

DÜŞMANLARIMIZIN ÜRETTİĞİ DOSTLAR

MONOKLONAL ANTİKORLAR

Hastalıklara yol açan bakteri, virüs ve diğer enfektif ajanlar gibi vücuda yabancı olan maddeler, antijen olarak bilinirler ve vücudun bağışıklık sistemi tarafından “istilacılar” olarak tanımlanırlar. Bu enfektif ajanlara karşı vücudun doğal savunma ajanlarıysa, antijenleri bulan ve yok eden bir protein çeşidi olan antikorlardır.

Antikorların oldukça önemli iki özelliği, çeşitli hastalıklarla savaşmada onları son derece etkin kılar;

1) Her bir antikorun sadece tek bir antijene bağlanma özgülüğü göstermesi

2) Bazı antijenlerin bağışıklık sistemini bir kez uyarmaları sonrasında o hastalık için ömür boyu dayanıklılık sağlaması (Örneğin; kızamık ve suçiçeği gibi çocuk hastalıklarına karşı vücudun ürettiği antikorlar, hayat boyu bu hastalıklara karşı vücutta direnç oluşmasını sağlar)

Antikorların bu ikinci özelliğinden yararlanılarak, aşılar geliştirilmiş bulunuyor. Etkisiz hale getirilmiş ya da etkileri azaltılmış bakteri ya da virüslerin ya da yüzeylerindeki bu proteinden hazırlanan aşı, içeriğindeki antijenlere karşı vücutta antikor oluşumunu sağlar.

Genel olarak, vücut tarafından sağlıklı dokuları hedef alan antikorlar üretilmez. Üretildiğinde vücudun bağışıklık sistemi bunlara saldırır. Yani “otoimmün” cevap oluşur. Ancak ilaç formunda vücuda alınan bu tip antikorlar, belirli düzensizliklerin düzeltilmesine yardımcı olur.

Hastalıklarla savaşım sağlayan antikorların büyük miktarlarda ve saf olarak elde edilmesi, uzun süredir bilim insanlarını peşinden koşturan bir he-

def. Kullanılan klasik yöntem, laboratuvar hayvanlarına antijen verilmesi sonrasında oluşan antikorların toplanması. Ancak, bu yöntemde iki önemli sorunla karşı karşıya kalınır: elde edilen antiserum içerisinde istenmeyen birçok maddenin bulunması ve bu nedenle de elde edilen kullanılabilir antikor miktarının oldukça düşük olması.

Monoklonal antikor teknolojisi ile, antikorların saf halde ve oldukça büyük miktarlarda üretilmesi olanaklı

