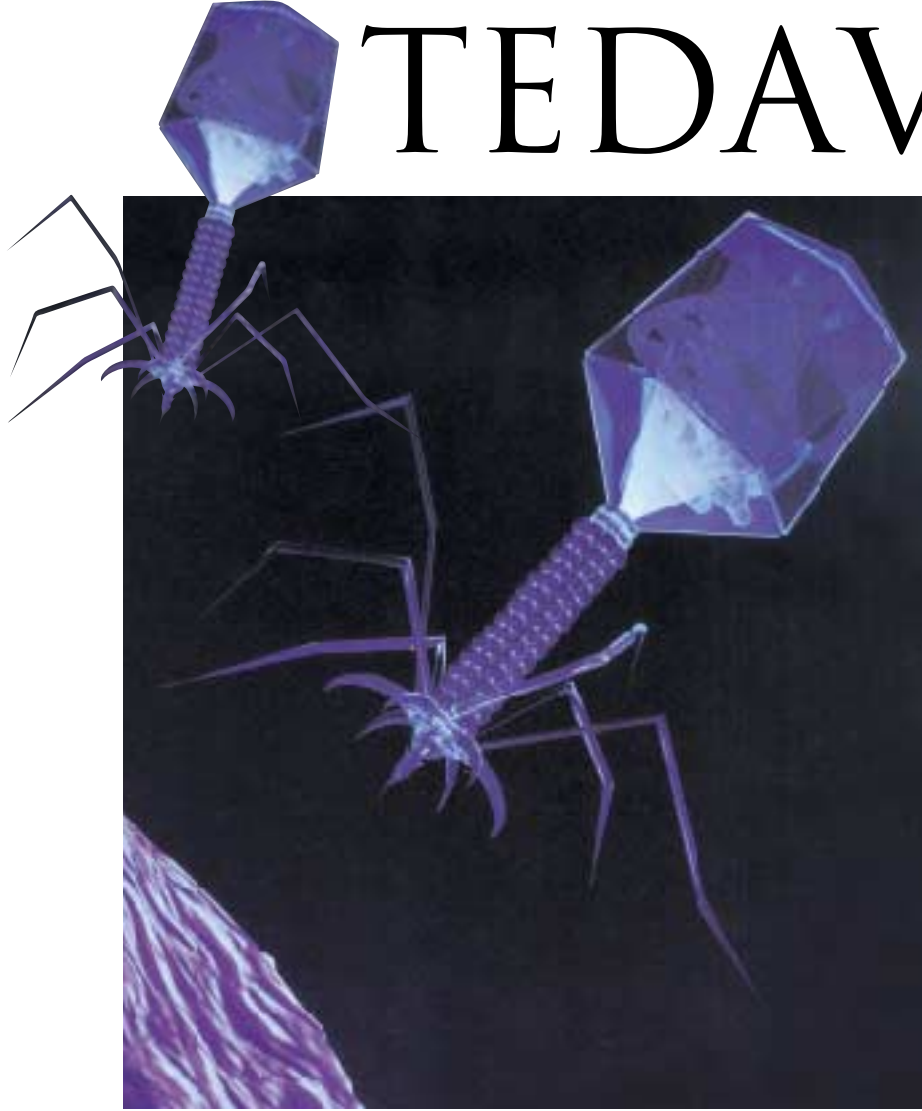


BAKTERİYOFAJ TEDAVİSİ



Bakterilerin antibiyotiklere karşı giderek daha da direnç kazandığı, son çare olarak uygulanan antibiyotiklerin bile işe yaramamaya başladığı günümüzde, tıp dünyası alternatif tedavi arayışları içinde. Bu arayışa, bakterilere saldırarak kendi DNA'larını bakteriye aktaran ve burada çoğalarak, onların parçalanıp ölmesine neden olan bakteriyofajlar, cevap olmaya başlıyor. Aslında, bakteriyofajlarla tedavi hiç de yeni değil. Uygulamalar, Stalin döneminde Rusya'da başlamış. Ancak, penisilin icadıyla başlayan antibiyotik devrinde batının küçümsediği bu yöntem, şimdilerde yeniden rağbet var. Özellikle de ilaçlara dirençli mikroplar ve tedavisi zor enfeksiyonlara karşı.

