

BİYOTEKNOLOJİ ALANINDAKİ SON GELİŞMELER

Bilim Adamları, Kanın Yerini
Alabilecek Yeni Bir Madde
Üzerinde Çalışmalarını Sürdürüyor

Enfeksiyon hastalıklarının yarattığı risk, bilim adamlarını kanın yerini alabilecek yeni bir madde arayışına götüren nedenlerden yalnızca biridir. Bilindiği gibi, kan transfüzyonları, kompleks kan gruplandırılmaları ve çapraz uygunluk gerektirmekte, kaza kurbanları, askerler ve ender rastlanan kan türüne sahip insanlar uygun kanı beklerken ölmektedir. Ayrıca kullanım için kanın tamamı buzdolabında muhafaza edilmelidir ve bu koşullarda dahi 42 günlük kullanım ömrüne sahiptir.

Konuyla ilgili olarak yapılan çalışmalardan biri, kanın oksijen taşıma kapasitesinin iki katına çıkarılması şeklinde olup, güvenilir bir yolun araştırılması uzun zaman almış ve hayal kırıklığıyla sonuçlanmıştır. Hayvan hemoglobini insanlarda test eden iki firma da, yarattığı yan etkilerden dolayı denemelerini iptal etmek zorunda kalmışlardır. Somatogen adındaki bir firma (ABD), problemi, insan hemoglobin molekülünün genetik olarak modifiye edilmiş şekliyle çözmeyi başarmıştır. Bu çözüm, halihazırda en fazla gelecek vadeden bir yol olarak görülmektedir. Somatogen firması, hazırladığı bu hemoglobin formunu, İngiliz Tıp Araştırma Merkezi'nden Kiyoshi Nagai'nin ortaklığıyla geliştirmiştir. Nagai, 1962 yılında hemoglobin yapısını tayin ettiği çalışmasıyla Nobel ödülünü kazanan Max Perutz'un yürütücülüğündeki yapısal biyoloji laboratuvarında çalışmaktadır. Perutz grubu, protein yapısının aydınlatılmasında X-ışınları kristalografisini ilk olarak kullanan gruptur. Teknik, atomların moleküldeki yerlerini kesin olarak gösteren üç boyutlu görüntüleri vermekte ve böylelikle atomların yerleri değiştirilerek, proteinin şekli ve buna bağlı olarak fonksiyonları da değiştirilebilmektedir.

Bu şekilde elde edilen molekül görüntüleri, hemoglobin üretmeye çalışan diğer laboratuvarlara da problem çözümünde ipuçları vermiştir. Karşılaşılan önemli bir sıkıntı, hemoglobin hücreden (kırmızı kan hücresi) uzaklaştırıldığında, oksijeni daha güçlü olarak bağlaması ve bunun sonucunda %20 yerine, %3-5 oranında oksijen salmasıdır. Ayrıca, serbest hemoglobin parçalanarak, kan dolaşımından hızla uzaklaşırken böbrek glomerüllerinin tıkanmasına da yol açmaktadır.

Diğer laboratuvarlar, hemoglobin molekülünü kimyasal yolla çapraz bağlayarak veya polimerleştirerek problemi çözmeye çalışırken, Somatogen fir-

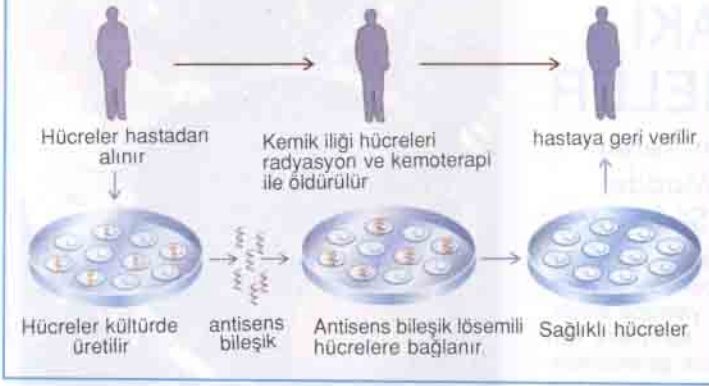


Rekombinant Hemoglobin E.coli'de üretilmektedir.

