

Liposzómák diagnosztikai és terápiás alkalmazásai I.

Dr. Voszka István

Előny: - célzott bejuttatás

- kevesebb mellékhatás

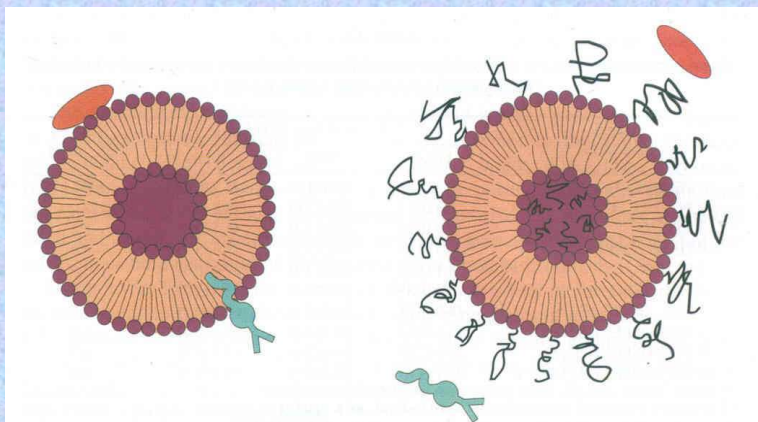
- kisebb dózis elegendő

- máj, lép vizsgálata vagy kezelése közönséges (C) liposzómákkal

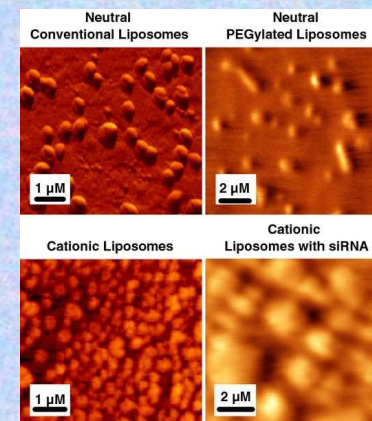
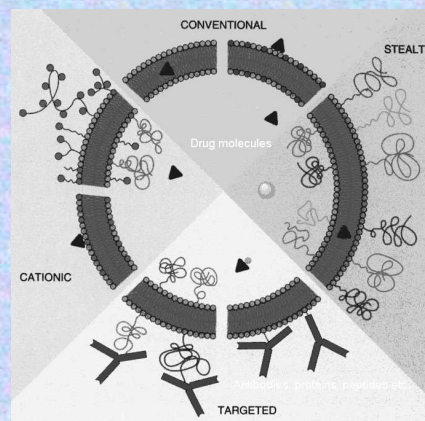
- RES (MPS) telítése „üres” liposzómákkal → utána más területek vizsgálhatók

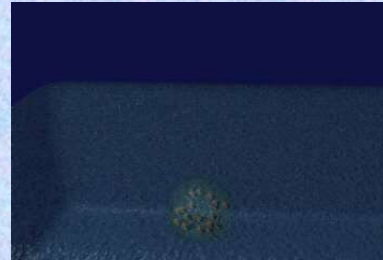
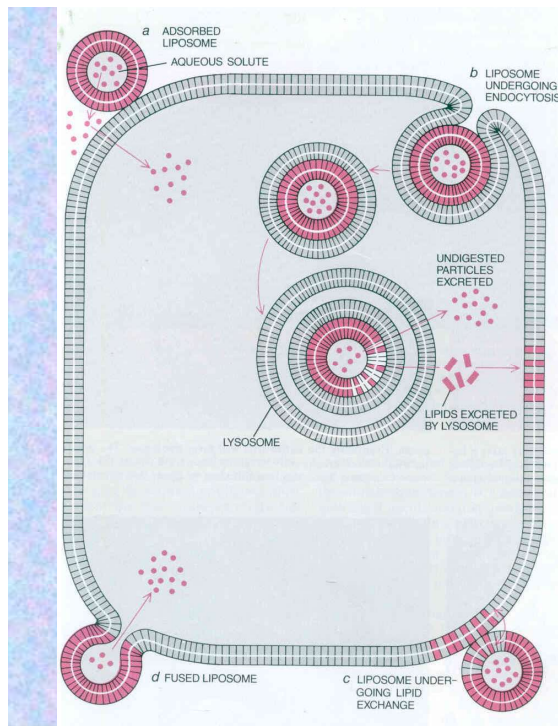
- „stealth” (S) liposzómák az immunrendszert jobban ki tudják kerülni

