

İLAÇ TAŞIYICILARIN DOKULARA DAĞILIMINDA İN VİVO BARIYERLER

Gülengül DUMAN (*)

Tamer BAYKARA (*)

ÖZET:

Mikropartiküler bir ilacın organizmadaki dağılımını ve diğer kinetik parametrelerini etkileyen değişik bariyerler mevcuttur. İlaç taşıyıcı sistemler için bu bariyerler genellikle hep aynı olmakta ve en azından lipozomlar, protein mikroküreleri modifiye edilmiş hücreler için hep birbirine benzemektedir. Bu konuda en etkin üç ana bariyer;

- . Endotelysel bariyer,
- . Retikuloendotelial sistem bariyeri,
- . Hücresel bariyerler

dir. Mikropartiküler taşıyıcıların başarılı olmasına yardımcı olacak terapötik strateji için, çeşitli bariyerlerin varlığını hesaba katmak gerekmektedir.

IN VIVO BARRIERS AFFECTING THE DISTRIBUTION OF DRUG CARRIERS TO TISSUES

SUMMARY:

There are a number of barriers which constrain the in vivo distribution and kinetic behaviour of injected microparticles. Generally, these barriers are the same or at least similar for liposomes, protein microparticles and modified cells.

Three of the major barriers are as follows;

- . The endothelial barrier
- . The reticuloendothelial system barrier
- . Cellular barriers

For the success of therapeutic strategy utilizing microparticulate carriers, the existence of these various barriers must be taken into account.

Key Words: Microparticulate carriers, in vivo barriers, Drug carriers.

GİRİŞ:

İlaçların in vivo davranışlarını, özellikle bu ilaçları taşıyıcı sistemlerle birleştirmek suretiyle değiştirebiliriz. İlaçların taşıyıcı sistemlerdeki davranışı ile dokudaki dağılımı, metabolizması, kinetik parametreleri çok fazla etkilenmekte, hatta tamamen değiştirilmektedir. Bazı durumlarda farmakokinetik parametrelerin değiştirilmesi, ilaçların terapötik indeksini arttırabilmektedir. Ama daha iyi çözüm yolu ise, ilaç taşıma teknolojisinin kullanılmasıdır. Bu

durumda taşıyıcıların ilgili hücre ve organ sistemleri ile ilişkisinin detaylı bir şekilde bilinmesi, en mantıklı yaklaşım olmaktadır(1,13).

Değişik tipte maddeler ilaç taşıyıcıları olarak kullanılmaktadır. Bunlar;

- . İmmunoglobulinler
- . Serum proteinleri
- . Sentetik polimerler
- . Lipozomlar
- . Polisakkaritler
- . Diğer makromoleküller
- . Hücreler (Eritrositler)

(*) Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, ANKARA

Büyüklüğü 0.025-10 μm arasında olan lipozom, protein mikroküreleri ve hücreleri içeren, ilaç taşıyıcı sistemlerin hepsi in vivo benzer davranışlar göstermektedir. Yani bu mikropartiküler sistemler, vücutta aynı biyolojik engellerle karşılaşarak, aynı davranışları göstermektedir. Bütün bunlar taşıyıcıların sadece fiziksel ve kimyasal özelliklerinin değil, aynı zamanda biyolojik davranışlarının da detaylı bir şekilde saptanması gerektiğini göstermektedir(1).

Mikropartiküler Dağılımda İn vivo Bariyerler

Mikropartiküler ilaçların esas farmakolojik hedefi, doku içerisinde bulunan reseptörler, enzimler ve diğer hücre içerisindeki makromoleküllerdir. Her ne kadar arasında diğer yollar kullanılsa da, mikropartiküler ilaç taşıyıcılar sistemik dolaşıma daha çok enjeksiyon yoluyla verilmektedir. Bu enjekte edilen mikropartiküler bir ilacın organizmadaki dağılımını ve diğer kinetik parametrelerini etkileyen değişik bariyerler mevcuttur. İlaç taşıyıcı sistemler için bu bariyerler genellikle hep aynı olmakta veya en azından lipozomlar, protein mikroküreleri, modifiye edilmiş hücreler için, hep birbirine benzemektedir. Mikropartiküler taşıyıcıların başarılı olmasına yardımcı olacak terapötik strateji için, çeşitli bariyerlerin varlığını hesaba katmak gerekmektedir(1,13).

Mikropartiküler taşıyıcı sistemlerden oluşan terapötik yaklaşımların in vivo bariyerlerin yaptığı engellerle başarılı olma şansı zor bir varsayım olarak görülmektedir.

