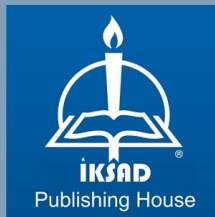
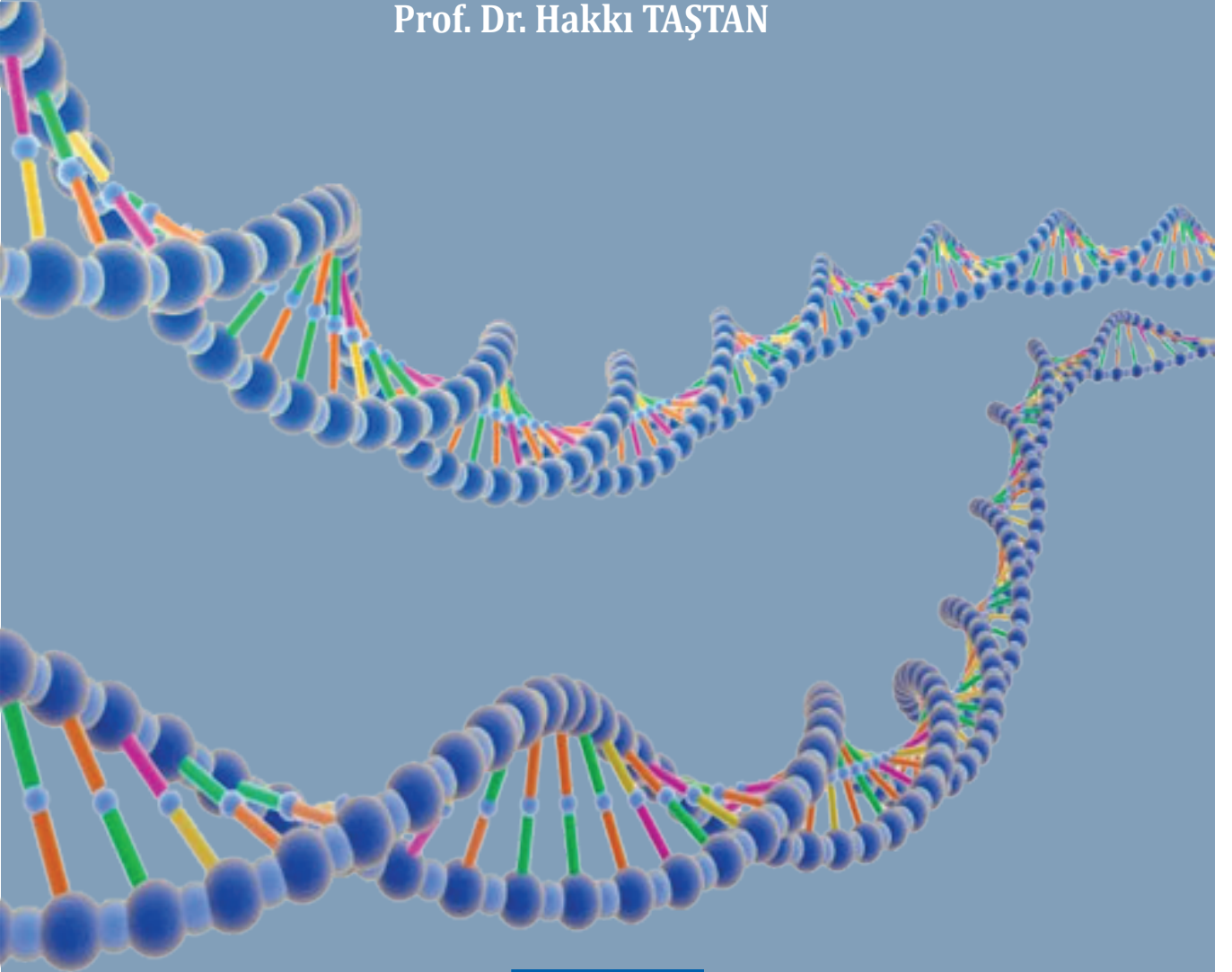


MOLEKÜLER BİYOLOJİDE YENİ KONULAR

EDİTÖR
Prof. Dr. Hakkı TAŞTAN



MOLEKÜLER BİYOLOJİDE YENİ KONULAR

EDİTÖR

Prof. Dr. Hakkı TAŞTAN

YAZARLAR

Prof. Dr. Erkan YILMAZ

Prof. Dr. Esra KÜPELİ AKKOL

Prof. Dr. Hakkı TAŞTAN

Doç. Dr. Arzu ATALAY

Doç. Dr. Duygu DUMAN

Doç. Dr. Mustafa Türker DUMAN

Dr. Öğr. Üyesi Esra GÖKÇE GÜNDÜZER

Dr. Öğr. Üyesi Betül AYDIN

Dr. Öğr. Üyesi Fahriye ÖCAL ÖZDAMAR

Dr. Öğr. Üyesi Gökçen BAYSAL FURTANA

Dr. Öğr. Üyesi Tuğba GÜNBATAN

Arş. Gör. Dr. Çiğdem DÖNMEZ

Biyolog Dr. Aynur IŞIK

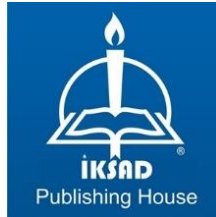
Arş. Gör. Büşra KARPUZ AĞÖREN

Biyolog Ayşe Gökçe ERMAN KILINÇ

Biyolog Bilgehan MİLLİDERE

Biyolog İlayda ENGİN

Ecz. Rümeysa DOĞAN



Copyright © 2023 by iksad publishing house
All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, distributed or
transmitted in any form or by
any means, including photocopying, recording or other electronic or mechanical
methods, without the prior written permission of the publisher,
except in the case of
brief quotations embodied in critical reviews and certain other
noncommercial uses permitted by copyright law. Institution of Economic
Development and Social
Researches Publications®
(The Licence Number of Publicator: 2014/31220)
TÜRKİYE TR: +90 342 606 06 75
USA: +1 631 685 0 853
E mail: iksadyayinevi@gmail.com
www.iksadyayinevi.com

It is responsibility of the author to abide by the publishing ethics rules.

Iksad Publications – 2023©
ISBN: 978-625-367-439-7
Cover Design: İbrahim KAYA
November / 2023
Ankara / Türkiye
Size = 16 x 24 cm

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	1
BÖLÜM 1 TIBBİ BİTKİ TEŞHİSİNDE MOLEKÜLER BİYOLOJİNİN ÖNEMİ: MOLEKÜLER FARMAKOĞNOZİ UYGULAMALARI Arş. Gör. Büşra KARPUZ AĞÖREN Prof. Dr. Esra KÜPELİ AKKOL.....	3
BÖLÜM 2 KÖK HÜCRE BİYOLOJİSİNDE GELİŞEN MOLEKÜLER YAKLAŞIMLAR Dr. Öğr. Üyesi Esra GÖKÇE GÜNDÜZER.....	17
BÖLÜM 3 DOĞAL KAYNAKLI SARS-COV-2 TEMEL PROTEAZ İNHİBİTÖRLERİ: COVID-19 TEDAVİSİNDE MOLEKÜLER YAKLAŞIMLAR Dr. Öğr. Üyesi Tuğba GÜNBATAN.....	39
BÖLÜM 4 BÜYÜK DOKU UYGUNLUK KOMPLEKSİ VE HLA GENLERİ Doç. Dr. Mustafa Türker DUMAN.....	55
BÖLÜM 5 KANSER HEDEFLİ TEDAVİLERİNDE ANTİKOR-İLAÇ KONJUGATLARININ GELİŞTİRİLMESİ VE KULLANIMI Ecz. Rümeysa DOĞAN Doç. Dr. Arzu ATALAY.....	69
BÖLÜM 6 DİFFÜZ MİDE KANSERLERİNİN MOLEKÜLER TEMELLERİ Biyolog Dr. Aynur IŞIK Prof. Dr. Hakkı TAŞTAN.....	105
BÖLÜM 7 KANSER TEDAVİSİNDE RNA İNTERFERAZIN UYGULANABİLİRLİĞİ: GÜNCEL DURUM Arş. Gör. Dr. Çiğdem DÖNMEZ.....	119

BÖLÜM 8

MOLEKÜLER BİYOLOJİDE BİYOİNFORMATİK VE OMİK TEKNOLOJİLERİ

Biyolog Bilgehan MİLLİDERE.....137

BÖLÜM 9

METAGENOMİKS ALANINDAKİ GELİŞMELER: MİKROBİYAL ÇEŞİTLİLİĞİN VE İŞLEVSEL YAKLAŞIMLARIN ANLAŞILMASI

Dr. Öğr. Üyesi Betül AYDIN.....159

BÖLÜM 10

İŞİTME KAYBI GENETİĞİ

Doç. Dr. Duygu DUMAN.....183

BÖLÜM 11

İMMÜNOTERAPİ İÇİN GELİŞTİRİLEN ANTİKORLAR

Biyolog İlayda ENGİN

Biyolog Ayşe Gökçe ERMAN KILINÇ

Prof. Dr. Erkan YILMAZ.....203

BÖLÜM 12

HALOFİTLERİN MOLEKÜLER ADAPTASYONU

Dr. Öğr. Üyesi Gökçen BAYSAL FURTANA

Dr. Öğr. Üyesi Fahriye ÖCAL ÖZDAMAR.....225

BÖLÜM 5

KANSER HEDEFLİ TEDAVİLERİNDE ANTİKOR-İLAÇ KONJUGATLARININ GELİŞTİRİLMESİ VE KULLANIMI

Ecz. Rümeysa DOĞAN¹,
Doç. Dr. Arzu ATALAY^{2,*}

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.10251372>

¹ Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara, Türkiye

² Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara, Türkiye ORCID: 0000-0003-1309-5291, aatalay@ankara.edu.tr

*Sorumlu Yazar

Kısaltmalar:

ADC: Antikor-ilaç konjugatı (Antibody-drug conjugate)

ADCC: Antikor bağımlı hücre aracılı sitotoksosite (Antibody-dependent cell mediated cytotoxicity)

CDC: Kompleman bağımlı sitotoksosite (Complement-dependent cytotoxicity)

DAR: İlaç-antikor oranı (Drug-Antibody Ratio)

IgG: Immünglobulin G

mAb: Monoklonal antikor (Monoclonal antibody)

mTNBC: Metastatik üçlü negatif meme kanseri (Metastatic triple negative breast cancer)

NSCLC: Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (Non small cell lung carcinoma)

T-DM1: Trastuzumab emtasine

Kanser, hücre bölünmesinin normal kurallarının dışına çıkarak kontrolsüz büyüme ve çoğalma gösteren hücreler ile karakterize, genetik ve çevresel koşulların etkisi altında olan çok faktörlü bir hastalıktır. Kanser patofizyolojisinin karmaşıklığı uygun ve etkin tedavi seçenekleri geliştirilmesini zorlaştırmaktadır. 2020 yılında dünyada yaklaşık olarak 10 milyon insan kanser sebebiyle ölmüştür (1). Bu da kanseri dünya çapında ikinci önde gelen ölüm sebebi olarak kayıtlara geçirmiştir (2).

Kanser tedavilerinde kullanılan sitotoksik ajanların sağlıklı hücreler üzerindeki etkileri, özellikle kanser hücrelerini hedefleyen özel moleküllerin geliştirilmesi, hedefli ilaç dağıtım sistemlerinin kullanılması ile önemli ölçüde azaltılabilir (3). Kanser hücrelerine ulaşan sitotoksik bir ajanın konsantrasyonu, normal vücut hücrelerine ulaşana kıyasla artırılabilirse kanser hücrelerinin seçici olarak öldürülmesi ve böylelikle daha az yan etki ile etkin bir tedavi gerçekleştirilebilmesi sağlanabilir. Bu amaç doğrultusunda geliştirilmiş olan

birçok “hedefe yönelik terapi” yaklaşımı mevcuttur. Bu terapiler, kanser hücrelerinin çoğalması için önemli olan moleküler hedeflere, yolaklara ve normal hücrelerden farklı olarak kanser hücrelerinde ifade edilen spesifik molekülere müdahale etmeye çalışır. Bu hedefler tercihen tümör hücrelerinin yüzeyinde veya hücre içinde ifade edilir. Böylelikle hedefli terapi, tümör hücrelerine seçicilikle bağlanan sitotoksik ajanlar üretme potansiyeli sunar, konakçıya daha düşük toksisite ile birleşerek daha büyük bir terapötik indeks kazandırır (4). Bu doğrultuda geliştirilmiş terapilerden biri de antikor-ilaç konjugatlarıdır.