- speciális markerek, receptorok alkalmazása (immunliposzómák) → szervspecifikus célbejuttatás

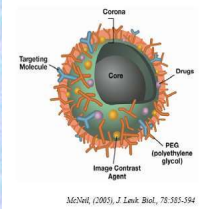


Liposzómák csoportosítása





Diagnosztikai alkalmazások: diagnosztikában használatos anyagokat zárnak a liposzómákba



1. Röntgen-kontrasztanyag

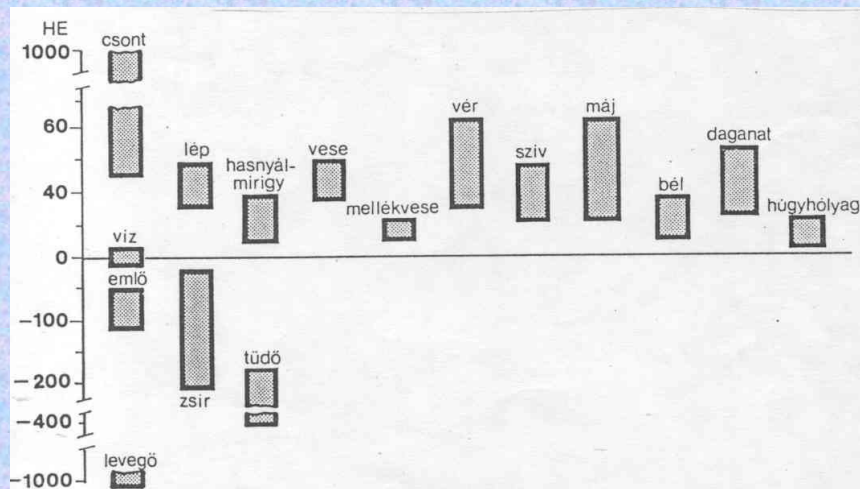
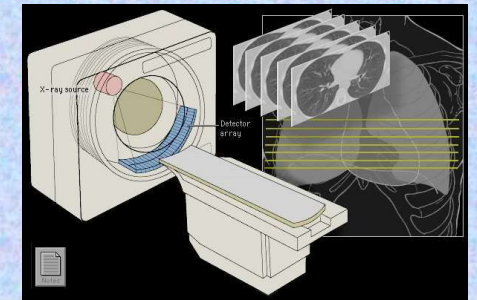
Pl. CT vizsgálatnál az egyes képelemek denzitását határozzák meg egy relatív skálán (Hounsfield-skála)

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

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

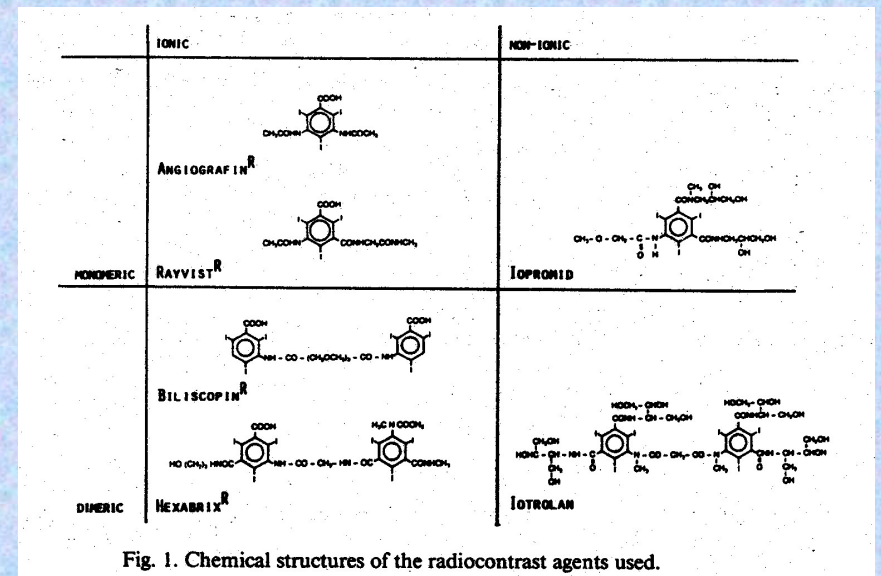


Fig. 1. Chemical structures of the radiocontrast agents used.