Bu konuda en etkin olan bariyerler;

- . Endotelial bariyer,
- . Retikuloendotelial sistem bariyeri,
- . Hüresel bariyerlerdir(1).

Endotelial Bariyer:

Damarların iç boşluğu, endotelial hücrelerin oluşturduğu tabaka ile çevrilmiştir. Endotelial hücre tabakaları makro ve mikromoleküller içeren vas-

küler ve ekstrasvasküler doku kompartmanlarından oluşmaktadır. Bu doku kompartmanları arasında karşılıklı sıvı değişimi, geniş kan damarlarından ziyade, kapiler endoteliumda meydana gelmektedir. Bu sistemik kapiler yatağın yüzey alanı çok büyüktür. Örneğin; erkeklerde 60 m² civarında olduğu tahmin edilmektedir(1,9). Bu sistemik kapiler endoteliumun yapısı dokudan dokuya farklılık göstermektedir. Karaciğer, dalak, endotelial hücre tabakaları ve onun altındaki membran küçük boşluklar olacak şekilde delikli yapıdadır. Bu tip endoteliuma sahip organlar, küçük mikropartiküllerin (0.1 μm), yine bu organların içerisindeki doku kompartmanlarına girmesine izin vermektedir (1).

Diğer tip kapiler endotelium ise, renal, glomerular ve de bazı bez dokularında bulunmaktadır. Bu tip endoteliumda ince hüresel tabaka 0.06-0.08 μm açıklıklara sahip olup, alttaki sürekli membran ile temas halindedir(9). Örnek olarak en çok bilinen kapiler bariyer, iskelet, kalp kasları ve diğer çeşitli dokularda bulunmaktadır. Bu hücreler birbirlerine en yakın olduğu yerlerde sürekli endotelium halindedir. Her ne kadar bu tip sürekli endotelium, büyüklüğü 0.1 μm yi geçen mikropartiküllerin geçişini engelleyecekse de, daha uygun boyutlara sahip makromoleküllerin, bu bariyerleri geçebileceği açıktır (1).

Retikuloendotelial Sistem Bariyeri:

Retikuloendotelial Sistem (RES), fagositik hücrelerden oluşmaktadır. Bu hücreler kemik iliğinin içindeki prekürsörlerden meydana gelmiş olup, bu prekürsörler monositler olarak damarlara ve diğer değişik dokuların içine girmektedirler. Makrofajlar vücudun ana savunma fonksiyonunu oluşturmaktadırlar. Böylece antijen prosesi ile oluşturulan antikor ve T lenfositlerinin fonksiyonu ile ilgilenmektedirler. Bazen makrofajlar, patojen tümör hücrelerine hücum etme ve onları yok etme yeteneğine sahiptirler(1,10).

RES makrofajlarının basit ama önemli bir fonksiyonu, kan dolaşımını izlemek suretiyle dolaşan patojenleri, doku parçalarını ve zarar görmüş makromolekülleri ayırıp, bir girdap içine alıp yutmaktır. Bu yüzden RES hücreleri etkili bir şekilde mikropartikül ilaç taşıyıcıları tutmakta ve dolaşımdan uzaklaştırmaktadırlar. Bu partikül uzaklaştırma işleminde en çok karaciğerin makrofaj tipi kupffer hücreleri, karaciğerin sinuzoidal kanallarına ata binner şekilde oturarak, dolaşan partiküllerin yolunu kesecek şekilde pozisyon aldığı kesinlik kazanmıştır(1,9).

Makrofajların fagositik kabiliyetleri oldukça fazladır. Bu hücreler mevcut lipozom, mikroküre ve aynı zamanda diğer kolloidal partikülleri içeren çeşitli mikropartikülleri tutmaktadırlar. Makrofajlar aynı zamanda mükemmel bir işleyiş mekanizması olan reseptör aracılığı ile endositoz yapmaktadırlar(14).

Makrofajlar, İmmunoglobulin G (Ig G) nin F_c ucu (yani makrofaja tutunduğu ucu), yardımcı tamamlayıcı komponentler, glikoproteinlerin monosil-fugosil ucu, fibronektin yüzey reseptörlerin yardımıyla endositoz yapmaktadırlar(10). Bu sayılan reseptör ve yardımcı komponentler aracılığı ile olan partikül tutulması, gerçekte olanını 100 veya daha fazla olabilen bir faktörle aşmaktadır. Bu özel, kendine has reseptör aracılığı ile olan endositotik faaliyetler, bazen dolaşan mikropartikül ilaç taşıyıcı sistemlerin uzaklaştırılmasında ortaya çıkmaktadır.

