

LİPOZOMLARIN TIPTA UYGULANMALARI

Buket TAYLAN (*), A.Yekta ÖZER (*)

ÖZET:

Farmakolojik olarak aktif maddelerin, etki etmeleri istenen bölgelere spesifik olmaları, tıpta araştırma ve tedavide her zaman engel oluşturmuştur. Etken maddelerin, hücrenin doğal membran yapısının benzeri lipozomlar içinde, istenen bölgelere hedeflendirilmeleri ilaçların istenmeyen yan etkilerini önlerken hedef bölgeye ulaşmadan yıkılmalarını da önlemektedir. Çok sayıda araştırmacının üzerinde yoğunlaştığı lipozomların tıbbi kullanımları ile ilgili çalışmalar, kanser, enzim eksikliği hastalıkları, paraziter, fungal hastalıklar gibi ölümcül ve yaygın hastalıkların tedavisi üzerine odaklaşmıştır.

LIPOSOMES IN MEDICINE

SUMMARY

Absence of specificity in the pharmacologically active agents is an obstacle to their use in medical use and treatment. Entrapping active agents in liposomes having similar structure with the human cell membrane, help them targetting to a desired part of the body. Additionally, the side effects of liposomal drugs and degradation before reaching the targetted site. Therefore, liposomes have caught the greatest interest of scientists. They are mostly tested in life threatening and widespread diseases like cancer, enzyme replacement therapy, diseases caused by parasites and fungal diseases.

Keywords: *Liposomes, Entrapping active agents, Cancer therapy, Enzyme replacement, Diagnostic agents.*

(* Haceteppe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, 06100 Ankara

LİPOZOMLARIN TIPTA UYGULANMALARI

Bir ilaç şeklinin içindeki etken madde, etkisini gösterebileceği hücrelere ulaşıncaya dek, vücuttaki birçok molekül, hücre, membran ve organla karşılaşır. Farmakolojik etkisi olan maddelerin bir kısmı, sağlam dokular için belirgin derecede toksiktir. Ayrıca madde vücuda girdikten sonra değişikliğe uğrayabilir, inaktive olabilir veya hasta dokuya az bir miktarda ulaşabilir. Bütün bu sakıncalar nedeniyle son yıllarda, etken maddeyi dokuya taşıyan özel taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesi konusu araştırılmıştır(1).

İlaç taşıyıcı sistemlerden biri olan lipozomlar, tek veya içiçe birçok tabakadan oluşmuş aralarında sulu faz içeren yaklaşık 0.02-3.5µm çapında küresel veziküllerdir. İlaç taşıyıcı sistemlerin özelliklerini taşıyan lipozomlar toksik ve immunojenik değildirler, ilacı kontrollü salabilirler ve biyolojik olarak yıkılırlar. İlacın büyük kısmı lipozomlar aracılığıyla hasta dokuya iletilebildiği için serbest ilaca özellikleri de hedef dokuya gönderilebilirlerdir(2).

A) LİPOZOMLARIN LEİSHMANİASİS TEDAVİSİNDE

KULLANILIŞLARI:

Canlılar arasında en önemli hastalıklardan birinin de retiküloendotelial sistem (RES) hücrelerinde, hücre için parazitlerin oluşturduğu hastalıklar olduğu bildirilmiştir. Leishmaniasis, leishmania türlerinin oluşturduğu, yaklaşık 12 milyon canlıyı etkileyen ve farklı şekillerde, visceral (organlarda), mukokütan (derialtı), ve kütan (deri) bölgelerinde ortaya çıkan paraziter bir hastalıktır(3).

RES'in sistemik enfeksiyonu olan visceral leishmaniasis de amazigot halde bulunan protozoa, karaciğer, dalak, ve kemikliğinde, parazitophorus vakuolde bulunmaktadır. Konakçı hücre lizozomunun, parazitophorus vakuol ile eriyerek birleşmesi leishmania üremesini engellemediği gibi, parazitin hücre dışı kaynaklardan lizozom içine alınan besin maddelerinden yararlanmasını sağlamıştır. Ancak lizozom ile parazitin içinde bulunduğu vakuolün birleşmesi, lizozom içinde toplanan lipozomların, antileismanial ilaçların konsantre şekide, direkt parazite taşınmalarını sağlamıştır(3).

Leishmaniasis tedavisinde kullanılan ve serbest halde yüksek toksisiteye sahip bileşiklerin sistemik toksisitelerinin, lipozom içine hapsedilerek azaltılabileceği düşünülmüştür(4).

Meglumin antimonat ve sodyum stiboglukonat gibi iki antimonial ilacın lipozomunun hazırlanması halinde herbirinin serbest şekillerine göre 700 kez daha etkin olduğu bulunmuştur. Meglumin antimonat ve sodyum stiboglukonat lipozomlarının kullanıldığı çalışmada serbest ilaçtan 700 kez,

%90 baskılanma (supresyonu) için ise serbest ilaçtan 600 kez daha az olduğu bildirilmiştir (Şekil 1). Tedavi indeksindeki bu artış, kronik enfeksiyonda akut enfeksiyona göre daha fazladır (5). Sodyum stiboglukonat ile yapılan bir çalışmada ise, kemik iliğindeki parazitleri temizlemede vezikül bilyüklüğünün azaldıkça sinusidal epitelden geçebilmelerinin kolaylaşmasına bağlı olarak, çoklu dozlama ile kemik iliği ve dalakta parazit bulunmasının önlenebileceği bulunmuştur. Aynı şekilde amfoterisin B'nin toksisitesi de, lipozom içine hapsedilmek suretiyle 80-90 kez azaltılarak, terapötik etkinliği arttırılmıştır(6).

Klorokin ile yapılan çalışmada serbest (0.6 mg) ilaç ve klorokin lipozomları farelerde intraperitoneal (i.p), intramüsküler (i.m.) ve subkütan (s.c) yolla injekte edilmiştir. i.p. yolla lipozom injeksiyonunun, i.p. verilen serbest ilaçtan daha yüksek ve uzun süreli kan konsantrasyonu sağladığı görülmüştür. Dalakta lipozom konsantrasyonunun yüksek olması da i.p. injeksiyonda lipozomların kan kompartmanına bozulmadan ulaştığını göstermiştir. i.m. ve s.c. uygulama ile klorokin lipozomlarının depo etki gösterdiği bildirilmiştir(7).