Antikor-ilaç konjugatları (ADCs), bir bağlayıcı ile konjuge edilmiş monoklonal antikorun sitotoksik bir reaktif/yük ile birleştirilmesinden meydana gelmektedir (5). Antikor tabanlı hedefli bir tedavi şekli olan antikor-ilaç konjugatları, antikanser ilaçların minimum etkili dozunu (MED) azaltarak ve/veya maksimum tolere edilen dozu (MTD) arttırarak dar terapötik pencerelerini genişletme ve sınırlı klinik kullanımlarını değiştirme amacıyla antikorları kullanır. ADC tasarımında kullanılan kanser hücresine spesifik antikorlarla ilacın hedefleme kabiliyeti arttırılmaya çalışılır (4). Böylelikle sitotoksik ilaçların sağlıklı hücrelere verdiği zarar en aza indirilip daha etkin tedavi geliştirilmeye çalışılır.

ANTİKOR-İLAÇ KONJUGATLARININ TEMEL ÖZELLİKLERİ

Antikor-ilaç konjugatları, **antikor**, **sitotoksik yük** (payload) ve **bağlayıcı** olmak üzere üç ana birimden oluşmaktadır. ADC’lerin ortaya atıldığı ilk tarihten itibaren bu tasarım sabit kalmış, bileşenlerin içeriği değişiklik göstermiştir. Değişen bileşenler son ürünün farmakolojik ve klinik özelliklerini değiştirmektedir. İdeal ADC arayışı da bu bileşenlerdeki değişiklikler ve geliştirmeler sağlanarak gerçekleştirilmektedir. Teorik olarak ideal bir ADC, tümörle ilişkili bir antijene spesifik ve uzun yarı ömre sahip bir monoklonal antikor, kan dolaşımında stabil olan ancak hedef bölgede kolayca bölünebilen, uygun konjugasyona izin veren bir bağlayıcı ve hücreye internalize olduktan sonra yükün konjugattan ayrımını gerçekleştirip hedef hücre ölümünü indükleyen yüksek toksik bir yükün kombinasyonuna dayanır (6).

Antikor-ilaç konjugatları tasarımında yapıdaki her bir bileşenin tasarımı ve seçimi önem teşkil etmektedir. Hedef antijen ve özgül antikor, sitotoksik

yük, bağlayıcı, konjugasyon kimyası ve ilaç-antikor oranı (DAR) gibi parametreler karmaşık geliştirme süreçlerine sahip olan ADC'lerin optimizasyonunda rol oynayan kritik faktörler olarak karşımıza çıkmaktadır.

Antikor

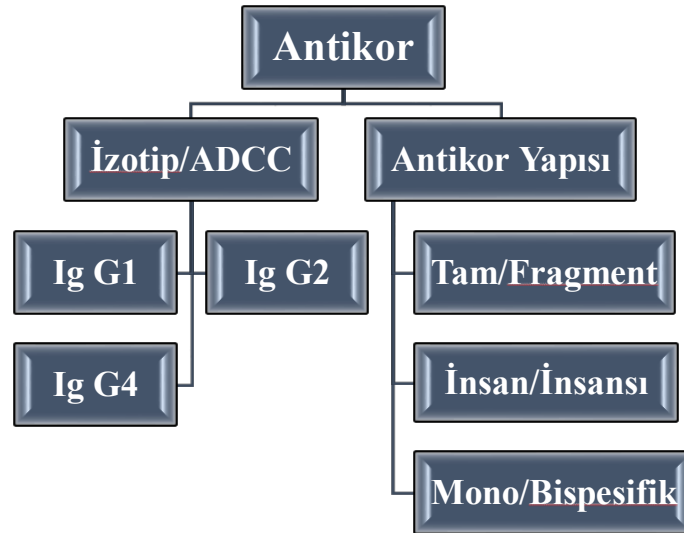
Başarılı bir ADC tasarımının ilk ve en önemli adımı antikor tarafından hedeflenecek uygun antijendir. Antijenin tasarımında dikkat edilecek en önemli kriter, hedef antijenin kanser hücrelerinde yüksek oranda ifade edilip sağlıklı hücrelerde çok az ya da hiç ifade edilmemesidir. Bu yüksek ifade oranının kanser hücreleri ile sınırlı olması hedeflenir. Eğer sağlıklı hücrelerde ifadesi bulunan bir antijen seçimi yapılacaksa, antijenin ifadesinin en azından ifadenin belirli bir doku tipi ile sınırlı olması istenir (7). İfadenin bu şekilde sınırlandırılması şartı, ADC'nin spesifik olmayan bağlanmalardan kaçınmasına ve normal hücrelere verilen zararın en aza indirilerek ADC'ler ile amaçlanan hedefli tedavinin gerçekleştirilmesindeki ilk adımı oluşturur. Preklinik ve klinik çalışmalarda, ADC tasarımı için hedef olarak seçilen , Non-Hodgkin lenfomaya karşı oluşturulan tedavilerde sıklıkla kullanılan CD19, CD20, CD22 gibi hücre yüzey belirteçleri, kolorektal kanserde CD326, meme kanserinde HER2, mesoteliomada mesotelin gibi birçok farklı antijen bu şartı sağlayan hedefler olarak karşımıza çıkar (8).

ADC geliştirilmesinde seçilecek antijenlerin hücre yüzeyinde konumlanması dolaşımdaki antikorlar tarafından hedeflenebilmesi için gerekli bir diğer kriterdir (9). Antijenin, ADC antikoru tarafından tanınmasının ardından uygun bir afiniteyle bağlanması makul bir tümör lokalizasyonu sağlayabilmek için gereklidir. Antijen antikor tarafından hedeflendikten sonra hücre içine internalize olabilme yeteneğine sahip olmalıdır. İnternalizasyon, antijen-ADC kompleksinin hücre içine girerek bileşenlerinden ayrılabilmesine ve etki yerine giderek hücre ölümünü indüklemesine imkân tanır. Fakat internalize olamayan ADC hedeflerinin varlığı bilinmektedir (10). Bu tip antijenlere özgü tasarlanan ADC'lerin güçlü bir seyirci-etkisi (Bystander effect) sayesinde hücreleri etkilediği, yüksek sistemik toksisite ve düşük etkinliğe neden olabilme riskine de sahip olduğuna dair bulgular mevcuttur (7).

ADC tasarımında, belirtilen özelliklere uygun olacak şekilde seçilen antijene karşı antikor geliştirilir. ADC'lerin mAb bileşeninden; hedef antijene özgül olması ve yüksek hedef bağlanma afinitesi göstermesi, immünojenisiteyi

minimal seviyede tutabilmek için insan, insansı ya da kimerik antikorların tercih edilmesi, düşük çapraz reaktivite sergilemesi, verimli internalizasyon özelliğine ve uzun bir dolaşım yarı ömrüne sahip olması istenir (11) .

Ayrıca bütün bir antikor ile ADC geliştirilebildiği gibi, efektör fonksiyonuna sahip olmayan fragment antikorlar kullanılarak da gelişen direnç mekanizmalarına karşı ADC tasarımları yapılabilmektedir (Şekil 1). Sadece Fab bölgesini bulunduran bu antikor fragmentleri (Fab'ler, scFv'ler vb.) antikorun yalnızca spesifik bir taşıyıcı olarak kullanılması temeline dayanır (12). Fragment antikorlar ADC oluşturulmasının yanı sıra bispesifik ya da paratropik antikorlar kullanılarak da antikorun hedefleme kabiliyetinin artırılması sağlanabilir (13). Bu bağlamda geliştirilen MEDI4276 isimli anti-HER2 biparatropik antikorundan oluşan antikor-ilaç konjugatı prelinik çalışmalarda oldukça etkili bulunmuştur (14). Tamamlanmış faz I-II klinik çalışması (NCT02576548) bulunan MEDI4276'nın, HER2 ifade eden meme ve mide kanseri hastalarında iki farklı epitopu hedefleyen yapısı sayesinde daha güçlü hedef yüzey kümelenmesi ile yüksek etkinlikte bir tedavi sağlayacağı düşünülmektedir.



Şekil 1. Antikor-ilaç konjugatı tasarımında antikor parametreleri

Onaylanan ve klinik çalışmalarda kullanılan ADC'lerin tümü insan immünoglobulin G moleküllerinden oluşmaktadır. IgG moleküllerinin 4 izotipi bulunmakla birlikte IgG1, IgG2 ve IgG4, ADC'lerin tasarımında sıklıkla tercih edilen tipleridir (15). IgG3, tümörü güçlü şekilde lizise uğratabilmesine karşın kısa serum yarı ömrü ve dolaşımdan hızlı şekilde temizlenme oranı nedeniyle ADC'lerin tasarımında tercih edilen bir izotip değildir. Genel olarak IgG1, IgG2 ve IgG4 molekülleri, hedef antijen için yüksek aviditeleri ve uzun serum yarı ömürleri nedeniyle tercih edilmektedir (15). Bu üç izotip içinden ise IgG2, monoklonal antikorun afinitesini ve internalizasyon potansiyelini geliştirme etkisi olduğu bilinen kovalent dimerler oluşturma yatkınlıkları nedeniyle; IgG1 ise immünoglobulin yapısındaki menteşe (hinge) bölgelerinin daha kolay indirgenerek konjugasyona izin verebilmesi nedeniyle sıklıkla tercih edilmektedir (16). Ayrıca, IgG izotipleri arasında değişen ikincil immün fonksiyonları harekete geçirme yetkinlikleri, seçilen izotipe göre farklı etkilere sahip ADC oluşumuna neden olur (17). IgG4 ve IgG2 izotiplerine kıyasla IgG1 ve IgG3 izotiplerinde ADCC ve CDC'nin etkilerinin çok daha güçlü olması da eklendiğinde ADC tasarımında sıklıkla tercih edilen immünoglobulin izotipi IgG1'dir.

Tüm bu özelliklerin ötesinde, ADC yaklaşımında antikorun kendisinin, fonksiyonel bir aktiviteye sahip olması gereklilik teşkil etmez (4). Klinikte kullanılan farklı formlar hastalara etkin tedaviler sunmaktadır. HER2 ifade eden ve meme kanseri tedavisinde klinikte sıklıkla kullanılan, FDA onaylı anti-HER2 monoklonal antikoru trastuzumab'ın, DM1 isimli maytansoid türevi bir sitotoksik ilaçla konjuge halde kullanıldığı ADC formu, trastuzumab emtansine (Kadcyla®) piyasada mevcuttur. Öte yandan FDA onaylı başka bir ADC olan ve çeşitli hastalıklarda etkili tedavi sunan brentuximab vedotin, anti-CD30 antikoru temelinde geliştirilmiş bir ADC'dir. Fakat brentuximab vedotinde, trastuzumab entamsinden farklı olarak, bünyesindeki monoklonal antikorun tek başına antitümör etkinliği yetersiz seviyededir(18,19). Bu nedenle ADC yaklaşımında, antikorun kendisinin fonksiyonel aktiviteye sahip olması gerekli değilken, antikorun bu özelliğinin ilave terapötik fayda sağlayabileceği düşünülmektedir.

Sitotoksik Yük

ADC'nin bileşenlerinden bir diğeri olan yük (payload), özellikle kanser tedavisi için, yüksek toksisitesi nedeniyle monoterapi olarak uygulanması zor olan güçlü bir sitotoksik ajan olmalıdır. Terapötik etkinliğin görülebilmesi için yükün, nanomolardan dahi daha düşük konsantrasyonlarda yüksek toksisite gösterme gerekliliği antikorun yük taşıma kapasitesinin az olmasından ve uygulanan dozun yalnızca küçük bir kısmının hedef bölgeye ulaşabilmesinden kaynaklanır (15). ADC için uygun bir yükün şu özellikleri sağlaması gerekir;

- Yüksek sitotoksik aktivite göstermesi (IC₅₀ ~0.01- 0.1 nM)
- Antikor ile konjugasyona imkan tanıyacak uygun fonksiyonel grupları bulundurması ya da konjugasyon için modifiye edilebilmesi,
- Fizyolojik koşullar altında kabul edilebilir derecede suda çözünürlüğe sahip olması,
- Kan dolaşımında stabil olması,
- Apoptotik mekanizmaları indükleyerek hücre ölümünü gerçekleştirebilmesi.

