

Kanser Tedavisinde Lenfatik Hedeflendirme

Received : 18.07.2011

Revised : 31.10.2011

Accepted : 04.11.2011

Özge Çevik¹, Uğur Aydın¹, R. Neslihan Gürsoy¹

Giriş

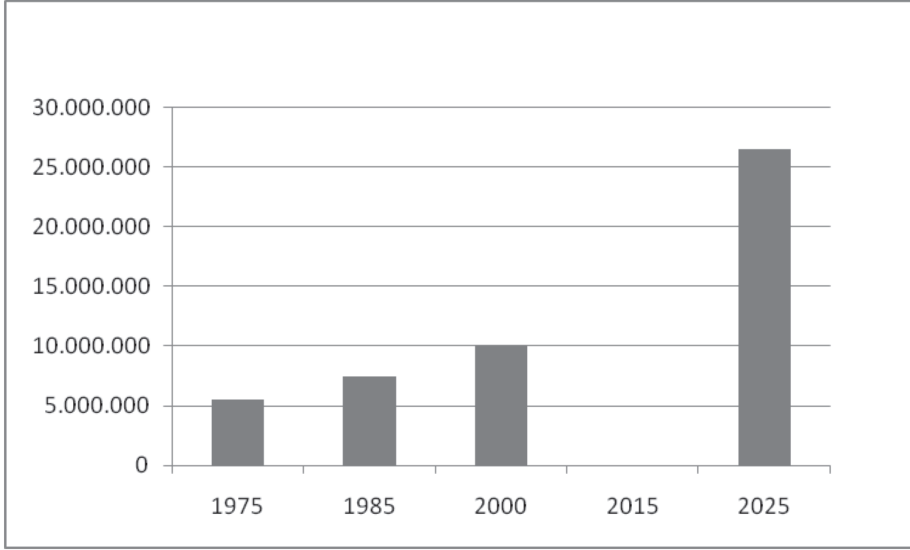
Kanser günümüzün en önemli sağlık sorunlarından biridir. Sık görülmesi ve ölümcül olması nedeniyle de bir halk sağlığı sorunudur. Dünya Sağlık Örgütü'nün 2008 Kanser Raporuna göre dünyada 2008 yılında 12,8 milyon yeni kanser vakası görülmüştür¹. Kanser tahmini küresel etkisi Şekil 1'de gösterilmiştir. Kansere yakalanan kişi sayısının yıllar içinde gösterdiği artış nedeni ile 2025 yılında kanser vakalarının sayısının dünya çapında 25 milyonu aşacağı öngörülmektedir. Bu nedenle kanser günümüzde en çok çalışılan konular arasında yer almakta ve kanser üzerine yapılan çalışmalar gün geçtikçe artmakta, daha etkin ve daha az yan etkili tedavi arayışı sürmektedir.

Türkiye'de ise 2004 – 2006 yılları kanser istatistiklerine bakıldığında erkeklerde deri hariç tüm kanser türleri için kaba hız yüz binde 222.6, YSH (Yüz binde, dünya standart nüfusu) 223.2'dir². En sık görülen kanserler akciğer, prostat, mesane, kolorektal ve mide kanserleri olarak sıralanmaktadır. En sık görülen beş kanserin sıralaması üç yılda da (2004, 2005, 2006) değişmemiştir.

Kadınlarda, 2004 – 2006 yıllarında tüm kanserler için kaba hız yüz binde 164.4, YSH 150.3; deri hariç tüm kanserlerde ise kaba hız yüz

¹ Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji A.D.

² Corresponding author: E-mail: ngursoy@hacettepe.edu.tr



Şekil 1
Kanserin Tahmini Küresel Etkisi
(Yıllık Yeni Vaka Sayısı)

binde 145.4, YSH 133.3'tür². İlk beş sırada meme, kolorektal, tiroid, uterus korpusu ve akciğer kanserleri yer almaktadır. 2004, 2005 ve 2006 yıllarında en sık görülen ilk üç kanser meme, kolorektal ve tiroid kanserleri olarak sıralanmaktadır². Akciğer kanseri, 2006 yılında en sık görülen ilk beş kanser içinde yer almazken, 2005 yılında dördüncü, 2004 yılında ise beşinci sıraya yerleşmiştir².

Kanser; bir hücre hastalığıdır. İnsan vücudu; milyonlarca hücreden oluşur³. Büyüeyebilmek, ölü hücreleri yenilemek ya da yaralanma sonucu zedelenmiş hücreleri onarmak amacıyla vücudumuz sürekli yeni hücreler üretmektedir³. Kanser en kısa tanımıyla, hücrelerin kontrolsüz şekilde çoğalmaları demektir³. Anormal şekilde çoğalmaya başlayan bu hücreler buldukları yerdeki ve hatta uzaklarında bulunan doku ve organları işgal eder ve bu bölgelerde işlevsel bozukluklara yol açarlar. Kanserde ölüm oranlarının yüksek olması konunun önemini daha da artırmaktadır³.

Genler, hücrelerin işlevlerini yönlendiren parçalardır⁴. Hücreler, bazı genlerden aldığı bilgi ve komutlara uygun olarak çoğalırlar. Kansere bo-

zuk genler yol açar⁴. Genlerin yapıları aşırı güneş ışınları, sigara içme ya da yediğimiz yiyecekler gibi faktörler sebebiyle değişir. Hücrelerin çoğalma- cağı ve öleceği zamanı normal genler belirler. Bu, vücudumuzda sürekli olan bir olaydır. Ancak bozuk genler bazen hücrelerin aşırı çoğalması- na neden olur ya da ölmesi gereken hücrelerin ölümünü engeller. Bu fazla olan hücreler, çoğalmaya devam ederek tümör olarak adlandırılan kitleleri oluştururlar⁴.

Normal hücre döngüsü, hücrenin birebir kopyasının oluştuğu kri- tik bir işlemdir⁵. Birçok kanser türünde hücrenin büyüme ve bölünme sürecinde ortaya çıkan mutasyonlar etkin rol oynar. Yaşlanan hücrele- rin ölümü üzerine hücre bölünmesi zorunlu hale gelir⁵. Apoptoz (prog- ramlanmış hücre ölümü) ve hücre çoğalması arasındaki denge kansere yol açan genler (onkogen) tarafından bozulabilir⁶. Onkogenler; hücre çoğalması, hücre bölünmesi ve hücre ölümü gibi olayları kontrol eden ve protoonkogen olarak bilinen normal hücrenel genlerin mutasyona uğramış halleridir⁶. Tümör baskılayıcı genler, normal bir hücrenin tümör hücrelerine dönüşme ihtimalini azaltır. Birçok tümör baskılayıcı gende et- kinin görülebilmesi için her iki allelde de mutasyon görülmelidir⁶. Kan- serlerin büyük bir kısmında bir tümör baskılayıcı gen olan p53 geninin mutasyonu mevcuttur. p53 ya da diğer adıyla tümör *protein 53 (TP53)*, hücre döngüsünü düzenleyen bir *transkripsiyon faktörüdür*⁷. Birçok or- ganizmada kanseri baskılamak için çok önemli bir proteindir. p53, *ge- nomda* mutasyon olmasını önleyerek genom stabilitesini korur. p53, hü- cre içerisinde dördü (tetramer) bağ yapmış halde işlevseldir. p53'ün kan- seri önlemedeki en önemli görevleri; DNA zarar gördüğünde DNA tamir proteinlerini harekete geçirmek ve DNA tamir edilemeyecek kadar zarar gördüğünde ise *apoptozu* başlatmaktır⁷.

Kanser, herhangi bir dokuda başlayabilir ve hangi dokuda başlamış- sa o isimle anılır⁸. Metastaz, kanserin bir organdan, doğrudan bağlantı- sı olmayan diğer bir organa taşınması olarak tanımlanır ve kötü huylu kanserin en belirgin klinik özelliklerindendir⁸. Kanser hücreleri birincil bölgeden kan yoluyla ya da lenf sistemi aracılığıyla çevre dokulara ya- yılım yapar. Yayılan tümörler artık metastatik tümördür. Ama kökeni birincil dokudaki hücrelerdir. Bu tümörlerin yayılışı sıklıkla birincil böl- gedeki lenf düğümleri aracılığıyla olur⁸. Yeni damar oluşumunu takiben birincil tümör bölgesindeki hücre tutunması azalır ve hücrelerden bazı- ları serbest kalır. Serbest kalan bu hücreler, tümörü çevreleyen stroma

içine invaze olarak dolaşıma veya lenf sistemine katılırlar. Sisteme giriş sonrası, dolaşımda hayatta kalabilen hücreler veya küçük embolilerin uzak bölgelerdeki organların kapiller yatağında tutulması gerçekleşir⁹. Bu aşamadan sonra, serbest hücre penetre olur ve bulunduğu kan veya lenf damarından dışarıya doğru akışı gerçekleşir. Son olarak, yeni oluşan tümör, gelişmek için yeni kan damarları oluşumunu tetikler ve ikincil kanseri oluşturur⁹.

