

KİM 458

Biyoteknolojinin Temelleri

# **Gen Tedavisi, Kontrollü Salım Sistemleri ve İlaç Hedefleme**

Prof. Dr. Y. Murat ELÇİN

# Gen Terapisi Nedir?

- **Gen tedavisi;** hastalıkları tedavi etme ya da fiziksel etkilerini azaltma amacıyla hastanın vücuduna genetik materyalin sokularak hücrelerin genetik modifikasyona uğratılmasını esas alan bir tedavi yöntemidir.

## Genler

- Gen; DNA molekülünün ortalama 1500 nükleotidden oluşan ve canlının kalıtsal özelliklerinden herhangi birini taşıyan parçasıdır.
- Kromozomlar üzerinde taşınırlar.
- Kalıtımın temel üniteleridir.
- Proteinin nasıl yapılacağı ile ilgili bilgileri kodlarlar.  
DNA → RNA → protein
- Proteinler yaşamsal fonksiyonların çoğunu yerine getirdiklerinden genlerde meydana gelecek bir değişim oldukça önemli sonuçlara yol açar.
- Gende bir mutasyon meydana gelmesi aminoasitleri kodlayan birimler olan kodonlarda değişime neden olur. Bu da kodlanan aminoasitin dolayısıyla da proteinin konformasyonunu ve sonuç olarak da proteininin fonksiyonunu değiştirir.

## Başarılı bir gen tedavisi için gereken ortak elemanlar:

- Genin belirlenmesi ve klonlanması: Kalıtsal hastalığa neden olan gen tespit edilmelidir.
- Hastalığın ve hedef hücrenin tanınması:
- Genin istenilen hücrelere nakledilmesi ve orada ekspresyonu: Hedef hücrelerin yerleri kesin olarak belirlenmeli ve sağlıklı gen hedef hücrelere ulaştırılmalıdır. Spesifiklik, etkinlik ve uzun süreli ekspresyon.
- Gen naklinin olası yan etkilerinin tespit edilmesi: İmmün yanıt, toksisite...

# Gen Tedavisinin Mekanizması

- Tedavi edici gen bir taşıyıcı (vektör) içerisine yerleştirilir.
- Vektör hedef hücreye (konakçı) girer.
- Vektör yeni genetik materyali konakçının çekirdeğine sokar.
- Hücre yeni geni kullanarak protein sentezler.

## Gen Tedavisinde Engeller

- Hücre içi engeller
  - Hücre zarı
  - Endozom
  - Çekirdek zarı
- Hücre dışı engeller
  - Belirli dokular
  - Vücudun savunma sistemi

# Gen Tedavisinin Kronolojisi

Gen tedavisinin **ilk klinik denemesi** 1990 yılında bir immün yetmezliği olan Adenozin deaminaz (ADA) yetmezliğinin tedavisi amacıyla yapılmıştır. Tedavide *Ex vivo* yöntem kullanılmıştır.

- İki hasta çocuk üzerinde gerçekleştirilen tedavide hastaların T-lenfosit hücreleri doku kültürü yoluyla çoğaltıldı.
- Daha sonra normal insan ADA geni, bir retrovirüs vektörü yardımıyla bu hücrelere nakledildi.
- Virüs hücrelere girerek DNA'ya geni yerleştirdi.
- Ardından bu hücreler çoğaltılarak damardan hastalara geri verildi (bir yıl boyunca her iki ayda bir). Daha sonraki yıllarda ise bu nakillere 6 ile 12 ayda bir devam edildi.

Bu ilk insan denemesinden sonra sistik fibrosis, yüksek serum kolesterolü (hiperkolesterolemi), bazı kanserler gibi hastalıklarla başa çıkmak için gen tedavileri tasarlanmıştır.

## Bazı doku ve gen aktarım sistemleri

	Hedef hücreler	Vektör sistem	Aktarım
Kemik iliği hücresi	Hematopoetik sistem	Retrovirüs	<i>ex vivo</i>
Kas	Myofiber	Adenovirüs, Direkt DNA enjeksiyonu	<i>in vivo</i>
	Myoblast	Retrovirüs	<i>ex vivo</i>
Santral Sinir Sistemi	Nöron	Herpes simplex tip1	<i>invivo / exvivo</i>
		Adenovirüs	<i>in vivo</i>
Akciğer	Epitel	Adenovirüs Lipozom	<i>in vivo</i>
Kan damarı	Endotel	Retrovirüs Adenovirüs Lipozom	<i>ex vivo</i>

# Gen Tedavisinin Sınıflandırılması

- Hedef alınan dokunun niteliğine göre;
  - Eşey hücresi gen tedavisi
  - Vücut hücresi gen tedavisi
- Terapötik ajanın(vektörün) hastaya uygulanmasına göre;
  - *Ex vivo*
  - *In vivo*
- Kullanılan vektörlere göre;
  - Viral
  - Nonviral

# Hedef Alınan Doku Açısından Gen Tedavisi;

## Eşey hücresi gen tedavisi:

Gamet / zigot / erken embriyo'ya yapılan genetik modifikasyonlardır. Yapılan değişiklik kuşaktan kuşağa aktarılmaktadır. Günümüzde eşey hücresi gen tedavisi çalışmaları etik, güvenlik ve teknik nedenlerden dolayı kabul görmemektedir.

