

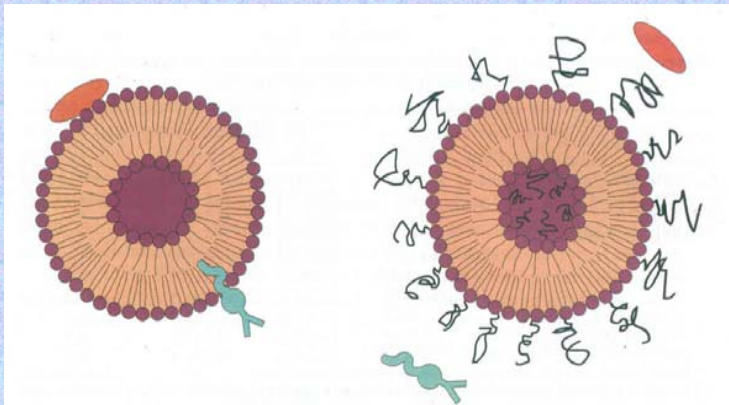
Liposzómák diagnosztikai és terápiás alkalmazásai I.

Dr. Voszka István

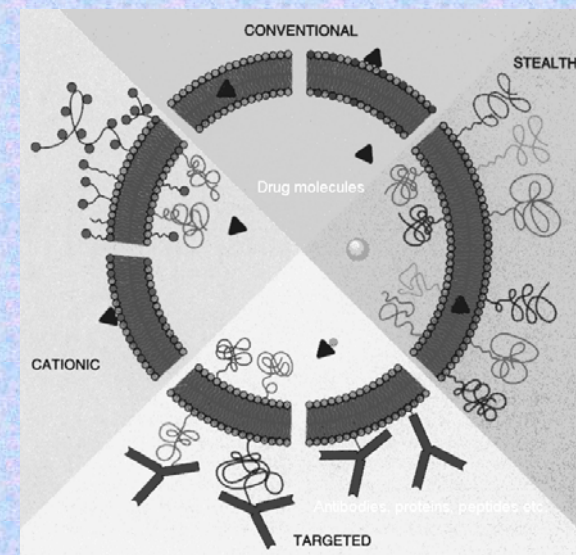
Előny:

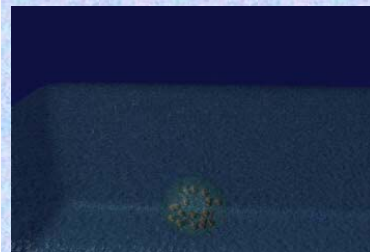
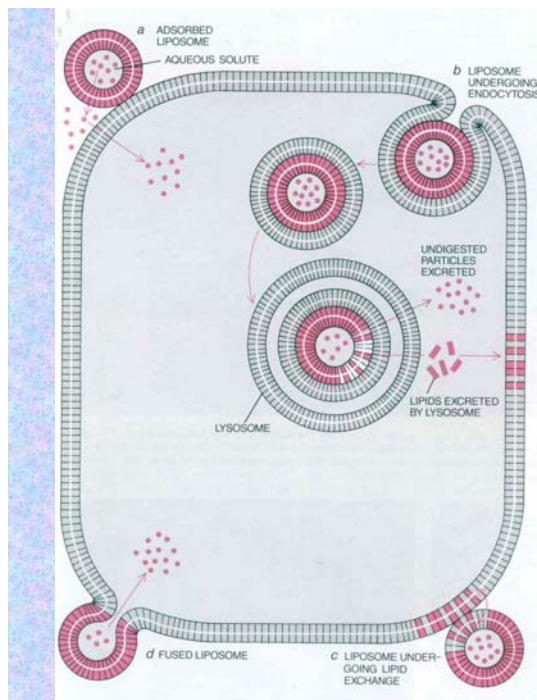
- célzott bejuttatás
- kevesebb mellékhatás
- kisebb dózis elegendő

- máj, lép vizsgálata vagy kezelése közönséges (C) liposzómákkal
- RES (MPS) telítése „üres” liposzómákkal → utána más területek vizsgálhatók
- „stealth” (S) liposzómák az immunrendszert jobban ki tudják kerülni
- speciális markerek, receptorok alkalmazása (immunliposzómák) → szervspecifikus célbajuttatás

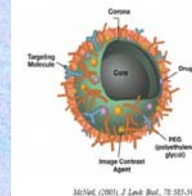


Liposzómák csoportosítása





Diagnosztikai alkalmazások: diagnosztikában használatos anyagokat zárnak a liposzómákba



1. Röntgen-kontrasztanyag

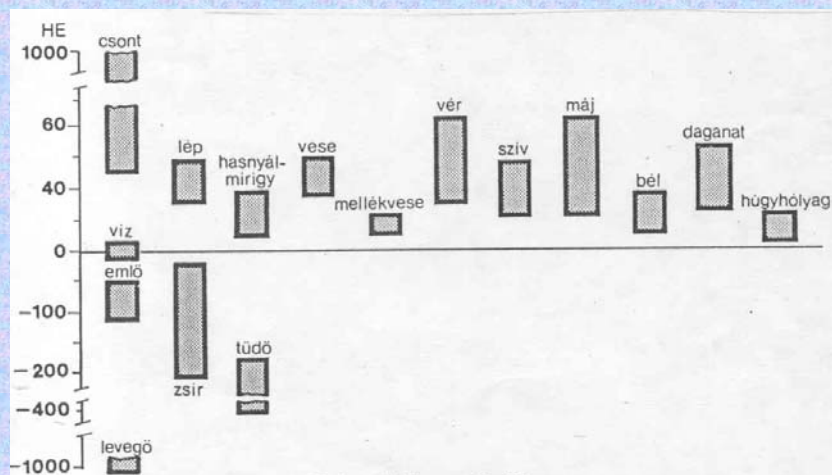
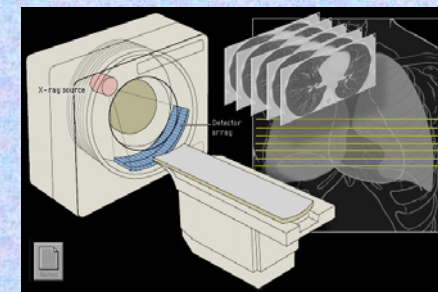
Pl. CT vizsgálatnál az egyes képelemek denzitását határozzák meg egy relatív skálán (Hounsfield-skála)

$$HE = \frac{\mu - \mu_{\text{víz}}}{\mu_{\text{víz}}} * 1000$$

A lágy szövetek relatív denzitása szűk tartományban van, ezért gyakran kontrasztanyag szükséges.

Liposzómában

- erősebb kontraszt
- hosszabb ideig



35. ábra. CT abszorpciós skála

A különböző szövetek és szervek vízhez viszonyított sugárelnyelési tartományai

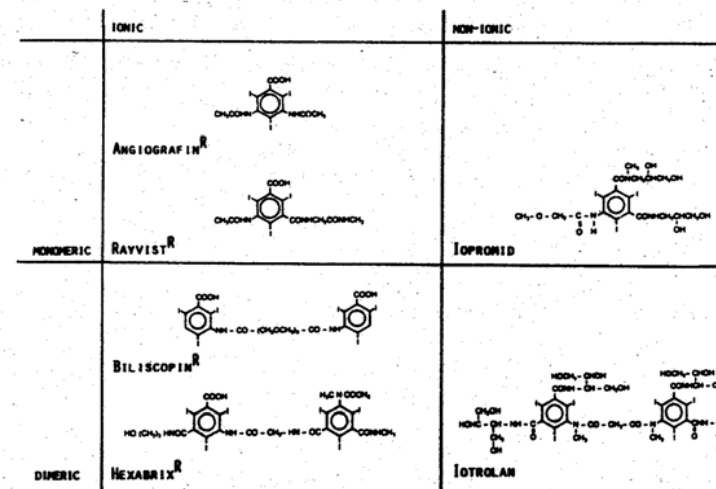


Fig. 1. Chemical structures of the radiocontrast agents used.