Kanser tedavisinde kullanılan başlıca mevcut yöntemler; cerrahi işlemler, radyoterapi, kemoterapi, immünoterapi, hormon tedavisi ve lazer tedavisi olarak sıralanabilir³. Kanser tedavisinde en sık başvuru olan tedavi şekli; tümörün uzaklaştırılmasını sağlayan cerrahi yöntemleri kapsar. Bu, yayılım yapmamış birçok kanser için iyi bir tedavi seçeneğidir. Eğer kanser ilerlemişse ya da çevre dokulara yayılmışsa; cerrahi müdahale, radyoterapi ve kemoterapi birlikte uygulanabilir¹⁰. Radyasyon tedavisi; kanser tedavisinde X ışınları, gama ışınları ve elektronlar gibi iyonize ışınların kullanılmasını içerir. Bu ışınlar; kanserli hücreyi tahrip ederek etki etmektedirler. İmmünoterapi, BCG aşısı, interlökin ve interferonlar gibi biyolojik moleküller kullanılarak bağışıklık sisteminin uyarılmasıdır³. Hormon tedavisi ise; hormon sekresyonuna bağlı gelişen meme ve prostat kanseri gibi kanserlerde özel bazı hormonların kullanımıyla uygulanan tedavidir³. Lazer tedavisi ise, cerrahi müdahalelerde yararlı olabilmektedir. Bu nedenle, beyin tümörleri ve gırtlak kanserinde kullanılmaktadır³. Kemoterapi ise, kanserin ilaçla tedavisi demektir. Kanser kemoterapisi, yerleşmiş bir tedavi yöntemidir. Kemoterapide kullanılan ilaçlar, kanserli hücrelerin çoğalmalarını durdurmakta ve yok etmektedir. Ancak; bu ilaçlar vücuttaki normal hücrelere de etki edebilir ve ciddi yan etkilere yol açabilirler³.

Kanser Tedavisinde Hedflendirme

Son 20 yılda kanser dünya çapında birçok ülkede ölüm nedenleri arasında ilk sıralara yükselmiştir¹¹. Bu sebeple, kanser tedavisi için büyük çaba harcanmaktadır. Ancak, kanser tedavisinde başarıyı kısıtlayan en önemli faktör, geleneksel tedavide kullanılan antikanser ajanların tümörlü hücre ve dokular için seçici olmamasıdır¹¹. Neredeyse, tüm kemoterapötik ajanların normal doku ve organlara yan etki gösterdiği bilinmektedir¹².

Normal kılcal damarlar; arteriol, kapiler ve venüllerden oluşan düzenli ve fonksiyonel bir yapıya sahiptir¹³. Tümör damarları ise; genel olarak, sıralı olmayan, hasar görmüş ve geniş açıklıklara sahip endotelial hücrelerden oluşur. Oldukça geniş lümen ve özellikle vazoaktif mediatörlerden AT II (Anjiyotensin II)'ye karşı bozulmuş reseptör fonksiyonuna sahiptirler^{14,15}. Buna ek olarak; bradikinin, nitrik oksit, vasküler büyüme faktörleri ve prostaglandinler gibi vasküler permeabilite artırıcı faktörlerin üretiminin artması nedeniyle makromoleküllü ilaçların normal dokuya göre tümörlü dokuya geçişleri kolaylaşmaktadır¹⁶. Tüm bu faktörler tümör kapilerlerinden geçişi artırmanın yanı sıra, özellikle nanoboyuttaki makromoleküler ilaçların tümörlü dokulara selektif olarak gönderilmesini mümkün kılar^{17,18}. Ayrıca, tümörlü dokuda lenfatik sıvı akışının az olması, ilacın tümörlü dokuda kalış etkisini artırarak uzatılmış etki sağlar. Bu etkiye; artırılmış geçiş ve alıkonma etkisi (EPR, enhanced permeability and retention effect) denir¹⁹.

Tümör çevresinde kan ve lenf damarlarının anormal yapı ve işlev göstermesi nedeniyle dokulararası sıvı basıncında artış görülür²⁰. Tümör damarlarında seçicilik azaldığı için permeabilite artar²⁰. Anormal metabolik çevreleri nedeniyle tümörlerde hipoksi ve asidoz oluşur^{21,22}. Ayrıca; damar ağlarının dengesiz gelişimi ve tümör hücresinin aşırı çoğalması nedeniyle doku içinde hipovasküler bölgeler oluşur. Kan damarlarının uzağında kalan bölgelerde de kronik hipoksi görülür. Anaerobik glikoliz sonucu oluşan laktik ve karbonik asitler nedeniyle tümör çevresinin pH'sı oldukça düşük değerlerdedir²⁰. Oksijen basıncı ve pH değerleri tümör büyümesi, metabolizması ve çeşitli tedavilere verilen yanıtları etkilemektedir. Bu iki özellik, anjiyojenik faktörlerin etkisini artırarak tümör büyümesi ve metastazına yol açar²⁰.

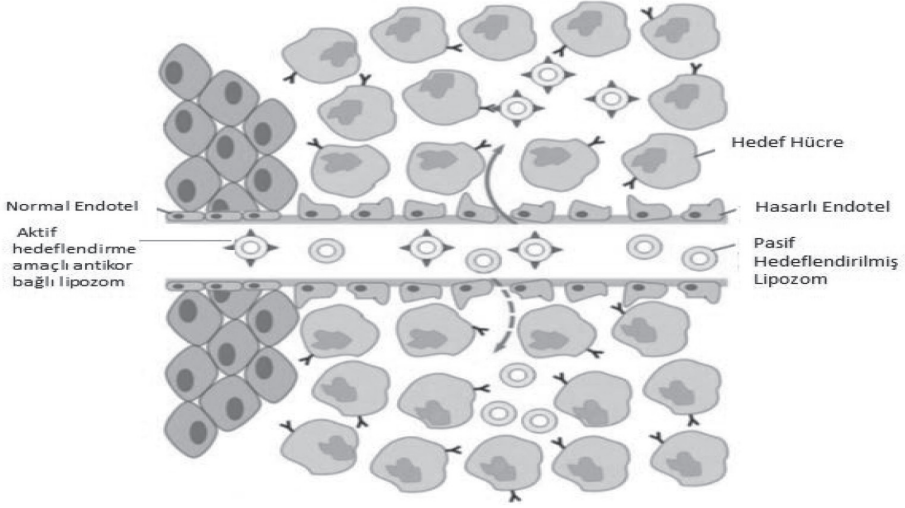
Kanser tedavisinin asıl amacı; normal dokuları etkilemeden kanser hücresini yok etmektir²³. Bu durum ise, kanser hücresinin selektif olarak hedeflendirilmesi ile mümkündür. Tümöre hedeflendirmedeki ideal özellikler; 1) ilacın tümördeki yerleşiminin aktif veya pasif hedeflendirilme ile artırılması, 2) hedeflendirilmemiş hücrelerdeki yerleşiminin azaltılması, 3) geçiş bölgelerinden olabilecek ilaç sızıntısının en aza indirilmesi, 4) ilacın parçalanmadan korunması, 5) ilacın hedeflenen bölgede istenilen süre boyunca kalabilmesi, 6) hücre içine alımın kolaylaştırılması, ve 7) taşıyıcı sistem bileşenlerinin biyoyumlu ve biyoparçalanabilir olması şeklinde sıralanabilir²³.

Değişik formlardaki farmasötik taşıyıcı sistemlerin (partiküler sistemler, lipozomlar, emülsiyon sistemleri gibi) doğrudan etkin maddeye bağlanması veya etkin maddeyi hapsedmesi ve bu şekilde ilaçların hedeflendirilmesine olan ilgi gün geçtikçe artmaktadır²⁴. Hedeflendirme ile konvansiyonel, biyoteknolojik ve gen kökenli ilaçlar, vücudun organ, doku ve hücre gibi spesifik bölgelerine seçici olarak taşınabilmektedir. Bu seçici hedeflendirme ile, istenmeyen yan etkiler azalmakta, en uygun terapötik yanıt elde edilmekte ve yüksek dozlarda toksik etkileri gözlenen maddeler güvenli olarak kullanılabilirler²⁴.

İlaçların hedeflendirilmesi iki şekilde sağlanır; bunlardan biri pasif hedeflendirme, diğeri de aktif hedeflendirme²⁴. Pasif hedeflendirme, intravenöz enjeksiyondan sonra taşıyıcının doğal olarak hedeflendirilmesi; organ, doku ve hücreye yerleşmesidir²⁴. Aktif hedeflendirme; manyetik hedeflendirme, ultrasonik hedeflendirme ve ligant – reseptör aracılı hedeflendirme olmak üzere 3 ana başlık altında incelenebilir²⁴.

Manyetik hedeflendirme, dışarıdan manyetik alan uygulanmasıyla istenilen bölgeye etkin maddenin taşınmasıdır. Ultrasonik hedeflendirmede, ultrasonik dalga kontrollü sistemlerde biyolojik olarak aşınan veya aşınmayan polimerler ilaç taşıyıcısı olarak kullanılır ve hedeflendirilirler. Ligant – reseptör aracılı hedeflendirmede, farklı yapıda ligantlar kullanılmaktadır. Burada, taşıyıcı sistemler hücre yüzeyindeki spesifik reseptörlere yönlendirilerek hücre içine alınma (internalizasyon) ligandın ve reseptörün yapısına bağlı olarak reseptör aracılı endositoz veya transitoz ile gerçekleşmektedir. Ligant – reseptör aracılı hedeflendirmede kullanılan ligantlar arasında monoklonal antikorlar, vitaminler, peptid yapıdaki büyüme faktörleri, sitokinler, glikoproteinler sayılabilir²⁴. Etkin madde, hedef hücrenin yüzeyindeki reseptöre bağlanabilen liganda (hormon, peptid gibi) konjuge edilir. Böylece; etkin madde spesifik olarak hedef hücreye yönlendirilmiş olur²⁵.

