

İlaç Taşıyıcı Sistem Olarak İmmünolipozomlar

A. Yekta ÖZER*^o, Gürhan ABUHANOĞLU*

İlaç Taşıyıcı Sistem Olarak İmmünolipozomlar

Özet : İmmün özellik gösteren maddeler, son zamanlarda, ilaç taşıyıcı sistemlerle beraber, hedef olan ve olmayan hücreleri belirlemek üzere kullanılmaktadır. Bu ilaç taşıyıcı sistemler arasında, en ümit verici olanı LİPOZOM'lardır. Çünkü, hücre membranı yapısıyla, lipozomların çifte tabakalı yapısı arası benzerlik, lipozomlar için önemli bir avantajdır. Buna ilaveten: lipozomların immüoglobülinlerle kombine edilebilmeleri, hedeflendirilebilmeleri açısından da bir avantaj sağlamaktadır.

Bu derlemede, ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılan immünolipozomların, lipozom ve immüoglobülin olarak ayrı ayrı ve immünolipozom olarak birlikte taşınmaları gereken özellikler, bu konu hakkındaki in vivo-in vitro çalışmalar, kullanım alanlarındaki gelişmeler ve daha çok çalışılması gereken noktalar belirtilmiştir.

İmmünolipozomlar; lenfoma, lösemi, orak hücreli anemi gibi kan hastalıkları tedavisinde, dolaşımda bulunan ilaçların toksik düzeylerini düşürmede ve gama sintigrafi çalışmalarının geliştirilmesinde ümit vericidir.

İlaç taşıyıcı sistem olarak immünolipozomların geliştirilmesi, farklı immünolipozomların, farklı patolojik durumlarda uygulanması, immünolipozomların geleceğini belirleyen unsurlar olacaktır.

Anahtar kelimeler: İmmünolipozomlar, ilaç taşıyıcı sistem, lipozom, immüoglobülinler

Geliş : 5.6.1997
Düzeltilerek geliş : 6.10.1997
Kabul : 23.10.1997

Immunoliposomes as Drug Delivery System

Summary: Substances which have immunological properties are recently being used to define target cells and non-target cells, with drug delivery systems.

Among these drug delivery systems, liposomes are the most promising ones. Because, the similarity between the cell membrane and bilayer structure of liposomes is an important advantage for the liposomes. As an other advantage, liposomes can be combined with immunoglobulines, so that they are put on target more spesifically.

In this review article, spesification of immunoliposomes used as drug delivery system both in the form of liposome and immunoglobuline seperatly, in vivo-in vitro studies about this subject, developments in their therapeutic usage and the points must be studied moreover had been rewieved. Immunoliposomes seem to be promissing in treatment of blood diseases such as lenfoma, leucemia and thalasemia, decreasing the-toxic levels of drugs in circulatory system, development of gama scintigraphy studies.

Development of immunoliposomes as drug delivery system, administration of different immunoliposomes in different pathologic situations will be the points which is going to determine the future of immunoliposomes.

Key words: Immunoliposomes, drug delivery system, liposome, immunoglobulines

GİRİŞ

Her ilaç, tedavi edici etkisi yanında, kullanımını engelleyecek ve ciddi sorunlara yol açabilecek yan etkilere de sahiptir. Böyle bir ilacın yan etkileri, seçilen dokuya ilacın taşınmasıyla azaltılabilir ve tedavi indeksi artırılabilir. Hedeflendirme fikrinin üç bileşeni vardır:

1. İlaç,
2. İlaç için taşıyıcı ve
3. Hedef olan ve olmayan hücreleri ayırtetmek üzere tasarlanan Homing Device (H D)¹.

Bugüne kadar çok çeşitli taşıyıcılar üzerinde çalışılmıştır: makromoleküller, kolloidal partiküller sistemler ki bunlar arasında özellikle lipozomlar, ni-ozomlar, nanopartiküller, mikroemülsiyonlar, mik-

* Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Radyofarmasi Anabilim Dalı, 06100 Sıhhiye/ANKARA
^o Yazışma Adresi

roküreler ve eritrositler sayılabilir. HD 'lar için immünoglobülinler, glikoproteinler, polipeptitler ve antijenler önerilmiştir.

Taşıyıcı-HD kombinasyonu şu özellikleri taşımalıdır¹:

1. Toksik olmamalıdır,
2. Biyolojik olarak parçalanabilir olmalıdır,
3. Bozunma ürünleri toksik olmamalıdır,
4. Hidrofilik olsun, hidrofobik olsun tüm ilaçlara uygulanabilmelidir,
5. Kombinasyon, aynı zamanda hedef hücreye seçici olmalı ve kuvvetli bağlanma göstermelidir,
6. İlacı hedef hücreye taşıyabilmelidir.

Halen taşıyıcı-HD kombinasyonları içinde en ümit verici olanı, hücre membranına çifte tabakalı yapı benzerliği nedeniyle lipozom-immünoglobulin sistemidir.

Bu derlemede, daha önce lipozomlarla ilgili derlemelerimize²⁻⁷, yeni bir konuyu -immünolipozomları eklemek istiyoruz.

TARİHÇE

İlaçların sihirli bir mermi olarak kullanılabileceği fikri ilk kez 20. yüzyılın başlarında Paul Ehrlich tarafından ileri sürülmüştür⁸.

Ehrlich, infeksiyöz organizmalara spesifik olarak bağlanan ama evsahibi dokuya bağlanmayan, böylece ev sahibine değil, infeksiyöz organizmaya toksik etki gösteren ilaçların bulunabileceğini göstermiştir. Sifilisin tedavisi için 600'ün üzerinde ilaç üzerinde çalışmış ve 606.'sında Salvarsan'ı bulmuştur. Salvarsan, sifilisli hastaların çoğunu tedavi etmesine karşın, bazı hastalara letal etki göstermiştir.

P. Ehrlich, araştırmalarının devamını letal etkileri sınıflamakla ve bunların etkilerini saptamaya çalışmakla sürdürmüştür. İlaçların sihirli bir mermi olarak kullanılabileceği görüşü yanında, Ehrlich'in çalışmaları göstermiştir ki, bu sihirli merminin spesifikliği de önemli bir noktadır.

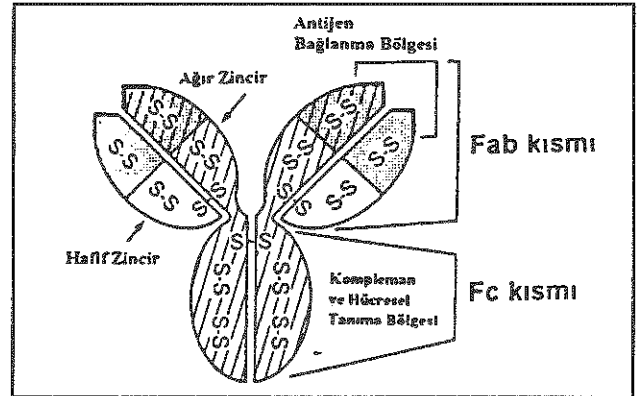
P. Ehrlich, sihirli mermi şeklindeki ilaçlar görüşüne bir başka katkıda daha bulunmuştur. Bu da Emil

Behring ile kanın immün aktivitesi üzerinde yaptıkları çalışmadan çıkmıştır. Behring, difteri toksinine karşı, tabii bir antitoksini keşfetmiştir⁸⁻¹⁰.

Behring ve Ehrlich, nötralize edici antikor olan tabii antitoksin üzerinde çalışmışlardır. Araştırmacılar, benzer kan maddelerinin, tavşanlara yabancı materyal enjekte ederek üretilebileceğini bulmuşlardır. Kandaki bu maddeler, farklı yabancı materyallere spesifik olarak ve bazı özel reseptörlere bağlanır. P Ehrlich'in tavşanlardan alınan serumları keçi veya öküz kırmızı kan hücrelerine enjekte etmesi ardından yaptığı analizler göstermiştir ki her serum, reseptörleri tanıyan antikorlar içermektedir. Böylece Ehrlich ve Behringer dokuya spesifik, reseptörlere bağlanma afinitesi olan, antikorları tanımlamışlardır. Ehrlich, bunları vücudun tabii sihirli mermileri olarak kabul etmiş ve yüksek spesifikliği olan ilaçlar olarak düşünülebileceğini ileri sürmüştür.

ANTİKOR (ANTIBODY) NEDİR ?

Antikor molekülü ideal olarak sihirli bir mermi şeklinde tanımlanır. İmmünoglobulin G sınıfı tipik bir antikor molekülü Y şekilli bir protein olup, birbirine disülfid çapraz bağıyla bağlı 4 polipeptit zincirinden oluşur ve iki fonksiyonel bölge halinde organize olmuştur¹¹.



Şekil 1. İmmünoglobülin G Yapı ve Fonksiyonu¹¹

İmmünoglobulin G (IgG)'yi oluşturan polipeptit zincirlerinden ikisi ağır, ikisi hafif zincir olup, ağırlıkları 50 ve 25 kD'dur. Proteazlar, molekülü fonksiyonel iki kısma ayırırlar: Fab ve Fc kısmı olmak üzere. Fab'lar antikoru yöneltildiği antijen için çok uygun bir bağlanma yeri olan değişik bölgeler sağlar. İki Fab kolunun herbiri aminoasitlerden oluşan

antijen bağlanma yeri taşırlar. Söz konusu antijen bağlanma yerleri, hem hafif hem ağır zincirin üst kısmında yer alırlar¹¹.