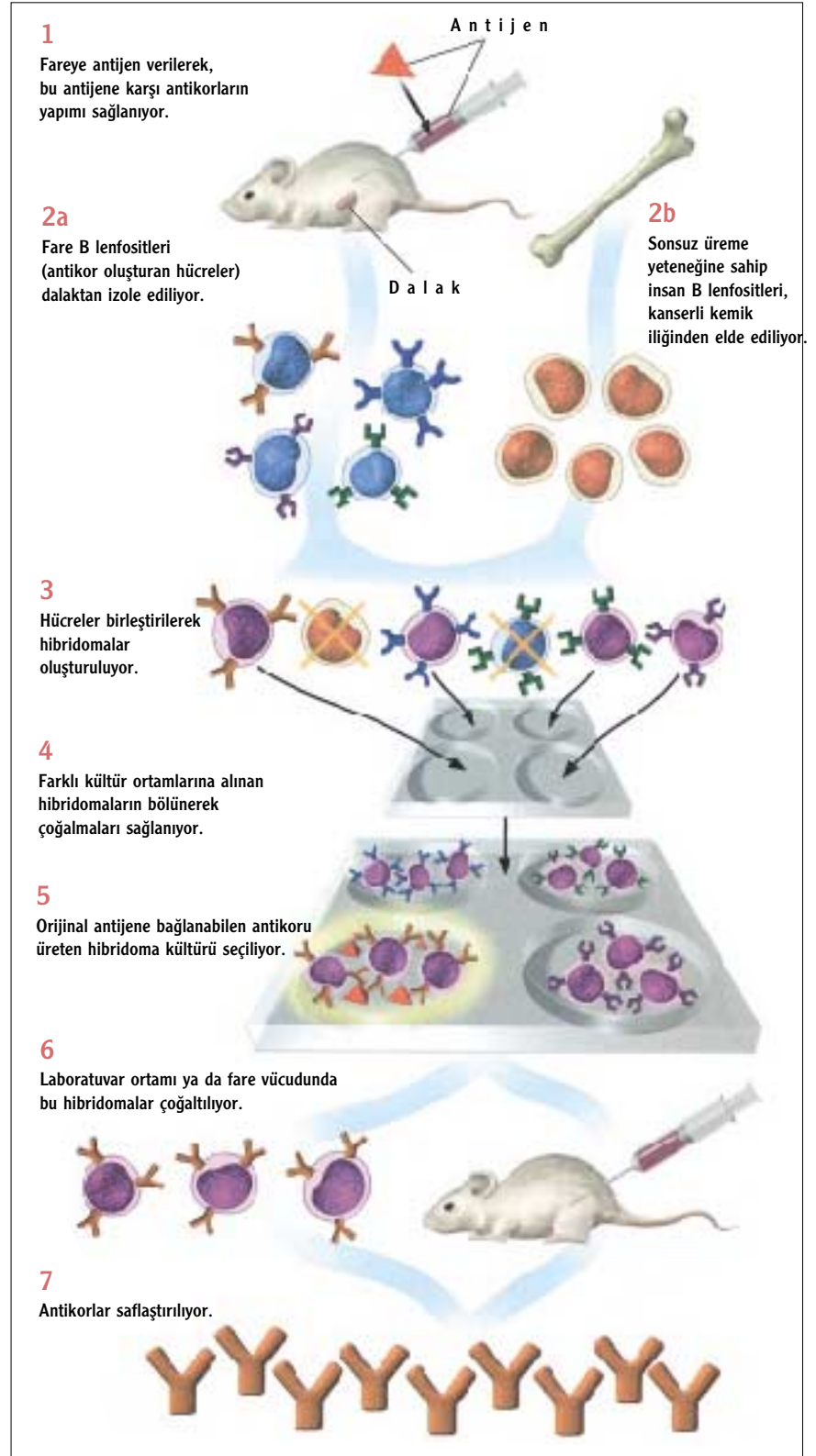


hale gelmiş bulunuyor. Bu amaç için kullanılan yöntem, basitçe şöyle: Öncelikle, istenen antikörleri doğal olarak üreten hücreler elde edilir. Daha sonrasında bu hücelere sonsuz bölünme yeteneği kazandırılır ve kültür ortamında, istenen antikoru üretecek hibrid (melez) hücreler geliştirilir. Bu şekilde doğal hücreler, kültür ortamında birer antikor fabrikasına dönüştürülmüş olur. Örneğin, myeloma, kemik iliğinde oluşan ve hücre kültüründe üretilmeye uygun olan bir tümör tipi. Myeloma hücreleri, antikor üretme yeteneğine sahip olan dalak hücreleri ile kaynaştırıldıklarında, oluşan hibrid (melez) hücreler büyük miktarlarda monoklonal antikor üretebilir. Bu şekilde, iki farklı hücre tipinin istenen özellikleri birleştirilmiş olur: sürekli olarak bölünme yeteneği ve büyük miktarlarda saf antikor üretme yeteneği.

Bu teknolojiye, sonsuz bölünme yeteneğine sahip tümör hücreleriyle antikor üretebilen memeli hücreleri kaynaştırılarak, sürekli olarak antikor üreten "hibridoma" adı verilen hücreler elde edilir. Bu hücreler tek bir tip hibrid hücreden türedikleri için de "monoklonal hücreler" olarak adlandırılırlar. Geleneksel yöntemlerle üretilen antikörler, birçok hücreden elde edildikleri için, "poliklonal" olarak adlandırılırlar. Örneğin, kültür ortamında fare hibridoma hücreleri.

Monoklonal tekniğinde, seçilen hibrid hücreler tek bir tip spesifik antikor üretirler. Bu nedenle de, hastalıklarla savaşmada, klasik tekniklerle üretilen poliklonal antikörlerden potansiyel olarak çok daha etkili olurlar. Çünkü ilaçlar, yabancı maddenin yanı sıra, vücudun kendi hücrelerine de etki ederek mide bulantısı ve allerjik reaksiyonlar gibi istenmeyen yan etkilere yol açabilirler. Radyoaktif kimyasal ya da toksin ile işaretlenmiş olan monoklonal antikörler yalnızca hedef moleküle yönelmeleri nedeniyle, oldukça az bir yan etkiye neden olurlar.