Hedeflendirme amacı ile kullanılan yeni ilaç taşıyıcı sistemlerden bazıları; lipozomlar, miseller, nanopartiküller, dendrimerler ve nanokapsüllerdir²⁶. Spesifik olmayan taşıyıcılardan dekstran, albumin, DNA, poliaminoasitler ve diğer polimerler gibi makromoleküller kullanılarak hazırlanan nanopartikül, mikrokapsül, mikroküre ve lipozom gibi sistemler, tümör çevresinde lenfatik drenajın az olmasından kaynaklanan artırılmış tutulma etkisi ve tümör boyutu gibi çevresel özelliklerden dolayı tümörde



Şekil 2

Tümore aktif ve pasif hedeflendirme²⁷

toplanırlar. Ayrıca kullanılan makromolekülün molekül ağırlığı ve yükü gibi fizikokimyasal özellikleri de tümörde toplanmada etkilidir²⁶. Bu sistemler pasif hedeflendirme ile tümörlere yönlendirilebileceği gibi, antikor, ligant, peptit gibi moleküllerle kombine edilerek aktif hedeflendirme amacı ile de kullanılabilirler (Şekil 2).

Günümüzde, özgün monoklonal antikorlar ile tümöre hedeflendirme çalışmaları yapılmakta olup²⁸, anti-VEGF (vasküler endotelial büyüme faktörü) ve anti-EGFR (epidermal büyüme faktörü reseptörü) monoklonal antikorlarının ilerlemiş kolorektal kanserli hastalarda kemoterapinin etkinliğini artırdığı gösterilmiştir²⁹. Bu antikorlar; Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi'nin (FDA) onayını almış, Avastin® (Bevacizumab) ve Erbitux® (Cetuximab) ticari isimleri ile kolorektal kanser tedavisinde kullanılmaktadırlar³⁰. Ayrıca, antianjiojenik tedavide kullanılan Panitumumab (Vectibix®) ve Trastuzumab (Herceptin®) gibi onaylı monoklonal antikorlar, Erlotinib (Tarveca®), Sorafenib (Nexavar®), Sunitinib (Sutent®) gibi küçük molekül yapıda tirozin kinaz inhibitörleri, Temsirolimus (Torisel®) gibi mTOR inhibitörleri ve Bortezomib (Velcade®) gibi diğer hedeflendirilmiş antianjiojenik ajanlar da FDA onayı almış olup klinikte kullanılmaktadırlar³⁰. Öte yandan, hedeflendirilmiş antikor tedavisini kısıtlayan birta-

kım faktörler bulunmaktadır³². Antikorların büyük boyutlu olmaları ve bu moleküllerin hedef bölgede düşük penetrasyon ve hücre içine alımı ile karaciğer ve RES (Retikuloendotelyal Sistem) tarafından özgün olmayan alımları, bu tip moleküllere ilişkin en önemli sakıncadır³². Bunun sonucunda, tümöre zayıf penetrasyon ile karaciğer ve kemik iliğinde dozun sınırlanmasına yol açan toksisite görülebilir. Antikorların; radyonüklit, sitotoksik ilaç ve toksinlerin tümör bölgesine taşınması için kullanımında bu kısıtlayıcı faktörler etkili olabilir³⁰. Antikor hedeflendirilmesinde çıkan sorunları azaltmak açısından, peptitler tümöre hedeflendirmede mükemmel alternatifler olarak düşünülmektedir³⁰. Peptitlerin antikorlara göre küçük boyutlu olmaları, kimyasal olarak dayanıklı ve türevlendirmeye uygun olmaları ile genel olarak RES'e yakalanmamaları gibi üstünlükleri bulunmaktadır³⁰. Ayrıca; kanser hücrelerine özgü aminoasit dizilimine sahip peptitler ile kanserde hedeflendirme mümkün olabilmektedir³¹⁻³⁴. Faj sunumu tekniği kullanılarak elde edilen aminoasit dizilimleri ile belirlenen peptitlerin, çeşitli ilaç veya ilaç taşıyıcı sistemler ile kombine edilerek kanser hücrelerine seçici olarak hedeflendirilebildiği çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir³¹⁻³⁴.

Tümöre hedeflendirme çalışmalarında kullanılan ilaç taşıyıcı sistemlerden olan lipozomlar; sulu bir kısım ve bunu çevreleyen fosfolipit tabakadan oluşmuş membran yapısını andıran kesecikler olarak tanımlanırlar³⁵. Lipozomlarda hedeflemeyi sağlamak amacıyla da immunoglobulinler kullanılır. Lipozomlar; özgün bir antikorla konjuge edilerek (immünolipozom) verildiklerinde hedeflenmeyi sağlarlar³⁶⁻³⁸. Diğer bir sistem olan miseller, partikül büyüklüğü 5 – 100 nm arasında olan, hidrofobik ve hidrofilik kısımlardan oluşan moleküllerin oluşturduğu kolloidal dağlımlardır²⁴. Miseller kullanılarak aktif hedeflendirme çalışmaları yürütülmüştür³⁹. Aktif hedeflendirmede antikorlar, küçük organik moleküller (vitaminler), aptamerler ve karbonhidratlar görev alabilir. Örnek olarak; folik asit reseptörü ovaryum ve akciğer gibi birçok kanser türünde aşırı çoğalmaya neden olan bir proteindir⁴⁰⁻⁴². Normal bir dokuya oranla tümörlü dokuda yaklaşık 100 – 300 kat daha fazla çoğalabildiği gözlenmiştir⁴². Folik asit reseptörünü hedef alan doksorubisin yüklü miseller kullanılarak yapılan in vivo çalışmalarda hedeflenmiş misellerin hedeflenmemiş olan misellere göre tümör büyüme hızını iki kat azalttığı görülmüştür⁴³. Aktif hedeflendirmede kullanılan ligantlardan biri de antikorlardır. Yapılan bir araştırmada, GRGDS-modifiye misellerin (GRGDS; çeşitli metas-

tatik kanser hücrelerinde aşırı çoğalmaya uğrayan $\alpha\beta$ 3-integrine özgü bir peptit) hedeflenmemiş yapılara oranla metastatik melanoma B16F10 hücrelerine karşı daha sitotoksik olduğu kanıtlanmıştır³⁹.

FDA onayı almış formülasyonlardan nanopartiküler sistemler halihazırda piyasada bulunmaktadır. İlk olarak da lipozomal formülasyonlar (Doxil®, Daunoxome®) onay almıştır. Doxil®; partikül boyutu 100 nm'den küçük lipozomal keseciklerden oluşur. İlacın opsonizasyonunu engellemek için pegilasyon yapılmıştır⁴⁴. Bu işlem; ayrıca; sterik stabilizasyon sağlayarak plazma yarı ömrünü uzatır. Lipozomal formülasyon içerisinde verilen ilaç tümörlü bölgede normal verilise göre 10 kat daha fazla ölçülmüştür. Normal verilen doksorubisinle doxil® karşılaştırıldığında Doxil®'in kardiyotoksisite, kemik iliği baskılanması, saç dökülmesi, bulantı ve kusma gibi yan etkilere daha az neden olduğu görülmüştür⁴⁴. Kansere hedeflendirme alanında diğer bir yeni ilaç taşıyıcı sistem ise 130 nm boyutunda paklitaksel bağlı albümin nanopartikül formülasyonu olan Abraxane®'dir²⁷. Abraxane® insanda kullanım için FDA onayı alan (2005) ilk nanopartikül formülasyonu ilaçtır ve metastatik meme kanseri tedavisinde kullanılmaktadır²⁷. Abraxane® ile paklitaksel etkin maddesini çözünürleştirmede kullanılan Cremophor® sürfaktanının kullanımı ortadan kaldırılmakta ve böylece uzun süreli tedavide kombine steroid ve antihistaminik tedavisine gerek kalmamaktadır. Ayrıca; bu şekilde hastaya daha yüksek dozda ilaç uygulanabilmektedir⁴⁵.

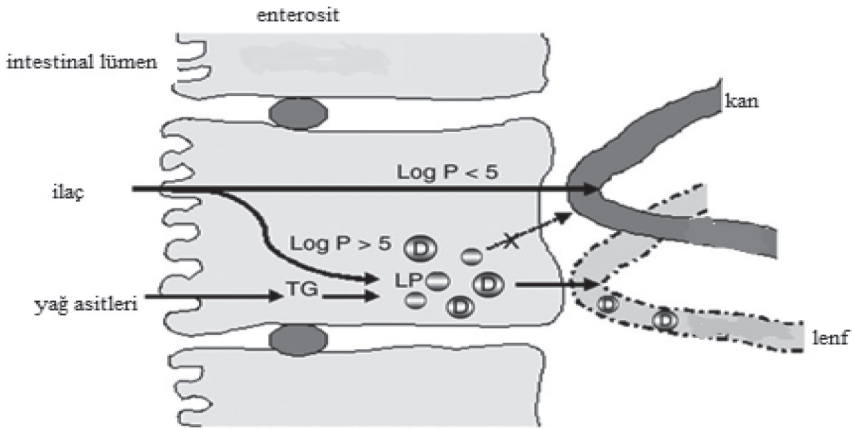
İlaçların hedeflendirilmesindeki başarı; taşıyıcının hedef dokuya olan ilgisi ile değerlendirilebilir; bu bağlamda lenfatik sisteme hedeflendirme; öncelikli olarak kanser tedavisi sağladığı, makromolekül yapıdaki ilaçların oral emilimini iyileştirdiği ve ayrıca mukozal immünitede başarı sağladığı için üzerinde çokça çalışılan bir konu olmaktadır⁴⁶.