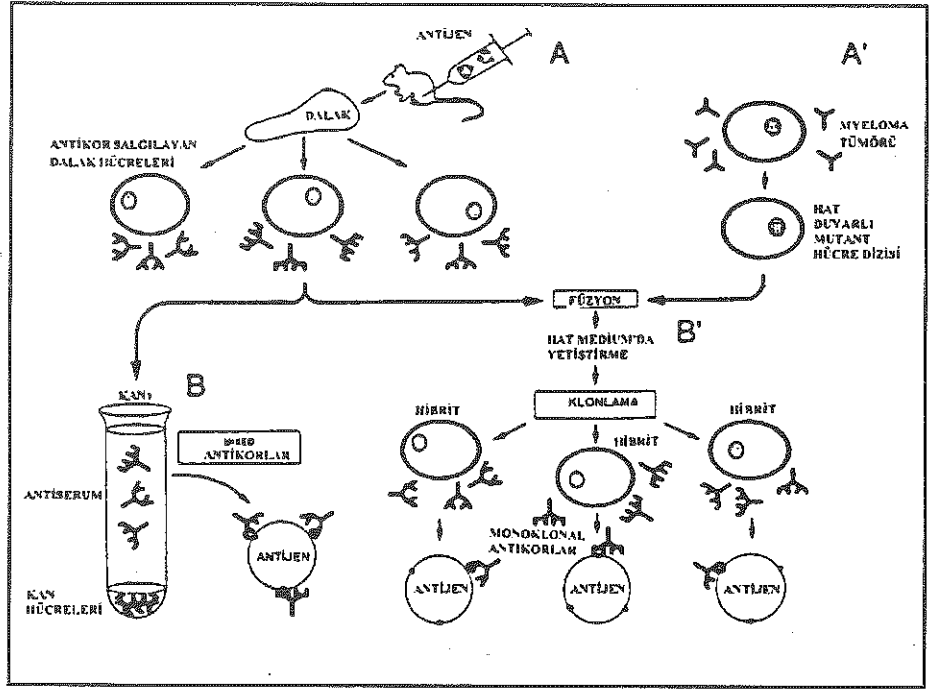
IgG'nin gövde kısmı ise Fc adını alır. Antikörün immünolojik fonksiyonlarına katılan değişmez kısımlarını içerir. Fc kısmı üç ayrı yapıyı tanıyıcı bölüm taşır.

Bunlar;

- i) Kompleman proteinlerini tanıyan dizileri vardır ve bu sayede antikörlere bağlanır, bağlandığı hücreleri parçalar.
- ii) Lenfositleri tanıyan kısımlar içerir. Bu sitostatik lenfositler antikörların bağlandığı hücreleri tahrip eder.
- iii) Son olarak, Fc, makrofajlar üstündeki antikör reseptörleri için bağlanma yerleri içerir ve bu kısımlar antikör ile kendine bağlı antijeni sindirir. Bu nedenle immün sistemin sihirli mermisidir. Çünkü yabancı antijeni bağlar ve onun tahribini sağlar¹¹.

MONOKLONAL ANTİKÖRLAR (Mab)

Mab'ların tedavide nasıl kullanıldıklarına geçmeden önce, bunların bu tip uygulama için nasıl üretildikleri çok daha önemlidir. Mab'ların geliştirilmesinden önce, antikörları izole etmenin tek yolu, immünize edilmiş hayvan serumu kullanmaktır. Şekil 2a ve 2b'de görüldüğü gibi önceleri üç farklı bölgesi olan antijenle fareler aşılanmakta ve dalağında her üç farklı bölgeye karşı antikör üretilmekteydi. Bir dalak hücresinin ömrünün belirli olması ve in vitro kültürünün hazırlanamaması işin en kısıtlayıcı yanı olmuştur. Bu antikörlar kana salgılanır ve kan üç ayrı antijene reaksiyon gösteren antikör karışımını içerir. Yani poliklonal antikörlar üretilmiş olur. İmmünize edilmiş hayvan



Şekil 2. Monoklonal Antikör Üretimi¹²

serumundan kısıtlı miktarda antikör üretimine izin veren, spesifikliği az antikör(poliklonal antikör) üretiminin bu sorunları üzerine; Köhler ve Milstein 1975'ten itibaren başlattıkları çalışmalarla monoklonal antikör üretimini başararak 1984'te Nobel Tıp Ödülü almışlardır¹². Şekil 2a' ve 2b' de bu araştırmacıların izledikleri monoklonal antikör üretimi şematize edilmiştir.

Monospesifik antikörları sınırsız miktarda elde eden bu teknolojiye göre; fareden, antikör üreten hücrenin miyelom tümöründen üretilen mutant bir hücre alınır. Bu hücre sonsuza kadar in vitro üretilir. Mutant miyelom hücresi, aşıları farenin dalak hücreleriyle temasta füzyona uğrar ve hibrit hücre elde edilir. Bu hibridoma in vitro olarak sonsuza kadar çoğalır. Böylece bir fareyi seçilen bu antijenle immünize ederek, antijene reaksiyon veren monospesifik antikör üretmek mümkün olmuştur ve tedavi amacına uygun, yetecek miktarda çoğaltmak olasıdır^{11,13}.

MONOKLONAL ANTİKÖRLAR İLE TEDAVİ

Mab'lar tedavide:

- a) Spesifik
- b) Konjüge halde olmak üzere iki şekilde kullanılırlar(İmmünolipozomlar)¹¹.

Tablo 1. Monoklonal Tedavide Uygulama ve Sınırlandırmalar¹¹

Antikor Çeşidi	Durum/Tedavi Edilen Hastalık	Insanda Deneme	Başarı Oranı	Sınırlandırmalar
Doğal	İlaç Toksisitesi Organ nakli	Evet Evet	Yüksek Orta	Minör Anti- immünoglobulin
	Kemik iliği nakli Otoimmün hastalıklar Kanser	Evet Hayır Evet	Orta * Değişken	Graft bozukluğu İmmüno-supresyon Anti- immünoglobulin
Konjüge				
- İlaç/toksin	Kanser	Hayır	*	Toksisite/Spesifite
	Kemik iliği nakli	Evet	Değişken	Etkinlik
- Enzim	Trombozis	Hayır	*	Spesifite
- Radyoaktivite	Kanser (Görüntüleme)	Evet	Orta	Toksisite/Spesifite

a) Spesifik Antikorlar İle Tedavi

1. Hedef antijene bağladıklarında, aktivitenin ortaya çıktığı durumlarda uygulanır,
2. Hem hedefe bağlandığı hem de diğer biyolojik sistemleri aktive ederek onların tahribini yönettiği durumlarda uygulanır.

Spesifik antikor tedavisinin en iyi sonuç verdiği ve başarılı olduğu alan ilaç toksisitesidir. Burada antikor, toksik maddenin etkisini bloke eder. Örneğin; antikorlar, digitalis zehirlenmelerinin tedavisinde halen kullanılmaktadır.

Kardiak glikozitlere spesifik olan antikorlar sadece ilaç nötralize etmezler, aynı zamanda memeli hücrelerinden uzaklaştırırlar ve böylece farmakolojik ya da toksik cevabı in vitro veya in vivo tersine çevirirler¹⁴.

Spesifik antikorlar, ayrıca otoimmün hastalıklar denen hücrel immün cevabın tahrip edici olduğu durumlarda, bu durumu bloke etmek üzere de kullanılır. Burada antikorlar, tahrip edici hücrelerin aktivitesini bloke etmede ya da onların uzaklaştırılmasında rol oynar¹⁵. Bu özel uygulama sadece hayvanlarda denenmiştir.

Günümüzde CD3 antikorları, böbrek reddinden sorumlu sitotoksik T hücreleri tarafından oluşturulan, böbrek transplantasyonundaki tahripleri bloke etmede kullanılmaktadır¹⁶.

Böbrek transplantasyonlarında konvansiyonel tedavi, yüksek doz steroid ve timositlere karşı antikorların kullanılmasına dayanır. Yüksek doz steroid tedavisi enfeksiyon riskini ve diğer yan etkileri

artırır. Timositlere karşı kullanılan antikorlar ise steroidlerden daha etkindirler fakat seriler arasında standardizasyon zordur, verimi açısından farklılıklar vardır ve seriler arasında yan etki eğilimi halâ önemli bir sorundur.

CD3 antikorları ise ticari olarak mevcut bir Mab olup, timositler veya olgun insan T-hücresinin yüzeyinde bulunurlar ve T-hücre-antijen reseptörünü tanırlar. İn vitro olarak uygulanan CD3 antikorları, insan T hücreleri ve T -hücre fonksiyonlarını bloke ederek sitotoksik etki gösterir. Böbrek nakli yapılan 123 hasta üzerinde yapılan çalışmada; hastaların 63'ü CD3 antikorları ile, 60'ı ise konvansiyonel steroid ile tedavi edilmiş ve CD3 antikorları uygulanan hastaların % 94'ünde böbrek reddi geri döndürülürken, steroid tedavisi görenlerin ancak % 75'inde bu sağlanabilmiştir¹⁶.

Bugüne kadar, spesifik Mab'ler lösemi, lenfoma ve melonoma gibi katı tip tümörleri tedavide kullanılmıştır^{11,13}. Tümörler üstündeki hedef antijenleri tanıyan spesifik antikorlar tümörlere bağlanabilir ve onların tahribini yönetebilir. Bu uygulamalar sonucu vakaların % 25'inde tümörde regresyon görülmüştür. Ancak vakaların çoğunda regresyon geçicidir. Bu vakalardan birinde ise tam remisyon sağlanmıştır. 1980'lerde rapor edilmiş olan bu vakada tedavi, B-hücre lenfomasının Mab ile indüksiyonuyla elde edilmiştir¹⁷.

b) Konjüge Haldeki Antikorlar İle Tedavi

Enzimler, radyoaktif maddeler ve ilaçlara monoklonal antikorların uygun bağlanması(konjügasyon) ile oluşan yapılar kanser görüntülenmesi, kemik iliği nakli gibi alanlarda, Mab'lerin kullanımını sağlar.