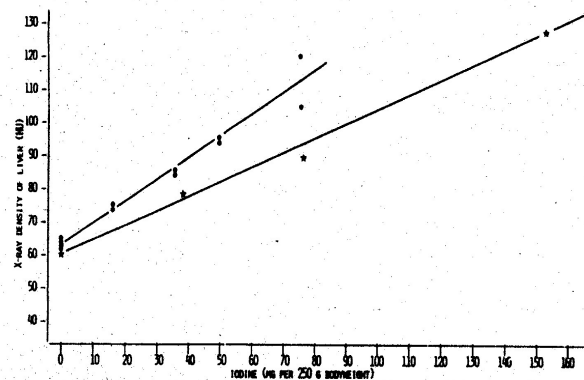


Fig. 4. Correlation between X-ray density of the liver and amount of iodine administered. (The values are average values from 10 different regions of the liver.) Dots: liposome encapsulated Angiografin, lipid mixture: egg-PC:CH = 7:3; rat liver, 60 min after iv. injection, stars: free radiocontrast agent,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

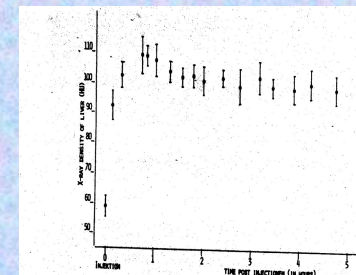


Fig. 5a. Time course of intensified X-ray density of the rat liver after iv. liposome-encapsulated Angiografin. (The values are average values from 10 different regions of the rat liver, lipid mixture: egg-PC:CH = 7:3, injection iodine content: 90 mg iodine.)

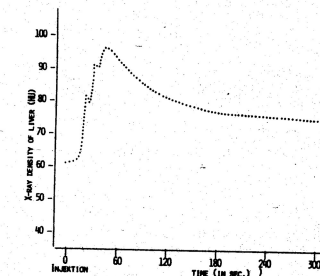
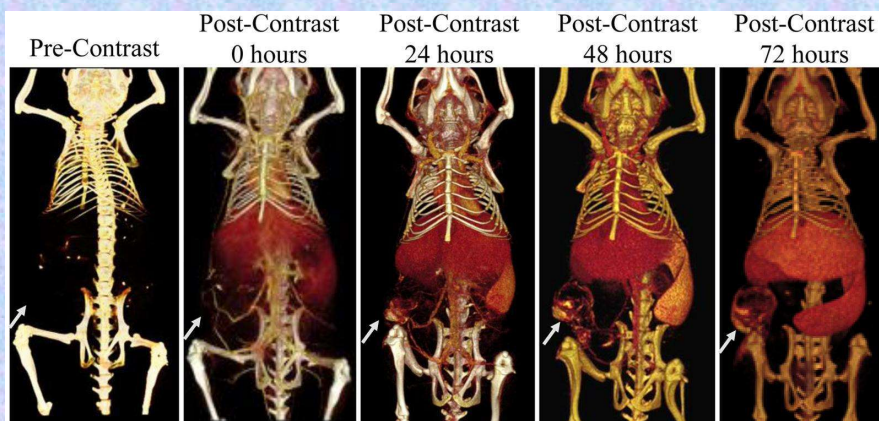
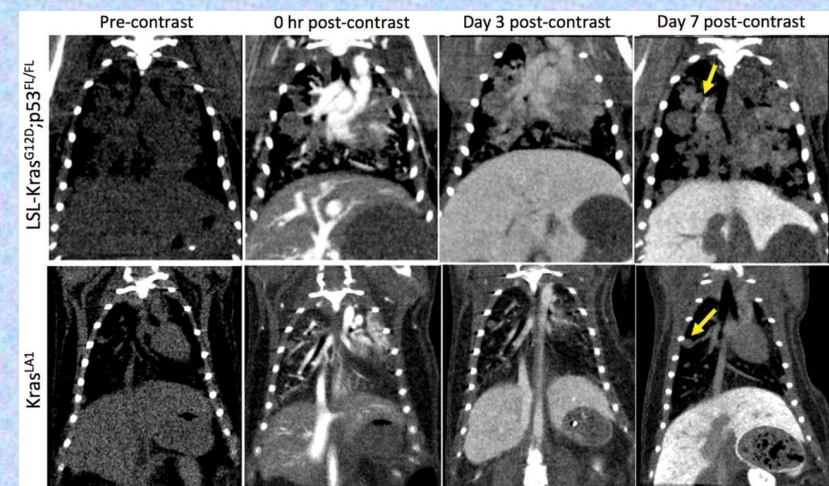


Fig. 5b. Time course of intensified X-ray density of the human liver after iv. injection of free radiocontrast agent (Claussen). (The values are average values from 10 different regions of the human liver.)