Gürcistan'daki hastanelerde uygulanan bazı tedavi yöntemleri (iltihaplı derin yatak yaraları olan ya da ciddi radyasyon yanığı olan hastalara uygulanan tedaviler gibi) ABD ve Batı Avrupa hastanelerinde yok. Antibiyotiklerin pek de işe yaramadığı böyle olgularda, Sovyetler Birliği'nin bir mirası imdada yetişiyor ve bakterilerin doğal düşmanını ortama salıveriyor. Doktorlar, deri benzeri bir maddeden yapılmış bez parçalarını, açık yaraların üzerine yerleştiriyorlar. Bu bez parçaları bakteriyofajla aşılanmışlar ve çevreye zarar vermeden doğada çözünebiliyorlar. Kısa bir süre önce Gürcistan'da satışa da sunulan bu bezlerle yapılan tedavi türünün, batı dünyasının bakteriyel enfeksiyon-

ları tedavisinde bir devrimin habercisi olduğu söylenebilir. Gürcistan'daki doktorlar tarafından yıllardır kullanılan bu tedavi şeklinde, bakterilerin hücre sistemini ele geçirerek onları öldüren bakteriyofajlar başrol oyuncusu. Aslında, bakteriyofaj ya da fajlar, batılı doktorlarca da yüzyıllardır biliniyor, ancak, antibiyotiklerden oluşan büyük bir cephanelik ele geçince, fajlara fazla itibar gösterilmemiş. Antibiyotik direncinin artmasıyla, bu virüslere olan ilgi yeniden canlandı. Bilimadamları fajları geliştirmekte başarılı olabilirlerse, pek çok enfeksiyon hastalığına karşı tedavi seçeneği doğabilir.

Fajların, bakterilerin dış yüzeylerine bağlandıkları ve kendi DNA'larını

bakterilere enjekte ettikleri biliniyor. Bakteri, bu yabancı DNA'nın kölesi gibi davranmaya başlayarak faj proteinleri ve daha fazla DNA ürettiyor. Bu birliktelik, yeni fajların oluşumuna ve bakterinin yok olmasına neden oluyor. Fajları üretmekse oldukça kolay. Atık sulardan deniz suyuna kadar, bakterilerin olduğu her yerde bol miktarda bulunuyorlar ve her biri yaşamını farklı türler üzerinden devam ettiren, milyonlarca faj çeşidi var. Mikrobiyologlar önceleri faj elde etmek için süzülmuş atık suyunu laboratuvarlarındaki bakterilerle karıştırıyorlardı. Ertesi gün, hangi tür bakteri kullanıldıysa ona karşı etkili olan, bir sürü faj elde edilmiş oluyordu.

Tarihçe

Fajların varlığı, ilk olarak 1896 yılında farkedildi. İngiliz bilimadamı E. Hanbury Hankin, *Vibrio cholerae* bakterisinin Ganj Nehri suyunda öldüğünü gördü. Su kaynatıldığında, bu özelliğini yitiriyordu. Bu durum, bu olaya canlı bir varlığın neden olduğu düşüncesini doğurdu. Hankin, nehir suyundan içenlerin, o zamanlar şiddetle devam eden kolera salgınından daha az etkilenmelerini de buna bağladı. Çok geçmeden, 1915 yılında, İngiliz bakteriolog Frederick Twort, bir şekilde bakterileri öldüren ultramikroskopik bir virüs tanımladı. Ancak bu tanımlamayı dünyaya duyuran, Paris'te Pasteur Enstitüsü'nde çalışan Kanadalı mikrobiyolog Felix D'Hérelle oldu. Twort'la aynı sonuca varan D'Hérelle, 1916'da dizanteri hastalarının dışkısından bir "anti-Shiga" mikrobunu ayırdıktan ve bunu hastalığa neden olan bakterinin içinde yetiştirdikten sonra, bu virüsü "bakteriyofaj" olarak adlandırdı. D'Hérelle, bu şekilde, bakteriyofajların hastalıkları tedavi edici yönünü keşfeden ilk kişiydi. 1919'da çalışma arkadaşlarıyla birlikte, dizanteriden neredeyse ölmek üzere olan 12 yaşında bir çocuk için, bir faj preparatı hazırladılar ve kullanmayı düşündükleri dozun güvenilirliğini kontrol etmek amacıyla, preparattan yüzlerce defa kendileri de içtiler. Daha sonra, hazırladıkları sulandırılmış dozdan içen çocuk, birkaç gün içinde tümüyle iyileşti. Bu ilk başarısının ardından D'Hérelle, tüm dünyada faj tedavisi denemelerinin yapılmasına yardımcı oldu. Kasabalara, köylere giderek, hastalıkları kendi kendilerine at-