Kanser Tedavisinde Lenfatik Hedeflendirmeden Nasıl Yararlanılır?

Lenfatik sistem; lenf damarları, lenf kanalları, dalak, timus bezi ve lenf nodları gibi lenfatik organlardan oluşur⁴⁷. Lenf ve kan damarlarının her ikisi de endotel hücrelerle kaplı olsa da temelde bu iki sistem belirgin farklılıklar gösterir. Kan damarı sistemi, kalbin pompaladığı kanın kapalı bir sistem içinde taşınmasını sağlar. Lenf sistemi ise, dokulararası sıvının dokudan kana tek yönlü taşındığı açık uçlu yapılardan oluşur⁴⁷. Lenf sisteminin birinci görevi; periferik dokulardan dokulararası sıvıyı top-

layıp tekrar kan dolaşımına kazandırılmaktadır. Bir diğer görevi de; diyetle alınan yağların, yağda çözünen vitaminlerin ve bağışıklık sisteminde görevli bazı moleküllerin (A, D, E, K vitaminleri, trigliseritler, lipoproteinler) taşınmasını sağlamaktır⁴⁸. Bağırsakta lenf damarları ve kan damarları yan yana bulunur⁴⁹. Portal kan akışının lenf sistemine göre yaklaşık 500 kat fazla olması sebebiyle emilimi gerçekleşen maddelerin çoğu portal kandan sistemik dolaşıma katılır⁴⁹. Ancak, yüksek molekül ağırlıklı maddeler ve kolloidal yapılar lenfatik kapiller yapının daha geçirgen olması sebebiyle lenf dolaşımına katılırlar⁴⁹. Ayrıca, lipofilitesi fazla olan ($\log P > 5$, lipit çözünürlük $> 50 \text{ mg/g}$) ilaçlar da intestinal lenf aracılığıyla dolaşıma katılır (Şekil 3)⁵⁰.

Lenf sisteminin anatomik ve fizyolojik yapısı gereği ilaçların lenf yoluyla taşınmasının bazı üstünlükleri vardır⁵⁰. Şöyle ki; lenf sistemiyle sistemik dolaşıma katılan ilaçlar karaciğere uğramazlar. Dolayısıyla da ilk geçiş metabolizmasından korunmuş olurlar. Bu da, karaciğerde önemli ölçüde yıkılan ilaçların oral biyoyararlanımının artmasını sağlar⁵⁰. Lenfatik sistem B ve T lenfositlerin sistemik dolaşıma katılmasında da etkin rol oynar. Lenfatik dokuların HIV (Human Immunodeficiency Virus) virüsünün gelişiminde de önemli bir rolü olduğu öne sürülmektedir^{51,52}. HIV virüsü; hastalığın erken safhalarında lenfoid organları (dalak, lenf nodları ve tonsiller) depo olarak kullanılmaktadır. En etkili antiviral te-



Şekil 3

Gastrointestinal kanaldan kan ve lenf dolaşımına geçiş
(TG: Trigliserit, LP: Lipoprotein, D: İlaç molekülü)

davi uygulamasında bile periferel kan virüsten temizlenirken, virüs lenf organlarında belirti göstermeden çoğalmaya devam etmektedir⁵³. Bu nedenle; antiviral ajanların lenfatik sisteme hedeflenmesi ile virüsün yok edilmesi daha etkin bir şekilde sağlanabilecektir^{54,55}. Lenfatik sistemin tümörlerin metastazında da etkili olduğu bilinmektedir^{49,50}. Dolayısıyla; lenfe hedeflenen antitümör ve antiviral ilaçlar kanser ve AIDS tedavisinde etkili olabilecektir⁵².

Lenf damarları; insanlarda kanserin yayılım yapmasına olanak sağlayan önemli bir yoldur. Birçok metastatik kanser türü lenf yollarından geçerek çevre dokulara yayılırlar⁵⁶. Son yıllarda yapılan araştırmalar, kanserde lenfanjiyojenezin rolünün ve lenf damarlarının gelişiminin altında yatan moleküler mekanizmaların anlaşılmasını sağlamıştır. Bu çalışmalarda VEGF-C, VEGF-D (damar endotel büyüme faktörü) ve bunların reseptörü olan VEGFR-3'ün keşfedilmesi temel basamak olmuştur⁵⁷. Hayvanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmalar sonucunda VEGF-C/VEGF-D/VEGFR-3 arasındaki sinyal iletimine bağlı olarak tümörlü bölgede yeni damarların oluştuğu (lenfanjiyojenez) belirlenmiştir⁵⁷. Kültür ortamındaki endotelial hücrelerde VEGFR-3 sinyal mekanizması incelendiğinde, VEGFR-3'ün tek başına uyarılmasının hücrelerin apoptozdan kaçmasına ve devamında da kontrolsüz çoğalmasının engellenmesine yeterli olduğu görülmüştür⁵⁸. Günümüze kadar yapılan patolojik çalışmalar, kanser hücrelerinin lenfde yayılmasının birçok kanser türünde erken evrede gerçekleştiğini ortaya koymaktadır⁵⁹. Kısaca, gelecekte muhtemel yeni hedefler ortaya çıkacak olsa da, şu an itibariyle VEGF-C/VEGF-D/VEGFR-3 sinyal mekanizması kanser yayılımını sınırlandırmak için yeni terapötik sistemlerin geliştirilmesinde en cazip hedef olarak görülmektedir⁶⁰.

VEGF-C, tümör hücrelerinin yakınında yeralan fibroblastlar, makrofajlar, keratinositler ve plateletler tarafından salgılanır⁶¹. VEGF-C sadece tümör oluşumunu tetiklemeyle kalmayıp, lenf damarlarına sıvı dönüşünü de artırarak tümör hücrelerinin lenf yoluyla taşınmasını artırır. VEGF-C/VEGF-D/VEGFR-3 üçlü sisteminde VEGF-D ve VEGF-C'ye yönelik antikolar kullanılır. VEGF-C gibi tek bir ligandı hedeflemek birkaç reseptör (VEGFR-3, VEGFR-2 ve NPR-2) üzerinde meydana gelen etkileri nötralize eder. Ancak; bu reseptörleri etkileyen VEGF-D gibi diğer ligantları etkilemez. Tek bir reseptör hedeflendiğinde ise; onun ligantlarının oluşturduğu etki engellenir. Ancak; bu durumda da diğer reseptörlere bağlı etkide bir değişme olmaz. sVEGFR-3 (çözünür VEGFR-3) prote-

inleri ya da adenoviral yapılar tümör lenfanjiyojenezi hedeflemede en yaygın kullanılan yöntemlerdir⁶². sVEGFR-3 globulin proteininin insan meme kanserinde lenfanjiyojenezi ve lenf nodlarına metastazı önlediği gösterilmiştir⁶³. sVEGFR-3 tedavisinde zamanlama da oldukça önemlidir. SVEGFR-3 erken dönemde verildiğinde tümör oluşumunu engeller. Geç kalınırsa, tümör hücreleri lenf nodlarına ulaşmış olacağı için tedavi yetersiz kalır⁶⁴. Bir diğer ligant olan semoforin 3F (SEMA3F); VEGF-A ve VEGF-C ile nörofilin-2 (NRP-2) reseptörü için yarışmaya girerek inhibisyon sağlar. NRP-2, VEGFR-2 ile birlikte VEGF-A için; VEGFR-3 ile birlikte de VEGF-C için yardımcı reseptördür⁵⁹. Ayrıca; SEMA3F'nin tümör baskılayıcı olarak da kanseri önlediği öne sürülmektedir. Bu protein anjiyojenezi, lenfanjiyojenezi ve tümör yayılımını engellemede yeni bir tedavi yaklaşımı olarak görülmektedir⁶⁵.

Günümüze kadar lenf endotelinde yapılan reseptör hedefleme çalışmaları genellikle VEGFR-3 üzerindedir⁶⁶⁻⁶⁸. Antikor yardımıyla VEGFR-3'ün hedeflenmesi lenfanjiyojenezi engeller⁶⁶⁻⁶⁸. VEGFR-3 reseptörü lenf endotelinde olduğu gibi kan damarlarında da aşırı çoğalma gösterebilir. Dolayısıyla; VEGFR-3'ü hedef alan antikorlar normal anjiyojenezi ve birincil tümör oluşumunu da engellerler^{68,69}. VEGFC; VEGFR-3'ün yanı sıra VEGFR-2'nin de uyarılması sonucu anjiyojeneze sebep olur. DC101 antikorunu yardımıyla VEGFR-2'nin hedeflenmesi VEGFC'e bağlı anjiyojenezi engeller^{59,70}. Bu iki reseptörü hedef alan yöntemler karşılaştırıldığında; VEGFR-3'ü hedef alındığı durumda tümör hücresinin bölgesel ve uzak bölgelere yayılımının, VEGFR-2'nin hedef alındığı durumda ise, tümör gelişiminin ve anjiyojenezin daha etkin bir şekilde engellenebildiği görülmüştür⁶⁸.