Monoklonal antikörler, tıp alanındaki araştırmalarda geniş çapta kullanılmakta. Bu alandaki çalışmaların çoğuysa, oldukça yeni. Farelerden elde edilen monoklonal antikörler, insan bağışıklık sistemiyle daha fazla uyum gösterebilmeleri için çoğunlukla "insanlaştırılmış" hücreler oluyor.

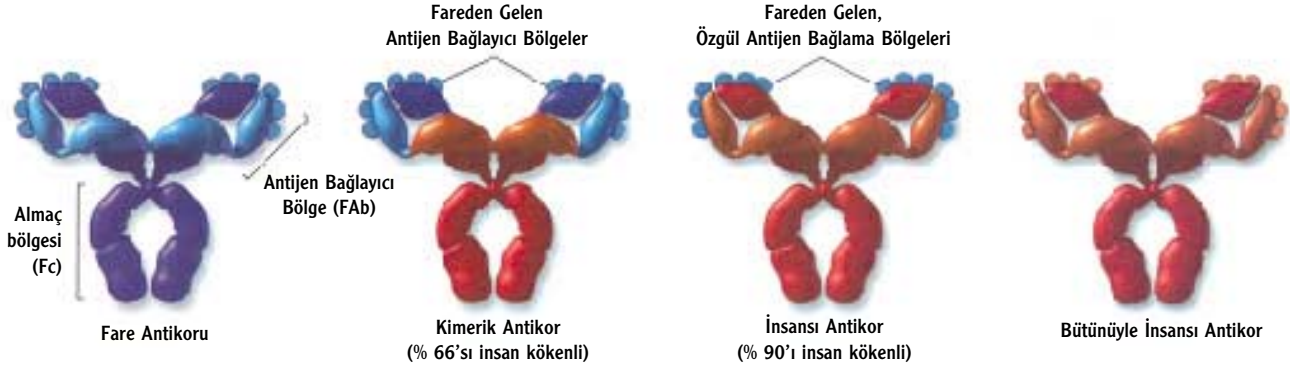


Monoklonallerin oluşturulmasında, hibridoma denilen kaynaştırılmış hücrelerin kullanımını içeren geleneksel yöntem.

1980'li yıllarda monoklonal antikor tekniğinin bulunuşuyla ilgili haberlerin basına yansımından sonra, dizginlenemeyen bir iyimserlik baş göstermişti. Bu antikörler; kanser, otoimmün rahatsızlıklar (kendi bağışıklık sistemimizin kendi hücre ve dokuları

mıza karşı harekete geçmesi), sepsis ve akut enflamasyonlar (yangı) gibi zayıflatıcı ya da ölümcül hastalıklara yakalanmış milyonlarca hastaya umut vermişti. Bulaşıcı hastalıklar da monoklonal antikörler ile tedavi edilebilecekti.

Günümüzde oluşturulabilen antikor tipleri



Ancak işler beklenildiği gibi yürümedi. Tedavi amacıyla monoklonal antikor uygulanan hastalarda, bu yabancı antikorlara karşı vücudun kendi antikorlarının oluştuğu ve sonuçta hastaların tam olarak açıklanamayan bir nedenden dolayı daha da hasta hale geldikleri görüldü. Beklenmedik bir başka sonuçsa, monoklonal antikorların hedeflerine ulaşmadan önce yok edilmeleri oldu. Bu seri başarısızlıkların sonucunda klinik deneyler alt üst oldu ve tüm stoklar üreticilerin ellerinde kaldı. Kaybolan milyonlarca doların arkasındaysa, sadece hayal kırıklığı kaldı...

Şans eseri, tüm bu olumsuzluklara karşın araştırmadan vazgeçmeyen bilim adamları, yeni bir teknik kullanarak monoklonal antikorları yeniden geliştirmeyi başardılar. Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından değerlendirip onaylanmış olan monoklonal antikor bazlı birçok efektif ilaç, piyasaya sürülmek için sıra bekliyor. Görünüşe göre, yeniden geliştirilen monoklonal antikorlar, içinde bulunduğumuz yıllara damgasını vurmaya üzere.