B) LİPOZOMLARIN KANSER TEDAVİSİNDE KULLANILIŞLARI:

a) Makrofaj aktivasyonu:

Aktive edilmiş makrofajların, seçici şekilde neoplastik hücreleri tanıyıp yok ederken, neoplastik olmayan hücrelere zararsız oldukları gözlenmiştir. Kesin olarak mekanizması bilinmemekle beraber, neoplastik transformasyon ile ilişkili olduğu kabul edilmiştir. Makrofaj aktivasyonu yapan başlıca bileşiklerin, mikrobial hücre duvarı bileşeneri (MDP: muramil dipeptid) (8) ve lenfokinler olduğu bulunmuştur.

MDP'in in vivo koşullardaki etkisi, kandan çok hızlı temizlenmesi nedeniyle sınırlıdır. Makrofajların indirekt aktivasyonu ise antijen veya mitojen ile uyarılmış lenfositlerden salgılanan lenfokinler ile sağlanmıştır. Lenfokinlerin de sistemik uygulanmaları, serum proteinlerine hızlı bağlanmaları sonucu oluşan kısa biyolojik ömürleri ve makrofajların ancak küçük bir kısmının lenfokinlerle aktive olabilmeleri nedeniyle uygun değildir (8). Fidler tarafından yayınlanan çalışmaların birinde, makrofaj aktivatörü (MAF) taşıyan lipozomların sistemik uygulama ile pulmoner metastazi yok edebildiği bildirilmiştir(8). Kanser olaylarının çoğunda birkaç tane makrofajın tüm tümör hücrelerini yok etmede yetersiz kalması nedeniyle, lipozom içine hapsedilmiş MAF'ın geniş yayılım göstermiş tümörlerin tedavisinden çok, küçük metastazların veya tümör kitlelerinin kemoterapi sonrasında geride kalan küçük parçalarının tedavisinde etkili olduğu bildirilmiştir. Metastaz önlenmesinin makrofaj aktivasyonu ile direkt ilişkili olup olmadığının anlaşılması için yapılan çalışmada da, makrofajların fagositik

aktivitelerini inhibe eden metastaz eğilimini arttıran bileşikler kullanılmıŒtır. Alınan sonuçlar, inhibitör içeren lipozomların, metastazı önleyemediği Œeklinde-dir. Makrofaj aktivasyonu ile metastazın önlenmesinde önemli etkenlerden biri de; lipozomların, bileŒimlerine bağlı olarak istenen organlarda tutulmalarıdır(9).

b) Sitotoksik ajan kullanımı:

Kanser tedavisinde karŒılaŒılan en önemli sorun, ilaçların vücudun istenilen bölgesine ve hücrelerine hedeflendirilememeleridir. Bu hedeflendirme hedef hücrelerden ekstre edilen maddelerin, lipozom yüzeyine yerleŒtirilmesi ile sađlanabilmiŒtir. Tetrahymena pyriformis hücrelerinden ekstre edilen fosfolipidler ve gangliosidler metotraksat içeren lipozomların bileŒimine ilave edilmiŒlerdir ve bu Œekilde hazırlanan lipozomların hedeflendirilmeleri, ticari fosfolipid içeren metotraksat lipozomlarından üç kez daha fazla olmuŒtur. Dihidrodüktaz enziminin aktivitesinin fonksiyonu olarak ilaç etkinliği incelendiğinde, %60 enzim aktivitesinin inhibisyonu için 880 µM konsantrasyonda serbest metotraksat gerekmesine karŒın, ticari fosfolipidlerden hazırlanan lipozomlar için bu konsantrasyon 4.4µM'a düŒmüŒtür. Bu değer ticari fosfolipidlerden hazırlanan metotraksat lipozomlarının etkinliğinin yaklaŒık üç katıdır. Lipozomal etkililiğin fazla olmasının nedeni, serbest metotraksatın hücreye alınımını inhibe eden folik asitin lipozoma etki etmemesidir (10).

Antitümöral ajanların lipozom içine hapsedilebilmesi için, bileŒiklerin fizikokimyasal özellikleri önemlidir. Mitomisin C (MMC) ile yapılan alıŒmada amfoter özellikte olan maddenin lipid yapıdaki taŒıyıcı sistemler kullanılarak, hedef bölgelere taŒınmasının uygun olmadığı görülmüŒtür. Lipofilik türevi olan noniloksikarbonil MMC lipozomları hazırlanarak taŒıyıcı özellikleri incelendiğinde; lipofilik etken maddenin lipozomlar içine daha yüksek oranda hapsedildiği ve enjeksiyon bölgesinde daha uzun süre kalıp, etkisini in vivo koŒullarda MMC'ye dönüŒerek gösterdiği bildirilmiŒtir. Tümöre karŒı kullanılan ajanların bu tür özelliklerinin bilinmesi, sürekli sağlım sağlayan ve hedeflendirilebilen taŒıyıcıların formülasyonu açısından önemlidir (11).

Antiproteinaz aktivitesinin haricinde, aromatik poliamidin TAPP Br (1,3 di (p amidino fenoksi) 2,2 bis (p amidino fenoksi metil) propan (TAPP H) bromo türevi) nin, insan melanoması, meme ve böbrek karsinoması gibi farklı tümör hücrelerinin büyümesini in - vitro koŒullarda inhibe ettiği bilinmektedir. Yumurta fosfatidilkolininden hazırlanan lipozomlar içine hapsedildiğinde TAPP Br'nin etkisinin serbest ilaca göre arttığı bildirilmiŒtir (12).

C) LİPOZOMLARIN DİAGNOSTİK AMAÇLA

KULLANILIŞLARI:

Görüntüleme ajanları için ilaç taşıyıcı sistemleri kullanarak ve bu ajanların farmakokinetik özelliklerini değiştirerek, istenilen organ ve lezyonları görüntülemek mümkündür. Taşıyıcı içinde verilen ilaç, taşıyıcı ile bağli kaldığı sürece taşıyıcının biodağılımına uygun dağılım gösterir. Taşıyıcı sistemler daha çok, ilacın serbest haldeyken kolay ulaşamayacağı dokulara taşınması için kullanılmıştır. Bu hedeflendirme taşıyıcının doğal hedefine değilse taşıyıcı özellikleri veya veriliş yolu değiştirilerek ilacın yeni hedefe yönlendirilmesi gerekmektedir. Seçici görüntülemeye kontrast ajanın hedef dokuda görüntülemeye yetecek süre bulunması önemlidir (13).

Dipalmitoil fosfatidikolin (DPPC), kolesterol (Chol), fosfatidik asit (PA) ten (7:2:1) hazırlanan sonike edilmiş lipozomlara insan serum albumini hapsedilip 0.5 mCi ¹³¹I ile işaretlenmiştir. Tek doz halinde kanserli hastalara uygulanıp biyodağılımları incelenmiştir. Artan damarlanma ve tümör hücrelerinin endositik aktiviteleri nedeniyle hapsedilen albumin, plazmadan hızla temizlenip karaciğer ve tümör dokularında toplanmıştır(14).