Mab'ler: ilaçlar, toksinler, radyoaktif maddeler ve enzimler gibi maddeler için spesifik taşıyıcı olarak tedavide kullanılabilir. Burada Mab'lar konjüge halindedir ve bu tip tedavi halen hayvan modelleri kullanılarak deneysel safhada sürmektedir. Oysa spesifik antikor tedavisi çeşitli vakalarda insanlarda denenmiştir.

İlaç ya da toksinin antikora bağlanması, bu ilaç veya toksinin tümör hücrelerini yoketme yeteneğini artırmalıdır^{18,19}. Hayvan modellerinde bu strateji ile bir grup tümör tedavi edilmiştir²⁰. Mab kon-

jugatlarının 5 tümör sisteminde hayatı uzatmayı başardığını, 4 sistemde de tümör büyümesini inhibe ettiğini bildirmişlerdir.

Ayrıca Mab'lar, kemik iliği transplantasyonlarında da kullanılmaktadır. Kanser hastalarında kemik iliğinden transplante edilmiş hücrelerin eliminasyonunda da kullanılabilir. Bu uzaklaştırmanın etkili olduğu ve deney hayvanlarına başarılı transplantasyon yapıldığı bulunmuştur²¹. Bu yöntem halen, insan kemik iliği transplantasyonunda da test edilmektedir¹⁹.

Mab'lar konjüge halde bir ilaç veya enzimi belirli bir yere lokalize etmekte kullanılırlar. Örneğin: antifibrin Mab'lar, ürokinaza konjüge olarak, bu enzimin kan pıhtılarına lokalize olmasına yardım ederler. Böylece ürokinaz sayesinde, plazminojenin plazmine dönüşmesi aktive edilerek, fibrin oluşumu hızlandırılır²².

Halen antikör konjugatlarının kullanıldığı alanlardan birisi de insanlarda radyolojik görüntülemelerdir¹⁸. Radyoaktif işaretleyicinin, tümöre spesifik antikora bağlanması tümörün yerini ve boyutunu saptamaya yarar, yani teşhiste kullanılır. Radyoaktif antikör konjugatları fibrinle hareket ederek, gene kan pıhtısını lokalize etmede kullanılır²³.

ANTİKÖR TEDAVİSİNİN LİMİTASYONLARI

Antikörlerin tedavide kullanımını kısıtlayan hususlar vardır ve bu kısıtlamalar antikör tedavisinin şekline (spesifik, konjüge) göreder.

Spesifik antikörlerin kullanımı, antikörün kendi doğal yetenekleriyle kısıtlıdır. Örneğin; bir fare monoklonal antikoru eğer hasta bir insana enjekte edilmişse, insan onu yabancı bir antijen gibi tanır ve bu antijene karşı antikör oluşturur.

Konjüge antikörlerde, daha başka problemlerde görülür. Örneğin; konjüge materyal çok toksik olursa bu sorun yaratır. Konjugat, yalnızca hedef moleküle yönlendirilmelidir ki yanlış dokuya gidip onu tahrip etmesin. Eğer yanlış dokuya giderse, molekül orada açığa çıkıp yeni problemler doğuracaktır. Bu yüzden ideal olanı, hedef hücre üzerinde daha spesifik durumdaki reseptörleri seçmektir. Bu doku ya

da hücreye özgü, spesifik reseptörlerin seçilmesi; tedavi etkinliğini ve tedaviye devam edilebilme şansını artırır²⁴.

Bunun dışında, antikörler, Fc kısımları üzerinde, RES'in makrofaj hücrelerine benzer hücreler tarafından geri alınmasına neden olan kısımlar taşırlar²¹. Bu hücreler vücudun pek çok dokusunda mevcuttur ve bunların fonksiyonu, kendisine bağlanmış olan antikör ile birlikte yabancı antijeni sindirmektir²⁵. Bu hücreler toksik antikör konjugatı alırlarsa, immün sistemin önemli kolları tahrip olur.

Mab'larla tedavide oluşan etkiler, insan kanında mevcut antijen-antikör kompleksinin miktarıyla orantılı olarak meydana gelir. Bu etkilerin çoğu fiziksel rahatsızlıklardır ve uzun sürmezler. En ciddi yan etki, anafaksi olup; uygulanan antikora gösterilen akut allerjik reaksiyondur. Bu nadiren gözlenir ve monoklonal antikörlere karşı cevabın, daha önceden aktive edildiği vakalarda rastlanır. Monoklonal antikörlere karşı cevap oluşturan ikinci ciddi etki ise; antikörlerin "yabancı" antikörleri nötralize ederek tedaviyi etkisiz hale getirmeleridir. Tümörlerin spesifik antikörlerle tedavi edildiği vakaların % 50'sinde hastalar antikora karşı cevap geliştirirler ve bu süre tedavinin etkisini göstermemesi ile sonuçlanır.

Spesifik Mab'ların tedavide kullanımı sorun yaratır. Ya tek bir dozu takiben tedavi etkili olmalıdır ya da; immün sistemin bu normal cevabı, tekrar doz uygulamasına imkan tanımamalıdır. Konjüge Mab kullanımında ise tek doz uygulama olasılığı yoktur, RES nedeniyle ilk uygulamada bile dikkatli olunmalıdır. Bu nedenle, toksik antikör konjugatlarının kullanımı için bir atılımda bulunulmamıştır. Ancak, tek dozun verilen kısıtlamalarına dikkat ederek, tabii Mab'ları kullanmak mümkündür ve başarılı sonuçlar alınmıştır, ümit verici modeller geliştirilmiştir¹¹.

İMMÜNOLİPOZOMLARIN HAZIRLANIŞLARI VE ÖZELLİKLERİ

İmmünolipozomlar ilacı hedefe taşımada fonksiyon yapan, lipozomun antikör veya antikör fragmanına bağlanmasıyla oluşan kombinasyonlar olup taşıyıcı (lipozom)-HD (immünoglobülin) yapısındadırlar.

Antikor Ig G; papainle muamele edilirse Fab ve Fc fragmanları, pepsinle muamele edilirse F(ab')₂ ve Fc' fragmanları elde edilir¹.

İmmünilipozomlar iki yolla hazırlanırlar:

- i) İmmüloglobülinler, lipozomların hazırlandığı sulu ortamla inkübe edilirler²⁶.
- ii) Lipozom hazırlama sırasında, immüloglobülinlerin lipozomlarla bir araya getirilmesiyle elde edilirler. Daha sonra immüloglobülinler, lipozomlara kovalan veya non-kovalan yolla bağlanırlar²⁷.

Lipozom ve HD arasındaki bağlanma, iki şekilde olur;

a) Kovalan Bağlanma

Lipozom çifte tabakası ile antikor veya fragmanı arasına aracı bir molekül girer. Tiyol ve amin grupları hidrofobik gruplar(anchor) olup, lipozom çifte tabakasına bağlanırlar. Böylece antikor kimyasal olarak değişikliğe uğramış olur²⁸⁻³⁰.

b) Non-Kovalan Bağlanma

Elektrostatik ve hidrofobik etkileşmeler söz konusudur. Bu tip bağlanma immünilipozomlarla yapılan ilk çalışmalarda kullanılmıştır. Fakat dayanıklılığı ve tekrarlanabilirliği kovalan bağlanmaya göre daha az olduğundan az kullanılmaktadır¹.

İmmünilipozomların büyüklükleri önemlidir. İmmünilipozomlar, hedef hücre veya dokunun bulunduğu kompartmana enjekte edildiğinde, ilaç taşınımının maksimum seçicilik göstermesi istenir. "Derhal" kabule hazır hedef hücreler arasında; kan kompartmanı, peritoneal kavite, safra, uterus, akciğerler, göz ve lenfatik sistem sayılabilir³¹⁻³⁶.

i.v enjeksiyon sonrası spesifik problem: lipozomların MPS (mononükleer fagosit sistem)'e olan ilgileridir. i.v verilen partiküler ilaç taşıyıcı sistemler, karaciğer ve dalağın makrofajlarının, MPS hücreleri tarafından tercihen alınırlar. MPS'lerin bu spesifik olmayan fagositik aktivitesi, immünilipozomların hedefteki verimini, etkinliğini düşürür.

Hayvan çalışmalarında MPS; dekstran sülfat, lateks

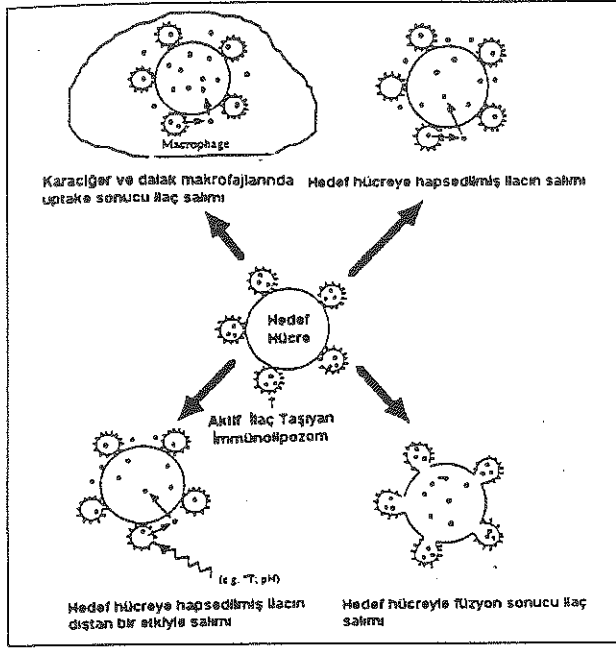
küreleri, karbon, metilpalmitat veya boş lipozomlarla doyurularak, lipozomlara olan ilgisi önlenmeye çalışılır³⁷. Ancak, hastalarda MPS'nin bu şekilde lipozomlara olan ilgisinin önlenmesi tercih edilmez, çünkü; makrofajlar canlılığın savunma sisteminde önemli rol oynar.