Tüm bu özelliklere bağlı olarak ADC'lerde sitotoksik yük olarak kullanılabilen çeşitli bileşenler mevcuttur (Çizelge 1).

Çizelge 1. Etki mekanizmalarına göre antikor-ilaç konjugatlarında kullanılan sitotoksik yük çeşitleri

Mikrotübül bozucu ajanlar	Auristatin ve türevleri (MMAE, MMAF, vb.), Maytansinoid türevleri (DM1, DM4, vb)
DNA hasarı oluşturan ajanlar	Calicheamicin türevleri Camptothecin türevleri (SN38-Topoizomeraaz İnhibitörü) Duokarmisin türevleri Pirolobenzodiazepinler (PBD)
Alternatif toksinler	Apoptoz indükleyiciler (Bcl-xL inhibitörleri) Transkripsiyon inhibitörleri (Amatoksinler..) Splaysozom inhibitörleri (Thailanstatin..)

Mikrotübül inhibitörlerinden olan maytansinoidler, mikrotübüllere bağlanıp mikrotübül dinamiklerini baskırlar ve sonucunda hücre döngüsünü G2/M fazında durdurarak apoptoza ve dolayısıyla hücre ölümüne neden olurlar. Ayrıca maytansin, sitotoksik yük olarak kullanım için bir gereklilik olan suda stabil ve uygun çözünürlük gibi diğer önemli kriterleri karşılamaktadır (20). Maytansinoidler, monometil auristatin E (MMAE) ve monometil auristatin F (MMAF) gibi farklı çeşitleri bünyesinde barındıran auristatin mikrotübül bozucu ajanlar, klinik geliştirmedeki ADC'lerin yaklaşık olarak % 70'inde kullanılarak en çok tercih edilen sitotoksik yük grubunu oluşturmaktadır (4).

DNA'ya zarar veren ajanlar, DNA'nın çift sarmalında hasara sebep olan kalikeamisinler, duokarmisinler gibi DNA alkilasyonu gerçekleştiren moleküller, rutin tedavide de kullanılan DNA'ya interkale olarak etki gösteren Camptothecin gibi topoizomera I inhibitörleri ve DNA'ya kovalent şekilde bağlanarak etki gösteren pirolobenzodiazepinler olmak üzere gruplanır (11). Güçlü bir DNA hasarı oluşturan Kalikeamisin DNA'nın küçük oluklarına bağlanıp DNA çift sarmalında hasara sebep olur. Klinik kullanımda olan Gemtuzumab ozogamisin ve inotuzumab ozogamisin'de kalikeamisin türevi bir sitotoksik yük tercih edilmiştir.

Bağlayıcı

Antikor-ilaç konjugatı bileşenlerinden olan bağlayıcılar, sahip olduğu bağlantı bölgeleri sayesinde ADC bünyesindeki antikor ve sitotoksik yükü birleştirmek için kullanılır. **Bölünebilir** ve **bölünemez bağlayıcılar** olarak iki ana başlık altında incelenen bu bileşenlerden, dolaşım sırasında uygun stabilite göstermeleri, ADC hücre içine girdikten sonra ise sitotoksik yükü konjugattan ayırabilmeleri beklenir. ADC etki mekanizması kapsamında bağlayıcılar, sitotoksik ilacın hücreye güçlü şekilde verilebilmesinde büyük önem taşıdığı gibi son ürün toksisitesinin belirlenmesinde de görev alan kritik bir bileşendir. Sitotoksik yükün konjugattan salınım zamanlaması büyük önem taşır; dolaşıma erken salınan ilaç hedef dışı hücreleri etkileyerek sistemik toksisitenin yanı sıra düşük terapötik aralık oluşmasına sebebiyet verebilir. Bu nedenle ADC geliştirilmesinde kullanılacak bağlayıcı, antikorun ve sitotoksik yükün kimyasal yapısına, etki mekanizmalarına uygun olacak şekilde tercih edilmelidir.

Antikor-ilaç konjugatlarında kullanılan bağlayıcı çeşitlerinden biri olan bölünebilir bağlayıcılar, sitotoksik yükü konjugattan ayırabilmek için kanser hücreleri ile kan dolaşımı arasındaki ortam koşulu farklılıklarından yararlanırlar ve her bir bölünemez bağlayıcı kanser hücrelerine spesifik olan çeşitli hücre-içi koşullara cevap vererek etki eder (6). **Bölünebilir bağlayıcılar**, düşük pH'dan etkilenen aside dayanıksız bağlayıcılar (*hidrazon-bağlayıcılar*), proteolitik bölünmeye uğrayan proteaz-parçalabilir bağlayıcılar (*peptit bağlayıcılar*) ve hücre içindeki glutatyon seviyelerinde meydana gelen değişikliklerden etkilenen indirgenebilir bağlayıcılar (*disülfür bağlayıcılar*) olmak üzere üçe ayrılır (21).

Düşük pH'ya duyarlı bölünebilir bağlayıcılardan olan hidrazon, normal kan pH'sında stabil olup kanser hücreleri içindeki endozom, lizozom gibi hücresel yapıların oluşturduğu asidik ortam sayesinde hidrolize uğrayarak sitotoksik yükü konjugattan serbest bırakır. FDA tarafından onaylanmış ilk antikor ilaç konjugatı olan, anti-CD33 antikorunun calicheamicin isimli sitotoksik bir ilaç ile konjuge edilerek kullanıldığı Gemtuzumab-ozogamicin (Mylotarg®) bölünebilir bir bağlayıcı olan hidrazon bağlayıcı kullanılarak üretilmiştir (22). Daha sonra toksisite göstermesi nedeniyle piyasadan çekilen Mylotarg'ın bu istenmeyen etkisi kullanılan bağlayıcının türüne dayandırılmıştır (21). Hidrazon bağlayıcının hedef doku dışındaki asidik ortam koşullarından etkilenecek dolaşımda sitotoksik ilacı konjugattan ayırması ve böylelikle sistemik toksisiteye neden oluşu hidrazon gibi aside duyarlı bölünebilir bağlayıcıların kullanımında sınırlayıcı bir faktör olarak karşımıza çıkar.

Hücre-içi proteazlara duyarlı olan proteaz-parçalanabilir bağlayıcılar bölünebilir bağlayıcıların bir diğer grubunu oluşturur. Peptit yapıdaki bölünebilir bağlayıcılar, çeşitli lizozomal proteazlar karşısında yapılarındaki dipeptit bağların bu enzimler tarafından tanınıp kesilmesiyle konjugattan ilacın serbestleştirilmesini sağlayarak etki ederler (23). Klinikte sıklıkla kullanılan Adcetris® (Brentuximab-vedotin)'in yanı sıra Polivy® (Polatuzumab-vedotin-piiq), Padcev® (Enfortumab-vedotin-ejfv) gibi FDA onaylı birçok ADC'de katepsin-B'ye karşı duyarlı dipeptit bağlayıcı olan valin-sitrülin bağlayıcı kullanılmaktadır (22). Bu peptit bağlayıcı, hücre-içi proteolitik aktivitenin optimum seviyede gerçekleşmesini sağlamak ve konjugatın uygun plazma stabilitesi gösterebilmesi için tasarlanmıştır. Valin-sitrülin, fenilalanin-lizin

gibi peptit bazlı bu bağlayıcılar, düşük pH'ya duyarlı bölünebilir bağlayıcılara oranla dolaşımda çok daha stabildir.

Kanser hücrelerinin sahip olduğu hipoksik ortam şartları, yüksek proliferasyon seviyelerine, hücre içinin dolaşıma oranla glutatyon gibi çeşitli tiyollerin yüksek konsantrasyonlarına sahip olmasına neden olur. Tümör hücrelerindeki glutatyon seviyeleri normal hücrelere oranla yaklaşık olarak 1000 kat daha yüksektir (21). Bu yüksek glutatyon seviyelerine duyarlı olan bölünebilir bağlayıcılar, konsantrasyon farkını yapılarındaki dilsülfür bağlarını indirgeyebilmek için kullanır ve böylelikle sitotoksik ilacı konjugattan ayırırlar.

Özellikle yeni geliştirilen konjugasyon teknolojileriyle uyum içinde çalışan ve bölünebilir bağlayıcılara oranla dolaşımda daha yüksek stabilite gösteren, ADC'lerin hedef dışı toksisite riskini azaltmayı hedefleyen bağlayıcı grubu bölünemez bağlayıcılar olarak adlandırılır. ADC geliştirilmesinde sıklıkla tercih edilen bu bağlayıcı sınıfı, konjugat hedef antijene bağlanıp internalizasyon gerçekleşikten sonra lizozomal enzimatik bir bozunma sayesinde sitotoksik yükü konjugattan ayırabilir. Sitotoksik ilacın salıverilmesi için konjugatın tam proteolitik degradasyonu gereklidir. Tam degradasyon sağlanmadan ilacın konjugattan ayırımına imkan vermedikleri için bölünemez bağlayıcılar, kimyasal olarak düzenlenmelerine rağmen sitotoksik etkinliklerini hedef dışı bölgede gösterebilen ilaçlar ile birlikte kullanılabilir (20). Tiyoeater ve maleimidokaproil (MC) gibi bileşikler bölünemez bağlayıcıların yaygın olarak kullanılan örneklerini oluştururlar. Meme kanseri tedavisinde kullanılan Kadcyla® (Trastuzumab emtasine)'da MCC (maleimidometil sikloheksan-1-karboksilat) bağlayıcı kullanılmıştır (22). Bölünemez bağlayıcılar bölünebilir bağlayıcılara oranla daha kararlı yapılardır, genellikle antikorun kendisinin degrades edilmesi birincil ilaç salım yolunu oluşturur (24).

Preklinik ve klinik çalışmalarda ADC'lerden, onaylanarak kullanıma sunulmuş olan ADC'lere, farklı konjugatlarda çeşitli tipte bağlayıcılar kullanılmaktadır. Bağlayıcının seçimi hedef antijene, antikora ve kullanılacak ilaca göre belirlenebilmektedir. Temel olarak bağlayıcıların görevi, sitotoksik ilacın dolaşımda zarar görmeden hedef hücreye ulaştırılabilmesidir. Bu bağlamda ADC'nin diğer tüm bileşenlerinde olduğu gibi bağlayıcı seçimi de son ürünün farmakolojik ve farmakokinetik özellikleri açısından büyük önem taşır.

Konjugasyon

Antikor-ilaç konjugatının temel bileşeni olan monoklonal antikor, bağlayıcı ile birleştirilmiş sitotoksik ilaca çeşitli yöntemlerle konjuge edilir. Konjugasyon, bu evreye kadar istenen kriterlere uygun şekilde seçilmiş tüm ADC bileşenlerinin bu aşamadan sonra da etkisini kaybetmemesi açısından önem arz eder. Bu aşamada ADC’lerde, sitotoksik ilacın etki yerindeki biyolojik aktivitesinin değişmemesi, antikorun yapısal bütünlüğünün bozulmaması, hedef antijeni tanıma ve bağlanma potansiyelinin değişmemesi beklenir. ADC geliştirilmesinde uygun konjugasyon stratejisinin belirlenmesi son ürünün terapötik potansiyelini etkileyen en önemli unsurlardan biridir.

Konjugasyon stratejisi seçilirken ADC’nin etkisini ve toksisitesini belirlemede kullanılan kritik bir terim karşımıza çıkar; “İlaç-antikor oranı (DAR, Drug-Antibody Ratio)”. DAR, bir monoklonal antikora bağlanan ilaç moleküllerinin sayısını belirtir. Kullanılan konjugasyon stratejisine göre değişen aralıkta DAR değerleri elde edilebilir, genellikle prelinik, klinik çalışmalarda ve onaylı ADC’ler arasında 0-8 arasında değişen DAR değerleri mevcuttur (26). Yüksek DAR değerleri, ADC’nin güvenlik profilini etkilerken, düşük DAR değerleri azalmış etkinlikle sonuçlanabilir (6).