Şimdiden 10 adet monoklonal bazlı ilaç piyasaya sürülmüş ve 3 tanesi de FDA'dan onay bekler durumda. Bunların dışında, yaklaşık 100 adet antikor da, hayvan deneylerinde umut verici görüldüğü için insanlarda deneme aşamasına geçirilmiş.

Monoklonal araştırmaları ve üreten firmalardan Genentech, geçen Temmuz ayında FDA'nın isteği üzerine allerji ve astım tedavisi için piyasaya sürmeye hazırlandığı Xolair isimli monoklonal antikorun uzun dönemli güvenilirliğinin kanıtlanabilmesi için, klinik deneyler hakkında daha ayrıntılı bilgi vermek zorunda kalmıştı. FDA tarafından yayınlanan bu me-

saj, tüm hızıyla yürümekte olan monoklonal çalışmalarına biraz olsun endişe düşürmüştü.

Herşeye karşın, monoklonal antikorların avantajlarını görmezden gelmek oldukça zor. Medarex firmasının yöneticisi Donald L. Drakeman, bu antikorların normal ilaçlardan daha kolay ve ucuzca üretildiğini belirtiyor. Monoklonal antikorlar büyük moleküller olmaları nedeniyle her hastalık için uygun olmayabiliyor. Ancak, küçük inorganik moleküllerden bir ilacın üretilmesi 5 yıla yakın bir zaman alabilirken, aynı hastalık için monoklonal antikor bazlı bir ilacın üretimi 1 ya da 2 yıl gibi çok kısa bir sürede tamamlanabiliyor. Bu da, inorganik kökenli bir ilacın üretimi için 20 milyon dolar harcamak yerine, aynı işlemi monoklonal antikor bazlı bir ilaç üretimi için sadece 2 milyon dolar harçarak halletmek anlamına geliyor.

Monoklonallerin bir diğer avantajı da, neredeyse hiç toksik etki göstermemeleri. Bu da, çeşitli sendromlara yol açabilecek toksinleri içeren, ya da vücutta birikim sonucu zehirlenmeye yol açabilen çoğu ilacın yanında, monoklonalleri oldukça güvenli bir hale getiriyor.

Monoklonal Yöntemleri

Monoklonallerin daha önce başarısız olmalarının nedeni, üretim yönteminin eksikliği olmuştu. Bu klasik üretim yöntemi, 1975 yılında Georges J. F. Köhler ve César Milstein isimli iki immünolog tarafından keşfedilmişti. İngiltere'deki Cambridge Tıbbi Araştırmalar Konseyi Moleküler Biyoloji Laboratuvarı'nda çalışan bu iki bilim adamı, bu buluşlarıyla 1984 Fizyoloji-Tıp Nobel Ödülüne layık görülmüşler-

di.

Temel süreç, bir fareye antijen enjekte edilmesi yoluyla, farenin antikor üretici hücreleri olan B lenfositlerin, verilen antijene karşı antikor üretmelerini sağlama esasına dayanır.

1. Fareye antijen verilmesinden sonra, antikor üreten B lenfositler daldan toplanır.

2. Fareden alınan B lenfosit hücreleri, sonsuz üreme potansiyeline sahip hücrelerle (örneğin; myeloma hücreleri) kaynaştırılır.

3. Kültür ortamında hibridoma adı verilen hücreler elde edilir. Kaynaşmayan hücreler, bu aşamada ölür.

4. Hibridomalar ayrı ayrı kültür ortamına alınır ve bölünerek çoğalmaları sağlanır.

5. Orijinal antijene bağlanma özelliğine sahip antikor üreten hibridoma kültürü seçilir.

6. Seçilen hibridomalar, laboratuvar koşullarında ya da farenin vücudu içerisinde çoğaltılır.

7. En son işlem olarak, antikorlar saflaştırılır.

Ancak bu özel hibridomalar, insan bağışıklık sistemi tarafından "yabancı" (antijen) olarak algılanan fare kökenli antikorların oluşumuna neden olurlar. Fare antikorunu aşılamanın hastalarda genellikle, eklem bölgelerinde şişlik ve kızarıklıklarla kendini gösteren HAMA cevabı (insanda anti-fare antikorlarının oluşumu) görülür. Böbrek yetmezliğine de neden olan HAMA, yaşamsal tehlike oluşturmasının yanı sıra, verilen antikorların vücut tarafından yok edilmesine de yol açar.