Liposzómás jódtartalmú kontrasztanyag eloszlása (mikro CT felvétel)



Tüdőrák CT vizsgálata liposzómás kontrasztanyaggal



2. Radioaktív izotópok

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

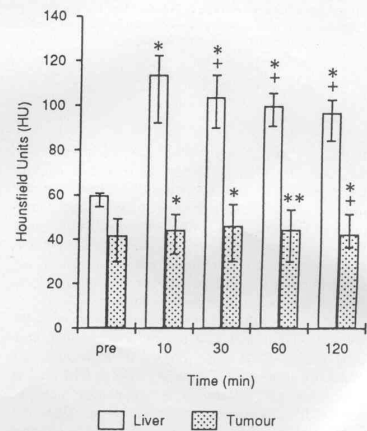


Fig. 1. Attenuation in normal liver tissue and tumorous tissue before and after injecting iodixanol-liposomes. Median values and ranges. Levels of significance: comparison of values after CM administration to precontrast values; * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$. Attenuation 30, 60, and 120 min after injection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

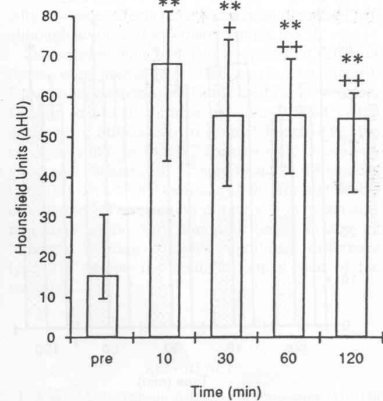


Fig. 3. Contrast expressed as the difference in attenuation (ΔHU) between normal liver tissue and tumorous tissue before and after injecting iodixanol-liposomes. Median values and ranges. Levels of significance: comparison of values after CM administration to precontrast values; ** $p < 0.01$. Contrast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

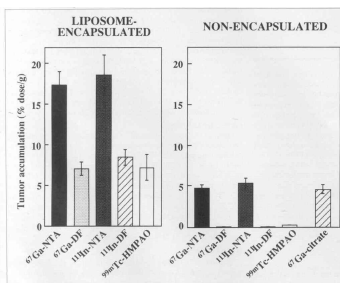


FIGURE 5. Tumor accumulation of ^{67}Ga , ^{111}In and $^{99\text{m}}\text{Tc}$ in sarcoma 180-bearing mice at 24 hr postadministration of liposome-encapsulated or nonencapsulated radiolabeled-ligand complexes. Small unilamellar liposomes were prepared from DSPC and CH (molar ratio, 2:1). Bars indicate the mean \pm s.d. for five animals.

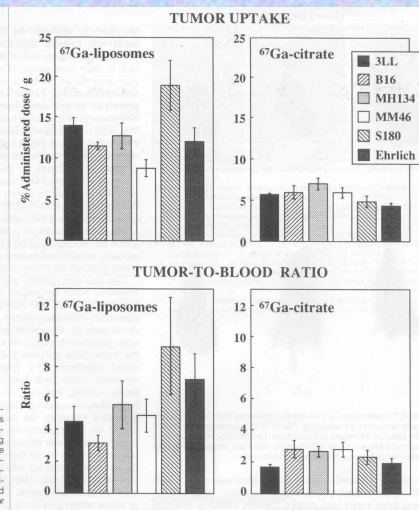


FIGURE 6. Tumor uptake and tumor-to-blood ratio of ^{67}Ga delivered by liposomes in various tumor models. DSPC:CH (2:1) small unilamellar liposomes encapsulating ^{67}Ga -NTA were administered to mice bearing various tumors and the tumor uptake and tumor-to-blood ratio were observed at 24 hr after administration. Gallium-67 citrate was also administered similarly. Bars indicate the mean \pm s.d. for five to six animals.