Yapılan bir diğer çalışmada fosfatidilkolin (PC): Chol:PA (7:2:1) den sonike edilmiş Bleomisin lipozomları hazırlanmış, 2mCi ¹¹¹In ile işaretlenmiştir. Pankreas kanseri olan hastaya i.v. yolla injekte edilmiştir. Radyoisotop görüntüleme yöntemiyle sadece karaciğer ve kemikiliğinde radyoaktivite gözlenmiştir. İki çalışma arasındaki farkın tümör cinsi veya işaretleyici ajandan kaynaklandığı düşünülmüştür(15).

^{99m}Tc ile yapılan çalışmada, lipozomlar PC'den hazırlanmış ve sonike edilmiştir. Karaciğer kanseri hastaya i.v. yolla injeksiyondan sonra, kamera ile yapılan görüntülemeye lipozomların dalak ve karaciğerde normal düzeyde tutulduğu ancak tümör dokularında lokalize olmadığı görülmüştür(16).

Bir diğer çalışmada, PC: Chol: PA (7:2:1) kullanılarak hazırlanan lipozomlar, ^{99m}Tc ile işaretlenmiştir. Lipozomlar, 12 kanser hastasına i.v. yolla tek doz halinde injekte edilmiştir. 24 saat sonunda tüm hastalarda karaciğerde radyoaktivite gözlenirken, hiçbir hastada tümör dokusunda radyoaktivite bulunamamıştır Hayvan deneylerinde olumlu sonuç alınmasına karşılık, insanda yapılan çalışmaların olumsuz olmalarını nedenini fiziksel özelliklerine veya tümör cinsine bağlı olduğu düşünülmüştür. Ayrıca lipozomlar sıçanlarda α -2 makroglobulinleri ile etkileşirken, insanlarda α -1 makroglobulinleri ile etkileştiği bilinmektedir. Lipozomların bileşimleri, yükleri ve total lipid miktarları değiştirilerek etkinin değiştirilebileceği düşünülmüştür(17).

Tümör görüntülenmesi için lipozomların kullanıldığı değişik bir yöntem daha geliştirilmiştir. Kısaca LESA (lipozom içine hapsedilmiş ikinci antikor) olarak bilinen bu yöntemin denenmesinin nedeni radyoopak lipozomlar ile tümör görüntülediğinde, radyoaktivitenin büyük bir kısmının non-spesifik olarak dolaşımında ve dolaşım sistemi dışında bulunması ve bunun da görüntülenmesi istenendokudaki radyoaktiviteyi maskeleyesidir. Lipozom hazırlanmasında, PC: Chol: PA (9:9:2) oranlarında kullanılmış, keçi immünooglobulinine karşı oluşan at -globulini, karsinoembriyojenik antijen salgılayan tümör hücrelerinin görüntülenmesi için kullanılmıştır. İnjesiyondan sonra sırasıyla ¹³¹I ile işaretli antikor ve 24 saat sonunda da LESA preparatı injekte edilmiştir. Çalışmada tümörden temizlenmesi etkilenmeden, kandan antikorun RES tarafından uzaklaştırılmasının hızlandığı görülmüştür. Metodun kullanımını kısıtlayıcı faktörler: LESA miktarı, ortaya çıkabilecek yan tesirler ve RES in doyurulmasıdır. Ayrıca bu yöntemin umut verici olmasına rağmen eğitilmiş eleman gerektirmesi ve pahalı olması nedeniyle geniş kullanım sahasına erişemeyeceği düşünülmüştür(18).

D) LİPOZOMLARIN OKÜLER TEDAVİDE KULLANILIŞLARI:

Dozaj şekillerinin, göze topikal uygulama ile korneadan çok düşük oranda absorbe olmasının en önemli nedenleri:

- a) Kornea epitelinin lipofilik yapıda olması,
- b) İlacın lakrimal bezlerden salgılanan gözyaşı sıvısı nedeniyle seyreltilmesi,
- c) İlacın gözyaşı sıvısındaki proteinlere bağlanarak nasal bölgeye geçmesi,
- d) İlacın absorbe olup sistemik dolaşıma geçmesi,
- e) Sulu çözeltilerin nasal pasajlara akmasıdır.

Bu nedelerle, oftalmik tedavide başlıca sorun, istenilen bölgede ilacın istenilen süre tutulamamasıdır (19).

Oküler olarak uygulanan lipozomların gözden biyoyararlanımını arttırmak için lipozomlar pozitif yüklü hazırlanırlar ve uygun fosfolipid bileşimi seçilir. Pozitif yüklü lipozomlar korneaya nötral ve negatif yüklü lipozomlardan daha çok bağlanırlar. Korneanın dış ve içteki epitel tabakaları hidrofobik, ortadaki stroma tabakası hidrofildir. Bu durumda lipozomların fosfolipid bileşimleri uygun olmalıdır. Lipozomların büyüklükleri de korneayı aşamada önemli olup çok tabakalı (MLV) büyük lipozomlar daha kolay geçmektedir. Lipozomlar, sulu çözeltilerden daha viskoz olduklarından kalış süreleri nispeten daha uygundur (20).

Çeşitli etken maddelerin lipozomları hazırlanmış ve göze uygulandık-

tan sonra etkileri gözlenmiştir. Etken maddelerden biri olan triamsinolon asetonit lipozomlarının göze uygulandıklarında, süspansiyonundan 2-3 kat daha uzun etkili olduğu gözlenmiştir. Lipozom içine hapsedilerek verilen etken maddenin dokulara yüksek oranda salınması yanında, salınma hızı ve absorpsiyon hızında arttığı saptanmıştır. Vücuttaki radyoaktivitenin fonksiyonu olarak ölçüm yapıldığında sistemik etkinin madde lipozomları hazırlanarak azaltıldığı bildirilmiştir(21).

İdoksüridin ile yapılan iki aşamalı çalışmada idoksüridin lipozomlarının, herpes simplex virus Tip I ile travmatize edilen gözde, çözelti, boş lipozom ve etken madde karışımından daha etkili olduğu gözlenmiştir. Araştırmacılar, triamsinolon asetonit enjeksiyonu ardından idoksüridin lipozomlarının uygulanması durumunda epitel hasarının çok azaldığını göstermişlerdir (22) (Tablo: 1, 2, 3).