## Vücut (somatik) hücresi gen tedavisi:

Hastalığa yol açan doku veya spesifik hücrelerdeki genetik sorunun düzeltilmesidir. Sadece ilgili kişiyi etkiler.

- Hastalığa yol açan doku veya spesifik hücrelerdeki genetik sorunun düzeltilmesidir.
- İnsandaki tüm çalışmalar *somatik* hücrelerdeki genetik bozukluğun düzeltilmesine yöneliktir
- Somatik hücreler çeşitli yollar ile modifiye edilebilir;
  - Gen artışı / eklenmesi
  - Gen değiştirme
  - Hedeflenmiş gen ekspresyonunun baskılanması
  - Hedeflenmiş spesifik hücrelerin öldürülmesi



Kullanılan taşıyıcılar (**vektörler**) açısından gen tedavisi; viral ve viral olmayan yöntemler olmak üzere ikiye ayrılır.

İdeal bir vektör;

- Kolay tasarlanabilmeli,
- Yeterli taşıma kapasitesine sahip olmalı,
- İmmün sistem tarafından algılanmamalı,
- Hastalığın fenotipini düzeltecek kadar etkili olmalı,
- Uzun süreli ekspresyon yapabilmeli,
- Biobozunur olmalı,
- Non-toksik olmalı,
- Non-immünojenik olmalı,
- Depolama süresince ve hastaya verilme sonrasında stabil olmalı,
- Hedef hücrelere girebilmelidir.

## Viral Vektörler

Virüslerin hastalığa yol açan ve virüsün çoğalmasından sorumlu olan gen parçalarının yerine, hastaları iyileştirme amacıyla rekombinant genler yerleştirilmektedir.

Bu şekilde hazırlanan terapötik ajan kullanılan virüs tipine uygun bir yöntemle belirli dozda hastaya nakledilir.

Modifiye edilmiş virüsler hücreye girmek için kendi yöntemlerini kullanırlar.

## Viral Yöntemlerde Kullanılan Virüsler:

- 1- Retrovirüs
- 2- Adenovirüs
- 3- Adeno-ilişkili virüs
- 4- Herpes Simpleks virüs Tip-1
- 5- Polio virüs
- 6- Ördek hepatit virüsü
- 7- Parvovirüs
- 8- Sendaivirüs
- 9- Sindbis Virüs

- En çok kullanılan viral vektörler, **retrovirüsler**, **adenovirüsler**, **herpesvirüsler (uçuk virüsü)** ve **adeno-ilişkili virüsler**dir.

Virüsler en etkin gen tedavisi araçlarıdır. Ancak bazı dezavantajları da vardır.

- Biyolojik ajandırlar ve kaybettikleri patojenik özelliklerini yeniden kazanabilirler.
- Konakçının immün sistemini uyarırlar.
- Taşıyıcı virüslerin laboratuvar ortamında yaratılması oldukça zahmetli ve pahalı bir işlemdir.
- Viral vektörler söz konusu olduğunda immünotoksisite ve genotoksisite ile ilgili riskler özellikle fazladır.17 Eylül 1999 yılında Ornitintranskarnbamilaz (OTC) eksikliği olan 18 yaşındaki bir hasta, bir adenoviral vektörün damar içi enjeksiyonundan 3 gün sonra, adenoviral vektör hastanın karaciğerinde büyük bir enflamasyona neden olmuş ve hasta çoklu organ yetmezliği ve koma neticesinde ölmüştür.

Her viral vektörün kendine özgü avantaj ve dezavantajları vardır.

vektör	avantajları	dezavantajları
Retrovirüs	<ul style="list-style-type: none"><li>•Hücrelere etkili bir şekilde girer.</li><li>•Viral genleri içermez.</li><li>•Stabil bir şekilde birleştirir.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>•Üretimi zor</li><li>•Boyutu sınırlı</li><li>•Rastgele mutageniz</li></ul>
Adenovirüs	<ul style="list-style-type: none"><li>•Hücrelere etkili bir şekilde girer.</li><li>•Terapötik genin yüksek ekspresyonunu sağlar.</li><li>•Konakçı kromozumuna birleştirmez.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>•Viral genler vektör içerisinde olmalı</li><li>•İmmün cevaba neden olur</li></ul>
Adeno-ilişkili virüs	<ul style="list-style-type: none"><li>•Kromozoma spesifik kısımlardan birleştirir.</li><li>•İmmün cevaba neden olmaz.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>•Küçük boyutta genleri içine alabilir.</li><li>•Üretimi zor</li></ul>
Herpesvirüs	<ul style="list-style-type: none"><li>•Yüksek seviyelerde üretilir.</li><li>•Ayrılamayan sinir hücrelerini hedefler.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>•Üretimi zor.</li><li>•Viral gen gerektirir.</li></ul>