Genellikle, konjugasyon stratejileri, antikorların üzerindeki lizin ve sistein gibi aminoasit rezidülerinin kullanıldığı **kimyasal konjugasyon** teknikleri ile bu tekniklerin dezavantajlarına karşı farklı teknolojilerin konjugasyon sürecine entegre edilmesiyle geliştirildiği **bölgeye-özü konjugasyon** teknikleri olarak iki ana başlık altında incelenebilir (8). Kimyasal konjugasyon stratejilerinde bağlayıcı-sitotoksik ilaç ikilisine ait reaktif bir bölge, antikorun lizin rezidülerinin amin gruplarını içeren yan zincirleri kullanarak kovalent bağlarla birleştirilir (27). Lizinler, antikorların yüzeyinde bulundukları ve ulaşılabilir olmaları nedeniyle antikorları ilaçlara bağlamak için sıklıkla kullanılır. Lizin amino grupları ile gerçekleştirilen konjugasyonda kararlı amid bağları oluşumunu sağlayan ve birincil aminlerle kolaylıkla reaksiyona girebilen N-hidroksisüksinimid(NHS) esterleri gibi ajanlar sıklıkla kullanılır (8). Farklı bağlayıcılar kullanılarak antikora lizin bağlanma bölgelerinden konjuge edilmiş çeşitli ADC’ler bulunmaktadır. Calicheamisin türevi bir sitotoksik ilacın hidrazon bir bağlayıcı vasıtasıyla, CD33’ü hedefleyen monoklonal antikorun lizin rezidüelerinden konjuge edilerek oluşturulduğu gemtuzumab-ozogamicin ve aynı bileşenlerin CD22’yi

hedefleyen bir monoklonal antikor ile konjugasyonuyla oluşturulduğu inotuzumab-ozogamicin lizin aminoasitleri kullanılarak konjuge edilmiş antikor ilaç konjugatlarıdır (25). Klinik kullanımda olan HER2'ye karşı hedeflenmiş bir monoklonal antikoru maytansinoid türevi bir sitotoksik ilaçla konjuge edilmesiyle oluşturulmuş ado-trastuzumab emtasine ise lizin rezidülerinden konjuge edilmiş bir ADC'dir. Ado-trastuzumab emtasine, NHS çapraz bağlayıcı bir ajan kullanılarak yan zincirlerinin konjugasyona hazır hale getirildiği iki aşamalı bir konjugasyon sürecinden sonra son halini almaktadır (28).

Kimyasal (stokastik) yöntemlerden bir diğeri olan sistein rezidüleri vasıtasıyla konjugasyon, ADC geliştirilmesinde en çok kullanılan konjugasyon stratejisidir (7). Bu yöntemde antikorların sistein rezidülerindeki disülfid bağlarının indirgenmesi sağlanarak serbest tiyol grupları oluşturulur ve konjugasyon bu serbest tiyol grupları üzerinden gerçekleşir. IgG1 antikor yapısında, 4 zincirler arası, 12 zincir içi olmak üzere toplam 16 disülfid bağı bulunur (7). Uygun koşullarda kolayca indirgenebilen zincirler arası 4 disülfid bağı konjugasyon için ana hedefleri oluşturur. 4 adet zincirler arası disülfid bağının çeşitli kimyasallarla muamele sonucu indirgenerek 8 adet serbest tiyol grubu meydana getirmesi hedeflenen 2-4 aralığında bir DAR değerinden 0-8 aralığında bir değer ile istenen sınırların dışına çıkabilmektedir. Fakat lizin aracılı konjugasyon stratejisine kıyasla sistein grupları ile konjugasyon sonucunda daha homojen bir DAR değeri elde edilir (25). DAR değerini istenen aralıkta tutabilmek için disülfid bağlarının indirgenme seviyeleri konjugasyon sırasında dikkatlice kontrol edilir. Bunun yanı sıra, sisteinlerden bazılarının serinlere dönüştürülerek, sadece istenen sayıda konjugasyon alanı bırakılarak konjugasyon bölgelerinin kontrol edildiği bölgeye özgü konjugasyon yöntemleri de mevcuttur (29).

Auristatin türevi bir sitotoksik ajanla konjuge edilmiş anti-CD30 antikor ilaç konjugatı olan brentuximab vedotinin konjugasyonu, sistein rezidüleri kullanarak gerçekleştirilmiştir (22). Auristatin türevi MMAE yapısındaki maleimido grupları ile indirgenme reaksiyonu sonucu ortaya çıkan serbest tiyol grupları arasında tiyoeter bağları oluşturularak bağlayıcı-ilaç yapısı antikora konjuge edilmiştir.

Kimyasal (stokastik) konjugasyon yaklaşımları kullanılarak farklı DAR değerlerini içeren heterojen ADC karışımları üretilmektedir (30). Antikor

başına düşen ilaç oranlarının değişken oluşu meydana gelen heterojen ADC'lerde, zayıf etkinlik ve yüksek toksisite görülür. Yüksek DAR değerlerine sahip ADC'lerin *in vitro* deneylerde karşılaşılan sonuçları güçlü sitotoksik etkinlik gösterdikleri yönüyle, bu ADC'lerin *in vivo* ortamda hızla elimine olduğu görülmüştür (31). Bu nedenle DAR değerinin belli sınırlar içinde tutulması ADC geliştirilmesi sırasında dikkat edilmesi gereken kritik noktalardan birini teşkil eder.

Heterojenliğe ek olarak kontrol altında tutulması gereken ve ADC'lerin aktivitesini etkileyen bir diğer parametre konjugasyon yeridir. Sistein gruplarından ziyade özellikle lizin kullanılarak gerçekleştirilen konjugasyonda, ilaç-bağlayıcı yapısının Fab ya da Fc kısmı gibi antikorun etkinliğini direkt etkileyecek kısımlara gelmemesi istenir. Fab bölgesinin birebir antijen bağlanmada yer alan kısmından gerçekleşen konjugasyon antikorun hedefe bağlanamamasına neden olurken, Fc kısmından gerçekleşen konjugasyon ise ikincil immün fonksiyonlar aracılığıyla yanıtları engeller. Bu nedenle rastgele konjugasyon yöntemleri kullanılarak üretilmiş ADC'lerde, heterojen ürünlerin izlendiğinden, kontrollü ya da homojen ürünleri oluşturmaya yönelik yaklaşımların kullanıldığı üretim ve saflaştırma adımlarını içeren kapsamlı ürün geliştirme süreçleri gereklidir.

Kimyasal (stokastik) konjugasyon yöntemlerinin eksiklikleri göz önüne alındığında ADC piyasası için yeni konjugasyon stratejilerinin büyük önem arz ettiği görülmektedir. Piyasada bulunan, onaylı ADC'lerin birçoğunda stokastik konjugasyon yöntemleri kullanırken yeni geliştirilmekte olan ve faz aşamalarında bulunan ADC'lerin büyük bir kısmı bölgeye özgü konjugasyon yöntemleri kullanılarak üretilmiştir. Bölgeye özgü konjugasyon stratejileri antikora, sitotoksik ilacın istenen konumda, ve miktarda konjuge edilebilmesini ve sonucunda homojen DAR değerlerine sahip ADC'ler elde edilebilmeyi sağlamaktadır (30,32). İlacın bağlanma yeri, bağlayıcının yapısı ve sitotoksik ilaç sayısı düzenlenerek son ürünün farmakolojik, farmakokinetik özelliklerinin optimize edilebildiği ayarlanabilir bir sistem sağlayan bölgeye-ölgü konjugasyon stratejileri, konvansiyonel konjugasyon stratejilerine oranla yeni teknikler olarak karşımıza çıkmaktadır.

Bölgeye-ölgü konjugasyon stratejilerinden sıklıkla kullanılanları; antikor üzerinde yapılan değişimleri içeren metotlar, doğal olmayan aminoasitlerin, şeker etiketlerinin eklenmesini içeren metotlar ve enzimatik

konjugasyon yöntemleri olarak farklı kategorilerde incelenebilir (33,34). Antikorlar üzerinde istenen bölgeye özgü olarak gerçekleştirilen mutasyon sayesinde antikor yapısında reaktif sistein eklenen THIOMAB stratejisi yeni ADC tasarımlarında karşılaşılan yaklaşımlardan biridir (35). Antikorların fonksiyonuna müdahale etmeden eklenen sisteinler sayesinde antikor başına yaklaşık 2 sitotoksik ilaç içeren homojen DAR değerine sahip ADC'lerin oluşması sağlanmaktadır. THIOMAB ile geliştirilen ilk ADC'lerde dolaşımda dekonjugasyon meydana gelmesi ürünün etkinliğini ve tekniğin üstünlüklerini sınırlamıştır. Daha sonra yüksek dekonjugasyon oranının ardındaki sebep çözümlenmiş, yeni ADC'lerde bu problem kontrol altına alınmıştır (36). Klasik konjugasyon yöntemleri ile elde edilen ADC'ler ile THIOMAB stratejisinin karşılaştırıldığı çalışmalar mevcuttur. Klasik yöntemlerle konjugasyonu sağlanmış, Trastuzumab-emptasine(DM1) ile THIOMAB teknolojisi ile üretilmiş THIO-Trastuzumab-DM1' in etkinliği ve güvenliliği *in vitro* ve *in vivo* olarak karşılaştırılmıştır (37). Çalışma sonrası THIO-Trastuzumab-DM1'in *in vivo* testlerde daha iyi etkinlik gösterdiği, sıçan ve maymunlarda gerçekleştirilen güvenlik çalışmalarında ise tolere edilebilirliğinin daha yüksek olduğu görülmüştür. THIOMAB stratejisi ile oluşturulmuş ADC'ler, genişletilmiş terapötik indeksleri sayesinde hedef patolojilerin tedavisinde ümit vaatmektedir.

ADC geliştirilmesinde kullanılan bir diğer strateji transglutaminazlar aracılı konjugasyon metodudur. Bu metotta, yapısında amin bulunduran sitotoksik bir ilacı antikor üzerinde modifiye edilmiş glutamine bağlayabilmek için, glutaminin γ -karbonil amin grubu ile lizin yan zincirinin primer aminin arasında bağ oluşumunu indükleyen bakteriyel transglutaminazlar kullanılır (38). Transglutaminazların antikor yapısındaki mutasyona uğratılmamış doğal glutaminlerde bağ oluşumunu katalizleyememesi sayesinde yalnızca bölgeye-özü konjugasyon sağlanmış olur (39). Bu bağlamda, bazı araştırmacılar antikor üzerindeki sabit bölgelerin ulaşılabilir kısımlarına glutamin etiketlerini (LLQG sekansı) yerleştirerek(38), bir başka grup ise N297Q mutasyonu oluşturarak deglikolize ettikleri antikora sitotoksik yükleri konjuge edebilme amacıyla transglutaminazları kullanmış ve bölgeye-özü konjugasyon gerçekleştirmiştir (39). Çalışmalar sonucu, transglutaminaz kullanılarak gerçekleştirilen bölgeye-özü konjugasyonun ADC'lerin stabilitesini arttırdığı

ve homojen DAR değerlerine sahip ADC'lerin oluştuğu sonucu ortaya çıkmıştır.

ADC konjugasyon aşaması, ADC üretim sürecinde iyileştirilmesine yoğun şekilde odaklanılan bir aşamadır. ADC'lerin farmakokinetik profilini kontrol etmenin yollarından biri olarak görülen bu aşamanın zaman içinde geliştirilmesi sonucu elde edilen birçok farklı yöntem ile, artan etkinlik ve azalmış toksisiteye sahip homojen ilaç-antikor oranı içeren konjugatların eldesi hedeflenmektedir.

ANTİKOR-İLAÇ KOJUGATLARININ ETKİ MEKANİZMASI

ADC'lerin oral biyoyararlanımları zayıftır ve bu nedenle intravenöz olarak uygulanırlar. Hedef dışı gerçekleşebilen spesifik olmayan bağlanmalar istenmeyen toksisitelere neden olabilir. Bu sebeple ADC bileşenlerinin her biri ideale en yakın özellikleri gösterecek şekilde seçilmelidir.