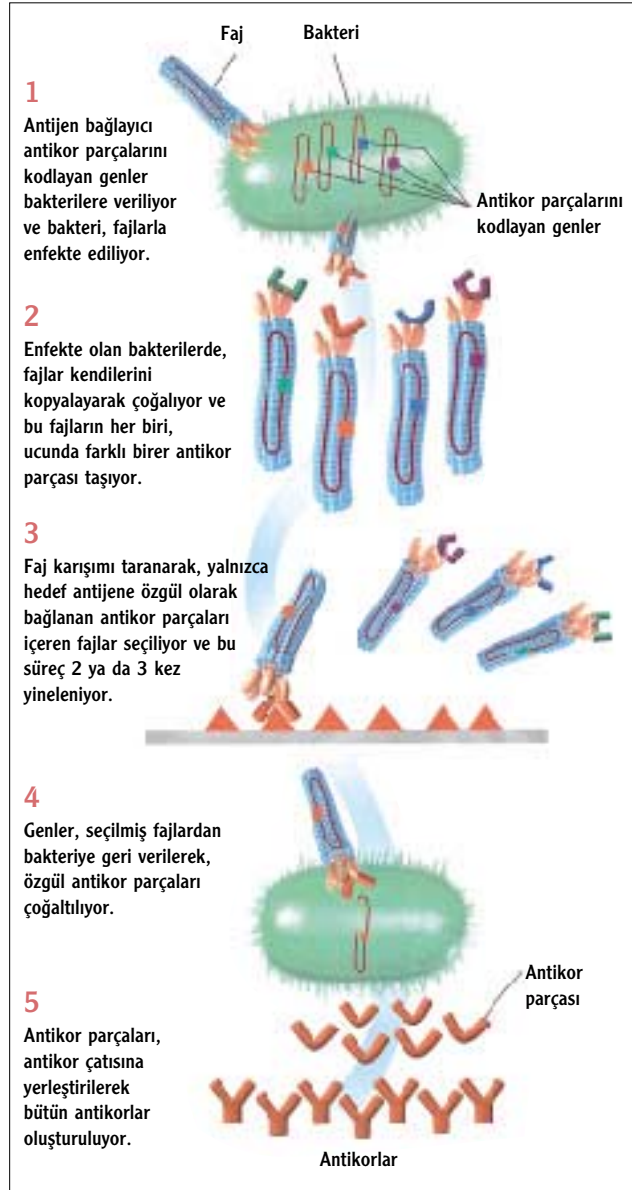
Bu nedenle, hem HAMA cevabının oluşmasını hem de fare antikorlarının bağışıklık sistemi tarafından vakitsiz bir şekilde etkisizleştirilmesini önlemek amacıyla, fare antikorlarının "in-

sanlaştırılması” için çeşitli teknikler geliştirilmiş bulunuyor. Fare monoklonal antikorlarının insanlaştırılması ve tamamen insansı olan monoklonal antikorların geliştirilmesi, immün cevap oluşturmaları nedeniyle önemli. Bu nedenle ticari firmaların neredeyse tamamınca üretilen antikorların insanlaştırılması ya da tamamen insansı hale getirilmesi üzerinde yoğunlaşmakta.

“Y” şeklinde moleküller olan antikorlar, kol uzantılarında bulunan Fab (Antijen Bağlayıcı Bölge) ile antijenlere bağlanırlar. “Y”nin boyun kısmında bulunan Fc almaç bölgesiyse, immün sistemin hücreleriyle etkileşir. Fab bölgesiyle bakteriye bağlanan antikor, Fc bölgesiyle mikrop yok edici hücreleri kendilerine çekerek, bakterinin parçalanmasını sağlar.

Bir diğer yaklaşım, fare monoklonallerinin, antikor bağlayıcı bölgesi dışındaki tüm bölgelerinin insana ait parçalarla yer değiştirilmesidir. Amerika’da piyasaya sürülmüş olan monoklonal bazı ilaçların 4 tanesi, bu tip kimerik (yarı insan yarı fare) antikorlar. Bunların arasında, Malvern’de bulunan Centocor firmasının ürünlerinden biri olan ReoPro da bulunuyor. Balon anjioplastisi ile temizlenen arterlerin sonradan tıkanmasını engelleyen bu ilacın, 2000 yılı içindeki satışı 418 milyon dolara ulaştı. ReoPro, onay alarak piyasaya sürülen ilk monoklonal ilaç.