Gürcistan'lı doktorlar, bu adamın vücudundaki radyasyon yanıklarını, bakteriyofajlarla aşılansız bez parçalarıyla kapatarak tedavi etmişler.

latan insanları gözledi ve bu insanlardan elde ettiği fajları laboratuvarında yetiştirdi.

Bu yeni tedavi şeklinin ünü giderek yayıldı ve kısa zamanda fajlara, pek çok enfeksiyon hastalığında çare olan "mucize" gözüyle bakılmaya başlandı. Pek çok ilaç devi ve girişimci, faj işine hücum etti. Hazırlanan fajlar ağızdan alınabiliyor, belli bir bölgeye uygulanabiliyor, sprey tüplerinde, lavmanlarda kullanılabilir ya da enjekte edilebiliyordu. Ancak, tifo, kolera, idrar yolları enfeksiyonları ve diğer birçok hastalığı tedavi etmede kullanılan bu fajların kalite kontrolleri çok sağlıklı yapılmadığından, alınan sonuçlar da her zaman iyi olmuyordu. Ayrıca, fajlar ve bakteriler hakkında çok fazla şey bilinmediğinden, tedavisine çalışılan enfeksiyona uygun olmayan fajlar kullanılabiliriyordu. Ürünler yeterince saflaştırılmıyor ve fajların iyi durumda olduğu, çok seyrek olarak test ediliyordu. Bu yüzden karışımlar bazı hastalara iyi gelse de, çoğunu hiç etkilemiyordu. Bu sonuçlar

karşısında, Amerikan Tıp Derneği tarafından hazırlanan rapor, fajların yararlı olduğuna ilişkin kanıtların tutarsız olduğu şeklindeydi. Ardından, 1928 yılında, Alexander Fleming'in penisilin adını verdiği, bakterilerin çoğalmasını engelleyen maddeyi farketmesiyle, antibiyotik çağı başladı. Böylece bakterilere karşı faj kullanımı batı dünyası için önemini yitirdi. Ancak, doğudaki faj tedavilerinin gelişiminin farklı bir hikayesi var.

Paris'te D'Hérelle'le birlikte çalışan Gürcistanlı mikrobiyolog George Eliava, 1923 yılında Tiflis'te bir enstitü kurdu ve fajları incelemeye devam etti. 1933 yılında D'Hérelle'in de Tiflis'e gelmesiyle Eliava'nın faj programı büyük destek aldı. 1940'lı yıllarda, kangrendeki gibi anaerobik enfeksiyonlara karşı fajlar geliştirdiler. Sovyet ordusu, çoğu Rusya'da üretilen faj preparatlarının, belki de en büyük tüketicisiydi. Antibiyotikler pahalıyken, fajlar oldukça ucuzdu. Sovyetler Birliği'nin çöküşünden sonra da, ordunun fajlara olan ilgisi azalmadı. 1990'ların başlarında, iç savaş boyunca, Abhazya bölgesinde savaşan askerler, beş mikroba karşı faj içeren sprey kutuları taşıdılar: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pyogenes* ve *Proteus vulgaris*. Faj preparatları pek çok Rus kentinde antibiyotiklerin yanı sıra temin edilebiliyordu. Bazı kasabalardaysa, çok seyrek olarak antibiyotik kullanılıyor, tedaviler genelde fajlarla yapılıyordu. 1991'de Sovyetler Birliği'nin dağılmasıyla Eliava Enstitüsü, bağımsızlığını kazanan Gürcistan'da, iç pazara faj üretmeye devam etti. Bu sayede gelecekler korundu. Şu anda hâlâ Gürcis-



Fajlar ilk keşfedildiği yer olan Ganj Nehri suyundan içenlerin kolera salgınından daha az etkilenmelerinin nedeni, suda bulunan fajlara bağlanıştı.