Antikor-ilaç konjugatı hedefe bağlandığında oluşan ADC-antijen kompleksinin çeşitli yolları aktive ederek internalize olması beklenmektedir. Internalizasyon, genellikle üç farklı şekilde gerçekleşir (9). Bunlardan ilki ADC'ler tarafından kullanıldığı ve hücre içi alımda merkezi yol olarak kabul edilen klatrin-aracılı endositozdur (7). Diğerleri ise kaveola-aracılı endositoz ve antijenden bağımsız olarak gerçekleşebilen pinositoz hücre içi alım yoludur.

Klatrin-aracılı endositozla ADC'nin hücre içine alınması, hücre zarının içe doğru gömülmesi ile başlayıp erken endozoma geçişle sonuçlanır. Erken endozomlarda ATP-bağımlı proton pompaları bulunmaktadır. ATP-bağımlı proton pompalarının oluşturduğu asidik ortam sayesinde, ADC'lerin bir bileşeni olan monoklonal antikorun, endozomlarda ifade edilen FcRn reseptörlere bağlanabilmesi kolaylaşır (9). Efektör fonksiyonuna sahip antikorlar ile geliştirilen ADC'lerin bir kısmı FcRn'lere bağlanarak hücre yüzeyine geri döndürülür. Buradaki ortam pH'sı, antikorun FcRn'den ayrılması ve sonucunda ADC'nin hücre dışına atılmasını sağlayan bir süreci tetikler. Bu mekanizma spesifik olmayan hücrelere internalize olan ADC'ler için normal hücrelerde gerçekleşebilecek istenmeyen toksisiteyi önlemede yararlı bir mekanizma olsa da ADC'lerin hedef hücrelerdeki etkinliği için istenmeyen bir durumdur. ADC'lere karşı gelişen direncin sebeplerinden biri olan FcRn aracılı

internalizasyon mekanizmasının ADC'ye olan etkisini engelleyebilmek için Fc kuyruğuna sahip olmayan antikorlar ile ADC tasarımı gerçekleştirilmektedir.

Erken endozomlardaki ADC'lerin, erken endozom ve lizozom hücresel kaynaşması gerçekleşmeden önceki durağı, erken endozomların geç endozomlara olgunlaştığı evredir. Ardından geç endozomlarda, lizozomlarla birleşme gerçekleşir; burada katepsin-B, plazmin gibi proteazların sağladığı asidik pH ile ADC'lerin bozunması ve bileşenlerine ayrılması kolaylaştırılır. Bu aşamada sitotoksik ilacın konjugattan ayrılması bağlayıcının sahip olduğu özelliklere göre değişiklik gösterir. Hücre içi spesifik koşullara yanıt verebilen bölünebilir bağlayıcılara sahip ADC'ler, lizozoma geçmeden sitotoksik yükü serbest bırakabilmektedir. Bu ADC'ler genellikle erken ya da geç endozomda bağlayıcıdan yükü ayırırlar. Hücresel koşullara bölünebilir bağlayıcılar kadar hassas olmayan ve tam proteolitik degradasyona ihtiyaç duyan bölünemez bağlayıcılar ise lizozomun sağladığı proteolitik koşullarda ancak sitotoksik yükü serbest bırakabilir. Asidik bir pH oluşturan lizozomal proton pompaları sayesinde ADC degradasyonu indüklenir ve ortamdaki proteazlar yardımıyla proteolitik degradasyon gerçekleşerek sitotoksik yükün konjugattan ayrımı sağlanır.

Bu metabolik yıkım süreçlerinden geçen ADC'nin konjugattan ayrılan sitotoksik yükü, lizozom lümeninden, etki bölgesine ulaşabilmek için, sitozole serbest bırakılır. Sitozoldeki sitotoksik ilaç etki mekanizmasına göre uygun hücresel bölgeye giderek hücre ölümünü gerçekleştirmek için apoptozu indükler. Auristatin ve maytansinoid türevleri gibi sitotoksik ilaçlar mikrotübüllere etki ederek apoptozu indüklerken, calicheamicin ve camptothecin türevleri DNA hasarına yol açmaktadır. Sitotoksik ilacın etki mekanizmasına göre hücresel mekanizmalar farklı şekillerde etkilenecek hücre ölümü indüklenir.

Konjugattan ayrılarak işlevsel hale gelen ve hedef hücre ölümünü gerçekleştiren sitotoksik yük, hidrofobik özelliklerine bağlı olarak komşu hücreler üzerinde de etkili olabilir. Çevre dokuda yer alan normal hücrelerin ya da komşu tümör hücrelerin, ADC sitotoksik bileşenini difüzyonla hücre içlerine alması ve sonucunda ADC nedenli bir hücre ölümü meydana gelmesi "Seyirci etkisi (Bystander effect)" olarak adlandırılmaktadır(7). Bu etki her ne kadar çevre tümör hücreleri için bir ölüm yolu olarak ilave fayda sağlasa da

ADC'lerin tümöre olan spesifikliğini etkileyen bir durum olarak karşımıza çıkar.

ADC'lerin internalize olabilmeleri, hücre içine ilaç salınımını gerçekleştirerek kanser hücrelerine karşı sitotoksik etki oluşturabilmeleri için gereklidir. Fakat konjugatın, hedef bölgeye ulaştığında, tümör çevresinde bulunan çeşitli proteolitik enzimlerin sebep olduğu ortam koşulları nedeniyle sitotoksik yükü konjugattan erken ayrılabilmesi mümkün hale gelebilir. Bu ADC'ler, sitotoksik yüklerin çeşitli difüzyon mekanizmalarıyla hücre içine alınarak ve aynı zamanda seyirci etkisine de neden olarak hücre ölümünü indükleyen, internalize olmayan ADC'ler olarak adlandırılmaktadır.

ADC'lerin mAb bileşeni, daha ADC-antijen kompleksi hücre içine internalize edilmeden çeşitli kompleman sistemlerini ve ikincil immün efektör fonksiyonları aktive ederek hedef hücreye karşı etkiyi başlatabilmektedir. Antikor aracılı immün efektör fonksiyonları arasında, kompleman bileşenlerinin aktivasyonu, immün efektör hücrelerin tümör bölgesine göçü, reseptör sinyalizasyonu veya ifadesinin azalması ile apoptozun indüklenmesi, kompleman-bağımlı sitotoksikite (CDC) , antikor-bağımlı hücre aracılı sitotoksikite (ADCC) ve antikor-bağımlı hücre aracılı fagositozun aktivasyonu bulunmaktadır (ADCP) (25).

ANTİKOR-İLAÇ KONJUGATLARININ GELİŞİMİ

Antikor-ilaç konjugatları, çoklu bileşenlerin optimizasyonunu gerektiren karmaşık üretim aşamalarına rağmen hedefli tedavilere artan ihtiyacın bir sonucu olarak yıllar içinde büyük gelişme göstermiştir. Sitotoksik yük içeriği, konjugasyon yöntemi gibi üretim teknolojileri açısından ADC'ler üç nesile ayrılmaktadır. Üretilen birinci jenerasyon ADC'lerde görülen konjugasyon sonrası etkinlikte meydana gelen değişme, dolaşımda stabil olmayan bağlayıcı, antikora bağlı immünojenisite ve uygun olmayan dolaşım yarı ömrü gibi birçok istenmeyen özellikler ikinci ve üçüncü nesil ADC'lerin üretilmesine yol açmıştır. Böylelikle ADC üretim süreçleri üzerinde yapılan çalışmalar, gelişmeleri de beraberinde getirmiştir.

Birinci nesil ADC'ler, genellikle klasik bir kemoterapötik ve mürin bir antikorun parçalanamayan bir bağlayıcı ile konjuge edilmesinden oluşmaktadır. Bu ADC'lerdeki immünojenite gibi yan etkilerin yanı sıra kullanılan kemoterapötikten üstün herhangi bir etkinlik görülmemesi sebebiyle, daha fazla

geliştirilmesi gerekliliği doğmuştur. Bu sebeple mürin antikor yerine kullanılan hümanize monoklonal antikor sayesinde immünojenisite en aza indirilmiş ve Gemtuzumab ozogamicin gibi birinci nesil ADC'lerin klinik onay alabilmesi sağlanmıştır. Bu onaya rağmen birinci nesil ADC'lerdeki hedef-dışı toksisiteye sebep olabilen bağlayıcıların dolaşımda hidrolize olma sorunu ile kullanılan sitotoksik ilacın düşük yarı ömrü, hızlı klirensi gibi sorunlar devam etmiştir.

İkinci nesil ADC'ler, birinci nesil ADC'lerdeki problemler göz önüne alınıp geliştirilerek oluşturulmuştur. İnsansılaştırılmış ve çoğunlukla IgG1 izotipi antikorlar, daha etkili sitotoksik ilaçlar kullanarak geliştirilmiştir. IgG1 antikor izotipi ve toksik yük değiştirilerek üretilmiş Brentuximab vedotin gibi ilaçlar ikinci nesil ADC'leri temsil etmektedir. Bu nesilde, konjugasyona uygun antikor izotipi ve, çözünürlüğü yüksek ve antikor agregasyonunu indüklemeyen sitotoksik yük sayesinde birinci nesile oranla daha homojen DAR dağılımı sağlanabilen ADC'ler elde edilmiştir.

Üçüncü nesil ADC'lerin üretilmesi sürecinde ADC'lerin 3 temel bileşeni ve konjugasyon stratejilerinin geliştirilmesi önem kazanmıştır. Özellikle birinci ve ikinci nesildeki yetersiz ya da yüksek DAR, hedef dışı toksisiteye ve bazı ADC'lerin agregasyonu ile dolaşımdan hızlı temizlemelerine sebep olmuştur. Üçüncü nesil ADC'lerde, immünojenik reaksiyonları azaltmak ve kan dolaşımında daha uzun süre kalmasını sağlamak için daha hidrofil bağlayıcılar kullanılmıştır. Ayrıca, daha etkili yükler, tamamen insansılaştırılmış antikorlar ve bölgeye özgü bağlanma teknolojilerinin kullanılmasıyla üçüncü nesil ADC'ler geliştirilmiştir. Polatuzumab vedotin, Enfortumab vedotin, Fam-trastuzumab deruxtecan üçüncü nesil ADC örnekleridir. Her nesil, daha iyi hedefleme yeteneği, daha yüksek klinik etkinlik ve daha düşük immunojenite gibi iyileştirmeler sunarak kanser tedavisinde daha etkili bir seçenek haline gelmiştir. Bu ilaçların gelecekteki gelişmeleri, kanser tedavisinde daha da etkili ve güvenli seçenekler sunmaya devam etmesi beklenmektedir.

ONAYLI VE KLİNİK ÇALIŞMALARDAKİ ANTİKOR-İLAÇ KONJUGATLARI VE ETKİNLİKLERİ

ADC'ler, günden güne gelişmekte ve onkoloji alanında giderek daha fazla önem kazanmaktadır. Farklı otoritelerce çeşitli onkolojik endikasyonlar için onay almış pek çok ADC biyoteknolojik ilaç sektöründe büyük bir pazar payına sahiptir. Halihazırda piyasada satışta bulunan ADC'lerin küresel

satışlarının 2026'da 16.4 milyar \$'ı aşacağı tahmin edilmektedir (40). Çizelge 3'te piyasada kullanılmakta olan başlıca ADC'ler ve bu ADC'lere özgü özellikler yer almaktadır.