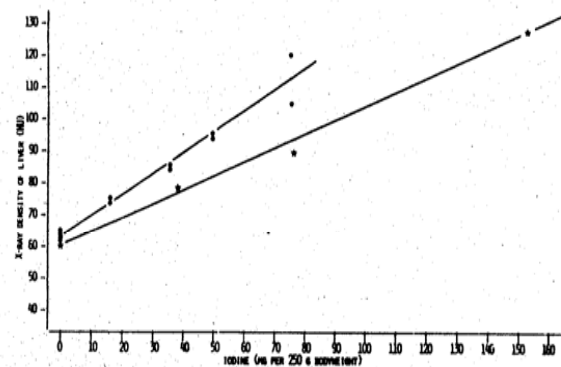


Fig. 4. Correlation between X-ray density of the liver and amount of iodine administered. (The values are average values from 10 different regions of the liver.) Dots: liposome encapsulated Angiografin, lipid mixture: egg-PC:CH = 7:3; rat liver, 60 min after iv. injection, stars: free radiocontrast agent, human liver, 40 sec after iv. injection (Claussen).

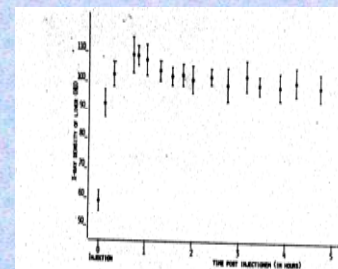


Fig. 5a. Time course of intensified X-ray density of the rat liver after iv. liposome encapsulated Angiografin. (The values are average values from 10 different regions of the rat liver, lipid mixture: egg-PC:CH = 7:3, injection iodine content: 90 mg iodine.)

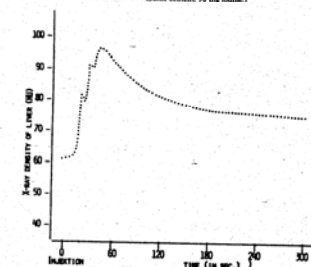


Fig. 5b. Time course of intensified X-ray density of the human liver after iv. injection of free radiocontrast agent (Claussen). (The values are average values from 10 different regions of the human liver.)

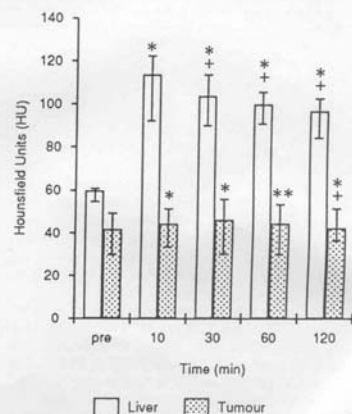


Fig. 1. Attenuation in normal liver tissue and tumorous tissue before and after injecting iodoxanol-liposomes. Median values and ranges. Levels of significance: comparison of values after CM administration to precontrast values; * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$. Attenuation 30, 60, and 120 min after injection compared to 10 min after injection; + $p < 0.05$.

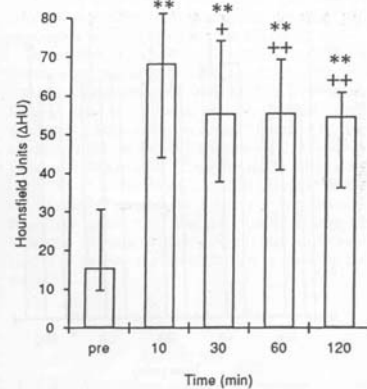


Fig. 3. Contrast expressed as the difference in attenuation (Δ HU) between normal liver tissue and tumorous tissue before and after injecting iodoxanol-liposomes. Median values and ranges. Levels of significance: comparison of values after CM administration to precontrast values; ** $p < 0.01$. Contrast 30, 60, and 120 min after injection compared to 10 min after injection; + $p < 0.05$ and ++ $p < 0.01$.