Bilim adamlarınca kabul gören bir başka stratejiyse, “insanlaştırma” yöntemi. Genentech tarafından üretilen ve göğüs kanseri tedavisinde kullanılan Herceptin isimli ilacı da içeren toplam 5 ürün, bu teknikle üretilmiş. Bu teknikte, fare monoklonallerinin tüm bölgeleri, gen mühendisliği teknikleri yardımıyla insan proteinleriyle seçici olarak değiştirilir. Bu yolla üretilen ilk “insanlaştırılmış” antikor, Cambridge’de bulunan Millenium Pharmaceuticals tarafından üretilen Campath



Monoklonal antikorlar, hibridomalar yerine “faj” olarak adlandırılan virüsler kullanılarak da elde edilebiliyor.

isimli ilaç. Diğer tedavilerin işe yaramadığı B hücresi kronik lenfatik lösemi hastalarında kullanılmak üzere, 2000 yılı Mayıs ayında FDA’dan onay almış bulunuyor. Bu ilaç, hem normal hücrelerin, hem de kanserli hücrelerin çoğunda bulunan bir almaca bağlanır. Ancak hastalarda, tedavinin tamamlanmasından sonra normal hücrelerin sayısında bir artış görülmüş. Piyasadaki diğer monoklonallerse, tümüyle saf fare antikorlarından oluşur.

Medarex ve Fremont firmaları, farelere tümüyle “insansı” antikorlar üretirmenin çeşitli yollarını bulmuşlar. Bu firmalarca gen değişimi gerçekleştirilen fareler, insan antikor genleri taşıyor hale getirildikten sonra, vücutlarında her yönüyle “insansı” antikorlar

üretmeye başlamış.

Abgenix isimli bir başka ilaç firmasınınca, Interleukin-8’e (IL-8) karşı üretilmiş olan, tümüyle insanlaştırılmış bir antikorun klinik testleri yürütülmekte. Vücutta çok fazla IL-8 üretildiğinde, romatoid artrit ya da psoriasis gibi yangı ve şişkinliğe yol açan otoimmün hastalıklar ortaya çıkabilir.

Bir grup araştırmacı, fareleri kullanmaksızın seri monoklonal üretimi üzerinde çalışmakta. İngiltere’deki Cambridge Antikor Teknolojisi ve Münich’teki MorphoSys AG tarafından kullanılan “phage (faj) display” tekniği, tam olarak bunu gerçekleştirme dayanır. Bu teknik ayrıca, tek bir antijene karşı en yüksek özgüllüğü gösteren monoklonallerin bulunmasına da yardımcı olur.

Faj display tekniğinde, “ipliksi faj” adı verilen ve bakterileri enfekte etme özelliği taşıyan, uzun ve iplikli bir virüsten yararlanılır. Araştırmacılar, insan B-lenfosit hücrelerinden yalıtıktıkları DNA’yı bir bakteri virüsünün (faj) değişikliğe uğratılmış genetik yapısına (genomuna) (ör. *Escherichia coli*) ekleyerek, bakterinin iplikli fajlarca enfekte edilmesini sağlamış bulunuyor-

lar.

1. B lenfositin antijen bağlayıcı antikor parçasının genleri eklenen bakteri, fajlarca enfekte edilir.

2. Enfekte olan bakteride kendini kopyalayan faj, B lenfositin antikor genlerince kodlanan proteinleri de otomatik olarak sentezleyerek, her birinin ucunda farklı antikor parçası bulunan yeni fajlar oluşturur.

3. İstenen hedef antijene (örneğin; kanser hücrelerinin yüzeyindeki almaçlara) özgül olarak bağlanabilen antikor parçalarını taşıyan fajlar toplanır.

