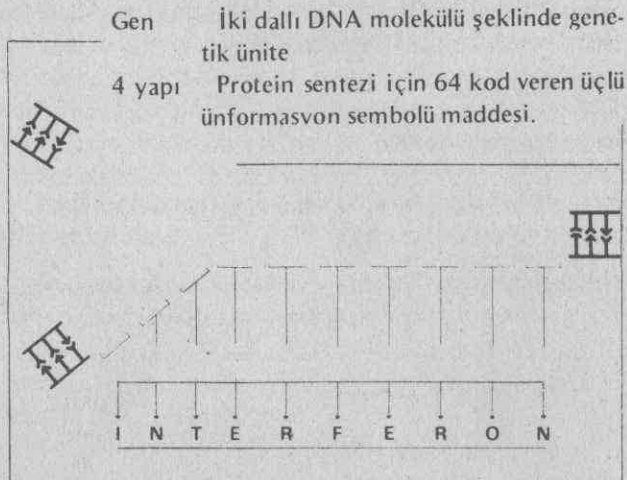
Son yıllara kadar, İnterferonun etkinliği ve emniyeti ile ilgili klinik çalışmalar imkansızdı. Çünkü bu madde çok pahalı idi. Sadece arılaştırılmamış, İnsan İnterferonu

mevcuttu. Bu İnterferon akyuvarlardan (virüsle uyarılmış) veya da doku kültürlerinde geliştirilmiş insan kan hücrelerinden elde ediliyordu. Bu yöntemlerle elde edilen İnterferonun arılaştırılması hem pahalı idi hem de çok az miktarlarda elde edilebiliyordu.

1980 yılının sonlarında Roche ve Genentech'deki araştırma, bakteriler aracılığı ile elde edilen akyuvarlar İnterferonu hastalar üzerinde denenmesini mümkün kıldı. 1981 Ocak ayında başlanan bu değerlendirme (Houston Texas'da M.D. Anderson Hastanesi, Texas Tümör Merkezi ve daha sonra California Stanford Üniversitesi) değişik İnterferon dozlarının etkinliği, emniyeti, tolere edilmesi ve biyolojik etkileri hakkında bilgi edinmemize sebep olacaktır. Ancak yaygın klinik uygulamalardan sonra İnterferonun tedavide kullanılması hakkında kesin bir yargıya varabileceğiz.

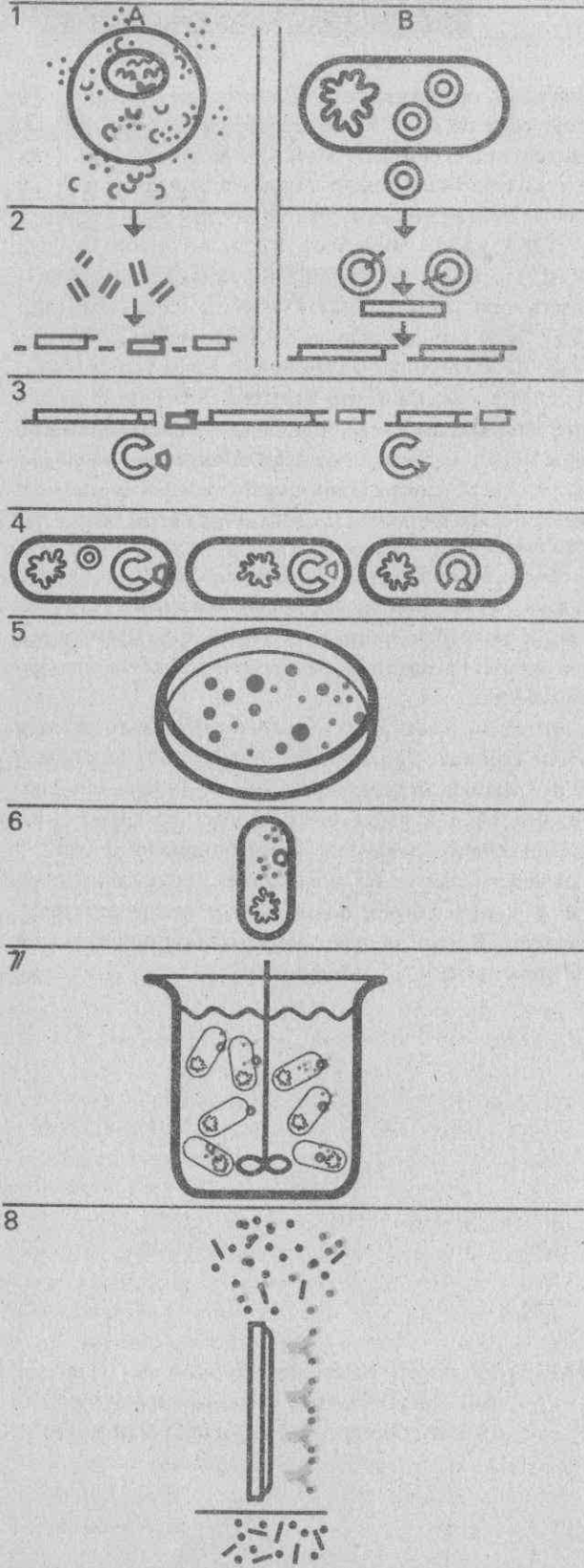
Birçok sorunun cevabı henüz kesin değildir. İnterferonun yaygın kullanımına geçilmeden önce geliştirilmiş biyolojik testlerin yapılması ve çeşitli İnterferon tipleri için anlamlı farmakolojik parametrelerin hazırlanması gerekmektedir.