2. Radioaktív izotópok

- Liposzómába zárva specifikussabb kötődés, pl. gyulladásos góchoz, tumorhoz

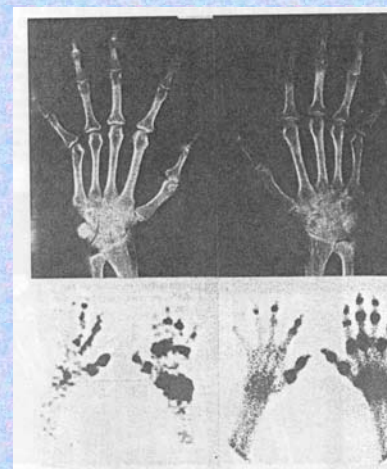
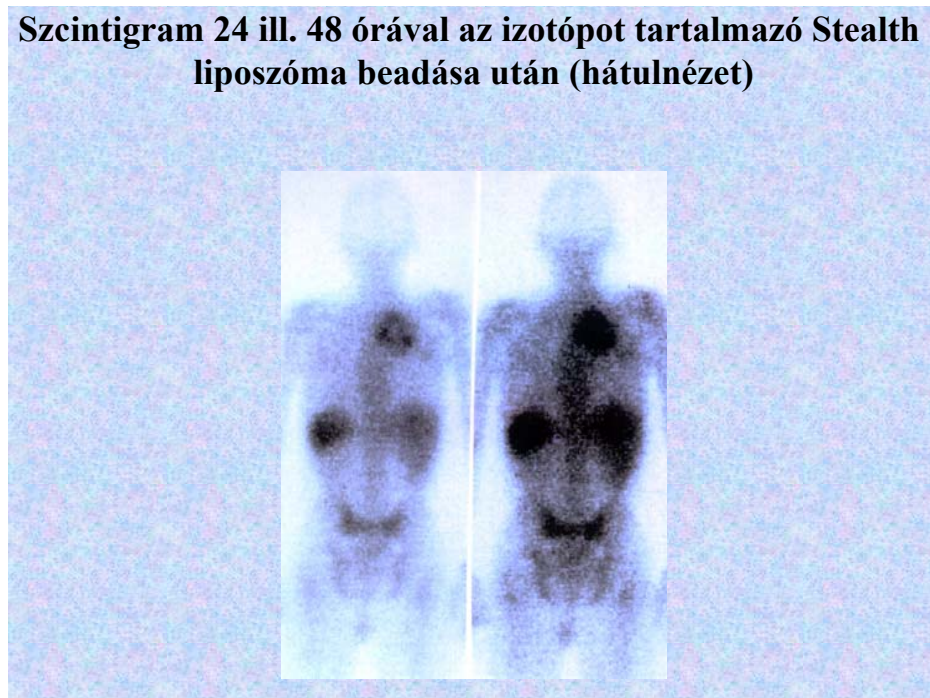
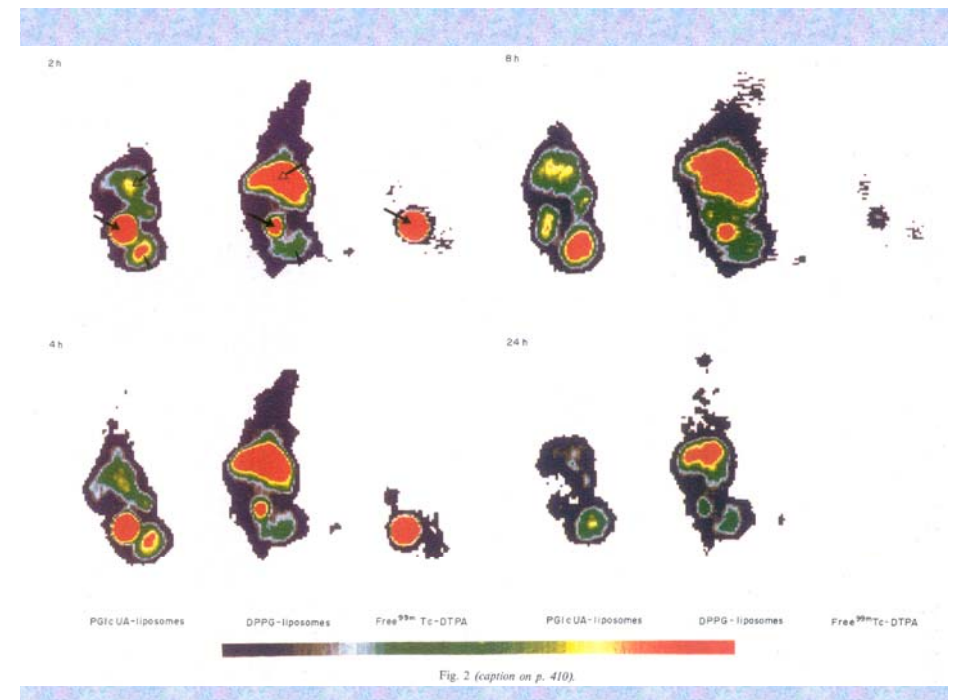
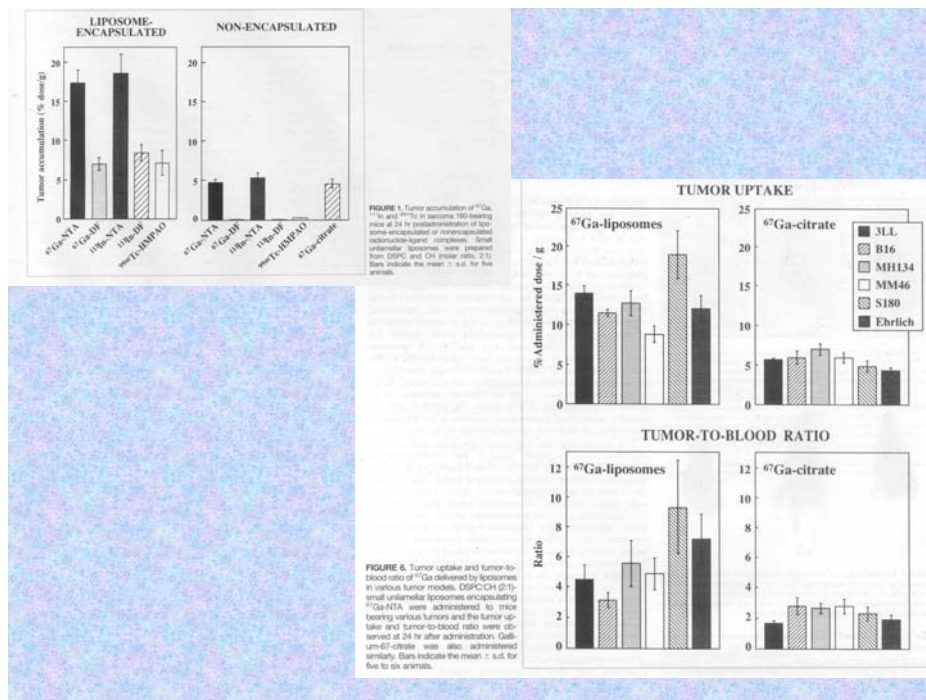
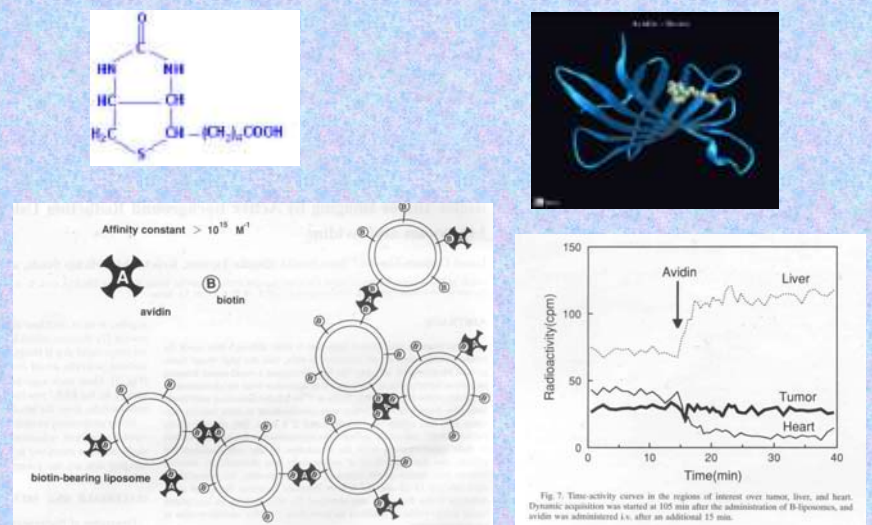


Fig. 2. Radiographs, liposome scan (bottom left), and bone scan (bottom right) of a patient with active psoriatic arthritis. Note lines of cartilage at wrists and erosions at metacarpophalangeal, proximal interphalangeal, and distal interphalangeal joints. Note also increased activity at these joints, especially the right hand on the bone scan. The liposome scan also shows increased activity, but there is more diffuse activity over the left index finger where clinically there was active tenosynovitis.



- A vizsgálati idő lerövidíthető **biotin tartalmú** liposzómákkal (avidinhoz kötődnek → aggregátumok → a makrofágok bekebelezik)



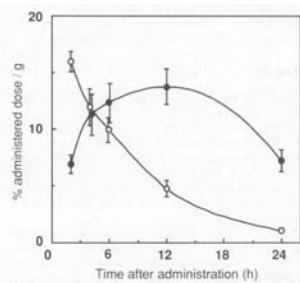


Fig. 2. Uptake and retention of ^{67}Ga in tumour and blood of mice bearing sarcoma 180 after the administration of biotin-bearing liposomes encapsulating ^{67}Ga -DF. ●, tumour; ○, blood. Each point represents the mean \pm SD for five animals.

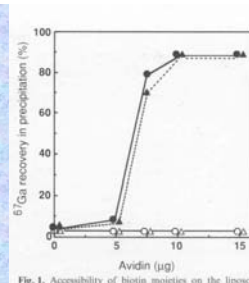


Fig. 1. Accessibility of biotin moieties on the liposomal surface to avidin. ●, biotin-bearing liposomes in mannitol buffer; ○, biotin-bearing liposomes in mouse serum; △, non-biotin-bearing liposomes in mannitol buffer; △, non-biotin-bearing liposomes in mouse serum.

Table 1. Effect of post-administration of avidin on the tissue distribution of ^{67}Ga after the administration of biotin-bearing liposomes encapsulating ^{67}Ga -DF