2013 yılında FDA tarafından onaylanan Trastuzumab emtasine (T-DM1), güvenilirliği ve etkinliğini kanıtlayan EMILIA(NCT00829166) ve TH3RESA isimli iki adet faz 3 klinik çalışmasının sonuçlarını takiben piyasaya sürülmüştür (53). EMILIA klinik çalışmasında, 991 metastatik meme kanseri hastası, T-DM1 e karşı HER2+ meme kanseri tedavisinde sıklıkla kullanılan bir ilaç kombinasyonu (Lapatinib+Capecitabine) kullanılarak değerlendirilmiştir. T-DM1 ile tedavi edilen hastalarda Lapatinib + Capecitabine kombinasyonu ile tedavi edilenlere göre anlamlı derecede artmış progresyonsuz ve genel sağ kalım oranları görülmüştür. Yaklaşık sonuçlar, T-DM1 'e karşı hekimin HER2+ ileri evre meme kanseri hastalarında uygulanan ilaç protokolü tercihinin kullanıldığı TH3RESA klinik çalışmasında da elde edilmiştir. Hekimin tercihine göre T-DM1 kullanan hastaların anlamlı derecede artmış sağ kalım oranları gösterdiği bulguları elde edilmiştir. Klinik çalışmalardan elde edilen veriler sonrasında, kemoterapi ile

Çizelge 3. Onaylı antikor-ilaç konjugatları ve özellikleri

<i>Antikor-İlaç Konjugatı</i>	<i>Hedef Antijen</i>	<i>mAb İzotipi</i>	<i>Yük Tipi</i>	<i>Bağlayıcı Tipi</i>	<i>Konjugasyon Metodu</i>	<i>Onay Tarihi</i>	<i>Endikasyon</i>	<i>Ref</i>
Gemtuzumab ozogamicin Mylotarg®	CD33	IgG4	Ozogamicin, Calicheamicin türevi	Bölünür	Lizin DAR: 2-3	FDA onay 2000, FDA piyasada n çekilme 2010, FDA yeniden onay 2017	Akut Myeloid Lösemi	(41, 42)
Brentuximab vedotin Adcetris®	CD30	IgG1	MMAE, Auristatin türevi	Bölünür	Sistein (Zincirler arası) DAR: 4	FDA 2011, EMA 2012	Hodgkin Lenfoma	(15, 43)
Trastuzumab emtansine Kadcyla®	HER2	IgG1	DM1, Maytansinoid türevi	Bölünmez	Lizin, DAR:3.5	FDA 2013, EMA 2013	HER2 Pozitif Metastatik Meme Kanseri	(28, 44)
Inotuzumab ozogamicin Besponsa®	CD22	IgG4	Ozogamicin, Calicheamicin türevi	Bölünür	Lizin, DAR:5-7	FDA 2017, EMA 2017	B-Hücre Akut Lenfoblastik Lösemi	(45)
Polatuzumab vedotin-piiq Polivy®	CD79b	IgG1	MMAE, Auristatin türevi	Bölünür	Sistein (Zincirler arası) DAR: 4	FDA 2019	Relaps ve Refrakter Büyük B-Hücre Lenfoma	(46)
Enfortumab vedotin Padcev®	Nectin4	IgG1	MMAE, Auristatin türevi	Bölünür	Cys, (Zincirler arası) DAR: 4	FDA 2019	Metastatik Ürotelyal Kanser	(15, 47)
Trastuzumab deruxtecan Enhertu®	HER2	IgG1	DXd Camptothecin türevi	Bölünür	Cys, (Zincirler arası) DAR: 8	FDA 2019	HER2 Pozitif Metastatik	(15, 48)

							Meme Kanseri	
Sacituzumab govitecan-hziy Trodely®	TROP 2	IgG1	SN38 Camptothec in türevi	Bölünür	Cys (Zincirler arası) DAR: 8	FDA 2020	İleri Evre 3'lü Negatif Meme Kanseri	(49)
Belantamab mafodotin- blmf Blenrep®	BCM A	IgG1	MMAF, Auristatin türevi	Bölünme z	-	FDA 2020	5ve 5+ İleri Evre Relaps ve Refrakte r Multipl Myelom a	(50, 51)
Moxetumoma b pasudotox Lumoxiti®	CD22		Pseudomon as ekzotoksin A, PE38	Bölünür	-	FDA 2018	Relaps ve Refrakte r Tüylü Hücreli Lösemi	(52)

kombinasyon halinde kullanılan tirozin kinaz inhibitörlerinden daha iyi tolere edilen T-DM1'in, adjuvan olarak trastuzumab almış fakat 6 ay içinde kanseri nüks etmiş hastalarda birinci seçenek olarak kullanılması gerektiği önerilmiştir (9).

Sacituzumab govitecan, epitelyal bir glikoprotein olan Trop-2'ye karşı geliştirilmiş bir monoklonal antikörün, camptothecin türevi bir ilaç olan irinotekanın aktif metaboliti SN38'e bölünür bağlayıcı vasıtasıyla konjuge edilmesiyle üretilmiş bir ADC'dir. Agresif klinik seyir ve zayıf prognoz gösteren metastatik üçlü negatif meme kanseri tedavisinde (mTNBC) kullanılmak üzere 22 Nisan 2020'de FDA hızlandırılmış onayı almıştır (54). Daha önce tedavi uygulanmış mTNBC hastalarının kullanımına izin verilen sacituzumab govitecan ile yapılan klinik çalışmaların sonuçları, sınırlı tedavi seçenekleri olan meme kanserinin farklı alt tipleri için de umut vaadedici olduğunu göstermiştir (55). IMM-132-01 (NCT01631552) isimli Faz I ve II klinik çalışmasında daha önce en az iki farklı kanser tedavisi almış 108 üçlü negatif meme kanseri hastasına 10mg/kg Sacituzumab govitecan verilmiştir.

Hastalarda, %33.3 genel yanıt oranı ve medyan yanıt süresi 7.7 ay olarak ölçülürken, advers etki olarak miyelosupresyon ve diyare görülmüştür (56). Yürütülen bir diğer klinik çalışma olan ASCENT (NCT02574455) Faz III'de 235 hastaya Sacizutumab govitecan, 233 hastaya ise hekimin tercih ettiği dört kemoterapi ajanı (kapesitabin, gemsitabin, vinorelbin ve eribulin) verilmiş ve etkinlikleri ölçülmüştür. Sacizutumab govitecan ile tedavi sonucu medyan progresyonsuz sağkalım 5.6 ay iken, genel sağkalım oranı 12.1 ay olarak ölçülmüş; kemoterapötik ajanlarla tedavide medyan progresyonsuz sağkalım 1.7 ay, genel sağkalım oranı 6.7 ay olarak kaydedilmiştir (55). Kemoterapötik ajanları kullanan hastalarda görülen %5 'e karşın %35 objektif yanıt oranı elde edilen Sacituzumab govitecan tedavisinde görülen bu anlamlı uzun genel ve progresyonsuz sağ kalım oranları tedavi seçeneği kısıtlı metastatik üçlü negatif meme kanseri hastaları için önemli bir veri oluşturmaktadır.

Inotuzumab ozogamicin, DNA'ya hasar verici calicheamicin türevi bir ajanın CD22'yi hedefleyen monoklonal antikor ile konjugasyonundan meydana gelmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nden Avrupa'ya kadar birçok farklı ülkede relapse/refrakter B-hücresi akut lenfoblastik lösemi tedavisinde monoterapi olarak kullanımı onaylanmış bir ADC'dir. Küresel olarak onayını INO-VATE (NCT01564784) Faz III klinik çalışmalarının sonucunda elde etmiştir. Bu çalışmada 326 CD22+ B hücreli akut lenfoblastik lösemi hastasına, Inotuzumab ozogamicin ve klasik terapi protokolü (FLAG; fludarabine, cytarabine, ve granülosit koloni stimüle edici faktör) uygulanmıştır (9,57). Birinci ya da ikinci relapslarında olan bu hastalarda Inotuzumab ozogamicin tedavisinde görülen genel yanıt oranı %80'e karşı, standart terapide görülen %29.4'lük oranla kıyaslandığında anlamlı derece yüksek bulunmuştur (57). Progresyonsuz ve genel sağkalım oranları da 1.8'e 7.7 ay olarak, anlamlı şekilde Inotuzumab ozogamicin uygulanan hastalarda daha uzun olarak rapor edilmiştir. 2017 yılında FDA ve EMA tarafından onay alan bu ADC, nükseden veya standart kemoterapiye yanıt alınamayan ALL hastalarında monoterapi olarak iyi sonuçlar vermiştir. Inotuzumab ozogamicin ile gerçekleşen yeni çalışmalar, yeni ALL tanısı almış hastalarda tercih edilen ilk basamak tedavi olması yönündedir.

Onay almış ve kullanıma sunulmuş ADC'lerin yanı sıra klinik geliştirme aşamasında olan 80'den fazla aday ADC bulunmaktadır. Bu aday moleküllerden bazıları ileri klinik çalışmalara geçmiş ve çeşitli endikasyonların

tedavilerinde kullanılabilmek için kapsamlı testlere tabi tutulmaya devam etmektedir. Klinik çalışmaları devam eden bazı ADC'ler ve özellikleri Çizelge 4'te yer almaktadır.

Çizelge 4. Klinik geliştirme aşamasındaki bazı ADC'ler ve özellikleri

ADC	Hedef	Endikasyon	Klinik Çalışma Aşaması	Klinik Çalışma Numarası
<i>Trastuzumab duocarmazine</i>	HER2	Metastatik Meme Kanseri	Faz III	NCT03262935
<i>Mirvetuximab soravtansine</i>	FOLR1	FOLR1+ Yumurtalık Kanseri	Faz III	NCT02631876
<i>BT1718</i>	MT1-MMP	NSCLC, Özofagus Kanseri, İleri Evre Solid Tümör	Faz I/II	NCT03486730
<i>Disitamab vedotin (RC48-ADC)</i>	HER2	Ürotelyal Karsinom	Faz II	NCT04879329
		Mide Kanseri	Faz III	NCT04714190
		Solid Tümör	Faz I	NCT02881138
<i>Tisotumab vedotin</i>	TF	Servikal Kanseri	Faz III	NCT04697628
		Solid Tümör	Faz I/II	NCT03913741
<i>Datopotamab deruxtecan</i>	Trop2	NSCLC	Faz III	NCT04656652
		Üçlü Negatif Meme Kanseri	Faz I/II	NCT03742102
<i>Ladiratuzumab vedotin</i>	LIV1	Akciğer Kanseri (Alt Tipleri)	Faz II	NCT04032704
		Meme Kanseri	Faz I/II	NCT03310957
<i>PSMA ADC</i>	Prostat Spesifik Membran Antijeni	Prostat Kanseri	Faz II	NCT02020135 NCT01695044

	(FH(PS A)1)			
<i>Patritumab Deruxtecán (U3-1402)</i>	HER3	Metastatik Meme Kanseri	Faz II	NCT04699630
		Metastatik Kolorektal Kanser	Faz II	NCT04479436
		NSCLC	Faz II	NCT04619004

Antikor ilaç konjugatlarının monoterapi olarak etkinliklerinin yanı sıra farklı ilaçlarla kombine halde kullanıldığı tedaviler de klinik çalışmalarda araştırılmaktadır. Birçok farklı ilaç grubu kullanılarak elde edilen ADC kombinasyon tedavileri umut vaatetmektedir. Kombinasyon tedavilerinin, etki mekanizmasına bağlı olarak ilaçların sinerjistik etkinliğinden faydalanıp terapötik etkinliğini geliştirme, ilaç direncini önleme ya da varolan direncini azaltma, sağkalım oranını artırma, tümör metastazını azaltma ya da önleme kapasitesine sahip olduğu düşünülmektedir(58).

İmmün düzenleyici etkileri keşfedilen ADC'lerin immünoterapötiklerle birlikte kullanılmasının tedavinin etkinliğini arttırdığını gösteren çalışmalar mevcuttur (59). Bunlardan biri immün kontrol noktası inhibitörü olan anti-PD-L1 antikor pembrolizumab'ın enfortumab vedotin ile kombine edildiği klinik çalışmadır (NCT04223856). Bu faz III çalışmasıyla ürettilyal kanserler üzerinde ADC-pembrolizumab kombinasyonunun etkinliği araştırılmaktadır. İmmün kontrol noktası inhibitörleri ile kombinasyonu araştırılan bir başka ADC, Brentuximab vedotin'dir. Hodgkin lenfoma hastaları üzerinde, ipilimumab ve nivolumab ile yürütülen Faz I/II çalışması ve yalnızca nivolumab ile devam eden Faz II çalışması mevcuttur (NCT01896999, NCT02758717). Nivolumab gibi PD-1 reseptörünü inhibe ederek programlı hücre ölümü yolağını inaktif hale getiren ilaçlarla kombine edilen ADC'nin, tek başına etkinliğine ek olarak Hodgkin lenfoma hastaları için tedavi yanıtını arttırdığı gösterilmiştir (60).