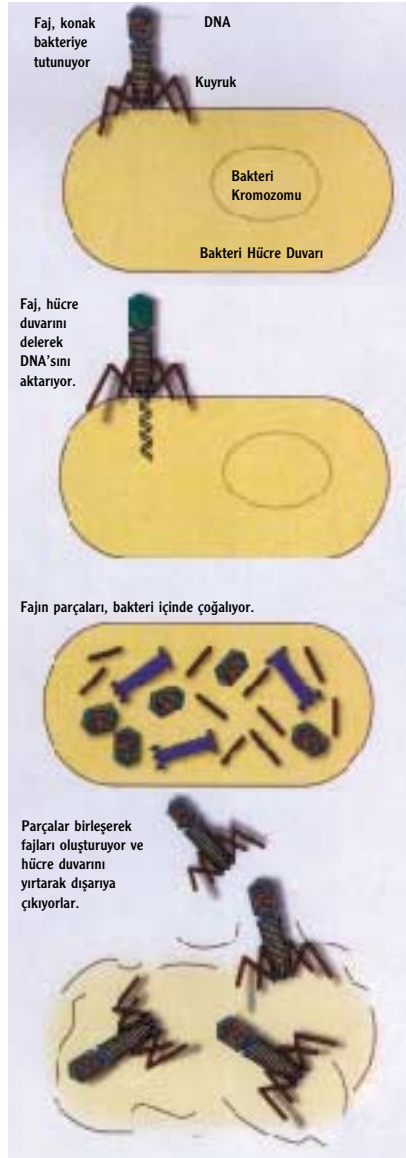
tan hastanelerinde, genelde bağırsak enfeksiyonları ve irinli yaralarda başarıyla kullanılan fajlar üretiliyor. Tiflis'te, 70 yıllık deneyimi sayesinde, faj tedavisini öğrenmek isteyenlerin uğrak yeri.

Eliava'yla birlikte Doğu Avrupa'da da faj merkezleri açılmıştı. Tedavilerin etkinliği üzerine en önemli bilgi, Polonya'daki bir enstitüye ait. Buradaki araştırmacılar 1980 ortalarında, 500'den fazla bakteriyel enfeksiyonlu hastayı başarıyla tedavi ettiklerini belirten ayrıntılı bir rapor derlemişler.

Avantajlar

Pek çok antibiyotiğin aksine fajlar, yalnızca belli bakteri türlerine saldırıyorlar. Kuyruk kısımlarında bulunan ve adhesin denilen enzimler, bakterinin yüzeyindeki türe özgü moleküllerle etkileşime giriyorlar. Bu, fajların yararlı bakterilere çok az zarar verdiği anlamına geliyor; bir mikrop topluluğundaki küçük bir grubun tümünü öldürürken, geride kalanları sapsağlam bırakabiliyor. Oysa antibiyotikler, yararlı zararlı ayırtadılmadan grupların büyük bir kısmını yok ediyorlar. Antibiyotiklerin etkisi, alındıktan sonra zamanla azalıyor. Fajlarsa, hızla ve sürekli çoğalarak, sayıca üstün duruma geliyor ve bakteri ölene kadar çoğalmaya devam ediyorlar. Kendi üremelerini de kontrol edebilen fajların işi bittiğinde, yani zararlı bakteriler öldüğünde, kendileri de ölmeye başlıyor. Fajların alerjiye neden olmamaları, çok az yan etkilerinin olması, üretimlerinin ucuz ve kolay olması da diğer artlarından. Çünkü doğa, fajları kolayca üretiyor. Dünya üzerinde 10^{32} faz olduğu sanılıyor. Fajlar, kemik enfeksiyonları ya da şeker hastalığından kaynaklanan yaralar gibi, az miktarda kan akışı olan bölgesel enfeksiyonlarda özellikle yararlılar. Antibiyotikler bu bölgelere ulaşmazken, fajlar çoğaldıkları ve bakteri topluluklarına doğru yayıldıkları için enfekte bölgeye nüfuz edebiliyorlar.