# Retrovirüsler

- Zarflı virüslerdendir.
- Genomu, tek iplikli RNA molekülüdür.
- Enfeksiyon sonrası viral genomu ters transkripsiyon ile çift iplikli DNA'ya dönüşerek konak hücre genomuna entegre olur ve proteinlerinin ekspresyonunu sağlar.
- Entegrasyonu stabil olmakta ve uzun süreli etkisi bulunmaktadır.
- Giriş için spesifik reseptörlere sahiptir.
- Sadece prolifere olan hücreleri enfekte edebilir.
- Rastgele mutagenез olabilmekte.

Bir retrovirüs olan HIV (the human immunodeficiency virus) virüsünden elde edilen vektörler de söz konusudur ve güvenliği test edilmektedir.

# Adenovirüsler

- Zarfsız virüslerdendir.
- Genomu, lineer çift iplikli DNA' dır.
- 40' dan fazla serotipi mevcuttur ve çoğu insanda solunum yolu enfeksiyonlarına yol açar.
- Vektör olarak çoğunlukla C sub gruptaki 2 veya 5 serotipleri kullanılmaktadır.
- Yaşam döngülerinde konak hücre genomuna entegre olmayıp çekirdekte epizomal elementler olarak replike olduklarından, insersiyonal mutagenез riski yaratmazlar.
- Adenoviral vektörler, in vitro ve in vivo hedef hücre transdüksiyonunda oldukça etkilidir ve yüksek titrelerde ( $>10^{11}/\text{ml}$ ) üretilebilirler.
- Uygulamalarda transgen ekspresyonu süresince, immün yanıtı engellenmek için immünosupresif tedavilerde eklenmektedir.
- Adenovirüsleri hedef hücrelere yönlendirmek için doku spesifik ekspresyonu sağlayacak hücresel promoterlar (miyozin hafif zincir 1 veya düz kas hücresi SM22a promoterı) veya lokal alana direkt uygulamalar yapılmaktadır.

# Adeno-İlişkili Virüsler

- Genomu, tek iplikli DNA molekülüdür.
- Non-patojenik insan parvovirüsleridir. Dolayısıyla bir hastalığa neden olmazlar ve hastanın immün sistemini uyarmazlar.
- Düşük taşıma kapasitesine sahiptirler.
- Çoğalmak için yardımcı bir virüse (genellikle adenovirüs) ihtiyaç duyarlar.
- Bölünebilen ve bölünemeyen hücreleri enfekte edebilirler, yardımcı virüs olmadan konağın genomunda spesifik bir noktaya entegre olabilirler.
- Gen her zaman çalışır konumda olduğundan protein sürekli eksprese edilir (gerekmediği durumlarda bile).

Hemofili tedavileri, örneğin geni taşıyan vektör kasa enjekte edilerek kas hücrelerinin Faktör IX üretmesi sağlanır ve kanama böylece önlenir.

- Wilson and Kathy High (University of Pennsylvania) tarafından yapılan bir çalışmada, hastalar bir senden fazla bir süre Faktör IX enjeksiyonuna ihtiyaç duymamışlardır.



# Herpesvirüs

- Indefinite persistence in latent state as circular episomal molecule;
  - neurotrophic with highly efficient transduction of post-mitotic neurons;
  - broad host range;
  - large DNA insert capacity.
- 
- Cytotoxicity and immunogenicity due to antigenic processing or low-level protein expression in recombinant vectors;
  - potential reactivation of latent HSV-1;
  - contaminated stocks and/or reversion to wild-type virus might lead to HSV-1-induced encephalitis and death

# Non-viral Vektörler

Gen tedavisinde nonviral strateji, viral vektörlerin dezavantajlarını ortadan kaldırmak amacıyla gündeme gelmiştir.

Nonviral yöntemlerde kullanılan taşıyıcılar kimyasal (sentetik) ve fiziksel (mekanik) taşıyıcılar olmak üzere sınıflandırılabilir.

- Proteinlerin sadece küçük bir grubunda uygulanabilmektedir.
- Taşıma kapasitesi sonsuza yakındır.
- Enfeksiyon yapma ve mutajenik özellikleri yoktur.