Bir çalışmada, protein mikrokürelerinin tekrar kullanılmaları sonucu, bu ilaca karşı bağışıklık kazanılmıştır. Çünkü, oluşan antikolar partikülü tutacaktır ve bu tepkiyi makrofajların F_c reseptörü destekleyip, hızlandırmaktadır.

Taşıyıcı sistemler olarak kullanılan kırmızı hücreler, normal kırmızı hücreler RES hücrelerinden kurtulabilmektedirler. Bu yüzden kırmızı hücrelerden oluşan ilaç taşıyıcı sistemler uzun süre vücutta kalabilen taşıyıcılar olarak ideal

görülmektedirler. Normal kırmızı hücreler uzun süre (ortalama 120 gün) sirkülasyonda kalmaktadırlar(1).

Bazı araştırmacılara göre ilaç veya enzim yüklenmiş kırmızı hücre taşıyıcı sistemlerinden bazıları, normal kırmızı hücrelere benzer dolaşım süresine sahiptir(1). Yine diğer başka bir grup araştırmacıya göre ise, kırmızı hücrelerle ilaçları birleştirmek için kullanılan bazı yardımcı maddelerin genellikle hücre membranının sertliğinde değişiklik yaptığından, makrofajlar tarafından tutulmalarında belirgin bir artış olduğu söylenmektedir. Böylece kırmızı hücre ile hazırlanan ilaç taşıyıcı sistemlerinin sirkülasyon zamanı kısılacaktır(16).

Özet olarak RES hücrelerinin anlaşılması, mikropartiküler ilaç taşıyıcı sistemlerin akıllıca tasarımı için bir ön koşuldur. Bu tip taşıyıcıların kaderi, RES hücrelerinin büyük ölçüde fagositik faaliyetleri tarafından tayin edilmektedir.

Hüresel Bariyerler:

İlaçlar hücre içinde özel bölgelerde veya reseptörlerde faaliyet göstermektedirler. İlaç taşıma sisteminin görevi, ilacı istenen doku veya hücreye göndermekten ziyade, uygun reseptöre ulaştırmaktır. Hücre biyolojisindeki son gelişmeler hücrelerin ilaç taşımada ön bir bariyer sağlayan son derece iyi organize olmuş oluşumlar olduğunu göstermektedir. Reseptörlerin subsellüler kompartmanlarında hücrenin kontrol ettiği henüz tam olarak aydınlatılmamış olaylar meydana gelmektedir. Hücre içinde küçük ve büyük moleküllerin karışık trafiğini belirleyen mekanizmalar hakkında hızla gelişen çalışmalar yapılmaktadır. İlaç taşıyıcı sistemler vücutta bu karışık mekanizmalarla karşı karşıya gelmektedirler.

Machy ve Leserman sitotoksik ilaç içeren lipozomları, lenfoid tümör hücrelerine bağlamak üzere monoklonal antikolar kullanmışlardır. Burada monoklonal antikolar, hücre yüzey antijenlerine yönelerek lipozomu nücre içinde tutarak, etki göstermektedirler(18).

Albumin mikrokürelerinin biyolojik ortamlarda parçalanabilen partiküller olmaları, kapillerden geçebilmeleri sonucu RES in fagositik hücreleri tarafından alınabilmeleri ve hücre ya da dokuya özel ilaç taşınmasını sağlayabilmeleri sistemik yan etkileri azaltmaktadır (5). Widder ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada stafillokok protein A mikrokürelerinin spesifik hücrelere bağlanmasını sağlamaktadır. Magnetik ilaç taşıyıcılar ile veya immünolojik yöntemlerle spesifik hücreye yönlendirme yapılabilmektedir. Magnetik ilaç taşıyıcı sistemlerle etken madde belli bir hücrede toplanmakta ve etken maddeyi o hücrede salıvermektedir. İmmünolojik yöntemde ise, taşıyıcı sistemin istenilen hücre tipini seçmesi beklenmektedir (6).

Yapılan bir çalışmada, lipozomal Amfoterisin B (AMB) ile etken madde belli bir hücrede toplanmakta ve etken maddeyi o hücrede salıvermektedir. İmmünolojik yöntemde ise, taşıyıcı sistemin istenilen hücre tipini seçmesi beklenmektedir(6). Çünkü, makrofajlar lipozomal AMB'yi içerisine alarak, hücre için toksik olmaksızın içerisinde barındırmaktadır. Burada "ilaç hücre içindedir ancak etkinliğini gösterecek kritik yerde değildir"(1).