ması aynı amaca genetik değişikliklerle ulaşmayı uygun görmüştür. Firmanın araştırma ve geliştirme başkanı Gary L. Stetler, deneysel çalışmalarını rasyonel bir dizayn ile yaptıklarını ve önsözünün de kendilerine yardım ettiğini açıklamıştır. Somatogen araştırmacıları, hemoglobinin normalden daha fazla oksijen salacak mutant formunu aramaya başlamışlar. Bu amaçla proteini kodlayan gende değişiklikler yaparak, bu değişimlerin içinde, yalnızca birinin aran tüm karakteristiklere sahip olduğu bulunmuştur. Stetler'in açıklamasına göre, hemoglobin geninde tüm bu değişiklikleri yapan, iki tekli amino asitti. İlk değişiklik X-ışınları kristalografisi ile alınan bilgiye dayanmıştır. Nagai, Stetler ve arkadaşları, bir tekli amino asidi yapıya sokmanın, molekülün iki zinciri arasındaki bir birleşme noktasında mümkün olduğunu, diğer şekillerde yapıdan koştüğünü görmüşlerdir. Hazırlanan yeni hemoglobin formları, hemoglobinin oksijene olan ilgisini azaltarak, taşıdığı oksijenin 1/3'ünü salmasına izin vermiştir.

Daha sonra bu modifiye edilmiş hemoglobin, tamamen katlanmış bir protein olarak E. coli'nin içerisinde üretilmiştir (E. coli, çok sayıda genetik ürünün üretiminde bir "molekül fabrikası" olarak işlev gören bir bakteridir). 24 saat içerisinde bakteri içeren ortam kan kırmızısı görünüme ulaşmış ve böylelikle protein ortamdan alınmaya hazır duruma gelmiştir. E. coli hücreleri parçalandıktan sonra ürün bir kolona alınmıştır. Bu karışımda proteinin yanı sıra bakteriden gelen endotoksin de bulunmaktadır. Endotoksinin varlığı, firmaya diğer firmalardan, özellikle rekombinant insan hemoglobinin diğer bir türünü transjenik domuzlarda üretmek isteyen DNX firması tarafından eleştiriler yöneltilmesine neden olmuş, ancak Somatogen firma yöneticisi C.H. Scoggin, basit bir saflaştırma işlemiyle, ürünündeki toksin seviye-

LÖSEMINİN ANTİSENS İLAÇ İLE TEDAVİSİ



sinin, halen insan serum albumini için, FDA (Food and Drug Administration) tarafından kabul edilen seviyenin altına indirilebileceğini söyleyerek savunmasını yapmıştır.

Amerika'da her yıl 7,7 milyon ünite kırmızı kan hücresinin transfüze edilmekte olduğu düşünülürse, rekombinant hemoglobin umulan performansı gösterdiği takdirde, son derece büyük bir pazar bulacağı şüphesizdir.

Mikroküreler, Proteinlerin Oral Kullanımına Olanak Sağlıyor

İnsülin, büyüme faktörleri ve kan hücresi stimütörleri gibi klinik açıdan önemli birçok protein, sindirim sırasında tıbbi açıdan önem taşımayan yapılar haline dönüştürüldükleri için ağızdan (oral yolla) alınamamakta, damar ya da kaslara enjekte edilmek suretiyle hastaya verilmektedir.

Araştırmacılar, sindirilebilen proteinlerin oral yolla kullanımına olanak sağlayacak yeni yöntemler üzerinde çalışmaktadır. Elmsford'daki (ABD) CTA isimli küçük bir biyoteknoloji firması tarafından, proteinleri ve oral olarak alınmayan diğer bileşikler sindirim sisteminin etkilerinden korumak ve kan akımına güvenli bir şekilde ulaştıktan sonra salıverilmelerini sağlamak için bir yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntem, söz konusu proteinleri, proteinlerin temel yapı elemanları olan amino asitlerden hazırlanan kapsüller içerisine hapsedmek esasına dayanmaktadır. Kapsüller, ortamın asitlik derecesindeki (pH) değişimlere bağlı olarak açılarak, hapsedilmiş proteinlerin kapsül dışına çıkmasına izin vermektedir. CTA firması, amino asitleri bağlayarak (veya polimerleştirerek) "proteinoid" olarak adlandırılan yapıları oluşturmuşlardır. Firma yetkilileri, bu şekilde hazırlanan kürelerin hapsedilen proteini bağırsaklardaki bozucu ortamdan koruduğunu, fakat kürelerin mukozal bariyerden geçebilecek kadar da küçük olduklarını açıklamıştır.

Kapsülasyon işlemi, suda çözülen proteinoidlerle, sitrik veya asetik asitte çözülmüş protein (tera-

pötik olarak istenilen) ilave edilmesi ile gerçekleştirilmiştir. Ani asitlendirme proteinoidlerin yaklaşık bir kırmızı kan hücresi büyüklüğünde içi boş küreler şeklinde çökmesine neden olmakta ve böylelikle çözülmüş ilacın bir kısmı kapsüllenebilmektedir. Kapsüller midedeki asidik ortamda kapalı kalmakta, fakat kan akımına geçtikleri zaman, yüksek pH nedeniyle açılarak ilacın serbestleştirilmesi sağlanmaktadır.