## Nonviral Yöntemler;

- Lipozom aracılığıyla gen transferi [Lipozom/ DNA kompleks (Lipopleks)]
  - Liposome/Polimer/DNA kompleksi (Lipopolipleks)
- Moleküler konjugatlar [Polimer-DNA kompleksleri (Polyplex)]
- Çıplak DNA (vector-free)
  - Doku içine DNA enjeksiyonu
  - Gen tabancası (Partikül bombardımanı)

# Lipozomal taşıyıcılar (I)

- Lipozomlar sudan oluşan bir iç tabaka ile bunun etrafını saran fosfolipid çift tabakasından oluşan küresel şekilli küçük keseciklerdir.
- Lipozomlar içlerinde ilaçlar, proteinler, nükleotidler ve plazmidler gibi çeşitli yapıları taşıyabilirler. Non immünolojiktirler.

## Katyonik lipozomlar ve pH-duyarlı lipozomlar

- Birinci grup lipozomlar artı yüklü olduklarından, eksi yüklü olan DNA ile dayanıklı bir kompleks oluştururlar.
- İkinci grup lipozomlarsa negatif yüklü olduklarından DNA ile bir kompleks oluşturmaz, ama içlerinde taşıyıp hücre içine alınmasını sağlarlar.

## Lipozomal Taşıyıcılar (II)

- **Katyonik lipozomlar:** Genellikle katyonik ve zwittering(iç tuz) lipit karışımı
  - 1,2dioleoly-3-trimetilamonyum propan (DOTAP),
  - 2,3-dioleoyloksi-N-[2-(sperminkarboksiamido)etil]-N,N dimetil1-propanamonyum (DOSPA),
  - [N-(N,N dimetiletilediamin)karbamoil]-kolestrol (DC-chol) ve DOTMA' dır.

Transfeksiyon verimleri iyidir,sitotoksik özellikleri vardır.

- **Anyonik lipozomlar:** Katyonik lipozomların hücrelere karşı toksik olabilmesi (özellikle sinirsel dokulara) ve zayıf ilaç kapsülleme özelliklerinden dolayı alternatif olarak kullanılır.
- **Özelleştirilmiş Lipozomal Aktarma Platformları:** Bu yapılar belirli terapötik nesnelere spesifik fonksiyonel gruplar içeren lipozom formlarıdır. pH-duyarlı lipozomları ve immünolipozomları da kapsamaktadırlar.

# Moleküler Konjugatlar (I)

- DNA, sentetik ligandlar veya proteinlere bağlanmaktadır.
- Hücreye ulaşımı lipozomlara benzemektedir.
- Transgen ekspresyonu geçicidir ve endozom/lizozomal degradasyonu olmaktadır.
- **Polimerik Taşıyıcılar:** En çok kullanılan polimerik taşıyıcılar Polietilenimin(PEI), Poli(L-lizin)(PLL), Kitosan ve Dendirimerlerdir.

## Moleküler Konjugatlar (II)

**Polietilenimin**, yüksek katyonik potansiyelde olduğundan gen tedavisinde oldukça etkilidir.

**Poli(L-lizin)** nin transfeksiyon yeteneği düşüktür. Çoğunlukla PLL-DNA kompleksinin endozomdan kurtulma hızı yavaştır. Ayrıca PLL aminoasit omurgasından dolayı toksik etkiye ve immün sistemini uyarma etkisine sahiptir.

**Kitosan**, doğal olarak bozunabilen ve düşük toksisitesi nedeniyle Polietilenimine alternatif olarak kullanılabilen bir polimerdir.

**Dendrimerler:** Merkezi çekirdek üzerine inşa edilen bu yapılar, dallanmış katmanların ve birleştirici grupların ard arda eklenmesi sonucu oluşur.

Polidispersiteleri oldukça düşüktür bu da diğer polimerlere göre avantajlı olmalarını sağlar. Poliamidoamin (PANAM), Polipropilenimin (PPI) dendrimerler...

# Çıplak DNA Enjeksiyonu (I)

- Direkt hücre içine plazmid DNA olarak enjeksiyonu
- Ucuz bir teknik
- Çok miktarda DNA gerektirir.
- Enjekte edilen DNA' nın nükleazlarca hızlı degradasyonu söz konusu (dezavantaj)

## 1- Balistik DNA Enjeksiyonu:

- Altın ya da tungstenden oluşan 1-3 mikron boyutundaki mikroparçacıklar, tedavi edici geni taşıyan plazmid DNA' sı ile kaplanır ve bu parçacıklara hız kazandırılarak hedef doku ya da hücreye gönderilir.
- *In vivo* düşük seviyede ekspresyon olması etkinliğini azaltmaktadır.
- Yöntem basit, uygulama alanı kısıtlıdır (sadece belirli dokulara).
- Minimum doku hasarı
- Kullanım sahaları;
  - Kanser immünopotansiyasyonu
  - Pankreatik insülin fonksiyonunun tamiri
  - Damar duvarı gelişiminin stimülasyonu