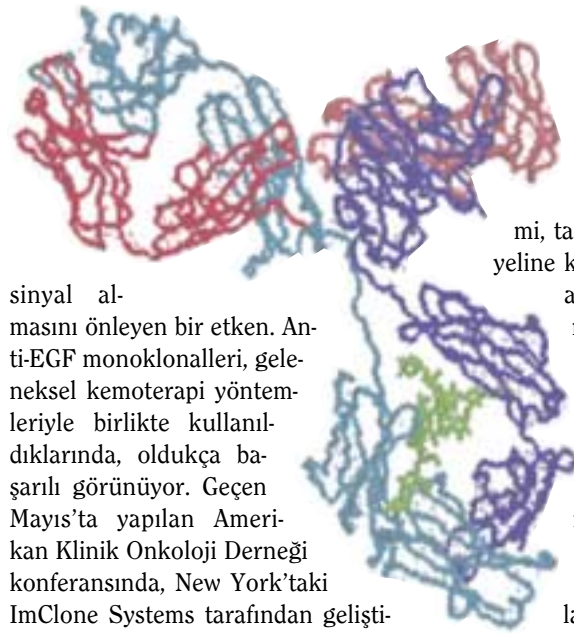
4. İşlem birkaç kez tekrarlanarak, seçilen fajların genleri bakteriyeye yeniden eklenir ve spesifik antikor parçaları çoğaltılır.

Hedefe Nişan..

Monoklonallerin yeni formları (kimrik, insanlaştırılmış ve tamamen insansı), birçok hastalığın tedavisi için umut ışığı yakıyor. Bu tip iki ilaç, beklendiği gibi FDA'nın onayını alırsa, kanser tedavisinde önemli beklentileri karşılayacak. Zevalin (IDEC Pharmaceuticals & Schering AG) ve Bexar (Corixa & GlaxoSmithKline) adlı bu iki ilaç, B lenfositlerin yüzeyindeki CD20 antijenini hedef alır. Bu hücreler, non-Hodgkin lenfoması olarak bilinen kanser türünde kontrolsüz olarak çoğalma gösteren hücreler.

Klinik deneyleri yürütülmekte olan başka birçok monoklonal, çeşitli hastalıklarda rol oynayan bağışıklık hücrelerini hedef alır. Örneğin; Genentech tarafından son testlere tabi tutulmakta olan Xanelim, T lenfositlerin yüzeyinde bulunan ve psoriasis hastalığına neden olan CD11 proteinini hedef alır. Yaklaşık 600 psoriasis hastası ile yürütülen çalışmada, ilacın en yüksek dozda verildiği hastaların yarısından çoğunda hastalığın büyük ölçüde gerilediği bildiriliyor.

Birçok ilaç firması, kalp krizi sonrasında meydana gelen doku hasarından ve yangından sorumlu olan CD18 isimli T lenfosit yüzey proteinine karşı bir monoklonal geliştirmeye çalışıyor. Monoklonal geliştirmeye çalışanlar için çekici bir başka hedefse, Epidermal Büyüme Faktörü (EGF) almaçları. Novartis firmasının geliştirdiği Gleevec, kanser hücrelerinin bu almaçlardan



sinyal almasını önleyen bir etken. Anti-EGF monoklonalleri, geleneksel kemoterapi yöntemleriyle birlikte kullanıldıklarında, oldukça başarılı görünüyor. Geçen Mayıs'ta yapılan Amerikan Klinik Onkoloji Derneği konferansında, New York'taki ImClone Systems tarafından geliştirilen bir anti-EGF antikorunun, kemoterapiye cevabı kesmiş olan ileri kolorektal kanser vakalarının %23'ünde, kemoterapinin yeniden etki göstermeye başlamasına yardımcı olduğu açıklandı.

Başka bazı firmalar, kan damarlarının çeperlerindeki hücrelerin yüzeylerinde bulunan moleküllere yönelik monoklonal antikorların üretilmesi üzerinde çalışıyorlar. Bu moleküllerin bazı türleri, tümör gelişiminde önemli bir basamak olan yeni kan damarları oluşumunda rol oynuyor. Piyasada bulunan ve son derece başarılı bir monoklonal olan Remicade, yangılı hastalıklarda rol oynayan Tümör Öldürücü Faktörü (TNF) hedef alır. 2000 yılında onay alarak piyasaya sürülen Enbrel isimli romatoid artrit ilacıysa, teknik olarak bir monoklonal değil. Temelinde monoklonal antikor parçaları kullanılmış olmasına karşın, molekülün geri kalanı normal hücreler TNF alma-

cıyla bağlantılı.