Kanser tedavisinde kullanılmak üzere büyüme faktör reseptörlerini hedeflemek ve kinaz etkisini engellemek için küçük bileşikler kullanılır⁷¹. Bu kinaz inhibitörleri, tümör büyümesinde rol alan büyüme faktörlerine ait sinyalleri kontrol ettikleri için kanser tedavisinde önemli yere sahiptirler. Birçok tirozin kinaz inhibitörü, onkojenik tirozin kinazların katalitik bölgelerinde ATP bağlanma bölgelerini yarışmalı olarak inhibe ederler. Ayrıca; küçük boyutlu olmaları, oral verilise uygun olmaları ve radyasyon tedavisi ve kemoterapi ile kombine tedavide kullanıma uygun olmaları önemli üstünlüklerindedir. Bu nedenle; FDA tarafından onaylanmış ve piyasada bulunan tirozin kinaz inhibitörleri günümüzde kanser tedavisinde kullanılmaktadırlar⁷¹. Bunlardan ilki 2001 yılında FDA onayı

alan İmatinib Mezilat tabletleri, piyasa adı ile Gleevec®'tir. Kronik Myeloid Lösemi tedavisinde kullanılan bu ilaç, bu hastaların çoğunda bulunan BCR-ABL onkogenine ait protein kinaz inhibitörlerindedir. EGFR'yi hedefleyen diğer preparatlar Iressa® (Gefitinib) ve Tarceva® (Erlotinib)'dir. Bu ilaçlar EGFR ekspresyonunun sıklıkla görüldüğü küçük hücreli olmayan akciğer kanseri tedavisinde kullanılmaktadırlar. Vasküler büyüme faktörü olan ve tümör anjiyojenezinde önemli rolü olan VEGF büyüme faktörü reseptör tirozin kinazlarına örnek olarak ise; Sorafenib (Nexavar®) ve Sutent (Sunitinib®) verilebilir. Bu inhibitörler ise renal kanserlerde ve gastrointestinal tümörlerin tedavisinde kullanılmaktadırlar.

Kullanılan monoklonal antikorların reseptöre seçiciliği yüksek olmasına rağmen molekül ağırlıklarının yüksek olması bir sakıncadır. Dolayısıyla; bu moleküllerin in vivo kullanımında ilacın dokuya geçişi ve hücreler tarafından alımı düşük düzeydedir³⁰. Tümör hücrelerini tanıyan küçük peptit molekülleri bu sıkıntının üstesinden gelebilir. Ancak, tedavide peptitlerin kullanımı kısa yarı ömürleri nedeniyle kısıtlanmıştır⁷². Ayrıca, bu peptitlerin doku ve organlardaki biyoyararlanımı da düşük düzeydedir. Dolayısıyla, peptidin hedef bölgeye ulaşmadan atılma oranını en aza indirmek gerekir. Bu yapıların ilaç olarak kullanılabilmesi için kimyasal modifikasyonlar gerekebilir. Bu bağlamda; D-aminoasitler, psödo-aminoasitler ve peptid siklizasyonu peptidlerin stabilizasyonlarını artırmada en yaygın kullanılanlardır⁷³. Diğer yandan, peptitlerin uzun ve yeterli bir etki oluşturabilmesi için bazı doku ve organlarda bulunan endopeptidaz ve aminopeptidaz gibi proteolitik enzimlere karşı da koruyucu önlemler almak gerekir. Nanotaşıyıcı sistemler genellikle bunun üstesinden gelebilir; peptitlerin lenf dolaşımında daha uzun süre kalmasını ve dolayısıyla biyoyararlanımının artmasını sağlayabilirler. Dekstran, dekstran sülfat ve siklodekstrinler gibi çeşitli makromoleküller, jelatin mikroküreleri, lipozomlar, emülsiyonlar ve miseller gibi ilaç taşıyıcı sistemler peptit yapılı ilaçların lenfatik sisteme taşınması için çalışılan bazı sistemlerdir⁷⁴.

Peptitlerle kanserin hedeflendirilmesi ile ilgili literatürde çalışmalar bulunmaktadır⁷⁵⁻⁷⁷. Faj sunum tekniği ile elde edilen peptit kütüphanelerinde bulunan tümör kan veya lenf damarlarına özgü peptitlerle (tumor homing peptides) kanserde hedeflendirme çalışmaları yapılmaktadır³⁴. Bu peptitlerden özellikle tümör lenf damarlarına özgünlük gösteren Lyp-1 peptidi ile kuantum noktaları ve nanopartiküller gibi

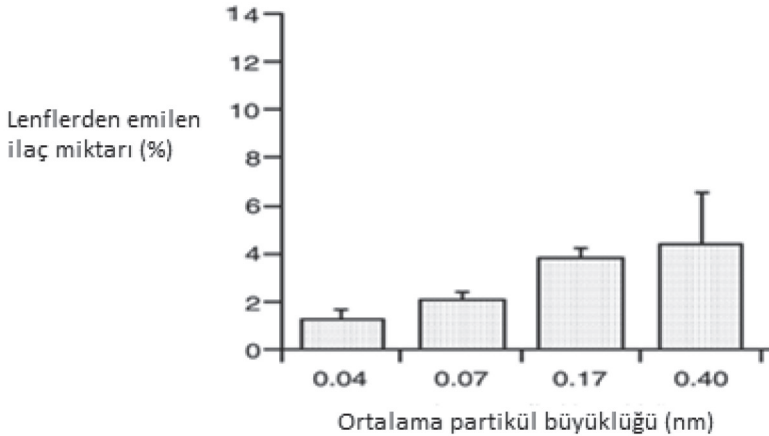
sistemler çalışılmıştır^{33,78}. Diğer bir çalışmada antikanser etkili ve meme kanserine ait lenf damarlarına spesifik Lyp-1 peptidinin yağ bazlı ilaç taşıyıcı sistemlerin içine hapsedilmesi amaçlanmış ve bu amaçla SMEDDS (Kendiliğinden mikroemülsifiye olabilen sistemler; Self-microemulsifying drug delivery systems) tasarlanmıştır⁷⁹. Bu peptit kullanılarak yapılan hücre kültürü çalışmalarında; Lyp-1 peptidinin, sıklıkla metastaz görülen meme kanser hücrelerine olan özgünlüğü gösterilmiştir^{80,81}. Tümör lenf damarlarına özgün olan ve hücreye bağlandığında aynı zamanda apoptozu da tetikleyen bu peptidin meme kanserinde lenfatik sistem yoluyla olan metastazın önlenmesi ve tedavisinde oldukça ümit verici olduğu söylenebilir.

Manyetik karbon nanotüpler (MNT) lenfatik bölgeye etkili bir şekilde ilaç taşınmasında kullanılan sistemlerdendir⁸². İlaçların manyetik olarak hedeflendirildiği sistemler bir manyetik alan yardımıyla ilaçların etki bölgesine taşındığı umut verici sistemlerdir. Bu manyetik alan ilacı RES'den uzak bir bölgeye sabitler. Hedeflendirmenin derecesi, kanın akış hızı ve manyetik alanın şiddetine bağlıdır⁸³. Dolayısıyla, kan akış hızının daha az olduğu dokularda ilaç birikimi daha fazladır. Kitosan, poliglitolitler, polialkilakrilosiyanatlar gibi biyolojik olarak parçalanabilen polimerlerle ilaç ve manyetik partiküller çeşitli teknikler kullanılarak birleştirilerek hedeflendirme çalışmaları yapılmıştır⁸⁴. Bu polimerler sayesinde, ilaçlar RES'e yakalanmadan uzun süre kanda kalabilirler⁸⁴. Lenfatik hedeflendirmede ise, 5-flurourasil ve sisplatin gibi maddeler iç yüzeyinde Fe₃O₄ gibi manyetik partiküller bulunan nanotüplerin gözeneklerine dahil edilerek nanoteknolojik yöntemlerle üretim yapılmıştır⁸². Bu sistemden yararlanmak için fosfolipitler, polietilenglikol (PEG) ve folik asit kovalan olmayan bir yolla MNT bağlanır. MNT'lerin lenf hücreleri tarafından kolayca alındığı ve seçici olarak kanser hücrelerini tahrip ettikleri gösterilmiştir⁸². Yüzey modifikasyonu ile MNT'lerin, kansere lenfatik hedeflendirme de kullanılabilir uygun taşıyıcılar olduğu söylenebilir.

Teşhis ve tedavi amacıyla ilaçları lenfatik sisteme hedeflendirmede kullanılan taşıyıcılardan bir diğeri lipozomlardır ve bu amaçla subkütan (s.c.) uygulamaları üzerinde çalışılmaktadır⁸⁵. Lipozomun subkütan uygulamayı takiben lenfatik emilimini ve lenf nodları tarafından alınımı etkileyen belirleyici faktörlerin lipozom boyutu ve uygulama bölgesi olduğu belirlenmiştir. Lipit bileşimi ve PEG kaplamanın s.c. uygulamayı taki-

ben emilimi etkilemediği gösterilmiştir. Öte yandan, lipozom boyutu 0,1 μm 'den küçük olduğunda, emilim miktarının uygulanan dozun %70' ine kadar çıkabildiği tespit edilmiştir (Şekil 4). Lipozomlar yağ bazlı sistemler olmaları sebebi ile lenfatik emilimi artırmaktadır. Boyutun küçülmesi ile de lenfatik alımın artması sağlanmış, böylece nano boyutlu yağ bazlı sistemlerin özellikle suda çözünürlüğü az olan ilaçların lenfatik hedeflendirmesi için kullanılabileceği görülmüştür.