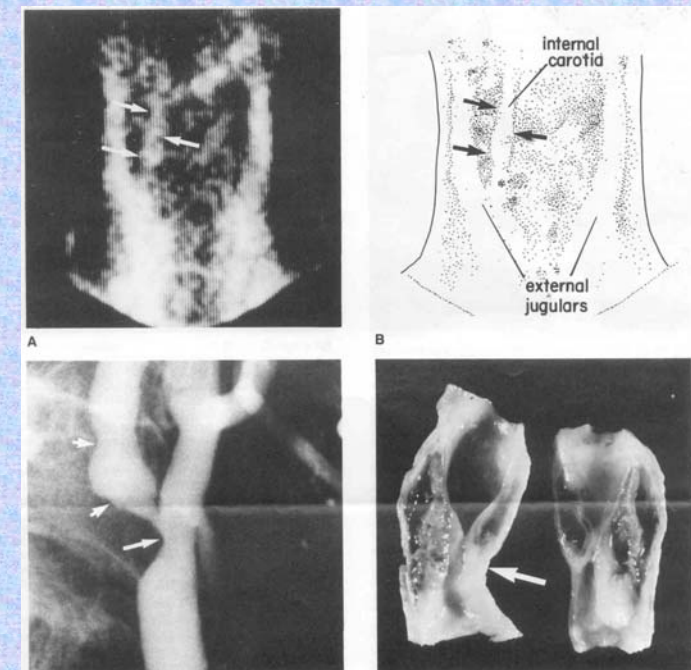
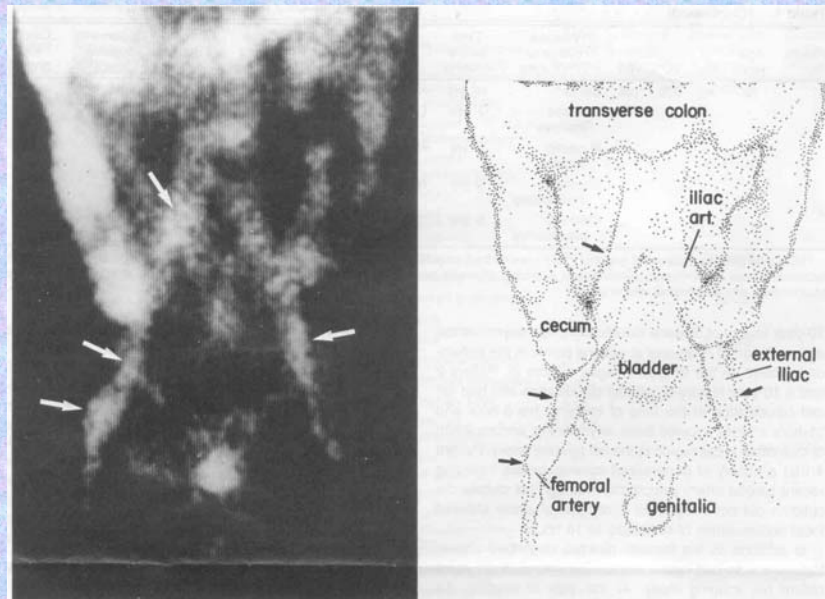
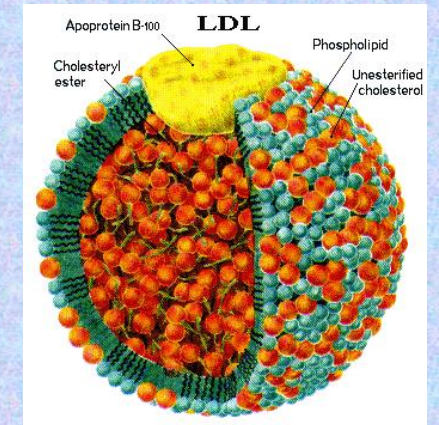
| Tissue | % Administered dose/g tissue | | | |
|--------------------|------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | Control | Avidin treated | | |
| | | 10 μg | 20 μg | 30 μg |
| Tumour | 12.06 \pm 1.57 (100) | 12.51 \pm 1.73 (104) | 11.03 \pm 1.56 (91) | 10.50 \pm 1.72 (87) |
| Liver | 7.82 \pm 1.14 (100) | 14.15 \pm 2.21 (181)** | 19.22 \pm 2.39 (246)** | 18.08 \pm 2.13 (231)** |
| Spleen | 11.26 \pm 1.62 (100) | 10.96 \pm 1.18 (97) | 17.00 \pm 2.21 (151)** | 16.32 \pm 2.15 (145)** |
| Kidney | 3.35 \pm 0.56 (100) | 3.57 \pm 0.83 (107) | 2.93 \pm 0.40 (88) | 2.43 \pm 0.24 (72)** |
| Blood | 13.48 \pm 1.82 (100) | 13.32 \pm 1.21 (98) | 3.85 \pm 0.18 (28)** | 0.76 \pm 0.10 (5)** |
| Tumour/blood ratio | 0.89 | 0.94 | 2.86 | 13.81 |

Each value represents the mean \pm SD for five animals

** Statistically significant difference from the control group at $P < 0.01$

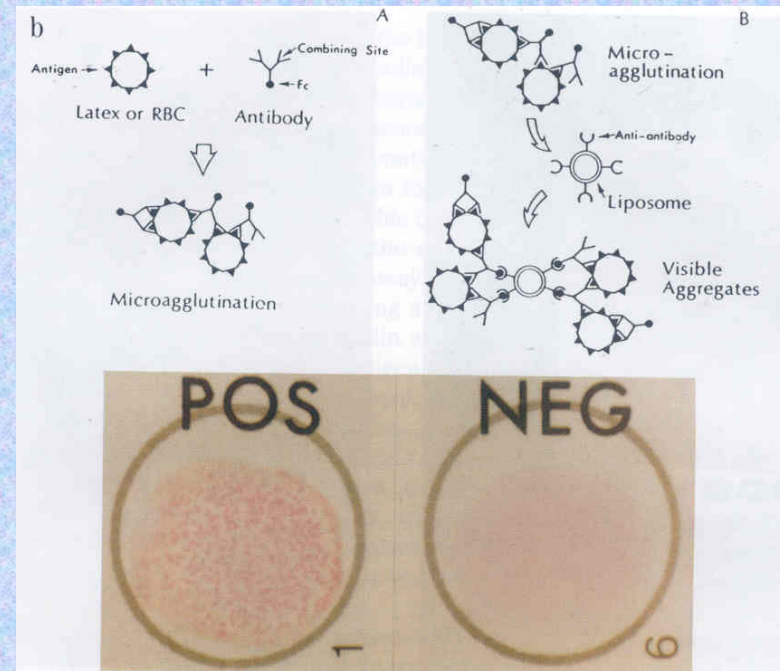
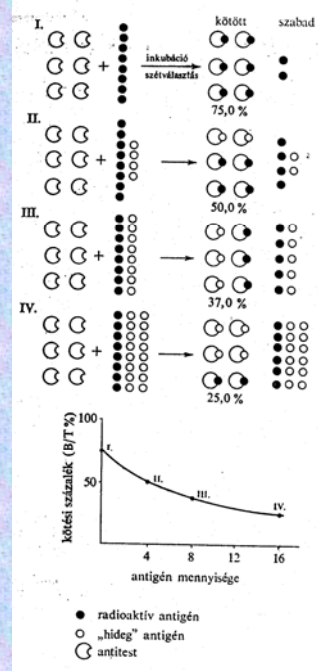
- **LDL** (low density lipoprotein – a koleszterin anyagcserében játszik szerepet; specifikus sejtfelszíni receptorhoz kötődik – immunliposzómához hasonló viselkedés) – pl. érlemezsedéses góccok kimutatása

| LDL összetevői | |
|-------------------|------|
| Fehérje | 22 % |
| Foszfolipid | 22 % |
| Koleszterin | 8 % |
| Koleszterinészter | 40 % |
| Triglicerid | 8 % |



LIA (liposome immuno assay)

A liposzóma antigént tartalmaz és radioizotópot vagy fluoreszcens jelzőanyagot. Ismert mennyiségű antitest hozzáadása esetén az antigén koncentráció meghatározására alkalmas.