Lipozomların oküler dokuda ilaç dağılımını değiştirmesine yönelik bir diğer çalışma, küçük molekül ağırlıklı maddeyi temsilen, glokom tedavisinde sıklıkla kullanılan epinefrin HCl ile inert büyük molekül ağırlıklı suda çözünürlüğü iyi olan inülin kullanılarak yapılmıştır. Epinefrinin lipozoma olan afinitesi az olduğu için, gözyaşındaki proteinlerle etkileşerek, lipozom içeriğini dağıttığından, lipozomal ilacın absorpsiyonu serbest ilaca göre fark göstermemiştir. Ayrıca lipozom içinden gözyaşı sıvısına geçen epinefrin HCl'in lakrimal beze olan β adrenejik etkisi gözyaşı salgısını arttırarak, lipozomların o bölgeden uzaklaştırılmalarını çabuklaştırmıştır. İnülinin gözyaşında yüksek oranda bulunmasının nedeninin lipozoma bağlı kalmak zorunda olduğu düşünülmüştür. Kornea ve konjunktivada fazla miktarda bulunması gözyaşı havuzunda fazla oluşuna ve membran geçirgenliğinin lipozom tarafından değiştirilmesinden dolayı olduğu bildirilmiştir(23).

E) LİPOZOMLARIN ANTİFUNGAL KULLANILIŞLARI:

Fungal hastalıklar kanserde ve immün mekanizmanın baskılandığı diğer hastalıklarda, ölüm nedenlerinin başında gelmektedir. Lösemili hastalarda ölüm nedeni %20 oranında Candida Albicans'a bağlıdır. Fungal hastalıkların tedavisinde bugün en geçerli bileşik Amfoterisin B'dir. Amfoterisin B'nin tedavi edici potansiyeli yanında toksisitesi de oldukça yüksektir. Etkisini fungal membrandaki ergosterol ile etkileşerek, hücre içindeki hayati iyon ve metabolitlerin dışarı çıkmasına neden olan kanalları açmak suretiyle gösterir. Amfoterisin B'nin toksisitesinin esas sebebi, aynı mekanizma ile hücre membranı yapısındaki kolesterol ile etkileşmesidir. Bileşik ergosterol içeren lipozomlar içine hapsedilmesi etkinliğinde değişiklik yapmaksızın, akut toksisitede azalmaya neden olmuştur. LD 50 değeri 1.2/kg olan Amfoterisin B lipozomlarının i. v. yolla verildiğinde, 12 mg/kg dozda bile toksik etkiye neden olmadığı gösterilmiştir (24).

Serbest Amfoterisin B ile karşılaştırıldığında serbest ilaç ile eşdeğer terapötik etkinliğe sahip Amfoterisin B lipozomlarının kırmızı kan hücrelerini ilacın etkisinden koruduğu, ergosterol içeren lipozomların ise Amfoterisin B yokluğunda bile hücre parçalanmasına neden olduğu bildirilmiştir (24).

Eritrosit sterolleri, eksojen steroller ile değişebildiğinden kırmızı kan hücresi membranında ergosterol değişiminin de stabilitenin azalmasına neden olduğu saptanmıştır. Bu nedenle sadece lipidden veya lipid ve kolesterolde oluşan lipozomların ergosterol içeren lipozomlar yerine tercih edilmesi gerektiği ortaya konmuştur (24).

Fungal hastalıkların daha çok immün sistemi baskılanmış bireylerde görülmesi nedeniyle serbest Amfoterisin B ve Amfoterisin B lipozomlarını etkileri nötröpenili farelerde incelenmiştir. Çalışmalardan elde edilen sonuçlarda nötröpenili farelerde Candida Albicans tedavisinde lipozomların etkili olduğu görülmüştür. Albicans tedavisinde lipozomların etkili olduğu görülmüştür. Serbest Amfoterisin B nin tek veya çoklu dozlamada hastalığı baskıladığı gözlenirse de, tedavi edici etkisi saptanamamıştır (25).

F) LİPOZOMLARIN ŞELAT YAPICI AJAN TAŞINMASINDA KULLANILIŞLARI:

Talasemiler normal hemoglobin polipeptid zincirlerinden bir veya birkaçının yapım hızının azaldığı, heterojen bir grup hastalıktır. β - talasemili hastalarda kan transfüzyonu sonucu, dolaşıma verilen kandaki hemoglobin artışı, hayatı tahdit edici olaydır. Verilen kandaki eritoristlerden absorbe edilen demirin ferritin veya hemosiderin şeklinde, öncelikle karaciğer ve dalakta daha sonra da kalp ve diğer organlarda toplandığı bildirilmiştir. Birikme sonucu organ bozukluklarına ve ölüme neden olan, artık demirin uzaklaştırılmasında kullanılan hemen hemen tek tedavi yönteminin şelat yapımı olduğu ortaya konmuştur (26).

Şelat yapıcı ajan olarak en çok kullanılan ilaç desferroksamin (DF)dir. Hızlı metabolize edilmesi ve kandan hızla uzaklaştırılması, kullanımını kısıtlayan en önemli faktörlerdir. DF lipozomları hazırlanarak çeşitli yollarla vücuda verilen etken maddenin eliminasyonundan azalmasına bağlı olarak şelat yapıcı etkinliği incelendiğinde, oral olarak verilen serbest DF veya DF lipozomlarının demir atılımında artışa neden olmazken periton içine ve ven içine enjekte edilen lipozomların serbest ilaçtan daha uzun süre demir atılımını arttırdığı saptanmıştır (27).

DF lipozomlarının, demir birikiminin fazla olduğu karaciğerlere hedeflendirilmesi amacıyla, farklı bileşenlerde lipozomların tedavi edici etkinlikleri farelerde incelenmiş, çok tabakalı lipozomların, tedavi edici etkinlikleri farelerde incelenmiş, çok tabakalı lipozomların, tek tabakalılarından,

bunların da serbest ilaçtan daha fazla demir atılımını sağladığı, glikolipid içeren lipozomların ise içermeyen lipozomlara göre daha etkin olduğu bulunmuştur. Lipozomal DF'nin demir atılımından serbest ilaçtan daha etkili olmasının DF'nin direkt karaciğere hedeflendirilmesine, hücre içinde DF tutulma süresinin uzatılmasına, ilacın lipozom içinde korunmasına bağlı olduğu bildirilmiştir (28).