## Çıplak DNA Enjeksiyonu (II)

- 2- **Elektroporasyon:** Kùltürdeki hücrelere bir elektrik akımı uygulanarak ortamda var olan DNA' nın akım etkisiyle hücre içine alınması sağlanır. Elektriksel akım hücre zarında DNA' nın geçişine izin verecek bozukluklar meydana getirir.
- 3- **Mikroenjeksiyon:** DNA' nın hücre çekirdeğine mikro enjeksiyonu.
  - Ex vivo' da kemik iliğı hücreleri ve yumurta hücrelerinde olası
  - Oldukça güvenilir, % 100 aktarım
  - Bir defada sadece 100 hücreye enjeksiyon yapılabilir.
- 4- **Sonaporasyon:** Sonikasyon ile gen transferidir. Yüksek frekanslı ses dalgaları kullanılarak DNA transferi yapılır. Ekspresyon geçicidir. Aktarım etkinliğı iyidir.
- 5- **Kalsiyum Fosfat Çöktürmesi:** İlk kez 1973' de tanımlanan yöntem, DNA' nın kalsiyum fosfat ile çöktürülerek çözünmeyen kalsiyum fosfat DNA komplekslerinin oluşturulması esasına dayanır. Kolaylıkla yapılan bir tekniktir ve hücreye spesifik değildir, ekspresyonu geçicidir.



## Nonviral Vektörlerin Avantaj 😊 ve Dezavantajları ☹️

- Avantajlar:
  - *In vitro* ortamda kültürlenmiş hücre dizileri
  - Patojenlik az
  - Düşük toksisite
  - Transfer edilecek gen kapasitesi
  - Genel Güvenlik
  - Düşük maliyet
  - Zaman
  - Stabilite
- Dezavantajlar:
  - *In Vitro* ortamda kültürlenmiş primer hücre dizileri
  - Toplam aktarım verimi

Katyonik lipozomlar kanda agregat oluşturabilirler.

# Gen Tedavisinin Sorunları

- Gen tedavisinin kısa ömürlü doğası: hastaya çoklu uygulama yapılmalı.
- İmmün Cevap: İmmün sistemi uyarma riski tedavinin etkinliği üzerinde her zaman potansiyel bir risktir.
- Viral Vektörler
- Çoklu gen bozuklukları: Kalp hastalıkları, yüksek tansiyon, Alzheimer gibi bazı yaygın hastalıklar çoklu gen bozukluklarından kaynaklanmaktadır.

# **Kontrollü Salım Sistemleri ve İlaç Hedefleme**

# Kontrollü Salım NEDİR?

- Kontrollü salım, etkin maddenin bir sistem içerisinde uzatılmış bir sürede, belirlenmiş bir hızla ve gereken miktarda verilmesidir.

Kontrollü salımda;

- Salım hızı kullanılan sistem tarafından belirlenir.
- Daha kesin ve tahmin edilebilir bir ilaç verme hızı söz konusudur.

# Nerelerde Kullanılır?

- Kontrollü salım tıp, eczacılık, kimya, çevre, tarım ve veterinerlik alanlarında gereksinim duyulan ve uygulamaları olan bir konu.
- Tarımda ve çevrenin korunmasıyla ilgili uygulamalarda gübreler veya böcek öldürücüler, kontrollü salım yapan sistemlerde, doğaya zarar vermeden, düşük miktarlarda kullanılarak etkili sonuçlar alınabiliyor.
- Kimyasal işlemlerde, fermentasyon ortamına eklenen enzimler gibi pahalı ve atık sorunu yaratan malzemelerin kontrollü olarak salınması yoluyla, üretimde süreklilik sağlanıyor.
- Veteriner hekimlikte parazit ilaçlarının, hormonların, aşıların, antibiyotiklerin, süt verimini artıran maddelerin, doğum kontrolü ilaçlarının kontrollü salım uygulamaları var.
- Kontrollü salımın başlıca uygulama alanı, ilaç taşınmasıdır.

# İlaç Alımında Klasik Yöntem

İlaç alımında sıklıkla kullanılan klasik yöntemler, tablet ya da kapsüllerin ağızdan alımı ya da enjeksiyon şeklindedir; ve bu yöntemler sık ve tekrarlanan dozlarda ilaç alımını gerektiriyorlar.

İlaç derişimi başlangıçta bir süre artar, çok kısa bir süre sabit kalır ve hızla azalır. .

Etkin düzeyin altındaki ve toksik düzeydeki bölgeler boşa harcanmış ilaç miktarlarını ifade eder.