Bu özelliklerinden dolayı, Gürcistan'da bazı doktorlar fajları tamamen antibiyotiklerin yerine kullanıyorlar. Örneğin Eliava Enstitüsü'nün başkanı Zemphira Alavidze, çocuklarının yaşamları boyunca hiç antibiyotik kullanmadığını söylüyor. Alavidze, fajların ne kadar etkili olduğunu ve yan etkileri



ninse olmadığını bildiği için, çocuklarını yalnızca fajlarla tedavi etmiş. Fajlar, 1996 yılında Eliava Enstitüsü doktorlarının, bir şeker hastasının ağır ayak yaralarını tedavi edişlerine tanık olan, mikrobiyolog Elizabeth Kutter'ı çok etkilemiş. Amerika'da gerçek bir şeker hastalığından kaynaklanan ayak yarası tedavisi olmadığını söyleyen Kutter, ülkesine döndüğünde, bu alandaki araştırmaları desteklemek ve ilerletmek için, kâr amacı gütmeyen bir vakıf kurmuş.

Tüm bunlara karşın, Batı'da, fajların gücünün abartıldığını düşünen kuşku bilimadamları da var. Texas Üniversitesi'nden biyolog James Bull, fajların nerelerde etkili olduğu, nerelerde işe yaramadığı ve bunların nedenlerinin objektif olarak yapılacak çok sayıda çalışmayla keşfedilmesi gerektiğini söylüyor.

Güçlükler

Elbette fajların da bazı sakıncaları var. Tedavide doğru fajın kullanılması için, bakteriyel enfeksiyonun doğru tanımlanması gerekiyor. Bu da hastanın 48 saat beklemesi anlamına geliyor. Bu duruma kısmen etkili bir çözüm, birkaç olası bakteriye karşı, farklı fajlardan oluşan bir karışım hazırlamak. Örneğin, Eliava Enstitüsü'nde yara enfeksiyonlarına karşı hazırlanan faj tedavisi, *pseudomonas*, *Escherichia coli*, *streptococcus* ve *staphylococcus* gibi alışılmış şüphelileri hedef alacak fajları içeriyor. Böylece, enfeksiyona neden olan bakteri hangisiyse, ona karşı gelecek faj devreye giriyor.

Bakterilerin, fajlara karşı direnç geliştirmeleri de mümkün. Ancak, antibiyotiklerin aksine fajlar, mutasyona uğrayıp, direnç geliştirmiş bakteriyle tekrar savaşabiliyorlar. Fajlar bu amaca yönelik olarak yavaş yavaş gelişirken, antibiyotikler hiç gelişme göstermiyorlar. Bu durumda da yine faj karışımları kullanmak etkili olabilir. Eğer bir bakteri, kullanılan fajlardan birine direnç geliştirmeye başlarsa, diğer fajlar harekete geçer. Ayrıca, direnç geliştirilen fajın yerine, bir hafta içinde, kültürde öldürücü etkisini kaybetmeyen fajlar seçilerek, yeni bir faj çeşidi üretilebilir. Yani, fajlara karşı dirençle başa çıkmak, ilaçlara karşı dirençle başa çıkmaktan çok daha kolay.

Ancak, bunlardan daha kötü bir sorun var. Bilinen iki farklı türden biri olan "litik" fajlar, enfekte ettikleri bir bakteriye DNA'larını enjekte ediyor ve bakterinin hücre duvarı parçalanıp, bakteri ölünceye kadar çılgınca çoğalıyorlar. Öldürme mekanizması tüm fajlarda aynı. Ancak, yalnızca litik fajlar tedavide kullanılmaya uygunlar. Diğer fajlarsa bakterilerle simbiyotik bir ilişkisi var. Yani, konakları olan bakterinin DNA'sının yönetimini ele geçirip onu öldürmektense, kendi DNA'larını bakterinin DNA'sına katıyorlar. DNA'ları tekrar serbest hale geldiğinde üremeye başlasalar da, bazen bakteri DNA'sının bir kısmını da alıyorlar. Bu durumda faj, bakteriyi diğer fajların saldırısından korur hale geliyor ve hastalık yapıcı mikroplara yardımcı oluyor: difteri, kolera gibi hastalıklara yol açan bakterilerin salgıladığı toksinlerin genlerini taşıyabiliyor. Fajlar, kendi

DNA'larına kattıkları, antibiyotiklere karşı dirençli ya da toksinli genleri kendi bünyelerine bu şekilde alıp, bunları başka konaklara da taşıyabiliyorlar.