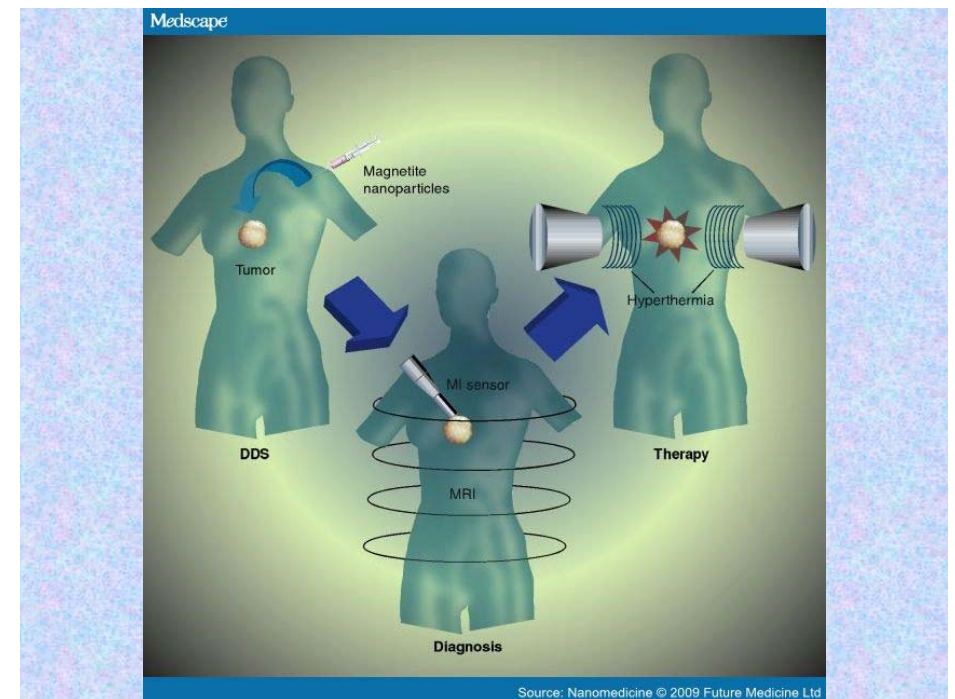
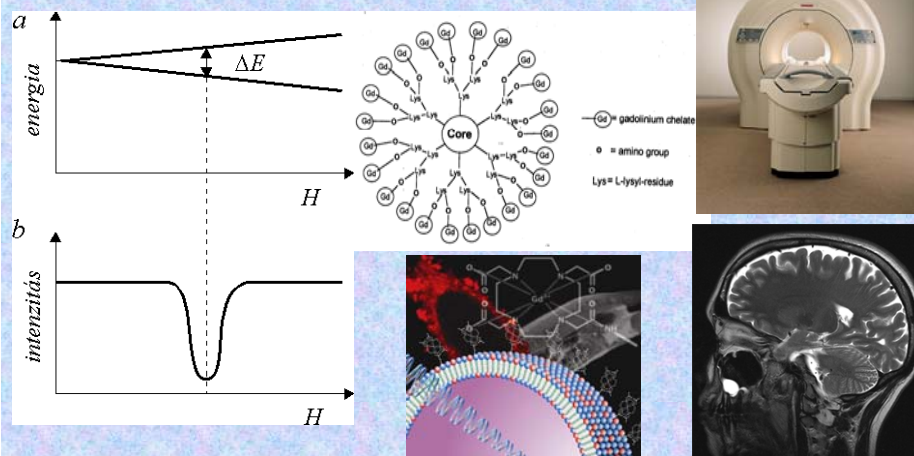


3. MR-kontrasztanyagok

Mágneses momentummal rendelkező atommagok mutathatók ki (pl. ^1H , ^{31}P)

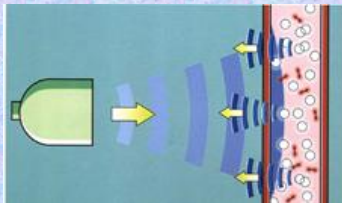
Paramágneses anyagok (gadolinium, vas-oxid, mangán-tartalmú komplexek) használhatók kontrasztanyagként.

Liposzómába zárva specifikusabban juttathatók célba.

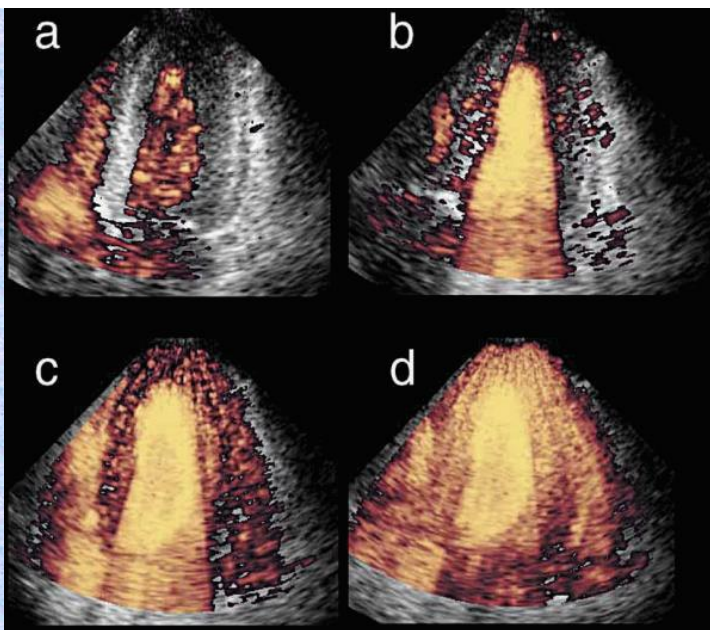
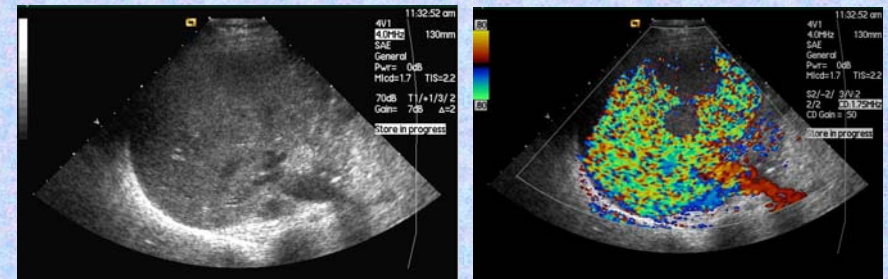


4. UH kontrasztanyagok

- Az ultrahangos képalkotás biztonságos, noninvasív eljárás
- A kép minőségét javítja a kontrasztanyag alkalmazása (pl. levegőbuborékok) - erős UH reflexió
- Liposzómába zárva a levegőt (mikrobuborék) a kontraszthatás javítható
- pl. echocardiográfia: a szövet-vér határ jól elkülöníthető, az esetleges trombus kimutatható



- Máj, lép multifokális elváltozásainak kimutatásához jól használható (pl. daganatáttétek)



Kuntz-Hehner St et al. Journal of Clinical and Basic Cardiology 2002; 5 (Issue 2): 145-148 ©

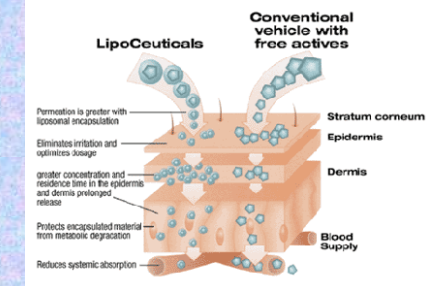
Terápiás alkalmazások

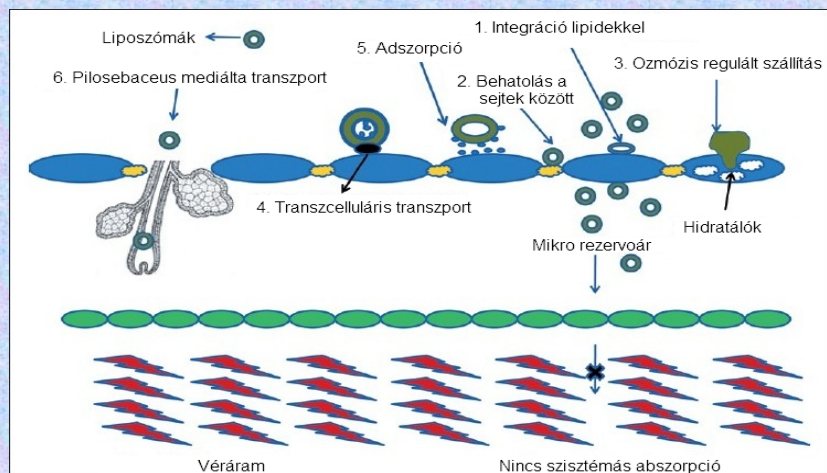
a) Lokális (helyi) alkalmazások

1. Bőrfelület

- Cél:
- A gyógyszer jusson a bőr mélyebb rétegeibe
 - Ne kerüljön a szisztémás keringésbe (mellékhatások elkerülése)

- A liposzómák - könnyebben áthatolnak a bőr savköpenyén
- védik a hatóanyagot a lebontó enzimektől
 - a nagy MLV-k alkalmazása célszerű – nem tud a szisztémás keringésbe jutni
- pl. kortikoszteroidok, antibiotikumok, kozmetikumok zárhatók be.