Klasik kemoterapi rejimi ile tedavi edilen relapse ya da refrakter haldeki lenfoblastik lösemi hastalarında monoterapi olarak Inotuzumab ozogamisın güçlü etkinlik göstermektedir (6). Standart kemoterapötik ajanlardan olan metotreksat ve sitarabin ile kombine halde kullanıldığı çalışmalar, akut

lenfoblastik lösemi tedavisinde ilk seçenek olarak değerlendirilmesini sağlamıştır. Ayrıca blinatumomab gibi immünoterapi ajanları ile de kombine edilerek klinik etkinliğinin arttırılmaya çalışıldığı faz çalışmaları da mevcuttur. Bunların yanı sıra yakın zamanda üçlü negatif meme kanseri tedavisinde hızlı kullanım onayı almış olan Sacituzumab govitecan'ın da kombinasyon çalışmaları bulunmaktadır. Üçlü negatif meme kanserinde bir PARP inhibitörü olan talazoparib ile kombine halde etkililiği araştırılmaktadır. Sacituzumab govitecan'ın sitotoksik yükü olan, topoizomeraaz inhibitörü olarak işlev gören SN-38, DNA kırıklarını indüklemektedir. Sacituzumab govitecan sayesinde hedef hücrede meydana gelen bu hasara, kanser hücrelerinin DNA tamir mekanizması olarak kullandıkları PARP yolağını inhibe eden talozaparip etkisinin ilave edildiği bu güçlü kombinasyon, Faz I/II çalışması olarak araştırılmaktadır (NCT04039230).

GELECEK İÇİN ÖNGÖRÜLER

ADC'lerin antikanser ajanlar olarak başarısı, birçok araştırmacıyı ve ilaç şirketini, uygulama alanlarının sınırlarını onkolojinin ötesine çıkarmaya teşvik etmiştir. Çeşitli ilaçlarla yapılan kombinasyon tedavilerinin yanı sıra ADC'lerin immünomodülatör ajanlar, enfeksiyöz hastalıklara karşı kullanılan ilaçlar gibi, sitotoksik ilaçlar harici farklı yüklerle tasarlandığı yeni ADC'ler geliştirilmiştir.

Dünya çapında yayılan antibiyotik direnci insan hayatını tehdit eden ciddi bir sağlık problemi halini alması, sorunun çözümünde etkili yeni moleküllerin keşfedilmesinin yanı sıra varolan ilaçlarla daha güçlü tedaviler oluşturulmaya çalışılmasına neden olmuştur. Antikor ilaç konjugatlarını, antibiyotikleri kullanarak yeniden tasarlamak direnç sorununa karşı geliştirilmeye çalışılan tedavi yöntemlerinden biridir. Antikor-antibiyotik konjugatı (AAC) olarak adlandırılan bu tasarım, bakteri hücrelerindeki seçili antijenleri hedef alan bir antikora bir bağlayıcı ile uygun antibiyotiğin konjugasyonunu içermektedir. Bakteriyel enfeksiyonların en sık karşılaşılan nedenlerinden biri olan *Staphylococcus aureus* suşları fagositler gibi konak hücrede saklanarak antibiyotiklere dirençli güçlü enfeksiyonların oluşumu ve antibiyotiklere karşı duyarlılığın azalmasında rol oynamaktadırlar. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) suşları, bilinen tüm beta laktam antibiyotiklere karşı dirençlidir ve tedavisinde her ne kadar tedavi duyarlılığı

azalmış olsa da vankomisin, linezolid gibi ajanlar kullanılmaktadır. Bu enfeksiyonların tedavisinde daha güçlü tedavilere ihtiyaç duyulması, bakteri duvarına özgü teikoik asitleri hedefleyen antikora, hücre içinde yüksek birikim oranı gösteren güçlü bakterisidal etkili rifamycin türevi bir antibiyotiğin bölünebilir bağlayıcıyla konjugasyonunu içeren AAC'nin geliştirilmesini sağlamıştır (61). Geliştirilen AAC'nin vankomisine karşı farelerde oluşturulan enfeksiyon modelinde etkinliği denenmiş, tek doz AAC'nin aynı anda başlatılan fakat günde iki defa verilen vankomisin tedavisinden daha güçlü etkinlik gösterdiği gözlemlenmiştir (61). Ayrıca THIOMAB teknolojisiyle gerçekleştirilen konjugasyon sayesinde homojen bir DAR (2) değerine sahip olan AAC güçlü etkinliğinin yanı sıra azalmış sistemik toksisite hedefiyle de tek antibiyotik tedavisinden üstündür.

Antikorlarla konjuge edilen bir diğer ilaç grubu da glukokortikoidlerdir (GC). Güçlü anti-inflamatuar etkilere sahip olan GC'ler, sistemik toksisiteye neden olabilir. GC'lerin neden olduğu bu sistemik yan etkileri azaltmak ve etkin bir tedavi sağlayabilmek için güçlü bir glukokortikoid olan flutikazon propiyonat, B hücrelerini hedef alan anti-CD74 antikoruna ile konjuge edilerek antikor-glukokortikoid konjugatı oluşturulmuştur (62). Bu konjugat ile güçlü etkilerine rağmen sistemik toksisiteye neden oldukları için kullanımları sınırlı olan flutikazon propiyonatın doz sınırlı etkilerini kontrol edebilmek amaçlanmıştır.

Kortizolden 30 kat daha güçlü anti-inflamatuar ve immün baskılayıcı etkileri olan deksametazon, antikor ile konjuge edilen bir diğer kortikosteroiddir. İnflamatuar faktörlerin ifadelerinin baskılanmasını sağlayarak etki gösteren deksametazonun aktivitesini arttırmak, ve toksisitesini sınırlamak için anti-CD163 antikoruna ile birleştirilmiştir. Anti-CD163 antikor-glukokortikoid konjugatının makrofajları hedeflediği ve TNF- α salınımını azalttığı *in vitro* deneylerde gözlenmiştir (63). Ayrıca konjuge olmayan deksametazonla, konjugatın *in vivo* etkinliği karşılaştırılmış ve antikor-deksametazon konjugatının sistemik toksisite göstermeden yaklaşık olarak 50 kat daha etkin olduğu bulgusuna ulaşılmıştır (25).

Onkolojinin ötesine yapılan ADC çalışmalarının yanında antikor tasarımı geliştirmeye yönelik ek stratejiler oluşturulmaya devam edilmektedir. Yeni konjugasyon stratejileri, monoklonal antikora alternatif fragmentler, farklı molar potens aralıklarına sahip sitotoksik yükler, etkin stabil

bağlayıcılar, yeni antijenik hedefler araştırılmakta ve ADC'lerin etkinliğini arttırmak için yeni etki mekanizmaları gibi yöntemler çalışmalara dahil edilmektedir.

Antikor ilaç konjugatları, Paul Ehrlich'in ortaya attığı "magic bullet" hipotezinden yola çıkarak gelişen, var olan ilaçların daha iyi farmakolojik profillere ve etkinliğe sahip yeni tedaviler olarak kullanılabilmesine imkân tanımaktadır. 2023 yılında 4 milyar \$'ı, 2026 yılına gelindiğinde ise 16.4 milyar \$'ı aşacağı tahmin edilen ADC pazarının, onkolojiden farklı alanlara da açılarak bu tahminleri aşacağı düşünülmektedir (6,40). Yapılan ve gelecekte yapılacak olan araştırmalar sayesinde ADC hedefli tedavilerin Paul Ehrlich'in vizyonunun ilerisinde gelişeceğine inanılmaktadır.

Kaynaklar

1. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Parkin DM, Piñeros M, Znaor A, vd. Cancer statistics for the year 2020: An overview. *Int J Cancer* [Internet]. 15 Ağustos 2021;149(4):778–89. Available at: <https://doi.org/10.1002/ijc.33588>
2. Siegel RL, Miller KD, Wagle NS, Jemal A. Cancer statistics, 2023. *CA Cancer J Clin* [Internet]. 01 Ocak 2023;73(1):17–48. Available at: <https://doi.org/10.3322/caac.21763>
3. Mukherjee B, Satapathy BS, Mondal L, Dey NS, Maji R. Potentials and challenges of active targeting at the tumor cells by engineered polymeric nanoparticles. *Curr Pharm Biotechnol*. 2014/06/10. 2013;14(15):1250–63.
4. Chari R V, Miller ML, Widdison WC. Antibody-drug conjugates: an emerging concept in cancer therapy. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2014/03/29. 2014;53(15):3796–827.
5. Trail PA, Dubowchik GM, Lowinger TB. Antibody drug conjugates for treatment of breast cancer: Novel targets and diverse approaches in ADC design. *Pharmacol Ther*. 2017/08/02. 2018;181:126–42.
6. Chau CH, Steeg PS, Figg WD. Antibody-drug conjugates for cancer. *Lancet* [Internet]. 2019;394(10200):793–804. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)31774-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)31774-X)
7. Abdollahpour-Alitappeh M, Lotfinia M, Gharibi T, Mardaneh J, Farhadhosseinabadi B, Larki P, vd. Antibody-drug conjugates (ADCs) for cancer therapy: Strategies, challenges, and successes. *J Cell Physiol*. 2018/11/28. 2019;234(5):5628–42.
8. Perez HL, Cardarelli PM, Deshpande S, Gangwar S, Schroeder GM, Vite GD, vd. Antibody-drug conjugates: current status and future directions. *Drug Discov Today*. 2013/11/19. 2014;19(7):869–81.
9. Khongorzul P, Ling CJ, Khan FU, Ihsan AU, Zhang J. Antibody–Drug Conjugates: A Comprehensive Review. *Mol Cancer Res* [Internet]. 2020;18(1):3–19. Available at: <https://mcr.aacrjournals.org/content/molcanres/18/1/3.full.pdf>
10. Gébleux R, Stringhini M, Casanova R, Soltermann A, Neri D. Non-internalizing antibody-drug conjugates display potent anti-cancer

- activity upon proteolytic release of monomethyl auristatin E in the subendothelial extracellular matrix. *Int J cancer*. Nisan 2017;140(7):1670–9.
11. Fu Z, Li S, Han S, Shi C, Zhang Y. Antibody drug conjugate: the “biological missile” for targeted cancer therapy. *Signal Transduct Target Ther*. Mart 2022;7(1):93.
 12. Kalinovsky D V, Kholodenko I V, Kibardin A V, Doronin II, Svirshchevskaya E V, Ryazantsev DY, vd. Minibody-Based and scFv-Based Antibody Fragment-Drug Conjugates Selectively Eliminate GD2-Positive Tumor Cells. *Int J Mol Sci*. Ocak 2023;24(2).
 13. Shim H. Bispecific Antibodies and Antibody-Drug Conjugates for Cancer Therapy: Technological Considerations. *Biomolecules*. Şubat 2020;10(3).
 14. Pegram MD, Hamilton EP, Tan AR, Storniolo AM, Balic K, Rosenbaum AI, vd. First-in-Human, Phase 1 Dose-Escalation Study of Biparatopic Anti-HER2 Antibody-Drug Conjugate MEDI4276 in Patients with HER2-positive Advanced Breast or Gastric Cancer. *Mol Cancer Ther*. Ağustos 2021;20(8):1442–53.
 15. Drago JZ, Modi S, Chandarlapaty S. Unlocking the potential of antibody–drug conjugates for cancer therapy. *Nat Rev Clin Oncol* [Internet]. 2021; Available at: <https://doi.org/10.1038/s41571-021-00470-8>
 16. Zhang A, Fang J, Chou RY, Bondarenko P V, Zhang Z. Conformational difference in human IgG2 disulfide isoforms revealed by hydrogen/deuterium exchange mass spectrometry. *Biochemistry*. 2015/03/03. 2015;54(10):1956–62.
 17. Lucas AT, Price LSL, Schorzman AN, Storrie M, Piscitelli JA, Razo J, vd. Factors Affecting the Pharmacology of Antibody-Drug Conjugates. *Antibodies* (Basel, Switzerland). Şubat 2018;7(1).
 18. Forero-Torres A, Leonard JP, Younes A, Rosenblatt JD, Brice P, Bartlett NL, vd. A Phase II study of SGN-30 (anti-CD30 mAb) in Hodgkin lymphoma or systemic anaplastic large cell lymphoma. *Br J Haematol* [Internet]. 2009;146(2):171–9. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2141.2009.07740.x>
 19. Younes A, Gopal AK, Smith SE, Ansell SM, Rosenblatt JD, Savage KJ,