Diğer bir yaklaşım ise, poli-laktit-ko-glikolit-paklitaksel (PLGA-PTX)'le jelatin sünger matrisin birleştirilmesi ile oluşmuş sistemlerle ilgilidir⁸⁶. Bu kombine sistem, jelatin matrisin yapısal üstünlüğü sayesinde sürekli salım sağlar. Tedavi edici ve koruyucu olarak lenfatik bölgeye doğrudan yerleştirilebilir (implantasyon). PLGA mikroküreleri; püskürterek kurutma yöntemi kullanılarak hazırlanmıştır. Bu çalışmada; partikül boyutları intraperitoneal ve intraplevral olarak lenfatik hedeflendirilmeye uygun olacak şekilde 1 – 8 μm aralığında olacak şekilde hazırlanmıştır. PTX salımı; PLGA parçalanmasına bağlı olarak kontrol edilmiştir. Subkütan uygulamadan sonra ilacın lenf nodlarına ulaşabilmesi için 0,1 μm 'den küçük partiküllere ihtiyaç varken, intraplevral ve intraperitoneal uygulamadan sonra ilacın lenf nodlarına ulaşabilmesi için partikül boyutunun 1 – 5 μm arasında olmasının yeterli olduğu belirtilmiştir⁸⁶. Sağlıklı ve akciğer kanseri geliştirilen farelerde yapılan in vivo çalışmada,



Şekil 4

Lipozom boyutuna bağlı olarak lenf nodlarında % emilen miktar⁸⁵

intraplevral ve intraperitoneal olarak implante edilen sistemlerden PLGA mikropartiküllerin lenfatik sisteme absorpsiyonunun sağlandığı görülmüştür. Bu sistemin özellikle kanserde lenfatik metastazın önlenmesinde faydalı olabileceği öngörülmektedir.

Mitomisin C'nin intramuskuler ve intraperitoneal yolla uygulanan yağ içinde su (s/y) ve su içinde yağ (y/s) tipi emülsiyonların vasıtasıyla lenfatik taşınması kanıtlanmıştır. Bölgesel enjeksiyonu takiben y/s tipi emülsiyonların lenflere en çabuk, s/y tipi emülsiyonlar lenflere daha geç ulaştığı görülmüştür⁸⁷. Buna bağlı olarak mide kanserinde kullanılmak üzere bir antikanser ilacı, pirarubisin (Lipiodol), içeren emülsiyon formülasyonu geliştirilmiştir. Bu formülasyon içinde ilacın lenf nodunda ve enjeksiyon bölgesinde yaklaşık 7 gün kalabildiği gösterilmiştir⁸⁷.

Bir başka çalışmada ise farklı PEG (200, 500, 2000 Da) türevleri ve 4-benzen sülfonat ile modifiye edilen polilizin dendrimerlerin lenfatik emilimi ve taşınımı karşılaştırılmıştır⁸⁸. PEG 200'le hazırlanan dendrimerin s.c. uygulanmasını takiben hızlı bir şekilde ve tamamına yakını kan dolaşımına geçmiştir. Yalnız % 3 kadarı 30 saat içinde torasik lenfe geçmiştir. PEG zinciri artırılarak kana geçiş azaltılmış lenfe geçiş ise 30 saat içinde % 29'a çıkartılmıştır. 4-benzen sülfonatlı dendrimerin ise kandan ve lenften iyi emilmediği görülmüştür. Ayrıca; pegile edilmiş polilizin dendrimerlerin s.c. enjeksiyon bölgesinden iyi emilim gösterdiği görülmüştür. Bu çalışmanın sonucunda; PEG boyutunun artmasıyla lenfatik emilimin arttığı ortaya konulmuştur.

Sonuç ve Tartışma

Vücutta etkin maddenin, istenen hedef bölgeye gönderilmesinde, taşıyıcı sistemlerin kullanımı yeni bir yaklaşım değildir. Geçen yüzyılın sonlarına doğru, Paul Ehrlich, sihirli mermi "*Magic bullet*" diye bir kavramı ilk kez ortaya atan kişi olmuştur⁸⁹. Ehrlich ilk çalışmasında, frengi hastalığının tedavisinde kullanılan "Salvarsan" (Asfenamin) isimli ilacın bu hastalık etkenine olan seçici etkinliğinden esinlenmiştir ve "sihirli mermisini" geliştirmeyi başarmıştır. Bundan sonra da bu konuda önemli gelişmeler yaşanmıştır. Nanoteknolojideki hızlı gelişmeler sayesinde önümüzdeki yıllarda kanser tedavisi daha akılcı ve daha etkili bir şekilde yapılabilecektir. Hedeflendirmede yeni hedeflerin, yeni ligantların bulunması, nanotaşıyıcı-

cıların özelliklerinin iyileştirilmesi sayesinde, ilacın tümörlü bölgeye daha etkili bir şekilde taşınması ve daha az yan etkiye neden olması amaçlanmaktadır. Lenfatik hedeflendirme, kanserin yayılımını önlemek için son derece önemlidir. Lipitlerin emilim mekanizmalarının ve intestinal bölgenin fizikokimyasal özelliklerinin daha iyi anlaşılması sayesinde lenfatik sisteme hedeflendirmede daha etkili formülasyonların geliştirilmesi mümkün olmuştur. Böylece, kanser tedavisinin daha etkin bir biçimde yürütülmesi için önemli bir adım atılmıştır. Gelecekte de, bu çalışmaların kanser tedavisinde başarıyı daha da artırması beklenmektedir.

Özet

Kanser; kontrolsüz bölünen ve diğer dokulara yayılabilme özelliği olan anormal hücrelerin oluşturduğu hastalıklar için kullanılan bir terimdir. Kanser tedavisinde radyoterapi, ameliyat ve kemoterapi gibi yöntemler kullanılır. Kemoterapi; kanser hastalarında önemli yan etkilere neden olur. Bu nedenle; tümörlü dokuya özgü ilaç taşıyıcı sistemlere ihtiyaç duyulur. İlacın sağlıklı dokularda daha az birikmesinin ve tümörlü bölgede tercihen yoğunlaşmasının bir sonucu olarak ilaç toksisitesi azalır. Bu sistemlere örnek olarak; lipozomlar, miseller, mikro-nanopartiküler sistemler verilebilir. Kanser hücreleri vücudun diğer organlarına kan ve lenf yoluyla yayılırlar. İlacın lenfatik sisteme hedeflendirilmesinin bir sonucu olarak kanser hücrelerinin çevre dokulara yayılması önenebilir. Bu derlemede öncelikle; kanser hakkında temel bilgiler verilmekte; daha sonra ise; bu konuda yapılmış güncel çalışmalar ve araştırmalar ışığında kanser tedavisinde ilacın hedeflendirilmesinin önemi ve lenfatik hedeflendirmeden nasıl yararlanılabileceği anlatılmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Kanser, Kanserde Hedeflendirme, Yeni İlaç Taşıyıcı Sistemler, Lenfatik Hedeflendirme

*Abstract***Lymphatic targeting in Cancer Therapy**

Cancer is a term used for diseases of uncontrollable self-division of abnormal cells, which are able to invade other tissues. Radiotherapy, surgery and chemotherapy applications are in cancer treatment. Chemotherapy can cause many side effects in cancer patients. Therefore, tumor tissue-specific drug carrier systems are needed. Drug toxicity is reduced as a consequence of preferential accumulation at target sites and lower concentration in healthy tissues. Examples of these systems are liposomes, micelles, micro-nanoparticulate systems. Cancer cells can spread to other parts of the body through the blood and lymphatic systems. Spread of cancer cells into surrounding tissues can be prevented by drug targeting to the lymphatic system. In this context, basic information about cancer is given then, in the view of current studies, importance of targeting and advantages of lymphatic targeting in cancer therapy are explained.

Keywords: Cancer, Targeting in Cancer Therapy, New Drug Delivery Systems, Lymphatic Targeting.

KAYNAKLAR

1. http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789283204237_tur_p1-104.pdf
2. <http://www.kanser.gov.tr/folders/file/8iL-2006-SON.pdf>
3. Kutluk T., Kars A. (Editörler) , Kanser Konusunda Genel Bilgiler, Ankara, Türk Kanser Araştırma ve Savaş Kurumu Yayınları, (1994), sayfa 26 .
4. www.cancervic.org.au/downloads/other_languages/turkish/Cancer_WhatIs.pdf
5. <http://www.cancer.gov/cancertopics/understandingcancer/cancergenomics/page49>
6. Vogelstein B., Kinzler K.W.: Cancer genes and the pathways they control, Nat Med, 10, 789 (2004).
7. <http://tr.wikipedia.org/wiki/P53>
8. <http://www.cancer.gov/cancertopics/factsheet/Sites-Types/metastatic>
9. Hart, I. R., "Metastasis", Souhami R. L., Tannock, I., Hohenberger, P., Horiot, J.C. (Eds), Oxford Textbook of Oncology Second Edition, New York, Oxford University Press, (2002), cilt I, sayfa 103.
10. http://en.wikipedia.org/wiki/Radiation_therapy
11. Greish, K.: Enhanced permeability and retention of macromolecular drugs in solid tumors: A royal gate for targeted anticancer nanomedicines, J Drug Target, 15, 457 (2007).