A liposzmális hatóanyag bőrbe jutásának lehetséges útjai.

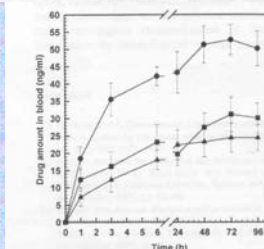
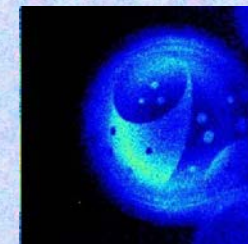
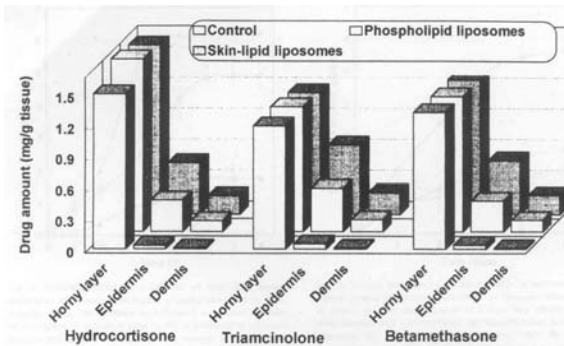


Fig. 5. Blood concentration of triamcinolone(2-¹⁴C)acetamide after one single topical application to guinea pig ears. Very similar results were obtained with hydrocortisone and betamethasone. Each value represents the average of five experiments \pm SD. ●, control formulation (control); ■, phospholipid-based liposomes; ▲, skin-lipid liposomes.

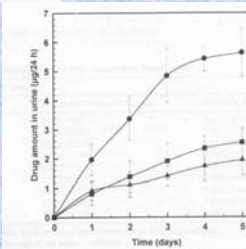
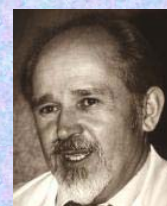
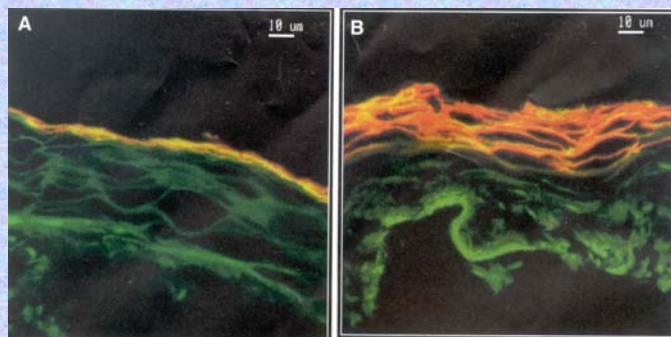
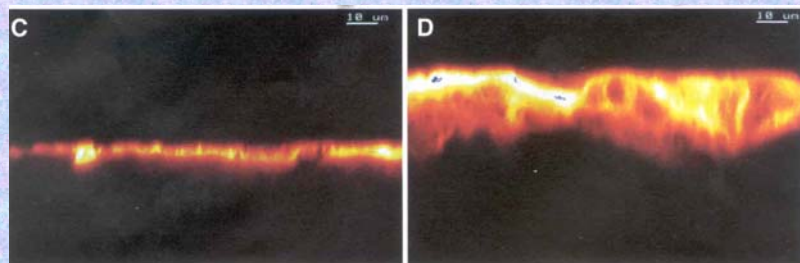
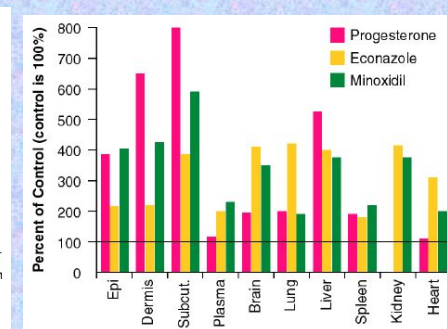
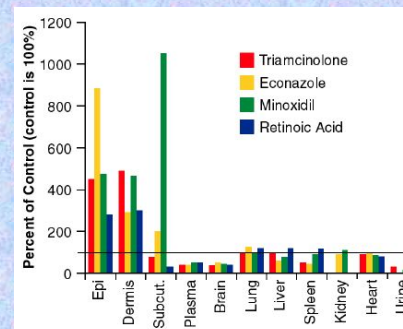


Fig. 6. Urinary excretion of triamcinolone(2-¹⁴C)acetamide after topical application, as control (control) or liposomal formulation, to guinea pig ears over a period of 5 days. Very similar results were obtained with hydrocortisone and betamethasone. Each value represents the average of five experiments \pm SD. ●, control formulation (control); ■, phospholipid-based liposomes; ▲, skin-lipid liposomes.



Michael Mezei
1927-1997



Helyi érzéstelenítők

- Lidocaine

- liposzómás krém 4% hatóanyagtartalommal: elamax® illetve LMX4®



Kozmetika

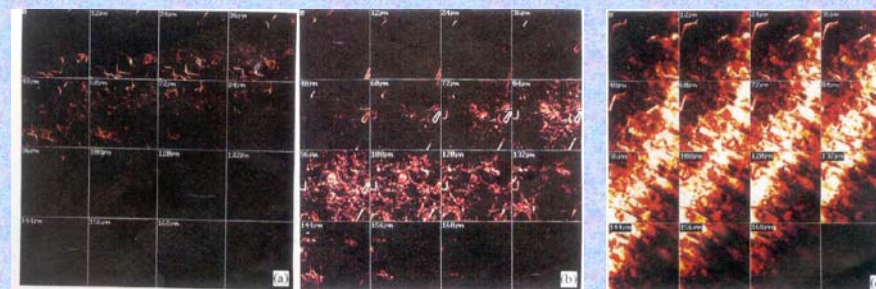


Some of the liposomal cosmetic products in Europe, the US and Japan.

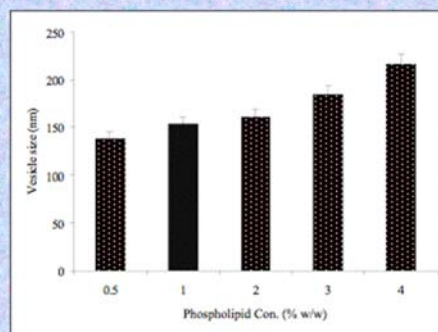
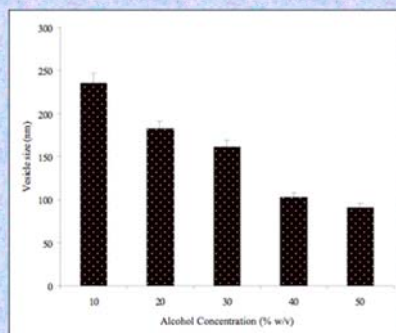
| Product | Marketer | Liposomes and key ingredients |
|--|--|--|
| Capture | Christian Dior | liposomes in gel with ingredients |
| Plénitude | L'Oréal | tanning agents in liposomes |
| Effect du Soleil | L'Oréal | glyceropolyether with moisturizers |
| Niosomes | Lancôme (L'Oréal) | vitamins, retinolacetate |
| Nactosomes | Lancôme (L'Oréal) | non-ionic lipid |
| Esprit de Soleil | Lancôme (L'Oréal) | thymoxin, hyaluronic acid |
| Formule Liposomes Gel | Payot (Ferdinand Muehlens) | liposome gel |
| Fundamental Care | Parfums Givenchy | TMF, vitamin A palmitate, vitamin E, cerebroside, ceramide, phospholipid |
| Future Perfect Skin Gel | Estee Lauder | Feoproteins, trace elem. minerals, vitamin |
| Emulsion Nri Complexe | Chanel | ammonium liquid, democalmin |
| Liposome FRE | Payot | Aloe vera extract, rose water, soya phospholipid |
| Gel Lissant Contour des Yeux | Elektrobio (Ernst Kunze GmbH) | proteoglycan |
| Heliotrop Liposome | Helena Rubinstein | thymus extract, hyaluronic acid, vitamin E |
| Activ-Pflege | Pharm/Apothek | glycolipid PSL, Sphingolipid E |
| Intensive Reducer | Kao Sofina Cosmetic (Parfumerien Dr. Lenartz GmbH) | BRF System, Repair Factor, thymus extract |
| Anti-Cellulit Gel | Cosmetics Margot Zimmer GmbH | Aloe vera, thymus extract |
| Inovita | Madame Nanette Biocosmetic | 20% liposome |
| Kao Sofina Emolient Cream & Moisture Essence | Shulton (American Cyanamid) | hydrospheres fibrostimulin |
| La Myrell Contour & Liposomes Repair Gel Konzentra | Elizabeth Arden | thymus extract, vitamin A palmitate, soya phospholipid |
| Liposome Aktions Gel | Gabriele Wyeth Kosmetik | chestnut extract, hyalur. acid |
| Liposome Skin Vital Complex | Biopharm GmbH | mucopepolysaccharide, hyaluronic acid, liposome |
| Micro 2000 Complexe | Geymonat | Liposomal gel for do-it-yourself cosmetic |
| Anti-Stress | Gerthard Klapp | soothing cream to reduce eye puffiness |
| Saneo 2 Liposome Ampule | Nattermann PL | |
| Sympathik 2000 | Avon, NY | |
| Liosen | | |
| TMH-Ampulle | | |
| Natipide II | | |
| Eye Perfector | | |