Fajların bu olumsuzlukları üzerinde daha fazla çalışma yapılmadan, Gürcistan'da kullanılan standart faj tedavilerinin, Avrupa ve ABD'de lisans alamayacağı belirtiliyor. Faj tedavilerinin batıdaki geleceği, ticari kuruluşların, iyi tanımlanmış fajların kullanıldığı klinik denemelerine yatırım yapmalarına bağlı. Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi de büyük olasılıkla lisans başvurusunda bulunan şirketlerden, kullanmak istedikleri fajların litik olduğunu garanti etmesini isteyecek.

En Son Gelişmeler

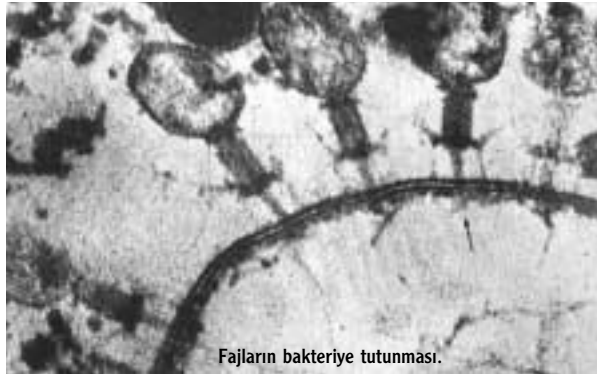
Bu belirsizliğe karşın, pek çok biyoteknoloji firması ısrarlı davranıyor. Örneğin Intralytix firması, Gürcistanlı öncülerle ortaklaşa çalışarak yapay deriler geliştiriyor. Fajlarla aşılana bu yapay deriler, yavaş salınımlı, çevreye zarar vermeden toprakta çözünebilen bir polimer ve bir antibiyotik içeriyor. Intralytix, ABD'de ürünün denemelerini yapmayı planlıyor. Şirket yetkilileri kullanılan fajların, üç farklı bakteriyel enfeksiyona karşı etkili olduğunu söylüyorlar.

GangaGen adlı başka bir firma, daha sonraki faj tedavilerini güçleştiren antikorların oluşumuna daha az neden olan fajlar geliştiriyor. Firmanın kullandığı tekniğin ayrıntıları bilinmesede, yaklaşık 400 fajdan oluşan bir kütüphanesinin olduğu, bunların çoğunun hastane atık sularından elde edildiği ve bu fajların genelde hastanelerde antibiyotik dirençli enfeksiyonlara neden olan bakterilere karşı etkili olduğu biliniyor. Klinik deneyler için en güçlü aday, yanık ve yara enfeksiyonlarına neden olan *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı etkili olan faj.

Exponential Biotherapy firmasıysa, bağışıklık sisteminin farklı bir dalına odaklanmış. Makrofaj olarak bilinen hücrelerin, faj boyundaki parçacıkları temizlediği biliniyor. Firmanın yapmaya çalıştığı şey, makrofajlara daha az göründükleri için, vücutta daha uzun süre dayanan fajlar geliştirmek. Firmanın elinde birkaç uzun ömürlü faj var. Ancak pek çoğundaki değişimden so-

rumlu mutasyonu henüz teşhis edememişler. Firmanın hayvanlar üzerinde yaptığı çalışmalar da umut verici; ancak, bazı bilimadamlarına göre, farelerde fajların bağışıklık sisteminin temizliğinden kurtulmasına yardım eden mutasyon, insanlarda aynı etkiyi göstermeyebilir.