12. Leaf, C.: Why we are losing the war on cancer (and how to win it) , *Fortune*, 149, 84 (2004).
13. Jain, R. K.: Molecular regulation of vessel maturation, *Nat Med*, 9, 685 (2003).
14. Hashizume, H., Baluk, P., Morikawa, S., McLean, J. W., Thurston, G., Roberge, S., Jain, R. K., McDonald, D. M.: Openings between defective endothelial cells explain tumor vessel leakiness, *Am J Pathol* , 156, 1363 (2000).
15. Yuan, F., Dellian, M., Fukumura, D., Leunig, M., Berk, D. A., Torchilin, V. P., Jain, R. K.: Vascular permeability in a human tumor xenograft: Molecular size dependence and cutoff size, *Cancer Res* , 55, 3752 (1995).
16. Wu, J., Akaike, T., Maeda, H.: Modulation of enhanced vascular permeability in tumors by a bradykinin antagonist, a cyclooxygenase inhibitor, and a nitric oxide scavenger, *Cancer Res*, 58 (1998).
17. Kopecek, J., Kopeckova, P., Minko, T., Lu, Z.R., Peterson, C.M.: Water soluble polymers in tumor targeted delivery, *J Control Release*, 74, 147 (2001).
18. Alberto, A., Gabizon, M. D. : Pegylated liposomal doxorubicin: Metamorphosis of an old drug into a new form of chemotherapy, *Cancer Invest* , 19, 424 (2001).
19. Matsumura, Y., Maeda, H.: A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: Mechanism of tumorotropic accumulation of proteins and the antitumor agent smancs, *Cancer Res*, 46, 6387 (1986).
20. Fukumura, D., Jain, R. K.: Tumor microvasculature and microenvironment: Targets for antiangiogenesis and normalization, *Microvasc Res*, 74, 72 (2007).
21. Harris, A. L.: Hypoxia - a key regulatory factor in tumour growth, *Nat Rev Cancer*, 2, 38 (2002).
22. Tatum, J. L. et al.: Hypoxia: Importance in tumor biology, noninvasive measurement by imaging, and value of its measurement in the management of cancer therapy, *Int J Radiat Biol*, 82, 699 (2006).
23. Lammers, T., Hennink, W.E., Storm, G.: Tumour targeted nanomedicines: Principles and practice, *Brit J Cancer*, 99, 392 (2008).
24. Kaş, H. S., Eldem, T., "Kontrollü Sağlık Sistemlerinin Hedeflendirilmesi", Gürsoy, A. (Editör), *Kontrollü Sağlık Sistemleri*, İstanbul, *Kontrollü Sağlık Sistemleri Derneği Yayını*, (2002), sayfa 308.
25. Gürsoy, R. N., Siahann, T. J.: Binding and internalization of ICAM - 1 peptide by the surface receptors of T cells, *J Pep Res*, 53, 414 (1999).
26. Ghose, T., *The Current Status of Tumor Targeting: A Review*, Page, M. (Editör), *Tumor Targeting in Cancer Therapy*, New Jersey, Humana Press, (2002), sayfa 5.
27. Malam, Y., Loizido, M., Seifalian, A. M.: Liposomes and nanoparticles: nanosized vehicles for drug delivery in cancer, *Trends Pharmacol Sci*, 30, 592 (2009).
28. Nielsen, U. B., Marks, J. D.: Internalizing antibodies and targeted cancer therapy: direct selection from phage display libraries, *Pharm Sci Technol Today*, 3, 282 (2000).
29. Bernold, D.M., Sinicrpe, F.A.: *Kolorektal kanser kemoterapisinde gelişmeler*, *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, Turkish edition, 1, 126 (2006).
30. Aina, O. H., Sroka, T. C., Chen, M. L., Lam, K. S.: Therapeutic cancer targeting peptides, *Biopolymers* , 66, 184 (2002).
31. Shadidi, M., Sioud, M.: Selective targeting of cancer cells using synthetic peptides, *Drug Resist Update*, 6, 363 (2003).
32. Enback, J., Laakkonen, P.: Tumour-homing peptides: tools for targeting, imaging and destruction, *Biochem Soc T*, 35, 780 (2007).

33. Akerman, M. E., Chan, W. C. W., Laakkonen, P., Bhatia, S. N., Ruoslahti, E.: Nanocrystal targeting in vivo, *P Natl Acad Sci*, 99, 12617 (2002).
34. Karmali, P. P., Kotamraju, V. R., Kastantin, M., Black, M., Missirlis, D., Tirrell, M., Ruoslahti, E.: Targeting of albumin-embedded paclitaxel nanoparticles to tumors, *Nanomedicine: NBM*, 5, 73 (2009).
35. New R.R.C. (Editör), *Liposomes: a practical approach*, New York, Oxford University Press, (1990).
36. Zelphati, O., Szoka, F.C.: Liposomes as a carrier for intracellular delivery of antisense oligonucleotides: a real or magic bullet?, *J Control Release*, 41, 99 (1996).
37. Park, J.W., Kirpotin, D.B., Hong, K., Shalaby, R., Shao, Y., Nielsen, U.B.: Tumor targeting using anti-her2 immunoliposomes, *J Control Release*, 74, 95 (2001).
38. Park, J.W., Hong, K., Kirpotin, D.B., Colbern, G., Shalaby, R., Baselga, J., Shao, Y., Nielsen, U.B., Marks, J.D., Moore, D., Papahadjopoulos, D., Benz C.C.: Anti-HER2 immunoliposomes: enhanced efficacy attributable to targeted delivery, *Clin Cancer Res*, 8, 1172 (2002).
39. Xiong, X.B., Mahmud, A., Uludag, H., Lavasanifar, A.: Multifunctional polymeric micelles for enhanced intracellular delivery of doxorubicin to metastatic cancer cells, *Pharm Res*, 25, 2555 (2008).
40. Goren, D., A. Horowitz, T., Tzemach, D., Tarshish, M., Zalipsky, S., Gabizon, A.: Nuclear delivery of doxorubicin via folate-targeted liposomes with bypass of multidrug-resistance efflux pump, *Clin Cancer Res*, 6, 1949 (2000).
41. Weitman, S. D., Weinberg, A. G., Coney, L. R., Zurawski, V. R., Jennings, D. S., Kamen, B. A.: Cellular-localization of the folate receptor potential role in drug toxicity and folate homeostasis, *Cancer Res*, 52, 6708 (1992).
42. Ross, J. F., Chaudhuri, P. K., Ratnam, M.: Differential regulation of folate receptor isoforms in normal and malignant tissues in-vivo and in established cell-lines physiological and clinical implications, *Cancer*, 732432 (1994).
43. Yoo, H. S., Park, T. G.: Folate-receptor-targeted delivery of doxorubicin nano-aggregates stabilized by doxorubicin PEGfolate conjugate, *J Control Release*, 100, 247 (2004).
44. Haley, B., Frenkel, E.: Nanoparticles for drug delivery in cancer treatment, *Urol Oncol*, 26, 57 (2008).
45. Gradishar, W. J., Tjulandin, S., Davidson, N., Shaw, H., Desai, N., Bhar, P., Hawkins, M., O'shaughnessy, J.: Phase III trial of nanoparticle albumin-bound paclitaxel compared with polyethylated castor oil- based paclitaxel in women with breast cancer, *J Clin Oncol*, 23, 7794 (2005).
46. Nishioka, Y., Yoshino, H.: Lymphatic targeting with nanoparticulate System, *Adv Drug Deliver Rev*, 47, 55 (2001).
47. Rusznyak, I., Foldi, M., Szabo, G., *Lymphatics and Lymph Circulation; Physiology and Pathology*, New York, Pergamon Press, (1960).
48. Guyton A, Hall J. E., *Textbook of medical physiology*. 9th ed., Philadelphia, W.B. Saunders Company, (1996).
49. Leak, L.V.: The structure of lymphatic capillaries in lymph formation, *Fed Proc*, 35, 1863 (1976).
50. Trevasakis, N. L., Charman, W. N., Porter, C.J.H.: Lipid-based delivery systems and intestinal lymphatic drug transport: A mechanistic update, *Adv Drug Deliver Rev*, 60, 702 (2008).
51. Panteleo, G., Graziosi, C., Demarest, J.F., Cohen, O.J., Vaccerezza, M., Ganttt, K. , Muro-cacho, C., Fauci, A.S.: Role of lymphoid organs in the pathogenesis of human immunodeficiency virus infection, *Immunol Rev*, 140, 105 (1994).