Etoszómák:

Lipid (szója foszfatidilkolin) – víz – etanol keverékéből létrehozott 2-3 rétegű lipidpreparátum. Mélyebben hatol be a bőrbe, mint a liposzóma. Elsősorban a szisztémásan ható gyógyszerek transzdermális bevitelében használatosak.



Etoszómák



2. Nyálkahártyák (pl. száj, orr)

Könnyen átjárható a gyógyszerek számára

→ rövid ideig tartó helyi hatás,

kifejezettebb szisztémás hatás

Liposzómában hosszabb helyi és kisebb szisztémás hatás érhető el (pl. fekélyek kezelése)



3. Szem

Könnyen átjárható a gyógyszerek számára → rövid ideig tartó helyi hatás, kifejezettebb szisztémás hatás

Hagyományos gyógyszerek: - csekély penetráció a szembe
- rövid hatástartam

Speciális molekulákat tartalmazó liposzómák a szem bizonyos részeihez nagyobb affinitással kötődnek.

Pl. cornea – ganglioizid-tartalmú

lencse – ConA tartalmú

Főleg a nagy MLV-k alkalmazásakor nő a hatóanyag koncentráció a csarnokvízben és a szem egyes részeiben.

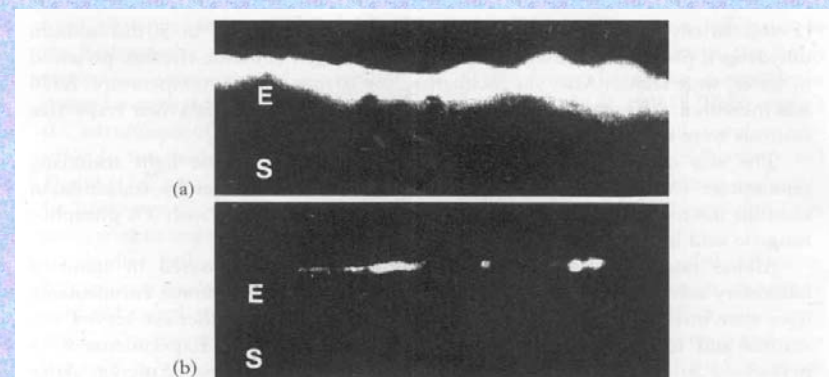


Figure 1. Rat cornea exposed *in-vivo* for 30 min to propidium iodide microencapsulated in liposomes (a) or to propidium iodide dissolved in buffer (b). Sections of frozen eyes were freeze dried and inspected by fluorescence microscopy. Note enhanced uptake of propidium iodide into the corneal epithelium (E) when encapsulated in liposomes. Penetration of the corneal stroma (S) is not seen. ($\times 220$).

Vírusfertőzések (herpesz, citomegalovírus) kezelésére alkalmaznak oligonukleotidokat. A liposzómák megvédik ezeket a bontóenzimek hatásától és megnöveli az üvegtestben való tartózkodásuk idejét az üvegtestbe történő injekciózás esetén.

Corneához kötődés erőssége szerinti sorrend: pozitív > negatív > semleges. Ez elektrosztatikus kölcsönhatásra utal.

A kötődés a kettősrétegek számától is függ:

$MLV^+ > SUV^+ > MLV^- > SUV^- > MLV, SUV$

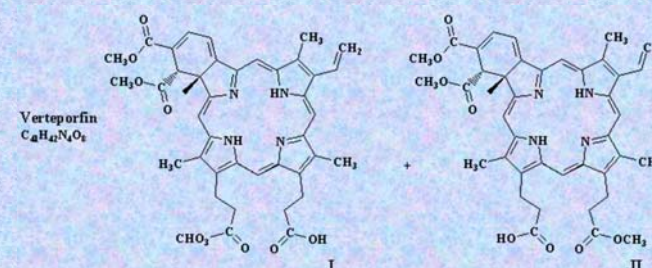
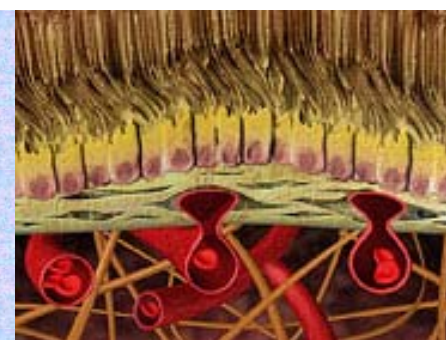
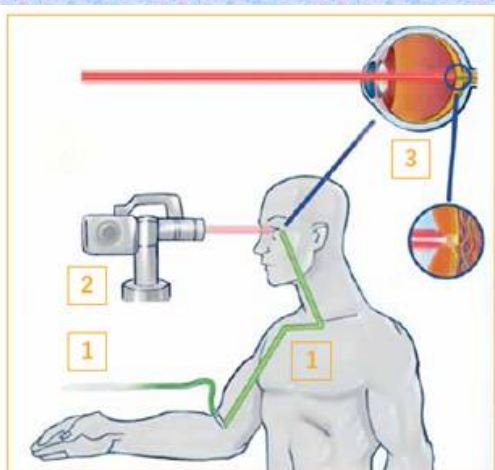
Acetazolamid bezárási hatásfoka és a kiszabadult hatóanyag aránya:

| | Semleges | Negatív | Pozitív |
|---|----------|---------|---------|
| Bezárás hatásfoka | 41,06 % | 29,27 % | 49,58 % |
| Kiszabadult hatóanyag aránya 9 óra elteltével | 33,8 % | 13,36 % | 26,7 % |

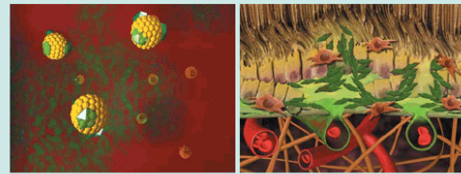


Fig. 1. Photographs showing gradual stages of healing and disappearance of *Candida* keratitis treated with: (A) fluconazole solution (first group), (B) and (C) fluconazole-loaded liposome in a rabbit (second group). (1) Before treatment. (2) One week after treatment. (3) Two weeks after treatment. (4) Three weeks after treatment.