- vd. Results of a Pivotal Phase II Study of Brentuximab Vedotin for Patients With Relapsed or Refractory Hodgkin's Lymphoma. *J Clin Oncol* [Internet]. 2012;30(18):2183–9. Available at: <https://ascopubs.org/doi/abs/10.1200/JCO.2011.38.0410>
20. Ponziani S, Di Vittorio G, Pitari G, Cimini AM, Ardini M, Gentile R, vd. Antibody-Drug Conjugates: The New Frontier of Chemotherapy. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2020;21(15):5510. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32752132>
21. Lu J, Jiang F, Lu A, Zhang G. Linkers Having a Crucial Role in Antibody-Drug Conjugates. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2016;17(4):561. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27089329>
22. Joubert N, Beck A, Dumontet C, Denevault-Sabourin C. Antibody–Drug Conjugates: The Last Decade. *Pharmaceuticals* [Internet]. 2020;13(9):245. Available at: <https://www.mdpi.com/1424-8247/13/9/245>
23. Su Z, Xiao D, Xie F, Liu L, Wang Y, Fan S, vd. Antibody–drug conjugates: Recent advances in linker chemistry. *Acta Pharm Sin B* [Internet]. 2021;11(12):3889–907. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211383521001143>
24. Strohl WR, Strohl LM, editörler. 15 - Antibody-drug conjugates. İçinde: *Therapeutic Antibody Engineering* [Internet]. Woodhead Publishing; 2012. s. 345–595. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781907568374500154>
25. Lambert JM. Typical Antibody–Drug Conjugates. İçinde: *Antibody-Drug Conjugates (ADCs) in Clinical Development: Fundamentals, Drug Development, and Clinical Outcomes to Target Cancer* [Internet]. 2016. s. 1–32. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9781119060727.ch1>
26. Ou J, Si Y, Goh K, Yasui N, Guo Y, Song J, vd. Bioprocess development of antibody-drug conjugate production for cancer treatment. *PLoS One* [Internet]. 2018;13(10):e0206246–e0206246. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30352095>
27. Sadiki A, Vaidya SR, Abdollahi M, Bhardwaj G, Dolan ME, Turna H, vd. Site-specific conjugation of native antibody. *Antib Ther* [Internet].

- 2020;3(4):271–84. Available at: <https://doi.org/10.1093/abt/tbaa027>
28. Lambert JM, Chari RVJ. Ado-trastuzumab Emtansine (T-DM1): an antibody–drug conjugate (ADC) for HER2-positive breast cancer. ACS Publications; 2014.
 29. Yao H, Jiang F, Lu A, Zhang G. Methods to Design and Synthesize Antibody-Drug Conjugates (ADCs). *Int J Mol Sci* [Internet]. 2016;17(2):194. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26848651>
 30. Gauzy-Lazo L, Sassoon I, Brun M-P. Advances in Antibody–Drug Conjugate Design: Current Clinical Landscape and Future Innovations. *SLAS Discov Adv Sci Drug Discov* [Internet]. 2020;25(8):843–68. Available at: <https://doi.org/10.1177/2472555220912955>
 31. Sun X, Ponte JF, Yoder NC, Laleau R, Coccia J, Lanieri L, vd. Effects of Drug-Antibody Ratio on Pharmacokinetics, Biodistribution, Efficacy, and Tolerability of Antibody-Maytansinoid Conjugates. *Bioconjug Chem*. May 15 2017;28(5):1371–81.
 32. Behrens CR, Liu B. Methods for site-specific drug conjugation to antibodies. *MAbs* [Internet]. 2014;6(1):46–53. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24135651>
 33. Perez HL, Cardarelli PM, Deshpande S, Gangwar S, Schroeder GM, Vite GD, vd. Antibody–drug conjugates: current status and future directions. *Drug Discov Today* [Internet]. 2014;19(7):869–81. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S135964461300398X>
 34. Zhou Q. Site-Specific Antibody Conjugation for ADC and Beyond. *Biomedicines* [Internet]. 2017;5(4):64. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29120405>
 35. Junutula JR, Raab H, Clark S, Bhakta S, Leipold DD, Weir S, vd. Site-specific conjugation of a cytotoxic drug to an antibody improves the therapeutic index. *Nat Biotechnol*. 2008/07/22. 2008;26(8):925–32.
 36. Beck A, Goetsch L, Dumontet C, Corvaia N. Strategies and challenges for the next generation of antibody–drug conjugates. *Nat Rev Drug Discov* [Internet]. 2017;16(5):315–37. Available at: <https://doi.org/10.1038/nrd.2016.268>
 37. Junutula JR, Flagella KM, Graham RA, Parsons KL, Ha E, Raab H, vd. Engineered thio-trastuzumab-DM1 conjugate with an improved

- therapeutic index to target human epidermal growth factor receptor 2-positive breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2010/09/02. 2010;16(19):4769–78.
38. Strop P, Liu S-H, Dorywalska M, Delaria K, Dushin RG, Tran T-T, vd. Location Matters: Site of Conjugation Modulates Stability and Pharmacokinetics of Antibody Drug Conjugates. *Chem Biol* [Internet]. 2013;20(2):161–7. Available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1074552113000331>
 39. Jeger S, Zimmermann K, Blanc A, Grünberg J, Honer M, Hunziker P, vd. Site-specific and stoichiometric modification of antibodies by bacterial transglutaminase. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2010/11/27. 2010;49(51):9995–7.
 40. do Pazo C, Nawaz K, Webster RM. The oncology market for antibody-drug conjugates. *Nat Rev Drug Discov.* 2021/03/26. 2021;
 41. Bross PF, Beitz J, Chen G, Chen XH, Duffy E, Kieffer L, vd. Approval Summary. Gemtuzumab Ozogamicin Relapsed Acute Myeloid Leuk [Internet]. 2001;7(6):1490–6. Available at: <https://clincancerres.aacrjournals.org/content/clincanres/7/6/1490.full.pdf>
 42. Appelbaum FR, Bernstein ID. Gemtuzumab ozogamicin for acute myeloid leukemia. *Blood* [Internet]. 2017;130(22):2373–6. Available at: <https://doi.org/10.1182/blood-2017-09-797712>
 43. de Claro RA, McGinn K, Kwitkowski V, Bullock J, Khandelwal A, Habtemariam B, vd. U.S. Food and Drug Administration Approval Summary: Brentuximab Vedotin for the Treatment of Relapsed Hodgkin Lymphoma or Relapsed Systemic Anaplastic Large-Cell Lymphoma. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2012;18(21):5845–9. Available at: <https://clincancerres.aacrjournals.org/content/clincanres/18/21/5845.full.pdf>
 44. Von Minckwitz G, Huang C-S, Mano MS, Loibl S, Mamounas EP, Untch M, vd. Trastuzumab emtansine for residual invasive HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med.* 2019;380(7):617–28.
 45. Lamb YN. Inotuzumab ozogamicin: first global approval. *Drugs.* 2017;77(14):1603–10.
 46. Sehn LH, Herrera AF, Matasar MJ, Kamdar M, Assouline S, Hertzberg M,

- vd. Polatuzumab vedotin (Pola) plus bendamustine (B) with rituximab (R) or obinutuzumab (G) in Relapsed/refractory (R/R) diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): updated results of a phase (Ph) Ib/II study. *Blood*. 2018;132(Supplement 1):1683.
47. Challita-Eid PM, Satpayev D, Yang P, An Z, Morrison K, Shostak Y, vd. Enfortumab vedotin antibody–drug conjugate targeting nectin-4 is a highly potent therapeutic agent in multiple preclinical cancer models. *Cancer Res*. 2016;76(10):3003–13.
 48. Ogitani Y, Aida T, Hagihara K, Yamaguchi J, Ishii C, Harada N, vd. DS-8201a, a novel HER2-targeting ADC with a novel DNA topoisomerase I inhibitor, demonstrates a promising antitumor efficacy with differentiation from T-DM1. *Clin Cancer Res*. 2016;22(20):5097–108.
 49. Fenn KM, Kalinsky K. Sacituzumab govitecan: antibody-drug conjugate in triple-negative breast cancer and other solid tumors. *Drugs Today (Barc)* [Internet]. 2019;55(9):575–85. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31584574>
 50. GlaxoSmithKline. FDA approves GSK's BLENREP (belantamab mafodotin-blmf) for the treatment of patients with relapsed or refractory multiple myeloma. News release.
 51. Markham A. Belantamab Mafodotin: First Approval. *Drugs*. 2020;80.
 52. Dhillon S. Moxetumomab Pasudotox: First Global Approval. *Drugs* [Internet]. 2018;78(16):1763–7. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30357593>
 53. Verma S, Miles D, Gianni L, Krop IE, Welslau M, Baselga J, vd. Trastuzumab emtansine for HER2-positive advanced breast cancer. *N Engl J Med*. 2012/10/02. 2012;367(19):1783–91.
 54. FDA. FDA grants accelerated approval to sacituzumab govitecan-hziy for metastatic triple negative breast cancer [Internet]. 2020. Available at: <https://www.fda.gov/drugs/drug-approvals-and-databases/fda-grants-accelerated-approval-sacituzumab-govitecan-hziy-metastatic-triple-negative-breast-cancer>
 55. Bardia A, Hurvitz SA, Tolaney SM, Loirat D, Punie K, Oliveira M, vd. Sacituzumab Govitecan in Metastatic Triple-Negative Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2021/04/22. 2021;384(16):1529–41.
 56. Bardia A, Mayer IA, Vahdat LT, Tolaney SM, Isakoff SJ, Diamond JR,

- vd. Sacituzumab Govitecan-hziy in Refractory Metastatic Triple-Negative Breast Cancer. *N Engl J Med* [Internet]. 2019;380(8):741–51. Available at: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1814213>
57. Kantarjian HM, DeAngelo DJ, Stelljes M, Martinelli G, Liedtke M, Stock W, vd. Inotuzumab Ozogamicin versus Standard Therapy for Acute Lymphoblastic Leukemia. *N Engl J Med* [Internet]. 2016;375(8):740–53. Available at: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1509277>
 58. Bayat Mokhtari R, Homayouni TS, Baluch N, Morgatskaya E, Kumar S, Das B, vd. Combination therapy in combating cancer. *Oncotarget*. 2017/04/15. 2017;8(23):38022–43.
 59. Gerber HP, Sapra P, Loganzo F, May C. Combining antibody-drug conjugates and immune-mediated cancer therapy: What to expect? *Biochem Pharmacol*. 2015/12/22. 2016;102:1–6.
 60. Herrera AF, Moskowitz AJ, Bartlett NL, Vose JM, Ramchandren R, Feldman TA, vd. Interim results of brentuximab vedotin in combination with nivolumab in patients with relapsed or refractory Hodgkin lymphoma. *Blood* [Internet]. 2018;131(11):1183–94. Available at: <https://doi.org/10.1182/blood-2017-10-811224>
 61. Lehar SM, Pillow T, Xu M, Staben L, Kajihara KK, Vandlen R, vd. Novel antibody–antibiotic conjugate eliminates intracellular *S. aureus*. *Nature* [Internet]. 2015;527(7578):323–8. Available at: <https://doi.org/10.1038/nature16057>
 62. Brandish PE, Palmieri A, Antonenko S, Beaumont M, Benso L, Cancilla M, vd. Development of Anti-CD74 Antibody–Drug Conjugates to Target Glucocorticoids to Immune Cells. *Bioconjug Chem* [Internet]. 2018;29(7):2357–69. Available at: <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.8b00312>
 63. Graversen JH, Svendsen P, Dagnæs-Hansen F, Dal J, Anton G, Etzerodt A, vd. Targeting the hemoglobin scavenger receptor CD163 in macrophages highly increases the anti-inflammatory potency of dexamethasone. *Mol Ther*. 2012/05/31. 2012;20(8):1550–8.