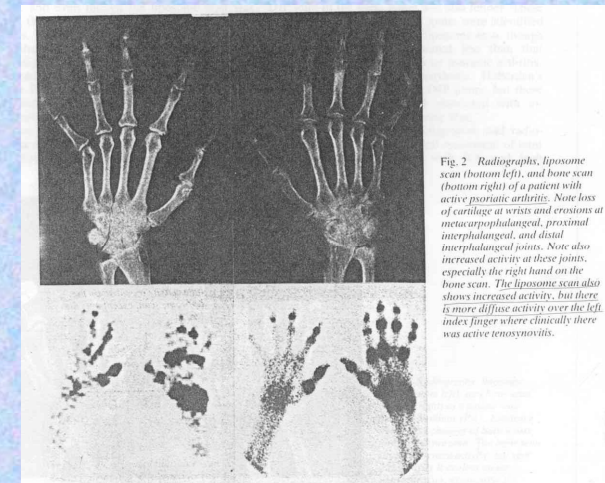


Fig. 2. Radiographs, liposome scan (bottom left), and bone scan (bottom right) of a patient with active psoriatic arthritis. Note loss of cartilage at wrists and erosions at metacarpophalangeal, proximal interphalangeal, and distal interphalangeal joints. Note also increased activity at these joints, 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.

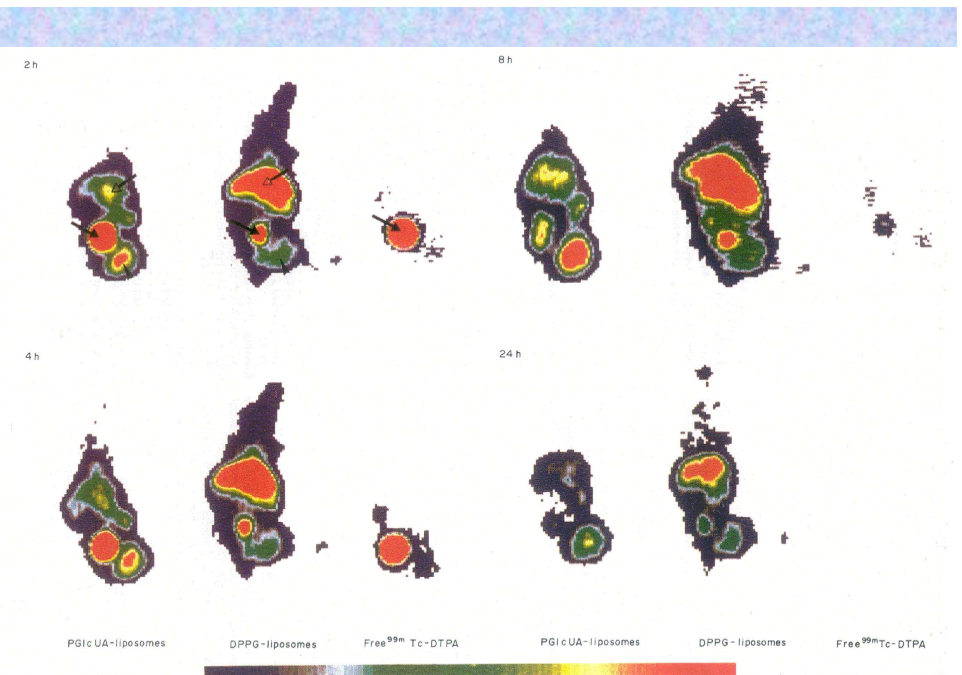
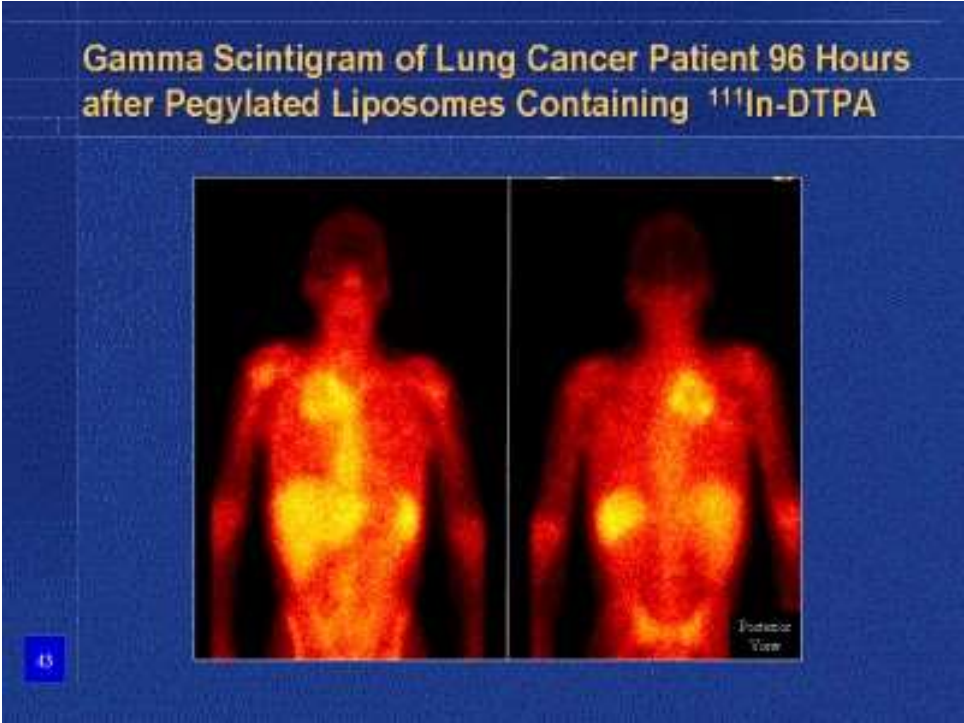
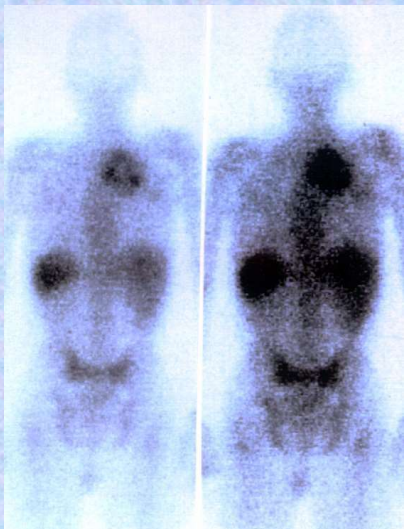