Klasik ilaç alımından kaynaklı problemler;

1. Kısmi bozunma nedeniyle ilacın etkinliğinin azalması
2. Toksik ilaç seviyesi
3. Artan doz nedeniyle maliyetin artması
4. Hastanın ilacı düzenli kullanmamasından kaynaklanabilecek problemler

# Kontrollü İlaç Salımının Avantajları

- Tedavi edici oranda ilaç düzeyinin kanda ya da hücrede korunması,
- Salımın belirli hücre tipi yada dokuya hedeflenebilmesi nedeniyle zararlı etkilerin azaltılması,
- Gerek duyulan ilaç miktarının azaltılabilmesi,
- Önerilen ilaç rejimine hastanın uyumunu geliştirecek şekilde dozaj miktarının azalması,
- Kısa yarılanma ömrüne sahip ilaçlar(örneğin protein ve peptit ilaçlar) için etkinlik süresinin arttırılması
- İlaç kaybının elimine edilmesi,
- Tahmin edilebilir ve tekrarlanabilir salım hızları (uzatılmış bir zaman için)

İlaç salım sisteminin ya da bozunma ürünlerinin toksitesi, hızlı ilaç salımı gibi güvenlik hususları, sistemin vücuda yerleşiminden kaynaklanabilecek rahatsızlıklar ve ilaç taşıyıcı malzemelerin maliyeti sistem geliştirilirken göz önüne alınmalıdır.

# Kontrollü Salımın Tarihçesi

- Mikroenkapsülasyon, Wurster prosesi (1949)
- koaservasyon – bir sıvının enkapsülasyonu (1953)
- Mikroenkapsülasyonun 1950- ile 1960 arasında daha da geliştirilmesi
- İmplantlar (1970 ler)
- transdermal uygulamalar (1980)
- Hedeflenmiş ilaç salımı



İlaçların polimer ya da lipit sistemlerinden salımı için 4 genel mekanizma bulunmaktadır:

- İlaçların sistemden difüzyonu,
- Bir kimyasal yada enzimatik reaksiyonla sistemin bozunmasını takiben ilaç salımı yada ilaç molekülünün sistemden kopması,
- Sistemin şişmesi yada ozmoz yoluyla çözücü hareketlenmesi,
- Fizyolojik bir gereksinime cevap olarak salımın gerçekleşmesidir.

Ayrıca bu sistemlerin kombinasyonu da mümkündür.

# Kontrollü Salım Sistemleri

## 1- Diffüzyon kontrollü sistemler:

- Matriks tipi
- Rezervuar tipi

## 2- Kimyasal kontrollü sistemler:

- Polimer bozunması:
- Asılı zincir

## 3- Çözücü kontrollü sistemler:

- Yarı geçirgen bir zardan suyun osmotik transportu
- Camsı polimere suyun nüfuz etmesi

## 4- Ayarlanabilen Sistemler:

Açık ve kapalı döngülü sistemler

# Difüzyon Kontrollü Sistemler (I)

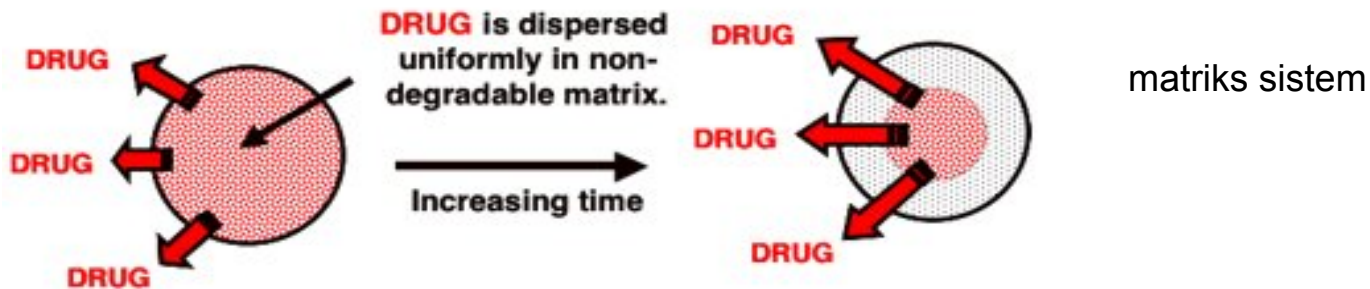
Bu sistemlerde ilaç gözeneklerden ya da polimer zincirleri arasından geçerek salınır. Salım hızı polimerin özelliği ve salımı yapılacak aktif maddenin dağılım katsayısına bağlıdır.

avantaj: aktif madde matriksten belirli bir hızla diffüzlenir.

dezavantaj: büyük moleküllerin difüzyonundaki etkinliği az.

Difüzyon kontrollü sistemler 2'ye ayrılır.