Mikropartiküler Taşıyıcı Sistemlerde Dağılımı ve Klerensi Etkileyen Önemli Faktörler:

Lipozomların in vivo davranışını etkileyen, taşıyıcıya ait fiziksel ve kimyasal özellikler çok fazla ayrıntıları ile çalışılmaktadır. Pek çok yıldan beri bildirildiği üzere;

- . Partikül büyüklüğü,
- . Partikül yükü

lipozomun klerens kinetiğini etkilemektedir. Büyük lipozomlar, küçük olanlara göre çok hızlı bir şekilde biyolojik engelleri aşmaktadırlar. Negatif yüklü lipozomlar ise, nötral ve pozitif yüklü olanlara göre yine engelleri daha hızlı aşma yeteneğine sahiptirler. Lipozomun kimyasal bileşimi de yine lipozomun davra-

nışında önemli olmaktadır(7,11). Yalnız, oldukça az toksik etkili sfingomiyelin lipozomlarını hariç tutarsak, lipozomların ve diğer mikropartiküllerin RES'e yapacakları toksik etkiler unutulmamalıdır(15). Scheffel ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, geliştirilen yeni yöntemlerle hazırlanan, partikül büyüklüğü, 0.5-0.7 μm olan ve dar bir partikül büyüklüğü dağılımı gösteren, insan serum albumin (HSA) mikroküreleri, RES için uygun olarak nitelendirilmiştir(5)

Sugibayashi ve arkadaşları 5-fluorourasil (5-FU) albümin mikrokürelerle çalışmışlardır. In vivo olarak model tümör hücrelerinin içerisine antitümör ajanın alınışını ve etken maddenin çıkışını izlemişlerdir. Ayrıca, tümör hücreleri tarafından mikrokürelerin fagositoza uğradıklarını gözlemişlerdir(19). Aynı araştırmacılara ait, aynı çalışmanın devamı olarak hazırlanan mikrokürelerin doku dağılımı incelenmiştir. Pamuk tohumu yağı emülsiyonu içinde, 180°C de hazırlanan mikrokürelerin karaciğerde toplandığı gözlenmiştir(20).

SONUÇ:

Etken maddenin sürekli salıverilmesi ve spesifik organlardaki ilacın hedeflendirilmesini gerçekleştirmek üzere, ilaç taşıyıcı sistemlerin kullanılması son yirmi yıl içinde üzerinde en çok araştırma yapılan çalışmaları oluşturmaktadır. Kolloidal ilaç taşıyıcı sistemlerin terapötik, farmakokinetik, biyolojik, kimyasal, fiziksel parametrelerini tanımlayan değişik araştırmacılara ait değişik çalışmalar bulunmaktadır(12).

Modern etkin ilaç taşımada, zorlu problemleri bir araya getiren değişik anatomik engeller, normal ve patolojik cevapların her ikisinin de varlığı ile dikkate alınacak konular olmalıdır(2).

Yukarıda bahsedilen bariyerlerin dışında daha pek çok biyolojik engeller mevcuttur. İlaç taşımada her türlü bariyere engel olmak için değişik stratejiler öne sürülmektedir(2,3). Bunlar;

• Proteaz enzim aktivitesinin minimum olduğu GI kanalın, o bölgesinde dozaj şeklinin yerleştirilmesi,

• Immünoğlobinler ile makromoleküllerin kompleks oluşturma potansiyelinin azaltılması,

• Proteaz enzim aktivitesinin inhibe edilmesi,

• Protein yapısındaki ilaçların antijenlerinin maskelenmesi,

• Seçilmiş mekanizmalar ile, lenfetik alımın azaltılması şeklinde önlemlerdir(2,3).

Partikül büyüklüğü ve partikülün yüzey yükünün, partikül klerens oranını etkileyeceğini söyleyebiliriz. Buna rağmen kapiler endotelyumun yapısı RES hücrelerinin fagositik kabiliyetleri, endotelyumun gözenekli olup olmaması, makrofajların bulunduğu karaciğer ve dalak gibi organlarda mikropartiküllerin birikmesine neden olacağı unutulmamalıdır.

