

Yarının Antibiyotikleri



İlaç endüstrisi araştırmacıları yeni ilaçlar aramada molekül bankaları, yüksek verimli ayıklama, biyo-enformatik ve robot bilimi gibi modern yöntemlere başvuruyorlar. Yarının antibiyotikleri nasıl bulunacak? Bunun için moleküler mikrobiyolojinin ortaya koyduğu bakteri direnci, DNA'nın kendi benzerini yapması, bakteri bölünmesi, bakteriler arası iletişim... gibi çok özel konulara eğiliniyor. Bakterilerin yaşaması ya da hastalık yapması için hangi genlerin gerekli olduğu araştırılıyor. Bu ise bakteri genomlarının ve proteinlerinin incelenmesini gerektiriyor. Rhone-Poulenc Rorer Araştırma Merkezi Antibakteriyel İlaçlar Farmakoloji direktörü Jean-François Desnottes yazıyor.

1970'lerde ilaç endüstrisi, hastane ortamlarında ortaya çıkan bakteri direnci problemini kontrol altına alabilecek ilaçlarla silahlanmış bulunuyordu. Her biri bir iki antibiyotik üzerinde uzmanlaşmış firmalar, ellerindeki antibiyotiklerin etki alanını (spektrumunu) genişletmişler ve yan etkileri azaltmışlardı. İçlerinden bazıları diğer bakteri, virüs ve mantar öldürücü ilaçlara yöndiler. Bazılarıysa antibakteriyel ilaç üretmekten vazgeçtiler. Onlara göre piyasanın gereksinimleri karşılanmıştı.

1980'lerin sonlarına doğru ortaya çıkan iki olay bu görüşü değiştirdi: Bazı bakterilerin birçok antibiyotiğe çoklu direnç kazanması ve bakteri direncinin yalnız hastanelerde değil, toplumda da yaygınlaşması.

İlaç endüstrisi bir yandan yeni antibiyotikler ve aşılarda ararken, bir yandan da bakterilerde direnç yaratmayacak

bileşikler aramaya başladılar. Bu yeni tip ilaçlar, antibiyotikler gibi bakterileri öldürmek yerine onların hastalık yapma mekanizmalarını bozacak ya da birbirleriyle iletişime engel olacaktır.

Bir ilacın bulunuşu sırasında kimyagerler ve biyologlar, "kimyasal pistede" çalışırlar. Birinci elemde aranan etkinliği gösterebilecek olan bileşikler seçilir; ikincide bunlar arasından etkin olanlar ayrılır. Seçilen bu "seri başları"nda yapı-etkinlik ilişkisi araştırılır.

Araştırmacılar, denedikleri bileşikler "hazinemiz" dedikleri molekül bankalarından alırlar. Molekül bankaları birkaç çeşittir. Arama-tarama bankaları, ekran üzerinde görülebilen sanal molekül modellerinden oluşurlar. Güdümlü molekül bankaları, bakteride bağlanacağı yer belli olan molekülleri içerirler. Optimizasyon bankaları daha önce bir kimyasal pisteden geçmiş moleküllerden ibarettirler. Bu bankalarda moleküllerin üç boyutlu modelleri de bulunur.

Bütün bu molekül bankaları, ancak bakteriyel hedeflere dayanan eleme aygıtlarıyla birlikte bir anlam kazanır; tüpte enzim testleri, normal ya da rekombinant bakteri testleri gibi. Yüksek verimli eleme yapan bu aygıtlar robot biliminin ilerlemesiyle mümkün olmuştur. Bu sistemler sulandırma, pipetleme, bileşikler kuyu ya da çukurlarda toplama, çalkalama, belli bir sıcaklıkta tutma ve sonuçları okuma gibi ardışık görevleri otomatik olarak yaparlar. Bu aygıtlar, yapılacak analize uygun bilgisayarlarca yönlendirilirler. Teste tabi tutulan molekülleri görünür

hale getirmek için 4 yöntem kullanılır: flüoresans, radyoaktivite, bakteri testleri ve SPA (Scintillation Proximity Assay, pırladama yakınlık testi). Yüksek verimli bir eleme aygıtı, birkaç haftada 100 000-500 000 molekülü eleler. Eleminin etkinliği, seçilen bakteri hedefiyle ilgilidir. Son 10 yılda bakterilerin yapısı, biyokimyası, fizyolojisi, hastalık yapma gücü ve ilaçlara direnç mekanizmaları üzerinde birçok buluş yapılmıştır.

Bakterilerin antibiyotiklere direncini önlemede iki strateji kullanılmaktadır: 1) Bakterilerdeki yeni hedeflere saldıran yeni moleküller bulunmak. 2) Bakterilerdeki direnç mekanizmasının önüne geçmek.