HD'nin performansı, immünilipozomların hedef yere taşınmasında çok kritiktir. Antijen seçiciliğinin eksikliği, yetersiz performansa sebep olabilir. Ör: Tümör spesifik antijenleri, farklı antijenlerdir. Bu antijenler, hedef olmayan hücrelerde de oluşabilirler. Ayrıca, hedef dokudaki hücrelerin heterojenliği de problem olabilir. Ör: Tümör, yüzeyinde farklı hücreler ve farklı antijenler taşır. Bu durumda, tüm tümör hücrelerinin yüzeyindeki antijenlere ulaşmak için antikor kokteyli gerekir^{32,38}. Benzer problem parazitik, mikrobiyal ve viral hastalıklarda, eğer patojen tarafından indüklenen antijenik yapı zamana bağlıysa da görülür. Sonuçta, antijen yapılar ana hücreler tarafından örtülür ve kanda dolaşır. Bu kanda dolaşan antijenler, immünilipozomlarla kompleks teşkil ederler, HD'ı inaktive ederler ve immünilipozomlarla hedef hücrenin spesifik etkileşmesini önlerler^{32,39}.

İmmünilipozomun hedef hücreye varmasından sonra lipozomda tutulan ilacın açığa çıkıp farmakolojik etki oluşturması istenir. Hedef hücrenin, immünilipozomu fagosite etmediği varsayılarak, ilacı aktive etmenin, açığa çıkarmanın çeşitli yolları vardır.

Dört olasılık vardır:

- i) Hedef hücre ile immünilipozom etkileşmesi ardından bu kompleks makrofajlarca alınır. Makrofaj içinde, lipozom bozulur ve ilaç açığa çıkar. Açığa çıkan ilaç, böylece hedef hücrede etkisini gösterir.
- ii) Lipozomun çifte tabakalı yapısı, etken maddeyi kolay salacak şekilde seçilir; böylece ilaç kolayca sızarak yakınındaki hedef hücreye verilir.
- iii) Lipozomdan ilacın salımı, dıştan bir etkiyle, örneğin; (pH, sıcaklık gibi) sağlanabilir.
- iv) Lipozomal çifte tabakaya füzyona uğrayan bir protein eklenebilir. Bu spekülatif görüşe göre immünilipozomun membranı, hücre membranıyla temasta eriyerek eklenen protein açığa çıkar ve sonuçta hedef hücrenin sitokini serbestleştir⁴⁰. (Şekil 3)



Şekil 3. Hücreye İlaç Alınımının Değişik Mekanizmaları⁴⁰

İMMÜNOLİPOZOMLARIN İN VİVO DAVRANIŞINI NELER ETKİLER ?

Etkiler şöyle sıralanabilir:

a- İmmünolipozomların uygun tasarımı için; tam halde Ig G kullanımı uygun değildir; çünkü Fc'nin vücutta tanınması nedeniyle makrofajları harekete geçirici etkisi vardır^{37,41-43}. Bu nedenle, F(ab')₂, Fab, Fab' gibi alt ürünleri veya Ig M içeren immünolipozomlar daha uzun süre dolaşımda kalırlar. Ancak, bu konuyla ilgili henüz çok kesin kanıtlar yoktur.

b- Uygun antijeni içeren sistemlerde, iv uygulanan immünolipozomların hızlı klerensi gözlenmiştir^{44,45}. Hedef hücreyle immünolipozomun kompleks teşkili, bu komplekslerin kan kompartmanından alımını başlatır^{33,44,45}. Ancak bunun tersi olan bulgulara rapor edilmiştir: Bazı araştırmalarda, immünolipozomların hedef hücreye bağlanmasının klerens hızını düşürmediğini bildirmişlerdir⁴⁶. Bu ilişki deneysel tasarıma bağlı olabilir.

c- İmmünolipozomların antijenitesi önemli bir noktadır⁴⁷. Hayvanlara ardarda 4 kez iv. immünolipozom tatbik sonrası farelerde antikor titresinde belirgin bir artış olmuştur. Oysa tek uygulamada, antikora karşı oluşan immün cevap ve HD etkilenmez.

Ancak, tedavi için çok sayıda enjeksiyon gerekir. İlk enjeksiyon sonrası immünolipozomlara karşı antikorlar oluşabilir ve bu oluşan antikorlar immünolipozom ile etkileşebilirler⁴⁴. Ayrıca immünolipozom verilen ve verilmeyen farelerde klerens hızı benzer bulunmuştur. Tabii bu durum ideal durumlarla ilgili sonuçlardır ve immünolipozomdaki antikor ile alıcının antikorlarının uyuşması durumu için geçerli olduğu unutulmamalıdır⁴⁴.

İMMÜNOLİPOZOMLARLA YAPILAN İN VİVO-İN VİTRO ÇALIŞMALAR

Literatürde, radyoaktif ve floresan, işaretleyici molekül taşıyan in vivo lipozomlarla çalışmalar yapıldığı görülmektedir. Farklı bileşimde ve farklı yöntemlerle hazırlanmıştır ve kan kompartmanına uygulanmıştır. SUV'ler, en çok kullanılan lipozomlardır^{27,44,46,47-49}. Ayrıca REV⁵⁰, LUV'ler⁵¹ ile de çalışılmıştır.

Lipozomlarda spesifik etkileşmeler izlenmiştir. Etkileşme sonucu hedefle immünolipozom arasında kompleks oluşur. Bunu ispat için Gregoriadis ve arkadaşları bir grup deney yapmışlardır⁴⁹. Farelere insan Ig M'si içeren immünolipozom enjekte edilmiş, 3 dk. sonra da anti-Ig M - Ig G içeren immünoglobülin enjekte edilmiştir. 5 dk. sonra kan örneği alınmış ve Ig M'nin % 40'ı geri kazanılmış ve Ig M-immünolipozom kompleksi halinde olduğu görülmüştür. Bazı çalışmalarda ise, hedef hücrelerin kendisi, immünolipozomları enjekte edildiği anda hızla % 95'ini dolaşımdan uzaklaştırmıştır. O zaman da immünolipozomları hedefte değerlendirmek mümkün olmamıştır⁴⁵.

Bazı araştırmacılar, immünolipozomları, farelere iv vererek, kardiyak glikozid digoksinin kandan klerensini artırmada kullanmışlardır¹⁴. Anti-digoksin immünolipozomlarının uygulanişıyla karaciğer ve dalak tarafından alımları artmıştır. Bu çalışmada anti-digoksin serum, lipozomlara kovalan bağlanmamıştır; anti-digoksin serum lipozom halinde enkapsüle edilmiştir.

Eğer digoksin mononükleer fagosit sistemde birikirse o zaman fagositik hücrelere non-toksiktir. Bu da digoksin zehirlenmelerinin tedavisinde faydalı olabilir. Bu durum diğer toksik ilaçlar içinde geçerlidir¹⁴.

Eksternal sintigrafi bilgilerini değerlendirmeyi kolaylaştırmak ve geliştirmek üzere çeşitli çalışmalar yapılmıştır⁵²⁻⁵⁴. Bu amaçla monoklonal antikorlar tümörle beraber olan antijenlere yönlendirilir ve tümör görüntülemeye kullanılır. Dolaşımda kalan antikorlar zemin radyoaktiviteye neden olur ve taramanın uygun değerlendirilmesini engeller. İşaretli olmayan antikora dayanıklı immünolipozomlar, ilk olarak monoklonal antikora (LESA) sonra da lipozomda tutulmuş antikora yönlendirilir. Bunun için işaretli antikor sintigrafiden 2 saat önce enjekte edilir⁵². İşaretli antikorların kandan klerensi hızlanır ve MPS içinde immünolipozom-birinci antikor kompleksi birikir. Bu çalışmalar fare ve tavşanlarda kısmen yapılmıştır^{53,54}. Kısmen de hastalarda yapılmıştır⁵². İyi taramalar elde edilmiştir, fakat Shankey ve arkadaşlarının bildirdiği gibi karaciğer ve dalakta immünolipozom-antikor kompleksinin birikmesine bağlı olarak bu organların radyoaktivitesinde artış olmuştur⁵⁵. Dahası, serbest haldeki ikinci antikorlarla LESA'dakilere benzer radyoaktif klerens hızı bulunmuştur⁵²⁻⁵⁴. Fakat burada enjeksiyondan sonra diğerlerinin aksine karaciğerde bir birikme gözlenmemiştir⁵⁵.

İmmünolipozomların teşhis amaçlı etkin bir diğer uygulamada ise immünolipozomlar: Dalton lenfoma antijenlerine karşı antikorlar ile lenfoma taşıyıcı ⁶⁷Ga 'nin bir araya getirilmesiyle elde edilmiştir. Tümör tarafından alımda, bu işaretli immünolipozomların, serbest işaretleyici içeren ve içermeyen lipozomlara göre daha fazla alındığı bulunmuştur⁵⁶.

İmmünolipozomlar antimalaryal olarak da kullanılmıştır⁵⁷. Plasmodium berghei ile enfekte olan farelere iv olarak klorokin içeren(anti-fare RBC) ve F(ab')₂ fragmanına bağlı immünolipozomlar enjekte edilmiş ve 24 saat içinde parazit seviyesinin önemli şekilde düştüğü görülmüştür. Fakat 24 saat sonrası, parazit seviyeleri kontrol grubuyla aynı görülmüştür. (Kontrol Grubu: ya serbest klorokin veya klorokin lipozomları almıştır.) Yaşam süresi açısından bu gruplar arasında bir fark görülmemiştir. Burada hedef, sadece % 1-2 oranında parazite edilmiş RBC'ler olmamış fakat aynı zamanda tüm RBC'ler hedeflenmiştir. Bu hayal kırıklığına uğraticı sonucun nedenini anti-fare RBC F(ab')₂ fragmanı yani HD'nin spesifitesinin dü-

şüklüğüne bağlamışlardır. Eğer parazidik RBC'nin yüzey özelliklerine karşı geliştirilmiş özel antikorlar kullanılırsa HD spesifitesi artırılabilir.