52. Lalanne, M., Paci, A., Andraux, K., Clayette, P., Re, M., Vassal, G.: Synthesis and biological evaluation of two glycerolipidic prodrugs of didanosine for direct lymphatic delivery against HIV, *Bioorg Med Chem Lett*, 17, 2237 (2007).
53. Kinman, L., Bui, T., Larsen, K., Tsai, C.C., Anderson, D., Morton, W.R., Hu, S.L., Ho, R.J.: Optimization of lipid-indinavir complexes for localization in lymphoid tissues of HIV-infected macaques, *Journal of Acq Immun Def Synd*, 42, 155 (2006).
54. Alexa, M. R. A., Chackoa, A. J., Josea, S., Soutob, E. B.: Lopinavir loaded solid lipid nanoparticles (SLN) for intestinal lymphatic targeting, *Eur J Pharm Sci*, 42, 11 (2011).
55. Kaur, C. D., Nahar, M., Jain, N. K.: Lymphatic targeting of zidovudine using surface-engineered liposomes, *J Drug Target*, 16, 798 (2008).
56. Takahashi, T.: Emulsion and activated carbon in cancer chemotherapy, *CRC Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*, 2, 245 (1985).
57. Alitalo, K., Carmeliet, P.: Molecular mechanisms of lymphangiogenesis in health and disease, *Cancer Cell*, 1, 219 (2002).
58. Makinen, T., Veikkola, T., Mustjoki, S., Karpanen, T., Catimel, B., Nice, E.C., Wise, L., Mercer, A., Kowalski, H., Kerjaschki, D., Stacker, S.A., Achen, M.G., Alitalo, K.: Isolated lymphatic endothelial cells transduce growth, survival and migratory signals via the VEGF-C/D receptor VEGFR-3, *EMBO J*, 20, 4762 (2001).
59. Kaipainen, A., Korhonen, J., Mustonen, T., Van Hinsbergh, V.W., Fang, G.H., Dumont, D., Breitman, M., Alitalo, K.: Expression of the fms-like tyrosine kinase 4 gene becomes restricted to lymphatic endothelium during development, *Proc Natl Acad Sci*, 92, 3566 (1995).
60. Achen, M.G., Mann, G.B, Stacker, S.A.: Targeting lymphangiogenesis to prevent tumour metastasis, *Brit J Cancer*, 94, 1355 (2006).
61. Skobe, M., Detmar, M.: Structure, function, and molecular control of the skin lymphatic system, *J Investig Dermatol Symp Proc*, 5, 14 (2000).
62. Achen, M.G., Roufail, S., Domagala, T., Catimel, B., Nice, E.C., Geleick, D.M., Murphy, R., Scott, A.M., Caesar, C., Makinen, T., Alitalo, K., Stacker, S.A.: Monoclonal antibodies to vascular endothelial growth factor-D block its interactions with both VEGF receptor-2 and VEGF receptor-3, *Eur J Biochem*, 267, 2505 (2000).
63. Karpanen, T., Egeblad, M., Karkkainen, M.J., Kubo, H., Yla-Herttuala, S., Jaattela, M., Alitalo, K.: Vascular endothelial growth factor C promotes tumor lymphangiogenesis and intralymphatic tumor growth, *Cancer Res*, 61, 1786 (2001).
64. He, Y., Rajantie, I., Pajusola, K., Jeltsch, M., Holopainen, T., Yla-Herttuala, S., Harding, T., Jooss, K., Takahashi, T., Alitalo, K.: Vascular endothelial cell growth factor receptor 3-mediated activation of lymphatic endothelium is crucial for tumor cell entry and spread via lymphatic vessels, *Cancer Res*, 65, 4739 (2005).
65. Bielenberg, D.R., Pettaway, C.A., Takashima, S., Klagsbrun, M.: Neuropilins in neoplasms: expression, regulation, and function, *Exp Cell Res*, 312, 584 (2006).
66. Shimizu, K., Kubo, H., Yamaguchi, K., Kawashima, K., Ueda, Y., Matsuo, K., Awane, M., Shimahara, Y., Takabayashi, A., Yamaoka, Y., Satoh, S.: Suppression of VEGFR-3 signaling inhibits lymph node metastasis in gastric cancer, *Cancer Sci*, 95, 328 (2004).
67. Hoshida, T., Isaka, N., Hagendoorn, J., di Tomaso, E., Chen, Y.L., Pytowski, B., Fukumura, D., Padera, T.P., Jain, R.K.: Imaging steps of lymphatic metastasis reveals that vascular endothelial growth factor-C increases metastasis by increasing delivery of cancer cells to lymph nodes: therapeutic implications, *Cancer Res*, 66, 8065 (2006).
68. Roberts, N., Kloos, B., Cassella, M., Podgrabinska, S., Persaud, K., Wu, Y., Pytowski, B., Skobe, M.: Inhibition of VEGFR-3 activation with the antagonistic antibody more potently suppresses lymph node and distant metastases than inactivation of VEGFR-2, *Cancer Res*, 66, 2650 (2006).

69. Kubo, H., Fujiwara, T., Jussila, L., Hashi, H., Ogawa, M., Shimizu, K., Awane, M., Sakai, Y., Takabayashi, A., Alitalo, K., Yamaoka, Y., Nishikawa, S.I.: Involvement of vascular endothelial growth factor receptor-3 in maintenance of integrity of endothelial cell lining during tumor angiogenesis, *Blood*, 96, 546 (2000).
70. Kadambi, A., Mouta Carreira, C., Yun, C.O., Padera, T.P., Dolmans, D.E., Carmeliet, P., Fukumura, D., Jain, R.K.: Vascular endothelial growth factor (VEGF)-C differentially affects tumor vascular function and leukocyte recruitment: role of VEGF-receptor 2 and host VEGF-A, *Cancer Res*, 61, 2404 (2001).
71. Arora, A. Scholar, E. M.: Role of tyrosine kinase inhibitors in cancer therapy, *J Pharmacol Exp Ther*, 315, 971 (2005).
72. Yamamoto, Y., Tsutsumi, Y., Mayumi, T.: Molecular design of bioconjugated cell adhesion peptides with a water-soluble polymeric modifier for enhancement of antimetastatic effect, *Curr Drug Targets*, 3, 123 (2002).
73. Adessi, C., Soto, C.: Converting a peptide into a drug: strategies to improve stability and bioavailability, *Curr Med Chem*, 9, 963 (2002).
74. Muranishi, S., Fujita, T., Murakami, M., Yamamoto, A.: Potential for lymphating targeting of peptides, *J Control Release*, 46, 157 (1997).
75. Laakkonen P., Porkka, K., Hoffman, J. A., Ruoslahti E.: A tumor-homing peptide with a targeting specificity related to lymphatic vessels, *Nat Med*, 8, 751 (2002).
76. Ruoslahti E.: Drug targeting to specific vascular sites, *Drug Discov Today*, 7, 1138 (2002).
77. Laakkonen, P., Zhang, A.L., Ruoslahti, E.: Peptide targeting of tumor lymph vessels, *Ann NY Acad Sci*, 1131,37 (2008).
78. Luo, G., Yu, X., Jin, C., Yang, F., Fu, D., Long, J., Xu, J., Zhan, C., Lu, W.: LyP-1-conjugated nanoparticles for targeting drug delivery to lymphatic metastatic tumors, *Int J Pharm*, 385, 150 (2010).
79. http://www.aapsj.org/abstracts/AM_2010/W5282.pdf
80. Li, X., Jin, Q., Chen, T., Zhang, B., Zheng, R., Wang, Z., Zheng H.: LyP-1 ultrasonic microbubbles targeting to cancer cell as tumor bioacoustics markers or drug carriers: targeting efficiency evaluation in microfluidic channels, *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*, 463 (2009).
81. Laakkonen, P., Akerman, M. E., Biliran, H., Yang, M., Ferrer, F., Karpanen, T., Hoffman, R. M., Ruoslahti, E.: Antitumor activity of a homing peptide that targets tumor lymphatics and tumor cells, *Proc Natl Acad Sci*, 101, 9381 (2004).
82. Yang, F., Fu D. L., Long, J., Ni X., Q.: Magnetic lymphatic targeting drug delivery system using carbon nanotubes, *Medical Hypotheses*, 70, 765, (2008).
83. Widder K.J., Marino P.A., Morris R.M., Senyei A.E., "Magnetically Modulated Nanosystems: A Unique Drug-Delivery Platform: Characterization of Magnetic-targeted Carriers", *Targeted Drugs*, Goldberg E (Ed), New York, John Wiley and Sons, (1983).
84. Lubbe, A. S., Alexiou, C., Bergemann, C.: Clinical application of magnetic drug targeting, *J Surg Res*, 95, 200 (2001).
85. Oussoren, C., Storm, G.: Liposomes to target the lymphatics by subcutaneous administration, *Adv Drug Deliver Rev*, 50, 143 (2001).
86. Liu, J., Meisner, D., Kwong, E., Wu, X.Y., Johnston, M.R.: A novel trans-lymphatic drug delivery system: Implantable gelatin sponge impregnated with PLGA-paclitaxel microspheres, *Biomaterials*, 28, 3236 (2007).
87. Hashida, M., Egawa, M., Muranishi, S., Sezaki, H.: Role of intra-muscular administration of water-in-oil emulsions as a method for increasing the delivery of anticancer agents to regional lymphatics, *J Pharmacokin Biopharm*, 5, 223 (1997).

88. Kaminskasa, L.M., Kotaa, J., McLeoda, V.M., Kellyb B.D, Karellasb, P., Portera, C.J.H.: PEGylation of polylysine dendrimers improves absorption and lymphatic targeting following sc administration in rats, *J Control Release*, 140, 108 (2009).
89. Ehrlich P.: On immunity with specific reference to cell life, *Proc R Soc London*, 66, 429 (1900).