Bakterilerdeki direncin önüne geçmeye örnek olarak, bakterilerdeki beta laktamaz enzimini ketleyici ilaçlar gösterilebilir. Penisilin grubu antibiyotikler beta-laktam halkası içerirler; stafilkoklar ve bazı gram negatif bakteriler betalaktamı yıkan beta laktamaz enzimi içerdikleri için bu grup antibiyotiklere dirençlidirler. Penisilinlere betalaktamaz ketleyici ilaçlar eklenince bu gibi beta laktamaz yapıcı bakterilerin direnci yok olur.

Bazı bakterilerde rastlanan çoklu direnç, bakteri zarlarının birçok antibiyotiği hücre içine sokmamasına bağlı olabilir. Buna karşı üç yöntem geliştirilmiştir: 1) Gram-negatif bakterilerin dış zarını bozarak onları antibiyotiklere geçirgen kılan ilaçlar. 2) Gram-negatif (çift zarlı) bakterilerin antibiyotiği dışı atan pompalarını etkisizleştiren ilaçlar. 3) Dışa atan pompaların sentezini önleyen protein ilaçlar. Bunlardan 1. ve 3. grup ilaçlar bilinen antibiyotiklere eklenecek, 2. grup ilaçlara yeni moleküller olacaktır.

Bir diğer yöntem, bakteri DNA'sının kendini yenilemesini (replikasyonunu) önlemektir. Örneğin, *Escherichia coli* bakterisinde DNA replikasyonunda 30'dan fazla protein rol oynar. Bu proteinleri yaptıran genlerde bir mütasyon yaptırılabilirse bakterinin büyümesi durur ve bakteri ölür. Diğer yandan, replikasyon, bakterilerin çoğunda benzer olduğundan, replikasyon

ketleyici bir ilaç çok sayıda bakteri türünü öldürebilecektir.

Bugün için elimizde yalnızca DNA'nın biçim değiştirmesini sağlayan topo-izomeraz enzimini ketleyici bir ilaç grubu vardır: kinolonlar. Replikasyonun ilk fazında rol oynayan 20 kadar enzim bilinmektedir. Yeni antibakteriyeller, bunları hedef alacaklardır. Hücre bölünmesi, diğer hedeflerden biridir. Bakterileri ikiye bölen zar, DNA replikasyonu eşgüdümlüdür. Bakterinin ikiye bölünmesini Fts proteinleri düzenlerler. Bunlardan FtsZ denilen protein, hücrelerarası zar bölmeleri etkiler. Bu proteinin biraz artışı mini-bakteriler oluşturur; aşırı artışı ise bakterilerin iplik biçimini almasına ve ölmesine neden olur. Bu nedenle, FtsZ'yi etkileyen ilaçlar mükemmel antibiyotikler olabilecektir.

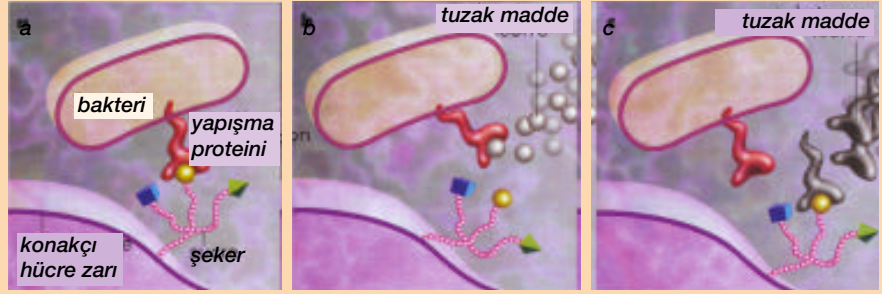
Daha uzak bir gelecekte bakteriler arasındaki iletişim hedef alınacaktır. Bakteriler çok sayıda olunca, çok hücreli canlılar gibi davranırlar. Grup davranışları, feromonlarla düzenlenir. Gram-pozitif bakterilerde bu feromonlar peptid yapısındadırlar. Gram negatiflerde N-Asil-homoserin lakton parçalanma ürünleridir.

Bakteriler ayrıca yüzeylerindeki detektörlerle yakın çevrelerinden aldıkları uyarıları bir özel sistemle (transdüktör) bazı genlere iletirler. Bu genlerin uyarılması, bakterilerin davranışlarını değiştirir.

Birçok bakteri, saldırdıkları canlıların hücreleriyle (epitel, endotel ve fagositoz hücreleri) iletişim kurarlar. Bakteriler dış ortama verdikleri bazı maddelerle saldırdıkları canlıların savunma gücünü kırarlar. Feromon, detektör ve transdüktörleri bloke edecek ilaçlar yapılabilirse, bakterinin çevresine uyum sağlaması önlenir ve bu yolla da bakteri direnci kırılabilir.