G) LİPOZOMLARIN TOPIKAL KULLANILIŞLARI

Ağız içi mukozası hastalıklarında en çok tercih edilen ilaç grubu olan kortikosteroidlerin kullanımını kısıtlayan penetrasyonunun sağlanarak, gerekli konsantrasyonda ilacın hasta bölgede elde edilmesi ve topikal uygulamaya rağmen sistemik etkilerin görülmesidir (29).

Bir steroid olan triamsinolon asetonid-21-palmitatın lipozom içine hapsedilerek lokal etkisinin artırılıp, sistemik konsantrasyonunda azalma olup olmayacağını araştırıldığı çalışmada topikal ve yara içine injeksiyon olmak üzere farklı uygulama yolları seçilmiştir. Sonuçta her iki uygulama yoluyla da zamanın fonksiyonu olarak lipozom ile tedavi edilen yarada ilaç konsantrasyonu artarken, yaraya komşu ve yaradan uzak bölgelerde ilaç konsantrasyonu azalmış, çözelti verilen kontrol grubunda tam tersi durum gözlenmiştir. Bu çalışma ile, lipozom içine hapsedilen etken maddenin hedef bölgede konsantrasyonu artarken, sistemik konsantrasyonunun ve yaraya komşu bölgelere difüzyonunun azaldığı gösterilmiştir. Bu sonuçlar lipozomları çene ülseri tedavisinde kullanılabileceğini göstermiştir. Çalışmada kullanılan hamsterlerin çene anatomisi insanlarınkinden tamamen farklıdır, bu nedenle klinikte topik olarak kullanılması düşünülen lipozom preparatları modifiye edilmelidir (29).

H) LİPOZOMLARIN ENZİM EKSİKLİĞİ TEDAVİSİNDE KULLANILIŞLARI:

Enzim eksikliğinden meydana gelen hastalıklar, hücrede lizozomal enzimlerin eksikliğine bağlı olarak ortaya çıkan ve enzime ait substratın dokularda birikmesine neden olan hastalıklardır. Tedavide enzimin dışarıdan verilmesi, enzimin etki etmesi istenen bölgeye ulaşmadan inaktive edilmesi nedeniyle oldukça güçtür. Bu enzimler lipozom içine hapsedildiklerinde, lipozomlar RES hücreleri tarafından fagosite edilerek, enzimin lizozom içinde lokalize olması sağlanır. Lipozomları hazırlanan enzimler; glikogenosis tip II tedavisi için bakterial amiloglukosidaz (30), Gaucher hastalığı tip I için glukoserebrosidazdır (31,32). Lipozom verilmesini takiben baş ağrısı, mide bulantısı, karın ağrısı gibi şikayetler, lipozomların fizikokimyasal özellikleri değiştirilerek giderilmiştir.

Lazımlerin lipozomlar içine hapsedilerek, dokulara hedeflendirilmelerinin geniş alanda kullanılmasında, injekte edilen lipozomların karaciğer ve dalak tarafından tutulmaları büyük engeldir. Çalışmalardan elde edilen sonuçlar sınırlı olsa da, lipozomların karaciğer ve dalak bozukluklarında kullanılmalarının mümkün olduğu bildirilmiştir (30).

K) LİPOZOMLARIN KAN YEDEĞİ OLARAK

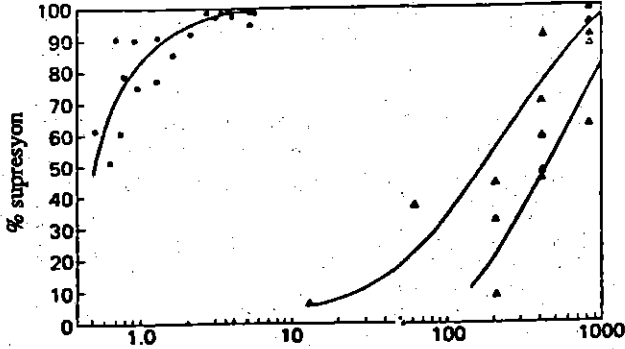
KULLANILMALARI:

Soya lesitini: Chol (1:1) den hazırlanan lipozomlara hemoglobin hapsedildiğinde kan dolaşımında serbest ilaçtan daha uzun süre kaldığı ve raf ömrünün uzadığı tesbit edilmiştir. Kan yedeği olarak kullanılan sıvılar, kan depolarının tükendiği kazalarda kullanılmaktadır. Fransız basınç tekniği ile elde edilen lipozomlar için scale up mümkündür (33).

SONUÇ

Lipozomlar ile tedavi çalışmaları yapılan hasta sayısı gün geçtikçe artmaktadır. Lipozomların araştırma alanları da daha çok hayati önemi olan kanser, fungal hastalıklar gibi konularda yoğunlaşmıştır. Ayrıca diagnostik amaçla ve özellikle tümör görüntülenmesinde kullanılmaya çalışılmıştır. Yapılan çalışmaların az bir kısmında hazırlanan lipozomların fiziksel ve kimyasal özellikleri konu edilmiş ve uygulanan lipozomların raf ömürleri bildirilmemiştir. Yaygın kullanıma sunulmadan önce raf ömürlerinin saptanması önemlidir (34).

Etken madde içeren lipozomların fazla miktarda üretilmeleri konusunda çalışmalar sürmektedir. Ancak İlaç ve Kozmetik sanayinde bu ve benzeri ürünlerin (Ör: Niosomlar) üretim teknikleri geliştirilerek, geniş çaplı lipozom üretilebileceği ve bu sayede yaygın klinik kullanıma girebileceği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (34,35,36).

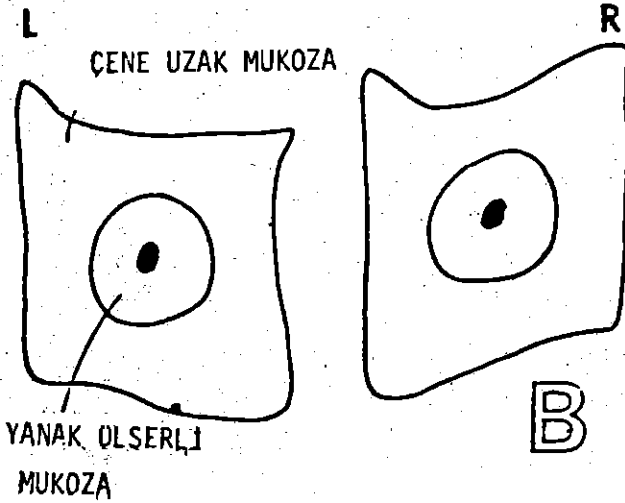
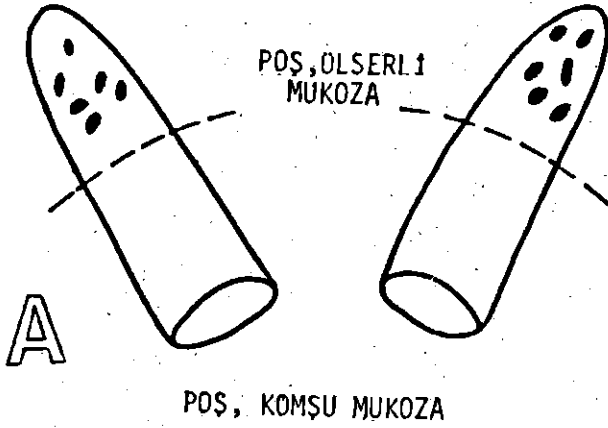


enjekte edilen antimon (mg /kg)