Exponential'ın başlıca ürünü, *Enterococcus faecium*'a karşı bir faj. Firma, fajın güvenlik testlerini sağlıklı gönüllüler üzerinde denemiş. Etkinlik denemelerineyse, bu yılın sonlarına doğru başlamayı planlıyor. Bu denemeler, son çare antibiyotiği vankomisine dirençli olan *E. faecium*'un neden olduğu kan ve deri enfeksiyonlarının, ciddi boyutlara vardığı hastalar üzerinde uygulanacak. Diğer şirketlerse Exponential'i yakından izliyorlar; çünkü onun deneyimleri, insan hastalıklarına karşı ilk faj tedavilerinin pazara nasıl yayıldığını gös-



Fajların bakteriyeye tutunması.

terecek. Belki de faj tedavileri batıda tekrar karanlığa gömülecek. Antibiyotiklere bir alternatif bulmak bir zorunluluk da olsa, fajların dünyamıza girip giremeyeceğini zamanla izleyip göreceğiz.

Exponential'ın tekniği, moleküler biyolog Carl Merrill'in 1960'dan beri fajlar üzerinde çalıştığı, Ulusal Sağlık Enstitüsü'nden alınmış. Merrill'in ekibi fajlara daha geniş bir kullanım alanı yaratmak için, saldırabilecekleri bakteri türlerinin sayısını artırmaya çalışıyor. Bu araştırmacılar, kısa süre önce *E. coli*'nin iki ayrı türüne saldırabilecek bir fajın genotipini belirlediler. Merrill'in ekibi şimdi başka faj türlerini, daha fazla adhesin üretmeleri ve böylece, kendilerine konak olarak seçebilecekleri bakterilerin sayısını artırmaları için değiştirmeye çalışıyor.

Ekip aynı zamanda, hastanın enfekte olduğu bakterinin belirlenmesi için gereken, 48 saatlik bekleme süresi so-

rununu aşmak için, genetik mühendisliğinden yararlanıyor. Araştırmacılar, ışık saçan canlılarda bulunan lusiferaz enzimi genlerini taşıyan fajlar üretmişler. Bu fajlar, kendi konak bakterileriyle karşılaştıklarında ve çoğalmaya başladıklarında birkaç saat içinde ışık saçmaya başlıyorlar. Böylece, gereken faj hızla belirlenmiş oluyor. Bunun için, belirtileri birbirine benzeyen farklı hastalıklara neden olan bakterilere saldıran çeşitli faj türleri, bir araya getiriliyor. Daha sonra, örneğin zatürre olduğundan kuşkulanan bir hastanın balgamından örnek alınıyor ve bu örnek işe yarayabilecek fajlar üzerinde deniyor. Birkaç saat içinde üremeye başlayan, yani tedavi için uygun faj, ışık saçmaya başlayarak kendini belli ediyor. Bu teknik, başka araştırmacılarca, bakteriyel enfeksiyonların bir an önce teşhis edilerek, geleneksel tedavi yöntemlerine hızla başlanması amacıyla da kullanılıyor.

Bu tür gelişmeler sayesinde, yakın gelecekte faj tedavisi standart tedavi şekli olabilecek mi, göreceğiz. Artık teknolojik ve bilimsel gelişmeler, doğru fajları doğru miktarda kullanmayı, daha verimli olmaları için onları işlemeyi, zararlı genler taşımadıklarından emin olabilmeyi mümkün kılıyor. Ancak, yasal olarak kabul görmesi ve bilimsel açıdan kesinlik kazanması dışında faj tedavisinin önünde bir engel daha var: Toplumun bu tedavi şeklini kabullenmesi. Çünkü, virüs deyince insanların kafasında soru işareti oluşuyor. Ancak aşuların da virüslerden yapıldığı hatırlanmalı. Eğer tedavi amaçlı kullanılmaları gerekiyorsa, bunu kabullenmeli ve modern bilimsel yöntemleri kullanarak onların güvenilir olduğundan emin olmamız gerekiyor. Çünkü, Intralytix firmasından Sulakvelidze'nin söylediği gibi, "Yarım yüzyıllık antibiyotik kullanımının bizlere öğrettiği bir şey var: Bakterilere karşı savaş kazanmanın gerçekten çok zor olduğu. Ancak fajlarla, ekolojik dengeyi kendi yararımıza döndürmeyi deneyebiliriz."

Meltem Yenal Coşkun

Kaynaklar:
Wilson, C., "Set a Bug to Catch a Bug", NewScientist, Nisan 2003
Stone, R., "Stalin's Forgotten Cure", Science, 25 Ekim 2002