İnterferon hakkındaki bilgilerin yayılması sonucu Roche grubuna müracaat eden hastalar ve hasta sahipleri ciddi hastalıkların tedavisi için İnterferon talep etmişlerdir. Birçok vak'alarda bunlar kanser hastalarıdır. Bu yardım dilekleri anlayışla karşılanmaktadır. Fakat bu makaleden anlaşılacağı gibi bilimsel, hukuksal ve medikal yönlerden bu gibi dilekler henüz yerine getirilememektedir. Bunun mümkün olması için de oldukça uzun bir zaman gerekir gibi gözükmektedir.



TABLO İnterferon sentezi için bilgiyi taşıyan çift dallı bir DNA molekülü, iki kardeş moleküle (soldan itibaren) ayrılmaya kabiliyetine sahiptir.

Rekombine kolibasil DNA'sından İnterferon eldesi Şeması



1-RNA-m ve plazmidlerin ayrılması ve seçilmesi:

- A Çekirdekli insan hücresi  
 İnterferon kod'u taşıyan genlerin (DNA'nın kırmızı kısmı) bulunduğu kromozomlar  
 İnterferon sentezi için RNA-m (haberci ribonükleik asit, genetik matris)  
 Diğer proteinlerin RNA-m'i  
 İnterferon  
 B Kromozomlu kolibasil hücresi  
 Kromozom  
 Plazmid (minikromozom)

2-Rekombinezonun hazırlanması

- DNA-c (haberci RNA'dan meydana gelmiş deoksiribonükleik asit) İnterferon imali için genetik bilgiyi içermektedir.  
 Açık plazmid  
 Rekombinezona hazırlamadan sonra plazmid

3-Rekombinezon: DNA-c plazmidlere bağlanmıştır. Yabancı DNA içeren plazmidler tekrar bakterilerin içine girmiştir.

- İnterferon DNA'sı içeren plazmid  
 Diğer DNA'ları içeren plazmid

4-Yabancı DNA içeren bakteriler

5-Bir petri kutusu içinde rekombine bakterilerin koloni halinde çoğaltılması, interferonun genetik bilgisini taşıyan kolonilerin tanınması ve seçimi.

- Herhangi bir DNA içeren bakteri kolonileri  
 İnterferon içeren bakteri kolonileri

6-Oldukça karmaşık genetik manipülasyonlardan sonra, bu bakteriler, yeterli interferon üretimi için gerekli bilgiyi içermektedir.

- İnterferon  
 Rekombine bakteri

7-Verimli bakterilerin çoğaltılması ve kültürü bir fermentörde yapılmaktadır.

8-Öğütülmüş bakterilerden monoklonal antikorlar vasıtasıyla interferonun ayrıştırılması ve saflaştırılması.

- Monoklonal antikorlar  
 Öğütülmüş bakteri kütlesi