Bir diğer çalışmada ise, pH'ya hassas immünolipozomlar geliştirilmiştir⁵⁸. Prensibi ise; bu lipozomların bilayeri, asidik çevredeki komşu bir membranla temasta erimektedir. Örneğin; asidik çevre endozomların içinde vardır. Bazı araştırmacılar kloramfenikol asetil transferaz geninin lipozomunu hazırlamışlardır^{59,60}. i.p uygulanan bu immünolipozomlar lenfomalarındaki ascites hücrelerine hedeflendirilmiştir. Bu şekilde DNA taşıyıcılarının bozukluğundan kaynaklanan gen ve kanser hastalıklarının tedavisi mümkün olabilir.

Farelere i.p olarak tümör hücrelerini, araştırmacılar enjekte etmişlerdir⁴¹. 24 saat sonra Aktinomisin D içeren immünolipozomlar da i.p verilmiştir. Kontrol olarak serbest Aktinomisin D içeren lipozomlar kullanılmıştır. Hayvan başına uygulanan 1 (g doz seviyesinde, immünolipozomlar % 100 yaşam sağlarken, kontrol grubundaki hayvanlar tamamen ölmüştür. Bu tümörlerin immünolipozomlarla tek i.v enjeksiyonu, tümörlerde hafif regresyona sebep olurken, antitümör etki: önce boş lipozomlarla doyurup sonra immünolipozomların enjeksiyonu halinde elde edilebilmiştir. Daha iyi tedavi edici etkinin çoklu enjeksiyonla olabileceği bildirilmiştir.

Bir başka çalışmada ise, 34A antikoru kullanılarak antikor taşıyan lipozomların akciğerler, RES ve kandaki dağılımları incelenmiştir⁶¹.

İmmünolipozomlarla yapılan çalışmalara ve-
receğimiz in vitro örnekte, hücreler arası bağlama molekülü ICAM-1 'e karşı F 10.2 monoklonal antikoru ile hazırlanan immünolipozomlar, insan bronşiyal epitel hücreleri (BEAS-2B) ve insan umbilikal ven endotelyal hücre (HUVEC) kültürlerinde ICAM-1 varlığına bağlı olarak, hedef hücrelere immünolipozom bağlanma derecesini artırır. Bu sonuçlar, böyle adezyon moleküllerinin varlığının , hedef bölgelere ilaç taşınımı için, ilk basamak olduğunu göstermiştir⁶².

Peptit ve protein yapısındaki maddelerin, lipozom ilaç taşıyıcı şekli ile , parenteral olarak verilen; Vasopressin, interleukin-2, doku plazminojen aktivatörü, difteri toksini, aktive edilmiş enzim prod-

rugları ile oral olarak verilen; antijenler çalışılmıştır. Peptit ve protein yapısındaki bu ilaçların parenteral verilmesinde, iki temel faktör önemlidir. Bunlar hedeflendirme ve kontrollü salımdır. Ayrıca mukus immünizasyonunda, antijen taşıyan lipozomların oral alınması da gelişmeye açıktır⁶³.

Antijenlerin aşı olarak parenteral uygulanmasında, "partikül" fiziksel durumundaki LIPOZOMLAR (Fosfolipitler, Kolesterol) ve ISCOM'lar(Quil A(saponin), Kolesterol, Fosfolipit) kullanılmıştır. Bunun için lipozomlar genellikle "adjuvan" larla kombine edilmişlerdir. ISCOM'lar ise taşıdıkları "Saponin" sebebiyle insanda allerjik reaksiyonlar göstermişlerdir. İnsanda parenteral olarak Amfoterisin B lipozomları kullanılmaktadır. ISCOM'larla ilgili çalışmalar ise, veterinerlikte kullanılan aşılarda geliştirilmesi gibi alanlarda hızla yayılmaktadır⁶⁴.

Bir diğer çalışmada ise; yüzey glikoproteini (gp 112) 'ne spesifik olarak bağlanan 273-34A ve 411-201B tavşan monoklonal antikorları(Ig G2a antikorları) kullanılarak LUV tipi lipozomlar, i.v olarak, 6-8 haftalık fareler üzerinde denenmiştir. Radyoaktif işaretleme kullanılarak bunların doku birikimleri tesbit edilmiştir. 34A lipozomları için akciğer birikimi, antikor : lipit oranının bir fonksiyonu olarak(bu oran birbirine yaklaştıkça birikim artmıştır.) uygun bulunmuştur. Akciğere spesifik olmayan antikor 14 ve BLP lipozomları ise akciğerde birikme göstermemiştir. 34A ve 201B lipozomları, enjekte edilen dozun % 30 veya daha fazlası oranında akciğerde birikmiştir. Anti-Thy 1.1 antikorlarını içeren lipozomların lenf nodüllerine enjeksiyonu sonrası enjekte edilen dozun % 22'sinden azı birikmiştir. Anti-eritrosit antikoru ile konjüge lipozomların eritrositlere bağlanması ise enjekte edilen dozun % 12-19'u arasında bulunmuştur⁶⁵.

Kanser türlerinden insan ovaryum kanseri ile ilgili olarak ise; fare Ig G1 tipi OVTL3 ve RIV1000 monoklonal antikorları, fareler üzerinde, i.p olarak uygulanmış, ayrıca in vitro üretilmiş ovaryum kanser hücreleri (OVCAR-4 Hücreleri) üzerinde MLV tipi lipozomlar kullanılarak, hedeflendirilmiş ilaç taşınımına ulaşılmaya çalışılmıştır. Hazırlanan bu immünolipozomların stabiliteleri, gösterdikleri farmakokinetik ve farmakodinamik özelliklerle bağlantılı olarak hedef organ birikimleri gözlenmiştir. MPB-PE

anchor molekül olarak, OV-TL3 (Monoklonal ovaryum kanserine karşı Ig G immünolipozomları) 'e göre ovaryum kanserinde kullanımı için uygun bulunmamış ve farelere i.p olarak verilen insan ovaryum kanser hücrelerine, spesifik immünolipozomların bağlanması elektron mikroskobu ile gösterilmiş, bu bağlanma olumlu bulunmuştur⁶⁶.

Akciğere ilaç taşınımı için kullanılan 34A lipozomlarının değişik formülasyonları ile kanser tedavisinde kullanılan immünolipozomlarla çalışılmış ve bu immünolipozomların akciğere ilaç taşınımı için uygun olduğu bulunmuştur⁶⁷.

İmmünolipozomlarla ilgili olarak yapılan çalışmalar ayrıntılı olarak Tablo: 2'de verilmiştir.

SONUÇ VE İMMÜMOLİPOZOMLARIN GELECEĞİ

Tüm anlatılanlar dikkate alınırsa, Mab'ların ilaç hedeflendirilmesinde ümit verici sistemler olduğu söylenebilir. Ancak henüz çalışmalar yoğun şekilde sürmektedir ve klinik çalışmalara doğru yönelmektedir. Çalışmaların özellikle, bölgeye özgü hedeflendirmenin daha çok gereksinim duyulduğu kanser tedavisi konusunda yoğunlaştığı görülmektedir.

Hedefteki antijen dansitesi ve bu antijenlerin yerleşimi ve Mab'ların bu antijenlere selektifliği önemli faktörlerdir. İlacın, etkisinde bir kayıp olmaksızın, Mab'ye bağlanması ve oluşan konjugatın dayanıklı olması gerekmektedir..

Antikorların tümörde tutulma süreleri, biyolojik yarı ömürlerine bağlıdır. Biyolojik yarı ömürde, Mab'lerin hangi türden elde edildiğiyle çok yakından ilgili bir husustur. Ör: tavşan, domuz ve maymundan elde edilen antikorların tümöre etkili t_{1/2} 'leri 3-4 gün ve insan kanserlerinin tedavisinde iyileşme sağlarken; diğer türlerden özellikle farelerden elde edilen antikorlar çok daha kısa yarı ömre sahiptirler ve kanserde tedavi edici değildirler. Bu problemi çözmek için insan Mab'leri kullanılması düşünülmüştür. Ancak, insan Mab'lerin üretiminde çok kısıtlı bir başarı sağlanmıştır. Çünkü insan hedef yapılarının imojenitesi diğer türlerden çok farklıdır.