- Matriks tipi (monolitik) :İlaç, polimer içerisinde dağıtılır ya da çözülür.
  - Aynı dağılım ve salım hızı
  - İlacın bir defada boşaltılması riski yok



## Difüzyon Kontrollü Sistemler (II)

- Rezervuar Tipi : Aktif maddenin ince bir polimerik zar ile çevrelendiği çekirdek görünümündedir. İlaç salımı zardan difüzyonla gerçekleşir.
  - Şekil : küresel, silindirik, disk
  - Çekirdek : toz ya da sıvı form
  - Polimer ve ilaç maddesinin özellikleri : difüzyon hızı, salım hızı
  - Problemler : sistemin çıkarılması

Rezervuar sistemler vücut içerisine yerleştirilerek kullanılmalarının yanısıra, deri üzerine yapıştırılarak da başarılı bir şekilde kullanılırlar. Bu sistem 'Transdermal Sistem' olarak adlandırılır ve bu tür cihazlarda, ilaç deri boyunca salınarak dolaşım sistemine karışır.

# Kimyasal-Kontrollü Sistemler

## (1) Biyobozunur (veya Biyoaşınır) Sistemler

- İlaç maddesi uniform olarak dağılmıştır.
- Polimer bozundukça ilaç yavaşça salınır.
- İlacın suda çözünürlüğüne bağlı değildir.

(2) Asılı Zincir Sistemleri: İlaç polimere bozunabilir bağlarla kovalent olarak bağlıdır ve bu bağ su ve kimyasalların etkisiyle kırılır ve ilaç salınır.

Bağlanma direkt ya da uzatıcı kollar vasıtasıyla olabilir.

# Çözücü Kontrollü Sistemler

İlaç maddesi bir polimerik matriks içerisinde çözülür ya da dağıtılır. İlaç maddesi polimerik matriksten diffüzenemez.

Avantaj: kompleks kontrol

Dezavantaj: genellikle oldukça hacimli sistemlerdir ve implantasyon gerektirir.

- Ozmotik kontrollü sistemler
  - Yarı geçirgen membranlar (suyun içeri girişine izin verirken, tuz ve ilaç moleküllerinin çıkışına izin vermez.)
  - Ozmotik basınç konsantrasyon gradientini azaltır.
  - Sıvının dahili hareketi: küçük bir delikten sistemden dışarı
- Şişme kontrollü sistemler
  - Hidrofilik makromoleküller çapraz bağlanarak 3-boyutlu bir ağ oluşturur.
  - İlaç, kuru haldeyken camsı görünüme sahip, hidrofilik bir polimer içerisinde dağıtılır. Camsı kalıptan ilaç moleküllerinin difüzyonu son derece yavaş olduğu için salım gerçekleşmez.
  - Polimer şiştikçe çözünmüş maddenin kontrollü bir hızda polimerik sistemden çıkışı gerçekleşir.

# Regüle Edilmiş Sistemler

- Bu tür salım sistemleri açık ve kapalı döngülü sistemler olmak üzere sınıflandırılabilir.
- Açık döngülü sistemlerde (uyarı ya da dış kontrollü) salınan ilaç miktarı sistemin içerisinde bulunduğu koşullara bağlı değildir.
- Mekanik pompalarda vücudun dışındaki bir rezervuar (katater vasıtasıyla) ilacı dağıtır. Örn: İnsülin pompaları

İlaç salım hızı manyetizma ve ultrason gibi dış uyaranlar ile kontrol edilebilir.

- Manyetik kontrollü sistemlerde küçük manyetik küreler ilaç içeren polimer içerisine gömülmüştür. Manyetik alan uygulandığında manyetik partiküller titreşerek polimer sisteminde gözenekler oluşturur ve böylece ilaç salınır.
- Kanser kemoterapilerinde
  - Anti-tümör ajanlarının seçici hedeflenmesi
  - Toksisiteyi azaltır.
- Manyetik duyarlı ilaç taşıyıcı sistemler
  - Albumin ve manyetik mikroküreler
  - In vivo hedeflemede yüksek etkinlik
  - İlacın mikrovasküler seviyede kontrol edilebilir salımı

# Regüle Edilmiş Sistemler

- Kapalı döngü sistemlerinde (kendinden kontrollü sistemler) salım sıcaklık, pH, çözücü türü veya konsantrasyonu gibi etkenlere direkt cevap olarak yapılır.
- Poli(N-izopropilakrilamid) sıcaklık duyarlı polimerlerdendir. Geçiş sıcaklığının üzerinde polimer çözünürdür, sıcaklık arttıkça polimer çöker ve faz ayrımı gerçekleşir.
- Poli(etilen glikol) and poli(propilen glikol) kopolimerleri ve poli(laktik asit) and poli(glikolik asit) kopolimerleride sıcaklık-duyarlıdır.