Şekil 1: Leishmanianin lipozomda hapsedilmiş antimonial ilaçlarla baskılanması. Lipozomlar, DMPC/ Chol/ DCP yi 2: 1,5:0,22 molar oranda içerirler. Her nokta için 11 Hamsier kullanılmış ve enfeksiyondan 17 gün sonra tedaviye başlanmıştır. Belirtilen dozların dörtte biri günlük olarak kardial yolla 4 gün süreyle uygulanmıştır. Sağ kalan hayvanlar tedavinin başlamasından 32 gün sonra öldürülmüşlerdir. Kontrol grupları da 0,15 M NaCl içinde ve eşit hacimdeki lipozomlarla enjekte edilmiştir.

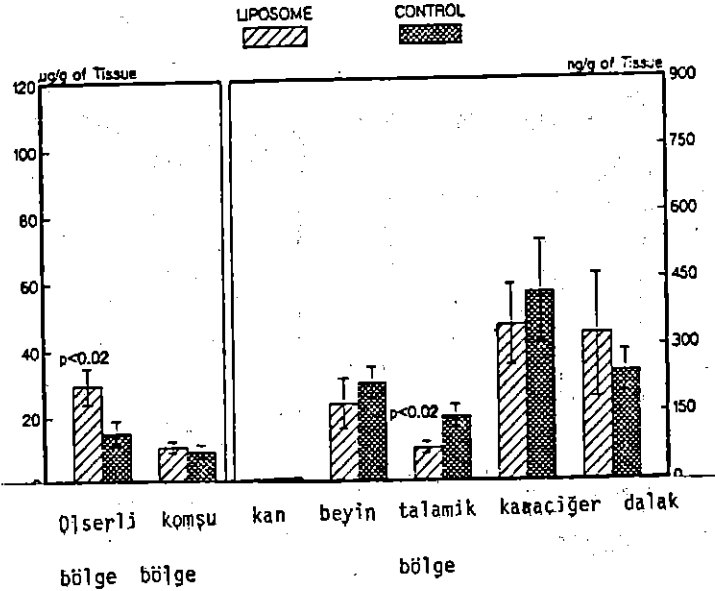
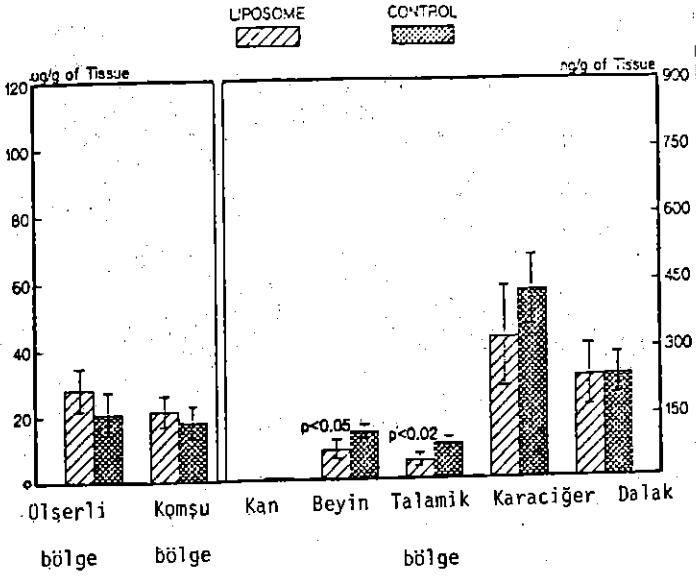
- Meglumin antimonat içeren lipozomlar
- Sodyum stiboglukonat içeren lipozomlar
- ▲ Serbest Meglumin antimonat
- △ Serbest sodyum stiboglukonat

(Ref: 5)



Şekil 2: İlaçla tedavi edilen hamsterlerde (1a) ve yanakların (1b) şematik diyagramı. Kesikli çizgi, poşların tamamen çıkarılmasından sonraki kısmını daire ise tamamen çıkarma ardından biyopsi yapılan yanağı göstermektedir.

(Ref: 26)

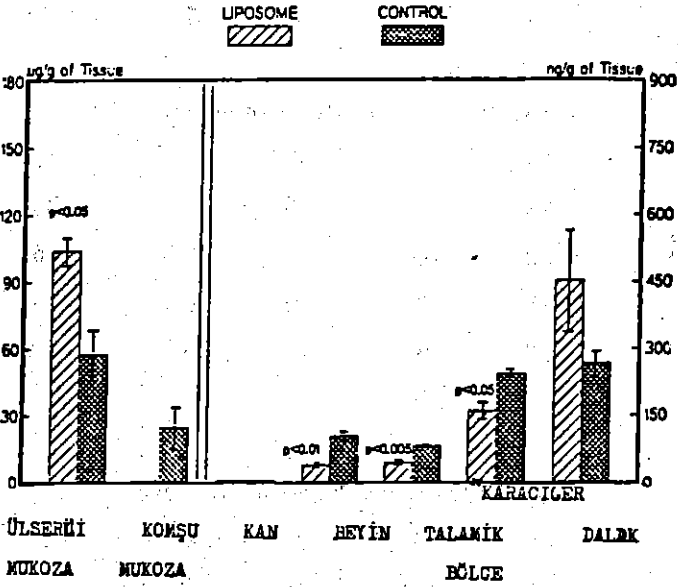
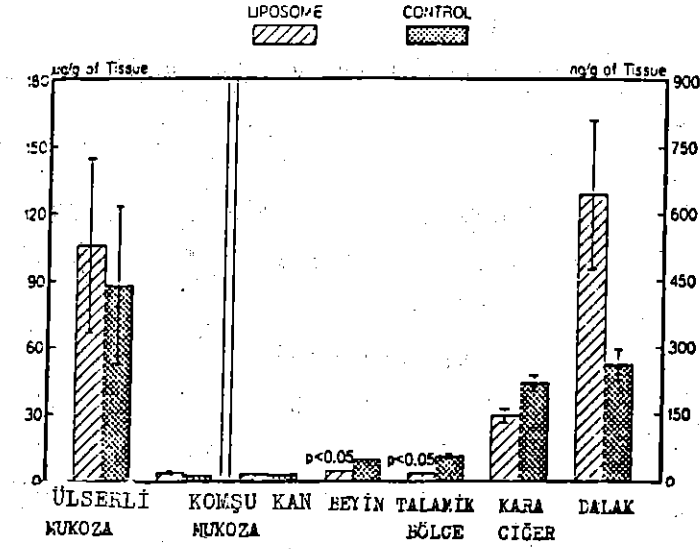