Bakteriler enfekte ettikleri hücrelere ve biyomateryellere (kateter, protez vb) yapışırlar. Yapışmayı adhezin denilen bir bakteri proteini sağlar. Adheziyi bloke edici ilaçlar, bakterilerin hücrelere yapışmasını ve dolayısıyla enfeksiyonu önleyebilir. Bu özellikle streptokok, stafilokok ve kolibasillerde belirgindir.

Bundan sonra tıp, bakterilerin genom yapısına saldıracak. Fakat bu, hemen olabilecek bir iş değil; çünkü örneğin 2000 gen içeren bir genomda



Bazı bakterilerde adhezin denilen yapışkan proteinler bulunur; bunlar bakterinin saldırdığı canlıların almaçlarına (zara gömülü şeker molekülü) yapışırlar. Gerek almaçların gerekse adhezinlerin (c) benzeşleri aranmaktadır. Bunlar onun yerine geçerek bakterilerin dokulara yığılmasını önleyecektir.

genlerin ancak % 10'u *in vitro* (tüpte) büyümeyle ve yüzde birkaçı da hastalığa yol açmasıyla ilgilidir. Gen bankalarının oluşturulması dev boyutlu bir işin ilk aşamasıdır. Bundan sonra bulunan her yeni genin görevi saptanmalıdır. Ancak bundan daha sonra yeni hedeflere yönelebiliriz.

Bu dev veri bankasından yararlanabilmek için, yeni moleküler aygıtlara gerek vardır. Biyo-enformatik sayesinde gen bankaları kullanılabilir ve baz sırasının özdeşliğinden yararlanılarak yeni genlerin bir bölümünün görevleri bulunabilir. Bir diğer yöntem de bu genlerin etkisizleştirilmesinin bakterinin büyümesine olan etkisini araştırmak olacaktır.

Yalnız canlı organizmalarda (*in vivo*) etkinleşen genleri araştırmak da olasıdır. Geçmişte bakteriler yalnız tüpte incelenebildiğinden, onların hastalığa yol açan genleri hakkında pek az bilgi sahibiydik. Bugün bu genleri inceleyebilmek için birçok araştırma yöntemleri vardır:

1) Canlı organizmalarda yaşayan bakterilerin etkinliğini araştırma tekniği, IVET (In Vitro Expression Technique).

2) Differansiyel fluoresans endüksiyonu yöntemi, DFI (Differential Fluorescence Induction).

3) Yönlendirilmiş mutagenesis yöntemi, STM (Signature Tagged Mutagenesis):Bakterilere, genlerin etkinliğini bozacak şekilde DNA parçaları enjekte edilerek, mutasyon yaptırılır. Bu bakteriler farelere enjekte edilir. Farede yaşayan bakteriler tüpdekilerle karşılaştırılır. Farede bazı bakteri soyları yaşamazsa, mutasyon yaptırılan genin enfeksiyon için çok gerekli olduğu sonucuna varılır.

4) Hastalık yapma (Virülans) nakli: Hastalık yapmayan bakterilere hastalık

yaptırıcı genler sokulur ve sonra bu bakteriler hayvanlara verilerek sonuç incelenir.

5) Haberci RNA'ların (mRNA) eksiltici melezleştirilmesi: Amaç bakterinin canlıdaki yaşantısında rol oynamayan temel metabolizma genlerinin etkisizleştirilmesidir.

Genom biliminde yeni bir dal hızla gelişmektedir: proteomik. Burada bir bakterinin bütün proteinlerinin incelenmesi söz konusudur. Böylece hangi bakteri proteinlerinin antibiyotiklere dirençte ya da hastalık yapmada rol oynadığı anlaşılabilir.

Dönelim yine yeni bir ilaç bulunmasına. Molekül bankalarında 1. ve 2. eleme yapıldıktan sonra "seri başı" moleküller bulunur. Bu molekül klasik bir antibiyotikse yani bakterileri öldürüyor ya da bakteri üremesini durduruyorsa, klinik öncesi tüp ve hayvan deneylerine geçilir. Fakat bakterinin virülansını ya da yakın çevresini etkilemesini önlemek istiyorsak, aday ilaçlar, bakterinin büyümesini etkilememelidir. Ne var ki bir ilacın virülansını nasıl etkilediğini ölçebilecek bir yöntem yoktur.

Antibakteriyel ilaçların yeni bir döneme girdiğini söylersek abartmış olmayız. Temel, tıbbi ve moleküler mikrobiyoloji bilgileri hızla birikiyor. Mikrobiyolojide çok etkin yeni araştırma yöntemleri ortaya çıktı. Gelecek yıllarda tedavi ve korunma alanlarında birçok yeniliğe tanık olacağız. Özellikle bazı bakterilerin birçok antibiyotiğe birden direnç kazanması problemi çözülecektir. Ancak hatırlatalım ki bir ilacın geliştirilmesi 10 yıl kadar alır ve bir bakteri, şaşılacak uyum yeteneği sayesinde, yaşamasına engel olacak şeylere karşı daima bir savunma geliştirebilir.