# Diğer Taşıyıcılar

## Lipozomlar ve Mikroküreler

- Lipit çift tabaklı mikroskopik taşıyıcılar
- Avantajları:
  - Su ve yağda çözünen ilaçları taşıyabilir.
  - Biyouyumlu ve biyobozunur
  - İçerdiği maddeyi metabolik bozunmadan korur.
  - Yavaş salım

**Viral Vektörler:** Virüslerin hastalığa yol açan ve virüsün çoğalmasından sorumlu olan gen parçalarının yerine, hastaları iyileştirme amacıyla rekombinant genler yerleştirilir. Değiştirilen virüsler genetik materyalin hücreye taşınmasında kullanılır.

## Eritrositler:

- Kolaylıkla kontrol edilebilir.
- Kandaki sirkülasyonu uzun sürelidir.
- Non-toksik ve non-immünojeniktir.

## Kontrollü salım sistemlerinin uygulama yollarına göre sınıflandırılması

Enjeksiyon yolu	Kas içine, damar içine, karın zarı içine iğne ile
Oral yol	Ağızdan yutma şeklinde
Oküler yol	Gözün korneası üzerine veya kenar boşluklarına sürme veya yerleştirme ile
Nazal yol	Burun mukozasına yapıştırma yoluyla
Bukkal yol	Ağız içi mukozasına yapıştırma yoluyla
Pulmoner yol	Akciğerlere ağız veya burundan püskürtme yoluyla
Vajinal yol	Vajina veya rahim içine uygulama
Kolon yolu	Kalın bağırsağa ağız veya anüs yolu ile uygulama
Rektal yol	Anüs yoluyla kalın bağırsağın en alt bölgesine uygulama
Transdermal yol	Göğüs, kol ve kulak arkası derisi üzerine yapıştırma yoluyla uygulama
Cerrahi yol	Beyin, kemik, derialtı dokulara cerrahi yoldan implant uygulaması

# İLAÇ HEDEFLEME

- İlaç hedefleme, ilacın yer ve uygulama yönteminden bağımsız olarak hedef organ ya da dokuya seçici olarak gönderilmesidir.

İlaç Hedeflemenin avantajları:

1. İlaç verme protokolleri basitleştirilebilir.
2. Gereken ilaç miktarı dolayısıyla da tedavi maliyeti oldukça azalır.
3. Gereken bölgelerde ilaç konsantrasyonu belirgin bir biçimde artacak (hedef olmayan kısımlarda negatif etkiler olmaksızın)

Hedefleme, **pasif veya aktif sistemlerle** sağlanır.

## Pasif hedefleme

Pasif hedeflemede taşıyıcının parçacık büyüklüğü önemlidir ve organların yabancı parçaları bir elek gibi seçmesine bağlı olarak istenilen yere gönderilir. 10 mikrometreden büyük parçacıklar akciğerlerde tutulur; parçacıklar küçüldükçe böbreğe, karaciğere ve diğer organlara ulaşılır.

## Aktif Hedefleme

Sisteme hücrelerin yüzeyindeki, hücreye özgü reseptörlere spesifik tutturucu maddeler kullanılarak hedefleme yapılır. Bu amaçla en fazla antikorlardan yararlanır.

# Aktif Hedeflemenin Bileşenleri

Hedeflendirilmiş ilaç taşıyıcıda, ilk bileşen hedefi tanır ve bağlanırken diğeri hedef içerisinde terapötik etkiyi yerine getirir.

Temel olarak hedeflenmiş ilaç taşıyıcı sistem 3 kısımdan oluşur:

(a) ilaç

(b) hedefleyici kısımlar

(c) ilaç taşıyıcı

# İlaç Hedefleme Etkinliğini Belirleyen Parametreler

- Hedefin boyutu
- Hedefe giden kan akışı
- Hedefteki bağlanma yerlerinin sayısı
- İlaç taşıyıcı sistemdeki hedefleyici kısımların sayısı ve affinitesi
- Hastalık ve ilgili dokunun özelliği
- İlacın kimyasal ve biyolojik özellikleri
- İlaç uygulamasının hızı ve süresi

# Hedeflendirilmiş ilaç dizaynında yeni yaklaşımlar

## GDEPT:

Gene-directed enzyme prodrug therapy

## ADEPT :

Antibody-directed enzyme prodrug therapy

# GDEPT

GDEPT umut vaat eden 2 aşamalı bir tedavidir.

1. Yabancı enzimin geni hedef hücreye verilir.
2. Pro-ilaç ürünü hedef hücreye verilir ve ilaç gen tarafından ekspresyonu yapılan yabancı enzim ile aktive edilir.

# ADEPT

Hedefe karşı seçicilik antikor-enzim konjugatı ile sağlanır.  
Hedef hücreler antikor-enzim konjugatları ile hedeflenir.  
Pro-ilacın aktivasyonu