Şekil 3: Topik uygulama, Triamsinolon Asetonit 21 Palmitat konsantrasyonu

a) Tedaviden 3 saat sonra,

b) 24 saat sonra mukozada ilaç konsantrasyonu mg/g doku, iç organlarda ng/g dokudur.

(Ref. 26)



Şekil 4: Intra mukozal enjeksiyon. Triamsinolon Asetonit 21 palmitat konsantrasyonları.

a) Uygulamadan 3 saat sonra b) 24 saat sonra mukozada ilaç konsantrasyonu mg/g doku, iç organlarda ng/g dokudur.

(Ref: 26)

TABLO 1: Birinci kısım deneylerde korneal defekt yüzdesi
(Ref: 22)

Tavşan No.	4. gün		6. gün		8. gün	
	Sağ G.	Sol G.	Sağ G.	Sol G.	Sağ G.	Sol G.
Grup A: İdoksüridin						
1	5	5	5	5	25	25
2	10	10	10	20	15	50
3	5	15	5	20	15	45
4	30	15	65	35	35	40
5	10	45	55	65	65	35
6	0	5	5	5	15	25
Grup B: İdoksüridin Lipozom						
7	15	20	30	5	35	5
8	15	10	20	0	35	0
9	30	10	35	35	45	45
10	15	10	0	0	0	0
11	10	5	10	5	10	5
12	5	10	5	5	15	15
GRUP C: Lipozom-Serum Fizyolojik						
13	5	10	35	10	45	10
14	10	10	40	30	55	60
15	5	15	55	65	85	70
16	30	5	60	60	80	85
17	10	15	65	60	65	65
18	5	10	45	40	55	45

TABLO 2: İkinci kısım deneylerde korneal defekt yüzdesi

(Ref: 22)

Tavşan No:	7.gün		12.gün	
	Sag G.	Sol G.	Sağ G.	Sol G.
Grup A: İdoksuridin				
1	75	60	15	10
2	65	60	25	10
3	35	55	10	30
4	45	65	15	10
5	25	35	15	20
6	75	80	20	35
7	80	80	60	50
Grup B: idoksuridin lipozom				
8	35	20	0	0
9	85	80	5	0
10	80	75	10	0
11	60	30	15	0
12	20	40	15	0
13	45	85	0	0
14	70	70	0	0
Grup C: Lipozom-Serum fizyolojik				
15	35	50	25	30
16	35	65	50	65
17	80	80	55	70
18	60	70	80	80
19	60	50	65	50
20	50	30	55	50
21	55	50	60	50

TABLO 3: 18.gün sonunda klinik veriler (Ref: 22)

Tavşan No **Sağ göz** **Sol göz**

Grup A: İdoksuridin

1	1	0
2	2	1
3	1	1
4	0	1
5	0	1
6	1	1
7	3	4

Grup B: İdoksuridin Lipozom

8	0	0
9	0	0
10	0	0
11	2	0
12	0	0
13	0	0
14	0	0

Grup C: Lipozom-Serum fizyolojik

15	1	1
16	2	3
17	2	3
18	3	4
19	2	2
20	2	2
21	1	3

KAYNAKLAR

1. Alkan, H., Lipozomlar I. Özellikleri ve Hazırlama Yöntemleri, FABAD J.Pharm. Sci., 8, 181-196, 1983.
2. Gürsoy, A., Lipozomlar, eds., Gürsoy, A., Pişkin, H., Dortunç, B., Peppas, N.A., Kontrollü İlaç Serbestleştirilen Sistemler, İstanbul, Tekno Grafik ve Ada Ofset Matbaası, 173-195, 1989.
3. Alving, C.R., Steck, E.A., Hanson, V.L., Loizeaux, P.S., Chapman Jr., V.L., Waits, V.B., Improved therapy of Experimental Leishmaniasis by Use of Liposome Encapsulated Antimonial Drug, Life Sci., 22 (11), 1021-1026, 1978.
4. Emmen, F., Storm, G., Liposomes in Treatment of Infectious Diseases, Pharm. Weekbl. (Sci), 9, 162-171, 1987.
5. Alving, C.R., Steck, E.A., Chapman Jr., W.L., Waits, V.B., Hendricks, L.D., Swartz Jr., G.M., Hanson, W.L., Therapy of Leishmaniasis: Superior Efficacies of Liposome Encapsulated Drugs, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 75, 2959-2963, 1978.
6. Carter, K.C., Dolan, T.F., Alexander, J., Baillie, A.J., McColgan, C., Visceral Leishmaniasis: Drug Carrier System Characteristics and the Ability to Clear Parasites from the Liver, Spleen and Bone Marrow in Leishmania Donovanii Infected BALB / c Mice, J.Pharm. Pharmacol., 41, 87-91, 1989.
7. Titulaer, H.A.C., Eling, W.M.C., Crommelin, D.J.A., Peeters, P.A.M., Zuidema, J., The Parenteral Controlled Release of Liposome Encapsulated Chloroquine in Mice, J.Pharm. Pharmacol., 42, 529-532, 1990.
8. Fidler, I.J., Therapy of Spontaneous Metastases by intravenous Injection of titanium Liposomes Containing Lymphokines, Sci., 208, 1469-1471, 1980.
9. Fidler, I.J., Barnes, Z., Fogler, W.E., Kirsh, R., Bugelski, Poste, G., Involvement of Macrophages in the Eradication of Established Metastases Following Intravenous Injection of Established Metastases Following Intravenous Injection of Liposomes Macrophage Activators, Can. Res., 42, 496-501, 1982.
10. Kotsifaki, H., Kapoulas, V., Deliconstantinos, C., Targetting of Liposomes Containing Methotrexate Towards Tetrahymena Pyriformis Cells, Gen.Pharmac., 16 (6), 573-577, 1985.
11. Sasaki, H., Kakutani, T., Hashida, M., Sezaki, H., Absorption Characteristics of the Lipophilic Prodrug of Mitomycin C From Injection Liposomes or an Emulsion, J.Pharm. Pharmacol., 37, 461-465, 1985.
12. Natruzzi, C., Gambari, R., Menegatti, E., Walde, P., Luisi, P.L., Tumor Cell Growth Inhibition by Liposome Encapsulated Aromatic Polyamides, J. Pharm. Sci, 79 (8), 672-677, 1990.
13. Caride, V.J., Sostman, H.D., Chap. 8, in Liposome Technology, Vol 2, (Ed. G.Gregoriadis), CRC Press Inc., Boca Raton, FL, 1984.
14. Gregoriadis, G., Swain, C.P., Wills, E.J., Tavill, A.S., The Carrier Potential of Liposomes in Cancer Chemotherapy, Lancet, i, 1313-1316, 1974.