CTA firması, mikroküreleri değişik pH duyarlıklarında ve büyüklükte hazırlamış ve kapsülasyon işlemi geniş bir molekül ağırlığı aralığındaki 10'dan fazla farklı

biyoaktif ajan (protein, ilaç) için başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Bu ajanlar arasında molekül ağırlığı 150 dalton olan dopaminden, 6000 daltonluk insüline ve 2,5 milyon daltonluk aşılara kadar çok sayıda maddeyi saymak mümkündür.

Bağırsak çeperi boyunca proteinoidlerden kan akımına ilaç transferinin mekanizması henüz bilinmemektedir; ancak bu durum uygulama açısından bir sorun yaratmamaktadır. Firma tarafından yapılan bir açıklamada, çalışmaların beş değişik memeli türüyle yapıldığı ve sonuçların insanlardaki kadar iyi olduğunun belirlendiği söylenmiştir.

Çok sayıda ilaç firması, konu üzerinde çalışmaya istekli görünmektedir. Kalamazoo'daki Up John firması yöneticisi Peter J.L. Daniels, CTA tarafından insülin ve heparini de içeren çok sayıda proteinle yapılan çalışmaların yeterince ikna edici olduğunu söylemiştir. Diğer bazı firmalar, örneğin Sandoz ve Tredegar Endüstrileri de CTA ile ortaklık halindedir. CTA, kapsüllemiş heparin ile bu yıl içerisinde insan çalışmalarına başlamayı planlamıştır.

"Antisens Bileşikler", Gen Fonksiyonlarını Engelleyerek Birçok Hastalığın Tedavisinde Gelecek Vadediyor

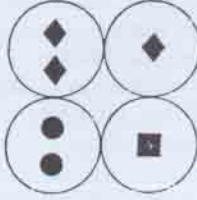
Biyoteknoloji endüstrisi tarafından geliştirilen ilk ilaçlar, vücuttaki biyoaktif maddelerin kopyalarını ve birtakım yetersizlikleri önlemek veya biyolojik prosesleri stimüle etmek amacıyla kullanılmışlardır. Sonraki nesil ilaçlar daha etkili olmuşlardır ve şu anda gelişme aşamasında olan "antisens bileşikler" ise bazı genlerin fonksiyonlarını engelleyerek tedaviyi gerçekleştirmektedirler. Bilindiği gibi, birçok hastalık, örneğin kanser, kalıtsal ve enfeksiyon hastalıkları, genlerin fonksiyonel bozukluklarından kaynaklanmaktadır.

"Gıda ve ilaç teşkilatı" (FDA), yakın bir geçmişte, bir antisens bileşiğin, "kronik miyolojenik (kemik

ZEKÂSAYAR

(Geçen sayıda yayınlanan soruların cevapları.)

ZOR BİR DİZİ: Sol üst köşeden sağa doğru hareket ederek, dış kenarlardan içe doğru gelişen bir spiral, dizimizin anahtarıdır. Bu spiral üzerinde 1 daire, 1 dörtgen, 1 kare, 2 daire, 2 dörtgen, 2 kare, 1 daire, 1 dörtgen, 1 kare, vb. dizimizi oluşturmaktadır.



SON ŞANS: Kartlardan birinin doğru diğerinin yanlış söylediği biliniyor. Birinci kart doğru ikinci kart yanlış söylüyor olamaz; çünkü eğer birinci doğru ise ikinci de doğru olur. Bu durumda birinci kart yanlış ikinci kartın doğru olması gerekir. İkinci kart doğru söylediğine göre kartlardan biri yaşamı diğeri ölümü temsil et-

mektedir. Birinci kart yanlış söylediğine göre yaşamı temsil eden ikinci kart olmalıdır.

ÜÇGEN: 2701, 2702, 2703.

MAKAS: E, A'yı C'ye ittikten sonra ana yoldan dolaşarak B'yi A ile birleşinceye kadar iter, sonra ikisini birden sağdaki bağlantı yoluna çeker. C'den dolaşarak A ve B'yi ana yolun sağına kadar iter. B'yi burada bırakarak A'yi sağdaki bağlantı yoluna çeker. C'den dolaşarak B'yi ana yolda sol tarafa çeker ve iterek soldaki bağlantı yoluna geçirir, kendisi de ana yola geçer.

HAVA DURUMU: Pazartesi, salı ve çarşamba güneşli, perşembe ve cuma yağışlıdır. Birinci konuşan Bülent, ikinci konuşan Cengiz, üçüncü konuşan ise Ali'dir.