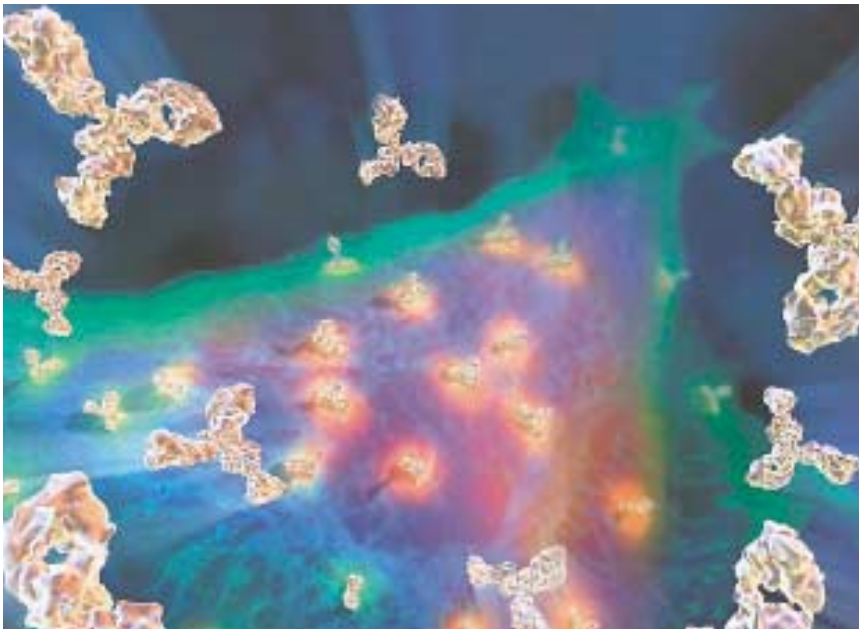
Monoklonal antikor üretimi, taşıdığı büyük tedavi potansiyeline karşın, önemli bir darboğaz aşmakta zorlanacak gibi: Para. Hibridomalardan monoklonal üretimin en ekonomik yolu, biyoreaktör denen devasa tanklar kurmak. Uzmanlar, 60 ton kapasiteli bir biyoreaktör tesisinin yalnızca dört değişik monoklonal üretebileceğini hesaplıyorlar. 2010 yılına kadar 100 monoklonalin piyasaya çıkması beklentisi, 25 yeni tesisin devreye sokulması anlamına geliyor. Bu da 3 ila 5 yıl içinde 5 milyar dolar harcamayla bu tesislerin yapılması ve PDA'dan onay almasını gerektiriyor ki, buna ihtimal veren kimse yok gibi.

Bu gerçek karşısında bazı firmalar gözlerini daha ucuz çözümlere çeviriyorlar ve seçilmiş antikorlara ait genleri taşıyan transgenik hayvan ve bitkilere yöneliyorlar. Transgenik yöntemlerle üretilen memeli hayvanların sütünde, istenilen monoklonal antikorlar elde edilebilir. Birtakım saflaştırma problemleriyle karşılaşılrsa da, bu yöntem oldukça ucuza mal olmaktadır. Ancak, FDA'nın transgenik canlılar aracılığıyla üretimi yapılan ilaçlara karşı nasıl bir düzenleme getireceği henüz bilinmiyor.

Epicyte ve Dow adlı iki firma, monoklonal antikor oluşturan mısır bitkisi üretimi üzerinde çalışıyor. Bu bitkilerden elde edilecek monoklonaller, dudak ya da diğer mukozal yüzeylerde kullanılabilen krem ve merhemlerle, mide-bağırsak ve solunum yolları enfeksiyonları için ağız yoluyla alınan ilaçlarda kullanılacak. Ayrıca, alternatif bir doğum kontrol yöntemi olarak, spermle bağlanacak monoklonallerle, genital siğillere ve serviks kanserine yol açabilen papilloma virüsüne karşı monoklonaller üretilmesi üzerinde de çalışılıyor.

Deniz Candaş

Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü
Zooloji Anabilim Dalı



Kaynaklar
<http://www.sciam.com/2001/1001issue/1001ezell.html>
<http://www.whfreeman.com/immunology/CH05/mabs.htm>
<http://www.fitzgerald-fil.com/>
<http://www.stifud.a.se/mabguidel.html>
<http://www.pslgroup.com/dg/2012a.htm>
http://cancer.med.upenn.edu/specialty/med_onc/mm_moab_rx.html