15. Segal, A.W., Gregoriadis, G., Lavender, J.P., Train, D., Peters, T.J., Tissue and Hepatic Subcellular Distribution of Liposomes Containing Bleomycine After i.v. Administration to Patients With Neoplasms, *Clin. Sci. Mol. Med.*, 51, 421-425, 1976.
16. Richardson, V.J., Ryman, B.E., Jewkes, R.F., Tattersall, M.H.N., Newlands, E.S., Kaye, S.B., ^{99m}Tc Labelled Liposomes, Preparation of a Radiopharmaceutical and its Distribution in a Hepatoma Patient, *Int.J.Nucl.Biol.Med.*, 5, 118-122, 1978.
17. Richardson, V.J., Ryman, B.E., Jewkes, R.F., Jeyasingh, K., Tattersall, M.H.N., Newlands, E.S., Kaye, S.B., Tissue Distribution and Tumor Localization of ^{99m} Technetium Labelled Liposomes in Cancer Patients, *Br.J.Cancer*, 40, 35-43, 1979.
18. Begent, R.H.J., Green, A.J., Bagshawe, K.D., Jones, B.E., Keep, P.A., Searle, P., Jewkes, R.P., Barratt, G.M., Ryman, B.E., Liposomally Entrapped Second Antibody Improves Tumor Imaging with Radiolabelled (first) Antitumor Antibody, *Lancet* ii, 739-742, 1982.
19. Lee, V.H.L., Ophthalmic Delivery of Peptides and Proteins, *Pharm. Tech.*, 11, 26-38, 1987.
20. Lee, V.H.L., Urrea, P.T., Smith, R.E., Schanzlin, D.J., Ocular Bioavailability from Topically Applied Liposomes, *Surv. Ophtalmol.*, 29 (5), 26-36, 1985.
21. Singh, K., Mezei, M., Liposomal Ophthalmic Drug Delivery System I.Triamcinolone Acetonide, *Int.J.Pharm.*, 16, 339-344, 1983.
22. Smolin, G.M.D., Okumoto, M.M.A., Feiler, S.M.D., Condon, D.M.S., Idoxuridine Liposome Therapy for Herpes Simplex Keratitis, *Am.J.Ophthalmol.*, 91, 220-225, 1981.
23. Stratford Jr., Yang, D.C., Redell, McAc, Lee, V.H.L., Effects of Topically Applied Liposomes on Disposition of Epinephring and Inulin in the Albino Rabbit Eye, *Int.J.Parm.*, 13, 263-272, 1983.
24. Mehta, R., Lopez-Berestein, G., Hopfer, R., Mills, K., Juliano, R.L., Liposome Encapsulated Amphotericin B is Toxic to Fungal Cells but not to Mammalian Cells, *Biochimica et Biophysica Acta.*, 770, 230-234, 1984.
25. Lopez-Berestein, G., Hopfer, R., Mehta, R., Mehta, K., Hersh, E.M., Juliano, R.L., Liposome Encapsulated Amphotericin B in Disseminated Candidiasis in Neutropenic Mice, *J.Infect.Dis.*, 150(2), 278-283, 1984.
26. Dündar, S., İç Hastalıkları El Kitabı, Bölüm 1, eds. Kansu, E., Tungan, C., Ankara, H.Ü. Yayınları A/ 48, 115-133, 1984.
27. Young, S.P., Baker, E., Huehns, E.R., Liposome Entrapped Desferrioxamine and Iron Transporting Ionophores :A New Approach to Iron Chelation Therapy, *British Journal of Haematology*, 41, 357-363, 1971.
28. Lau, E.H., Cerny, E.A., Rahman, Y.E., Liposome Encapsulated Desferrioxamine in Experimental Iron Overload, *British Journal of Haematology*, 47, 505-518, 1981.

29. Harsanyi, B.B., Hilchie, J.C., Mezei, M., Liposomes as Drug Carriers For Oral Ulcers, *J.Dent.Res.*, 65(9), 1133-1141, 1986.
30. Tyrell, D.A., Rhyman, B.E., Keatan, B.R., Dubowitz, V., Use of Liposomes in Treating Type II Glycogenosis, *Br. Med.J.*, 2, 88-89, 1976.
31. Belchetz, P.E., Braidman, J.P., Crawley, J.C.W., Gregoriadis, G., Treatment of Gauchers Disease with Liposome Entrapped Glucocerebroside: Glucosidase, *Lancet*, ii, 116-117, 1977.
32. Gregoriadis, G., Weeraratne, H., Blair, H., Bull, G.M., Liposomes in Gaucher type I Disease Use an Enzyme Therapy and Creation of an Animal Model, *Prog. Clin. Biol. Res.*, 85, 681-701, 1982.
33. Zonneveld, G.M., Crommelin, D.J.A., Liposomes posomes Parenteral Administration to Man, *Liposomes as Drug Carriers*, ed. Gregoriadis, John Wiley Sons Ltd., 1988.
34. Talsma H., Ozer, A.Y., VanBloois, L., Crommelin D.J.A., the Size Reduction of Liposomes with a High Pressure Homogenizer (Microfluidizing) Characterization of Prepared Dispersions and Comparison with Conventional Methods, *Drug Dev. and Ind. Pharm.*, 15, 197-208, 1989.
35. Farivar, M., Ozer, A.Y., Microfluidization: Lipozomlar, Mikroemulsiyonlar ve Dispersiyonların Eldesinde Yeni bir Yöntem (Baskıda)
36. Brandl, M., Becker, D., Bauer, K.H., Hemoqlobin-Liposomes as Blood Replacement Fluid, *Drug. Dev. and Ind. Pharm.*, 15(5), 655-669 (1989).