TABLO 2: İmmünelipozomlarla Yapılmış Çalışmalara Örnekler

LİPOZOM BİLEŞİMİ	HAZIRLANMA ORANI (Molar)	ANTİKOR ÇEŞİDİ	EŞLEŞTİRME ORANI (Molar)	KULLANILAN ETKEN MADDE	VERİLİŞ ŞEKLİ	BÜYÜKLÜK (µm)	IN VİVO- IN VİTRO MODEL	SONUÇ	KAYNAK NO
EPC:CHOL:PS	55:35:10	34A	1:55	-	i.v	0.25-0.30	BALB/C Fare	15 dk sonra a.c'de %47 tutulum	74
EPC:CHOL	65:35	34A	1:2	-	i.v	0.25	BALB/C Fare	15 dk sonra a.c'de %76 tutulum	75
EPC:CHOL	1:1	34A	1:2	-	i.v	0.25	BALB/C Fare	15 dk sonra a.c'de %60 tutulum	76
EPC:CHOL:GM ₁	10:5:1	34A	1:11	-	i.v	0.30	BALB/C Fare	15 dk sonra a.c'de ~%70 tutulum	77
EPC:CHOL:GM ₁	1:1:0.15	34A	1:37	-	i.v	0.2	BALB/C Fare	1 saat sonra a.c'de %52 tutulum	78
EPC:CHOL: GM ₁	1:1:0.15	34A	1:15	-	i.v	0.19	BALB/C Fare	1 saat sonra a.c'de %53 tutulum	79
DOPC:CHOL: GM ₁	62:31:7	34A	1:6	-	i.v	0.13	BALB/C Fare	15 dk sonra a.c'de %42 tutulum	80
PC:PG:CHOL:MPB-PE	38.5:4:16:1.5	Ig G ₁ tipi OVTL3 ve RIV1000 monoklonal antikorları	%2.5 oranında	MPB-PE anchor molekülü ve ovaryum kanserine karşı Fab' fragmanları	i.p	0.25 MLV	Ovaryum Kanser Hücreleri (OVCAR-4) ve Fındık faresi	OVTL3 lipozomlarının OVCAR-4 tümör hücrelerine yüksek oranda bağlanması	66
PC:CHOL:N-GPE	5:5:1	Ig G _{2a} tipi 273-34A ve 411-201B tavşan monoklonal antikorları	1:6-1:8-1:10...	-	i.v	0.25 LUV	6-8 haftalık erkek fare	15 dk sonra a.c'de yüksek oranda tutulum	65
PHEPC:EPG:CHOL:MPB-PE:rhodamine-PE	10:1:4:0.4:0.01	F10.2 Monoklonal antikor (antiICAM1)	10:0.25	-	-	0.25-0.30	İnsan bronşiyal epitel hücreleri (BEAS-2B) ve umbilikal ven endotelial hücreleri (HUVEC)	Adezyon molekülleri varlığında bağlanma ve spesifik hücrelere bağlanma artışı	61
PC:CHOL PC:CHOL:GM1 PC:CHOL:PEG2000-PE	10:5 10:5:1 10:5:1	34A Antikoru	3:97	AD32 araCdPdG dPFUdR	i.v	161-231 nm LUV	fare	Lipozomların a.c tutulumu uygun ve bulunmuş ve uzatılmış dolaşımı elde edilmiştir.	62

EPC:CHOL:DPPA:DTP-DPPE	40:20:4:0.6	c143 (Ig G)	-	Doksorubisin	i.v	0.02-0.05	BALB/c nu/nu farelere sc olarak BLSC-KU-1 hücreleri(bovine leukemia hücreleri) enjeksiyonu	İmmünoilipozomlar tümör büyümesini inhibe etmede diğer ilaç ve immünoilipozomlara göre daha etkin bulunmuştur.	81
EPC:CHOL:MPB-PE	9.5:10:0.5	Anti-2C3 (Fab')	Ab:total lipit 2.5×10^{-5} M $\pm 1.25 \mu\text{g}/\mu\text{mol}$ TL(total lipit)	araC	i.v	± 0.25	BALB/c farelere ip olarak, dalak ve peritoneal kavitede bulunan B-hücre tümörlerine karşı 2C3E1 hücreleri	Tümör gelişimi biraz yavaşlatılabilmiş fakat tümöre karşı primer etkili bulunmamıştır.	82
PC:CHOL:GM ₃	10:0.5:0.1	J3-119 (Ig G ₁)	Ab: TL $250 \mu\text{g}/\mu\text{mol}$	Sodyum butirat(SB)	i.p	0.2	Bej fındık farelerine insan lenfomaB-hücreleri(SKLY-18 ve RAMOS)	Boş immünoilipozomlar ve SB-ilipozomlar ile görülmeyen tümör supresyonu SB-immünoilipozomlar ile görülmüştür.	83
EPC:CHOL:DPPA:DTP-DPPE	18:10:2:0.3 (SUV)	19-F-12 (Ig G _{2b})	-	Doksorubisin	i.v	-	BALB/c/nu nu farelere sc α -Fetoprotein(AFB) pozitif ve negatif tümör hücreleri	AFB pozitif olan Li-7 hepatoma hücrelerine etkili, AFB negatif MX1 meme kanserine etkisiz	84
Pullulan kaplı EPC Lipozomları	-	CSLEX1 (Ig subunitleri)	Ab: TL 1:80(w/w)	Doksorubisin	i.v	0.1-0.2	BALB/c/nu nu farelere sc, İnsan akciğer kanser hücreleri (PC-9)'nin süspansiyon ve katı tümör halinde	Doksorubisinsiz veya hedeflendirilmemiş lipozomlara göre Doksorubisin-immünoilipozom ikili halde de uygun bulunmuştur.	85
DPPC:CHOL:SA:PDP-SA	5:3:1:1	DAL K29 (Ig G ₁)	Ab:TL $100-200 \mu\text{g}/\mu\text{mol}$	Methotraksat	i.p	0.05	BALB/c/nu nu farelere ip, Caki-1 hücreleri (İnsan renal hücre kanseri)	İmmünoilipozomların kalış süresi önemli ölçüde uzatılmıştır.	86
HPC:CHOL:PEG 1800-DSPE	2:1:0.1	174H.64 (Ig G ₁)	Ab:Fosfolipit $7.5-10 \mu\text{g}/\mu\text{mol}$	Doksorubisin	i.v	0.15	DBA farelere iv, KLN 205 hücreleri (Squamos akciğer kanser hücreleri)	İmmünoilipozomların kalış süresi uzatılmış ve tümör hücreleri sayısı azaltılmıştır.	86

Son yapılan çalışmalar, bir biyoteknoloji firmasının kanser tedavisi için total immünotoksin üretimi üzerinde. Bu immünotoksin; antikor ve aktif polipeptit zincirleri içerir. Aktif polipeptit zincirleri, risin gibi bitki toksinleridir ve rekombinant DNA teknolojisi ile elde edilmektedir.

Mab'larla ilgili bu bilgilerden sonra immünolipozomlarla ilgili görüşleri değerlendirecek olursak;

İmmünolipozomlar, çeşitli fizikokimyasal yapıda tasarlanırlar. Yapılan çalışmalarda görülüyor ki doymuş ve doymamış yapıdaki açıl zinciri içeren ve faz geçiş sıcaklığı vücut sıcaklığının altında ve üstünde olan fosfolipitler kullanılmıştır. Ayrıca kolesterol, kural olarak tüm lipozom formülasyonlarında yer almıştır. Çifte tabaka sayısı, yüzey yükü ve çifte tabaka dayanıklılığı gibi lipozomlar açısından önemli olan hususlarda özel bir tercih ortaya çıkmamıştır.

İmmünolipozomların i.v uygulamasında, SUV tipi lipozomları tercih etme eğilimi vardır.

Çalışmalar, teşhiste kullanılanların, daha çok non-kovalan bağlı, kosonike antikorlar olduğunu göstermiştir. Tekrarlanabilirlik ve bağlanma etkinliği yönünden, kovalan bağlanma teknikleri tercih edilebilir. Eğer aracı molekül kullanılırsa, toksisite sorunu dikkate alınmalıdır.

İmmünolipozomlarla, hedef hücreler arasındaki optimum etkileşme henüz kesin mekanizmalarla ifade edilememektedir. Kısa aracı molekül olarak, Ig fragmanının kullanımı tercih edilebilir. Çünkü immünolipozom ile hedef hücre arasındaki mesafe kısa olmasını sağlayacaktır. Bu da endositoz veya fusion için uygun olabilir. Ancak öte yandan, uzun aracı molekül, antikorun yerleşimi ve antijenle etkileşmesi için optimum şart sağlayabilir. İmmünolipozomların parçalanması, işaretleyicilerle izlenmektedir. Ancak lipozom ile antikor arasında oluşan bağın stabilitesi hakkında bilgi yoktur.

İmmünolipozomların in vivo stabilitesi açısından çalışma yapılması gerekmektedir. Böylelikle immünolipozomların geleceği açısından in vivo iyi bir bağlanma yöntemine ihtiyaç vardır.

İmmünolipozomların kanser gibi hastalıkların tedavisinde potent olduğu ve kısıtlamalarının olduğu anlaşılmıştır. İmmünolipozomlar şu sahalarda ümit verici görülmektedir.

1) Lenfoma, lösemi, orak hücreli anemi gibi hedefin kan dolaşımı olduğu hastalıkların tedavisinde⁶⁸ ve malarya⁵⁷'da

2) Dolaşımda bulunan ilaçların toksik düzeylerini düşürmede (zehirlenmelerde)¹⁴

3) Gama sintigrafi taramalarını geliştirmede^{52-54,56}

İmmünolipozomların i.v uygulama sonrası karşılaştıkları olay, MPS tarafından alınmadır. İmmünolipozomların MPS'ye afinitesini azaltan üç çalışma rapor edilmiştir^{27,41,51}. Ancak Hashimoto et al 1983'ün raporu MPS'ye afinite azalırken tedavi edici etkinliğinde azaldığını göstermektedir.

Dolaşımda immünolipozomların uzun süre kalmasını sağlayabilmek için Fc kısmını uzaklaştırmak düşünülebilir^{37,41-43}. Öte yandan pratikte tüm Ig G yerine, Fc fragmanı ile çalışmalarda bir avantaj gözlenememiştir. İmmünolipozomlarla hedef hücreler ayrı kompartmanda bulunursa olumlu sonuçlar görülmüştür^{41,58}.

İmmünolipozomların toksikolojik yönü üzerinde herhangi bir çalışma yoktur. Lipozomlar, toksisitesi son derece düşük sistemlerdir. Ancak, lipozomlarla ilgili olarak, özellikle tedavi etmede kullanıldıkları hastalıkların tabiatı nedeniyle bu tip yayınlar yoktur.

Bir önceki genel kısımda belirttiğimiz gibi, immünolipozomların kendilerinin immünojenitesi nedeniyle, immünojenik olmayan antikorların kullanımı önemlidir. Ancak şu anda, klinik çalışmalarda henüz bu başarılmış değildir.

İmmünolipozomların, kronik olarak çok kez enjeksiyonunun yapıldığı bir tedavi programında; hastada oluşacak immün cevap ve immünolipozomun akıbeti ile tedaviye nasıl bir etkisinin olacağı henüz cevaplanmamış sorulardır.