SAYI BİLMECESİ: 9 5 9 7 3 9
8 6 4 6 4 2
7 1 2 1 5 1
6 8 9 8 6 5
5 3 2 3 7 2
4 1 3 7 8 4

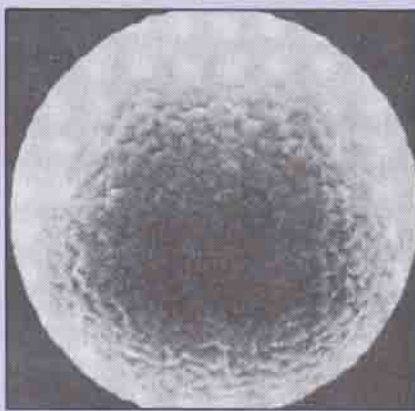
iliğinde görülen) lösemi (kan kanseri)" (CML) tedavisinde kullanımı için ilk denemelere izin vermiştir. İlaç, CML'e neden olan kromozomal mutasyona uğramış (Philadelphia translokasyonu) hücrelerin üremesini engellemektedir.

Antisens bileşikler, DNA'nın nükleik asitleri bağlayan tek sarmalının kısa bölümleri (segmentleri) dir. Bilindiği gibi, DNA çift sarmaldan oluşmaktadır. Antisens moleküllerin hedeflediği yapı, genlerden aldığı bilgileri hücrelerdeki protein sentezinin gerçekleştiği bölgelere taşıyan mesajcı (messenger) RNA'dır. Mesajcı RNA'yı tamamlayıcı baz sekansına sahip bir antisens molekül RNA'ya bağlanacak ve böylelikle hücrenin spesifik bir proteini üretimini engelleyecektir.

Doğal DNA antisens ajan olarak kullanılabilir olmasına rağmen, ticarî eğilim sentetik DNA üzerinde odaklanmaktadır. Sentetik DNA'da molekülün fosfat ana zinciri, ilâcın parçalanmasına neden olacak enzimlere karşı daha dirençli bir yapıyla yer değiştirmiştir. Pek çok kimyasal ana zincir incelenmiş ve yalnızca iki yapının uygun olduğu görülmüştür. Bunlar John Hopkins Üniversitesi'nde biyokimyacı olan Paul O.P.Ts'o tarafından ileri sürülen metilfosfonatlar ve Georgetown Üniversitesi'nden Jack S.Cohen'in geliştirdiği fosforotiotlardır.

Genta firması tarafından üretilen antisens, bileşik bir metilfosfonat olup, halen CML'li hastalardan alınan hücrelerde test edilmektedir. Kimyasalın patentini elinde bulunduran Ts'o, Genta'nın yönetici-

sidir ve teknolojiyi firmaya getirmiştir. İlaç ilk olarak, kemik iliği transplantasyonu ile birlikte kullanılacaktır. Seçilmiş CML'li hastalardan alınan kemik iliği hücreleri, antisens bileşikle muamele edilerek lösemili hücreler yok edilecektir. Aynı zamanda, hastanın kemik iliğinde kalan hücreler radyasyon ve kemoterapi ile öldürülecektir. Sağlıklı olarak kültür edilmiş hücreler daha sonra hastaya geri verilecektir.



Mikroküreler ilâcı kapsüllemekte ve ortam asitliğindeki değişimlere bağlı olarak salmaktadır.

Yeni teknikler, tedavi sırasında kültürdeki lösemili ve sağlıklı hücrelerin sayısını saptama olanağı vermektedir. Houston'daki Kanser Merkezi'nde ilk hastayla çalışmalara başlanmıştır ve eğer deneme başarıyla sonuçlanırsa Genta firması, FDA'dan ürünü doğrudan hastalarda uygulamaya müsaadesi isteyecektir.

Doku kültür ortamında diğer araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalar da antisens metilfosfonatın, önemli bir insan onkogeninin (kanser neden olan gen) tehlikeli formunu bloke ederek etkisiz hale getirdiğini göstermişlerdir. Genta firması, bu özelliği

kullanarak ürünlerini geliştirmeyi ümit etmektedir. Diğer birçok firma ise, antisens bileşiklerin yeni türleri üzerinde çalışmalarını sürdürmektedir. Bu bileşiklerde DNA'nın yalnızca ana zinciri değil, baz ve şeker bileşenleri de değiştirilmektedir. Uzmanlar, antisens bileşiklerin ilk örneklerinin şu anda klinik aşamasında olduğunu, fakat yeni geliştirilen türlerinin daha etkili olacağı şeklinde yorum yapmaktadırlar.

Scientific American Şubat 1992'den çev.:
Doç. Dr. Menemşe KİREMİTÇİ