KAYNAKLAR:

1. Juliano, R.L., 2 nd ed., Robinson, J.R., Lee, V.H.L. (Eds.), "Controlled Drug Delivery", New York, Marcel Dekker, Inc., 555-581, 1986.
2. Waser, P.G., Müller, U., Kreuter, J., Berger, S., Munz, K., Kaiser, E., Pfluger, B., "Localization of Colloidal Particles (Liposomes, Hexylcyanoacrylate Nanoparticles and Albumin Nanoparticles) by Histology and Autoradiography in Mice", *Int.J.Pharm.*, 39, 213-227, 1987.
3. Gruber, P., Longer, M.A., Robinson, J.R., "Some Biological Issues in Oral, Controlled Drug Delivery", *Advanced Drug Delivery Reviews*, 1, 1-18, 1987.
4. Scheffel, U., Rhodes, B.A., Naterajan, T.K., Wagner, H.N., "Albumin Microspheres for Study of the Reticuloendothelial System.", *J.Nucl.Med.*, 13, 498-503, 1972.
5. Yalabık-Kaş, S., "Albümün Mikrokürçleri ve Bu Mikroküreler ile Taşınan Bazı Antikanseröjen İlaçlar", *FABAD, J.Pharm.Sci.*, 8, 213-227, 1983.
6. Widder, K.J., Seney, A.E., Ovadia, H., Patterson, P.Y., "Specific cell binding using staphylococcal protein a magnetic microspheres", *J.Pharm.Sci.*, 70, 387-389, 1981.

7. Alkan, H., "Lipozomlar-II. İlaç Taşıyıcısı Olarak Kullanılmaları", *FABAD, J.Pharm.Sci.*, 8, 197-222, 1983.
8. Allen, T.M., Murray, L., Mackeigan, S., Shah, M., "Chronic Liposome Administration in Mice: Effects on Reticuloendothelial Function and Tissue Distribution", *J.Pharmacol, Exp. Ther.*, 229, 267-275, 1984.
9. Tekelioğlu-Uysal, M., Kılıçtırgay, K., Kerse, I., 2. Baskı "Hücre. İnce Yapı ve Görevi", Ankara, Cihan Basımevi, 7-60, 1974.
10. Gülmezoğlu, E., "Bağıışıklığın Temelleri", Ankara, Halkevleri Kültür Vakfı Basımevi, 32-43, 1975.
11. Gregoriadis, G., Gregoriadis, G.(Ed.), "Drug Carriers in Biology and Medicine", London, Academic Press, 287-341, 1979.
12. Davis, S.S., Hardy, J.G., Taylor, M.J., Whalley, D.R., Wilson, C.G., "The Effect of Food on the Gastrointestinal Transit of Pellets and Osmotic Device (Osmet)", *Int.J.Pharm*, 21, 331-340, 1984.
13. Poznansky, M.S., Juliano, R.L., "Biological Approaches to the Controlled Delivery of Drugs: A Critical Review", *Pharm.Rev.*, 36, 277-336, 1984.
14. Arturson, P., Laskso, T., Edman, P., "Acrylic Microspheres in Vivo. IX: Blood Elimination Kinetics and Organ Distribution of Microparticles with Different Surface Characteristics", *J.Pharm.Sci.*, 72, 1415-1420, 1983.
15. Szoka, Jr.F., "Comparative Properties and Methods of Preparation of Lipid Vesicles (Liposomes)", *Ann.Rev.Biophys.Bioeng.*, 9, 467-508, 1980.
16. Kinoshita, K., Tsung, T.Y., "Survival of Sucrose Loaded Erythrocytes in the Circulation, *Nature*, 272, 258-260, 1978.
17. Cunningham, C.M., Kingzette, M., Richards, R.L., Alving, C.R., Lint, T.F., Gewurz, H., "Activation of Human Complement by Liposomes: a Model for Membrane Activation of the Alternative Pathway, *Immunology*, 122, 1237-1242, 1979.
18. Machy, P., Barbet, J., Leserman, L.D., "Drug Transfer into Lymphoblast Mediated by Liposomes Bound to Distinct Sites on H-2 Encoded I-A, I-E, and K Molecules", *J. Immunol.*, 129, 2098-2101, 1982.
19. Sugibayashi, K., Akimoto, M., Moritomo, Y., Nadai, T., Kato, Y., "Drug-Carrier Property of Albumin Microspheres in Chemotherapy. III, Effect of Microsphere-Entrapped 5-fluorouracil on Ehrlich Ascites Carcinoma in Mice", *J.Pharm.Dyn.*, 2, 350-355, 1979.
20. Sugibayashi, K., Moritomo, Y., Nadai, T., Kato, Y., Hasegawa, S., Arita, T., "Drug-Carrier Property of Albumin Microspheres in Chemotherapy. II. Preparation and Tissue Distribution in Mice of Microsphere-Entrapped 5-fluorouracil", *Chem.Pharm. Bull.*, 27 (1). 204-209, 1979.