İmmünolipozomları hazırlamada kullanılan Ig G'nin saflaştırılması ve antikor spesifitesi, in vitro olarak hedefin tanınmasını etkiler. Ancak bunun in

vivo duruma ekstrapole edilip edilemeyeceği de belirsizdir^{50,69-73,78-80,86}.

Sonuç olarak; ilaç taşıyıcı sistem olarak immünolipozomların geliştirilmesi, farklı patolojik durumlarda farklı immünolipozomların denenmesi ve hastalara uygulanması, immünolipozomların parlak geleceğini belirleyen unsurlar olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Toonen PAHM, Crommelin DJA. Immunoglobulins as targeting agents for liposome encapsulated drugs, *Pharm. Weekbl. Sci. Ed.*, 5, 269-280, 1983.
2. Taylan B, Özer AY. Lipozomların Tıpta Uygulanmaları, *Pharmacia JTPA*, 31, 16-35, 1991.
3. Mazda F, Özer AY. Dermatoloji ve Kozmetolojide Lipozom ve Niozomlar, *FABAD Farm. Bil. Der.*, 18, 121-128, 1993.
4. Farivar M, Özer AY. Mikrofluidizasyon: Lipozomlar, Mikroemülsiyonlar ve Dispersiyonların Eldesinde Yeni Bir Yöntem, *Pharmacia JTPA*, 31, 36-42, 1991.
5. Erdoğan S, Özer AY, Hıncal AA. Radyopak Lipozomların Nükleer Tıpta Kullanımları, *FABAD Farm. Bil. Der.*, 20, 105-116, 1995.
6. Farshi FS, Özer A Y, Hıncal AA. Lipozomların Oral Ülserlerde Lokal İlaç Taşıyıcı Sistem Olarak Kullanılışı, *FABAD Farm. Bil. Der.*, 20, 67-75, 1995.
7. Özer AY. Oküler İlaç Taşınmasında Lipozomlar, *FABAD Farm. Bil. Der.*, 20, 173-180, 1995.
8. Ehrlich P. *Collected Studies on Immunity*, John Wiley and Sons, New York, 1906.
9. Marquardt M, Ehrlich P. *Schuman*, New York, 1951.
10. De Kruif P. *The Microbe Hunters*, Harcourt, Brace, Jovanovich, New York, 1926.
11. Brodsky FM. Monoclonal Antibodies as Magic Bullets, *Pharm. Res.*, 5, 1-9, 1988.
12. Köhler G, Milstein C. Continuous Cultures of Fused Cells Secreting Antibody of Predefined Specificity, *Nature*, 256, 495-497, 1975.
13. Rowland GF. Monoclonal Antibodies as Carriers for Drug Delivery, in Johnson P, Lloyd-Jones J G(eds), *Drug Delivery Systems, Fundamentals and Techniques*, Ellis Harwood Ltd, Chichester, England, 1987.
14. Campbell PI, Harding N GL, Ryman BE, Tyrrell DA. Redistribution and Altered Excretion of Digoxin in Rats Receiving Digoxin Antibodies Incorporated in Liposomes, *Eur. J. Biochem.*, 109, 87-92, 1980.
15. Wofsy D. Strategies for Treating Autoimmune-Disease with Monoclonal-Antibodies, *West. J. Med.*, 143, 804-809, 1985.
16. Ortho Multicenter Transplant Study Group. A Randomized Clinical Trial of OKT-3 Monoclonal Antibody for Acute Rejection of Cadaveric Renal Transplants, *New Eng. J. Med.*, 313, 337-342, 1985.
17. Miller R A, Maloney D C, Warnke R, Levy R. Treatment of B-cell Lymphoma with Monoclonal Anti-idiotypic Antibody, *New Eng. J. Med.*, 306, 517-522, 1982.
18. Edwards D C. Targeting Potential of Antibody Conjugates, *Pharm. Ter.*, 23, 147-177, 1983.
19. Frankel A E, Houston L L, Issell B F, Fathman G. Prospects for Immunotoxin Therapy in Cancer, *Annu. Rev. Med.*, 37, 125-142, 1986.
20. Pastan I, Wilingham M C, Fitzgerald D J P. Immunotoxins, *Cell*, 47, 641-648, 1986.
21. Vitetta E S. Immunotoxins, *J. Uhlr. Annu. Rev. Immunol.*, 3, 197-212, 1985.
22. Bode C, Matsueda G R, Hui K Y, Haber E. Antibody-Directed Urokinase- A Specific Fibrinolytic Agent, *Science*, 229, 765-767, 1985.
23. Haber E. In vivo Diagnostic and Therapeutic Uses of Monoclonal-Antibodies in Cardiology, *Annu. Rev. Med.*, 37, 249-261, 1986.
24. Vallera D A, Ash R C, Zanjani E D, Kersey J H, LeBien T W, Beverly P C L, Neville D M, Youle R L. Anti T-Cell Reagents for Human Bone-Marrow Transplantation Ricin Linked to 3 Monoclonal-Antibodies, *Science*, 222, 512-515, 1983.
25. Klein J. *Immunology, The Science of Self-Nonself Discrimination*, John Wiley and Sons, New York, 1982.
26. Sinha D, Karush F. Specific Reactivity of Lipid Vesicles Conjugated with Oriented Anti-Lactose Antibody Fragments, *Biochim. Biophys. Acta*, 684, 187-194, 1982.
27. Gregoriadis G, Neerunjun D E, Hunt R. Fate of Liposome-Associated Agent Injected Into Normal and Tumor-Bearing Rodents. Attempts to Improve Localization in Tumor Tissues, *Life Sci.*, 21, 357-370, 1977.
28. Martin F J, Hubbell W L, Papahadjopoulos D. Immunospesific Targeting of Liposomes to Cells -A Novel and Efficient Method for Covalent Attachment of Fab' Fragments Via Disulfide Bonds, *Biochemistry*, 20, 4229-4238, 1981.
29. Martin F J, Papahadjopoulos D. Irreversible Coupling of Immunoglobulin Fragments to Preformed Vesicles, *J. Biol. Chem.*, 257, 286-288, 1982.
30. Leserman L D P, Machy P, Barbet J. Cell Specific Drug Transfer from Liposomes Bearing Monoclonal-antibodies, *Nature*, 293, 226-228, 1981.
31. Poste G. Liposome Targeting in vivo: Problems and Opportunities, *Biol. Cell*, 47, 19-38, 1983.

32. Poste G, Kirsh R. Site-specific(targeted) Drug Delivery in Cancer Therapy, *Biotechnology*, 1, 869-878, 1983.
33. Connor J, Sullivan S, Huang L. Monoclonal Antibodies and Liposomes, *Pharmacol. Ther.*, 28, 341-365, 1985.
34. Torchillin V P. Liposomes as Targetable Drug Carriers, *CRC Crit Rev. in Therap. Drug Carrier Sys.*, 2, 65-115, 1985.
35. Crommelin D J A, Storm G. Review of Progress in Drug Targeting, in Taylor J D(ed), *Comprehensive Medicinal Chemistry*, Pergamon Books, Oxford, 1988.
36. Peeters P A M, Oussoren C, Eling W M C, Crommelin D J A. Immunospesific Targeting of Liposomes F (ab')₂ and Ig G to Red Blood Cells In Vivo, *Biochim. Biophys. Acta*, 943, 137-147, 1988.
37. Bradfield J W B. The Reticulo-endothelial System and Blood Clearance, in Davis S S, Illeum L, McVie J V, Tomlinson E (eds), *Microspheres and Drug Therapy, Pharmaceutical and Medical Aspects*, Elseviers Science Publishers, Amsterdam, pp 25-37, 1984.
38. Papahadjopoulos D, Heath T, Bragman K, Matthay K. New Methodology for Liposome Targeting to Spesific Cells, *Ann. Ny. Acad. Sci.*, 446, 341-348, 1985.
39. Tadakuma T. Targeting Theraphy of Human Solid Tomor Cells with Liposomes Bearing Monoclonal Antibodies, in Yagi K (ed), *Medical Applications of Liposomes*, Japan Scientific Soc Press, Tokyo, pp 113-119, 1986.
40. Gitman A G, Loyter A. Construction of Fusogenic Vesicles Bearing Spesific Antibodies, *J. Biol. Chem.*, 259, 9813-9820, 1984.
41. Hashimoto Y, Sugavara M, Masuko T, Hojo H. Antitumor Effect of Actinomycin D Entrapped in Liposomes Bearing Subunits of Tumor-Spesific Monoclonal Ig M antibody, *Cancer Res.*, 43,5328-5334, 1983.
42. Aragnol D, Leserman L D. Immune Clearence of Liposomes Inhibited by an Anti-Fc Receptor Antibody In Vivo, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 83, 2699-2703, 1986.
43. Konno H, Suzuki H, Tadakuma T, Kumai K, Yasuda T, Kubota T, Ohta S. Antitumor Effect of Adriamycin Entrapped in Liposomes Conjugated with Anti-Human Alfa-Fetoprotein Monoclonal Antibody, *Cancer Res.*, 47, 4471-4477, 1987.
44. Leserman L D P, Machy P, Devaux C, Barbet J. Antibody Bearing Liposomes: Targeting in vivo, *Biol. Cell.*, 47, 111-116, 1983.
45. Wolff B, Gregoriadis G. The use of Monoclonal Anti Thy1 Ig G1 for the Targeting of Liposomes to AKR-A Cells In Vitro and In Vivo, *Biochim. Biophys. Acta*, 802, 259-273, 1984.
46. Singhal A, Gupta C M. Antibody-Mediated Targeting to Red Blood Cells In Vivo, *FEBS Lett.*, 201, 321-326, 1986.
47. Alving C R. Liposomes as Carriers for Vaccines, in Ostro M J (ed), *Liposomes from Biophysics to Therapeutics*, Marcel Dekker Inc, New York, pp 195-218, 1987.
48. Torchillin V P, Khaw B A, Smirnov V N, Haber E. Preservation of Antimyosin Antibody Activity After Covalent Coupling to Liposomes, *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, 89, 1114-1119, 1979.
49. Gregoriadis G, Meehan A, Mah M M. Interaction of Antibody-Bearing Small Unilameller Liposomes with Target-Free Antigen In Vitro and In Vivo, *Biochim. J.*, 200, 203-210, 1981.
50. Connor J, Norley N, Huang L. Biodistribution of pH-sensitive Immunoliposomes, *Biochim. Biophys. Acta*, 884, 474-481, 1986.
51. Debs R J, Heath T D, Papahadjopoulos D. Targeting of Anti Thy 1.1 Monoclonal Antibody Conjugated Liposomes in Thy 1.1 Mice After Intravenous Administration, *Biochim. Biophys. Acta*, 802, 259-273, 1987.
52. Begent R H J, Green A J, Bagshawe K D, Jones B E, Keep P A, Searle F, Jewkes R F, Barrat G M, Rayman B E. Liposomally Entrapped Second Antibody Improves Tumor Imaging jith Radiolabelled(first) Antitumor Antibody, *Lancet*, ii, 739-742, 1982.
53. Keep P A, Searle F, Begent R H J, Barrat G M, Boden J A, Bagshawe K D, Rayman B E. Clearence of Injected Radiactively Labelled Antibodies to Tumor Products by Liposome-Bound Second Antibodies, *Oncodevelop Biol. Med.*, 4, 273-280, 1983.
54. Barrat G M, Ryman B E, Begent R H J, Keep P A, Searle F, Boden J A, Bagshawe K D. Improved Radioimmunodetection of Tumor Using Liposome-Entrapped Antibody, *Biochim. Biophys. Acta*, 762, 154-64, 1983.
55. Sharkey R M, Primus F J, Goldenberg D M. Second Antibody Clearence of Radiolabelled Antibody in Cancer Radioimmunodetection, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81, 2843-2846, 1984.
56. Udayachander M, Meenakshi A, Muthiah R, Sivanandham M. Tumor Targeting Potential of Liposome-Encapsulating Ga-67 and Antibody to Dalton's Lymphoma Associated Antigen (anti-DLAA), *Int. J. Rad. Onc. Biol. Phys.*, 13, 1713-1719, 1987.
57. Agrawal A K, Singhal A, Gupta C M. Functional Targeting to Erythrocytes In Vivo Using Antibody Bearing Liposomes as Drug Vehicles, *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, 148, 357-361, 1987.