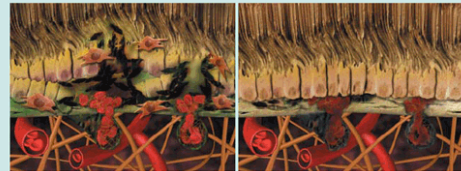
- Időskori macula elfajulás (age-related macular degeneration - AMD) kezelése liposzómás porfirinszármazék (Visudyne) és lézerkezelés kombinációjával. (fotodinámiás terápia (PDT))



Visudyne therapy – mechanism of action

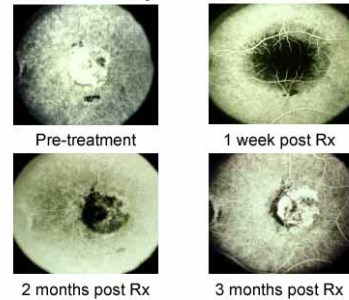


(a) Circulating verteporfin complexes with LDL. (b) Verteporfin selectively accumulates in neovascular tissue which is rich in LDL receptors.



(c) Light-activated verteporfin produces reactive forms of oxygen which cause structural and functional cell damage. (d) Verteporfin selectively occludes neovascular tissue, while sparing overlying retinal cells and Bruch's membrane.

Visudyne™ Effect



Pre-treatment

1 week post Rx

2 months post Rx

3 months post Rx

4. Tüdő és légutak

Bevitel porlasztás és inhaláció során.

A tüdő felületaktív anyagához hasonló összetételű liposzómák a legjobban alkalmazhatók (főleg DPPC és PG)

A bejutás hatásfoka és mélysége főleg az aeroszol részecskeméretétől függ, nem a liposzómáétól.

A porlasztás során a bezárt anyag egy része elvesz. Ennek aránya függ a liposzóma összetételétől. Kisebb liposzóma méret ill. kisebb porlasztási sebesség esetén csökken a veszteség.

A liposzomás gyógyszerbevitel előnyei:

- Megelőzi a helyi irritációt és a tüdőbeli toxikus hatást
- Meghosszabbítja a terápiás gyógyszerkoncentráció fennállási idejét
- Nagy intracelluláris gyógyszerkoncentrációt idéz elő

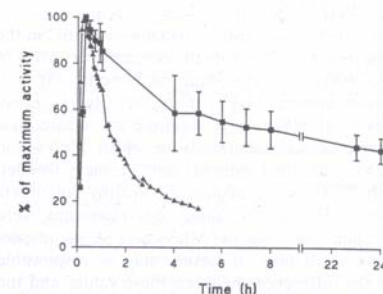
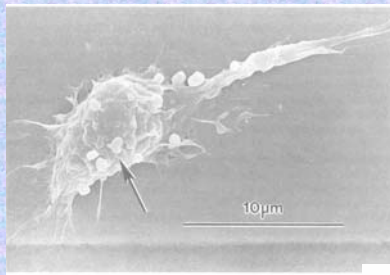


Fig. 1. The deposition and clearance of activity following inhalation of ^{99m}Tc -DTPA in solution (▲) ($n=1$) and entrapped in DPPC/Chol MLVs (■) ($n=3$, mean \pm S.D.)

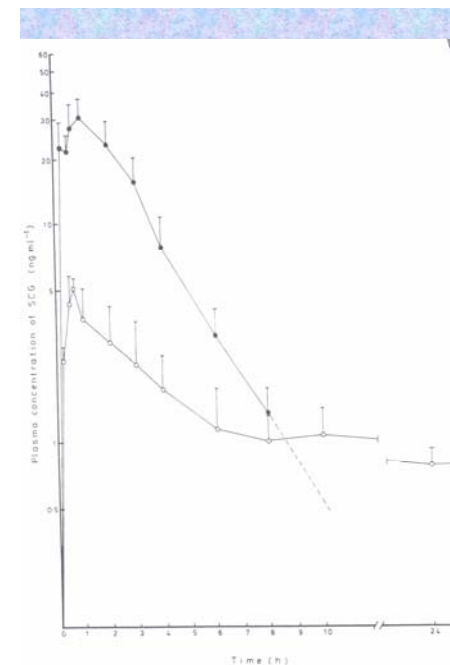


TABLE 1

Pulmonary absorption half-lives of drugs in the rat (compiled from Schanker and co-workers [13-16])

| Drug | Absorption half-time (min) | Ref. |
|-----------------------|----------------------------|------|
| Salicylic acid* | 0.6 | [16] |
| Barbital* | 0.9 | [16] |
| Cortisone | 1.0 | [13] |
| Hydrocortisone | 1.0 | [13] |
| Dexamethasone | 1.7 | [13] |
| Isoniazid | 1.9 | [14] |
| p-Aminosalicylic acid | 4.5 | [14] |
| Erythromycin* | 6.3 | [16] |
| Erythromycin | 12.0 | [15] |
| Benzylpenicillin* | 20.5 | [16] |
| Benzylpenicillin | 33.0 | [15] |
| Sulphaguanidine | 41.0 | [14] |
| Ethambutol | 41.0 | [14] |

*Drugs administered by aerosol (DeVilbiss #42 air jet; 7.5 l/min; 20 psi); all others instilled.

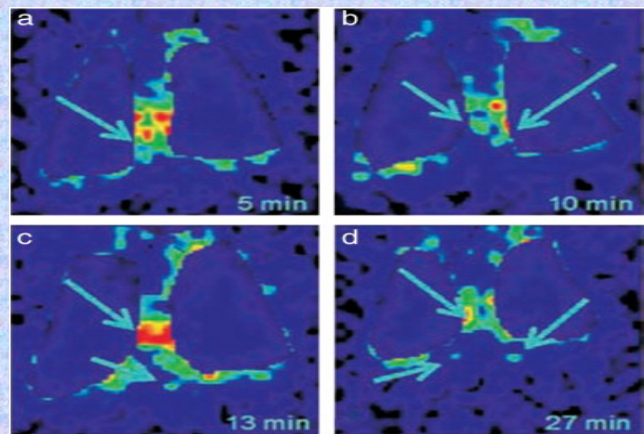


Fig. 2 Thoracic images in posterior view obtained after ^{99m}Tc -liposome aerosol inhalation, in the pig number 18. a) 5 min after inhalation; b) 10 min after inhalation; c) 13 min after inhalation; d) 27 min after inhalation.

Shuang Cai, Qihong Yang, Taryn R. Bagby, M. Laird Forrest

Lymphatic drug delivery using engineered liposomes and solid lipid nanoparticles

Advanced Drug Delivery Reviews Volume 63, Issues 10/11 2011 901 - 908

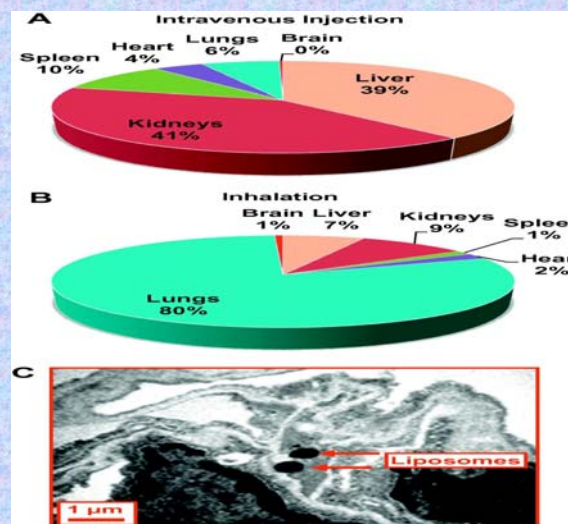


Fig. 4 Inhalation delivery of liposomes to mouse lungs. A and B ? Relative tissue content of liposomes delivered to mice by intravenous instillation (A) or inhalation (B). Liposomal content was registered in organs 24 h after i...

Vera Ivanova, Olga B. Garbuzenko, Kenneth R. Reuhl, David C. Reimer, Vitaly P. Pozharov, Tamara Minko

Inhalation treatment of pulmonary fibrosis by liposomal prostaglandin E2

European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics null 2012 null



tüdőtumor kezelés előtt



2 hét inhalációs doxil kezelés után