58. Wang C Y, Huang L. pH-sensitive Immunoliposomes Mediate Target-Cell Specific Delivery and Controlled Expression of a Foreign Gene in Mouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 84, 7851-7855, 1987.
59. Connor J, Huang L. Efficient Cytoplasmic Delivery of a Fluorescent dye by pH-sensitive Immunoliposomes, *J. Cell. Biol.*, 101, 582-589, 1985.
60. Connor J, Huang L. pH-sensitive Immunoliposomes as an Efficient and Target-Specific Carrier for Antitumor Drugs, *Cancer Res.*, 46, 3431-3435, 1986.
61. Bloemen P G M, Henricks P A J, Van Bloois L, Van Den Tweel M C, Bloem A C, Nijkamp F B, Crommelin D J A, Storm G. Adhesion Molecules: A New Target for Immunoliposome-Mediated Drug Delivery, *FEBS Lett.*, 357, 140-144, 1995.
62. Mori A, Kennel S J, Huang L. Immunotargeting of Liposomes Containing Lipophilic Antitumor Prodrugs, *Pharm. Res.*, 10, 507-514, 1993.
63. Storm G, Koppenhagen F J, Heeremans A L M, Vingerhoeds M H, Woodle M C, Crommelin D J A. Liposomal Delivery of Peptides and Proteins, *J. Liposome Res.*, 5, 481-489, 1995.
64. Kersten G F A, Crommelin D J A. Liposomes and ISCOMS as Vaccine Formulations. *Biochim. Biophys. Acta*, 1241, 117-138, 1995.
65. Kazuo M, Holmberg E, Kennel S J, Klibanov A, Torchilin V P, Huang L. Characterization of In Vivo Immunoliposome Targeting to Pulmonary Endothelium, *J. Pharm. Sci.*, 79, 978-984, 1990.
66. Nassander U K, Steereberg P A, De Jong W H, Van Overveld W O W M, Te Boekhorst C M E, Poels L G, Jap P H K, Storm G. Design of Immunoliposomes Directed Against Human Ovarian Carcinoma, *Biochim. Biophys. Acta*, 1235, 126-139, 1995.
67. Vingerhoeds M H, Storm G, Crommelin D J A. Immunoliposomes In Vivo, *Immunomethods*, 4, 259-272, 1994.
68. Kumpati J. Liposome-Loaded Phenyl Alanine or Tryptophan as Sickling Inhibitor- A Possible Therapy for Sickle-Cell Disease, *Biochem. Med. Metabol. Biol.*, 38, 170-181, 1987.
69. Gregoriadis G, Senior J, Trouet A. *Targeting of Drugs*, Plenum Press, New York, 1982.
70. Widder K J, Senyei A E, Sears B. Experimental Methods in Cancer Therapeutics, *J. Pharm. Sci.*, 71, 379-386, 1982.
71. Leserman L D. *Liposomes, drugs and immunocompetent cell functions*, in Nicolau C, Paraf A (eds), Academic Press, London, pp 109-122, 1981.
72. Yatvin M B. Clinical Prospects for Liposomes, *Med. Phys.*, 9, 149-175, 1982.
73. Boerman O C, Massuger L F A G, Makkink W K, Thomas C M G, Kenemans P, Poels L G. Comparative In Vitro Binding Characteristics and Biodistribution in Tumor-Bearing Athymic Mice of Anti-ovarian Carcinoma Monoclonal Antibodies, *Anti Cancer Res.*, 10, 1289-1296, 1990.
74. Hughes B J, Kennel S, Lee R, Huang L. Monoclonal Antibody Targeting of Liposomes to Mouse Lung In Vivo, *Cancer Res.*, 49, 6214-6220, 1989.
75. Holmberg E, Maruyama K, Litzinger D C, Wright S, Davis M, Kabalka G W, Kennel S J, Huang L. Highly Efficient Immunoliposomes Prepared with A Method Which is Compatible with Various Lipid Compositions. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 165, 1272-1278, 1989.
76. Maruyama K, Holmberg E, Kennel S J, Klibanov A, Torchilin V P, Huang L. Characterization of In Vivo Immunoliposome Targeting to Pulmonary Endothelium. *J. Pharm. Sci.*, 79, 978-984, 1990.
77. Maruyama K, Kennel S J, Huang L. Lipid Composition is Important for Highly Efficient Target Binding and Retention of Immunoliposomes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87, 5744-5748, 1990.
78. Klibanov A L, Maruyama K, Beckerleg A M, Torchilin V P, Huang L. Activity of Amphipathic Poly(Ethylene Glycol)-500 to Prolong to Circulation Time of Liposomes Depends on the Liposome Size and is Unfavorable for Immunoliposome Binding to Target, *Biochim. Biophys. Acta*, 1062, 142-148, 1991.
79. Mori A, Klibanov A, Torchilin V P, Huang L. Influence of the Steric Barrier Activity of Amphipathic Polyethylene Glycol and Ganglioside GM1 on the Circulation Time of Liposomes and on the Target Binding of Immunoliposomes In Vivo, *FEBS Lett.*, 284, 263-268, 1991.
80. Litzinger D C, Huang L. Biodistribution and Immunotargetability of Ganglioside-Stabilized Dioleoyl Phosphatidylethanolamine liposomes, *Biochim. Biophys. Acta*, 1104, 179-187, 1992.
81. Onuma M, Odawara T, Watarai S, Aida Y, Ochiai K, Syuto B, Matsumoto K, Yasuda T, Fujimoto Y, Izawa H, Kawakami Y. Antitumor Effect of Adriamycin Entrapped in Liposomes Conjugated with Monoclonal Antibody Against Tumor-Associated Antigen of Bovine Leukemia-Cells, *Jpn. J. Cancer Res.*, 77, 1161-1167, 1986.

82. Bankert R B, Yokota S, Ghosh S K, Mayhew E, Jou Y H. Immunospesific Targeting of Cytosine Arabinonucleoside-Containing Liposomes to the Idiotype on the Surface of a Murine B-cell Tumor In Vitro and In Vivo, *Cancer Res.*, 49, 301-308, 1989.
83. Watanabe M, Pesando J M, Hakamori S. Effect of Liposomes Containing Sodium-Butyrate Conjugated with anti-CD 19 Monoclonal Antibody on IN VITRO and In Vivo Growth of Malignant-Lymphoma, *Cancer Res.*, 50, 3245-3248, 1990.
84. Konno H, Suzuki H, Tadakuma T, Kumai K, Yasuda T, Kubota T, Ohta Nagaike K, Hosokawa S, Ishibiki K, Abe O, Saito K. Antitumor Effect of Adriamycin Entrapped in Liposomes Conjugated with Anti-Human Alfa-Fetoprotein Monoclonal Antibody, *Cancer Res.*, 47, 4471-4477, 1987.
85. Singh M, Ghose T, Mezei M, Belitsky P. Inhibition of Human Renal-Cancer by Monoclonal Antibody Targeted Methotrexate Containing Liposomes in an Ascites Tumor-Model, *Cancer Lett.*, 56, 97-102, 1991.
86. Ahmad I, Longenecker M, Samuel J, Allen T M. Antibody-Targeted Delivery of Doxorubicin Entrapped in Sterically Stabilized Liposomes Can Cradicate Lung-Cancer In Mice, *Cancer Res.*, 53, 1484-1488, 1993.