Fig. 2 (caption on p. 410).

Szcintigram 24 ill. 48 órával az izotópot tartalmazó Stealth liposzóma beadása után (hátlátnézet)



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

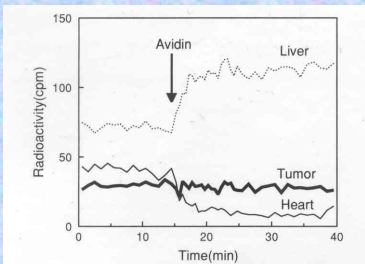
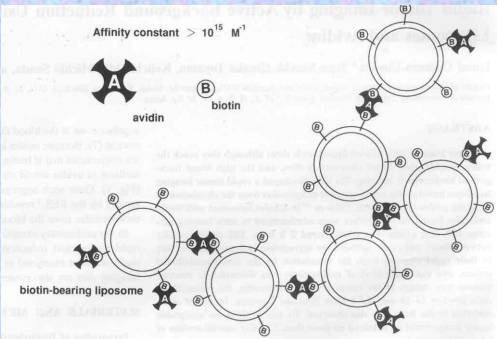
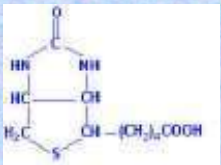


Fig. 7. Time-activity curves in the regions of interest over tumor, liver, and heart. Dynamic acquisition was started at 105 min after the administration of B-liposomes, and avidin was administered i.v. after an additional 15 min.

Gamma Scintigram of Lung Cancer Patient 96 Hours after Pegylated Liposomes Containing ¹¹¹In-DTPA

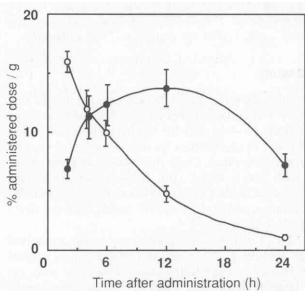


Fig. 2. Uptake and retention of ⁶⁷Ga in tumour and blood of mice bearing sarcoma 180 after the administration of biotin-bearing liposomes encapsulating ⁶⁷Ga-DF. ●, tumour; ○, blood. Each point represents the mean \pm SD for five animals

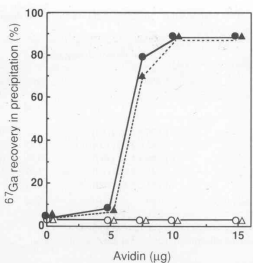


Fig. 1. Accessibility of biotin moieties on the liposomal surface to avidin. ●, biotin-bearing liposomes in mannitol buffer; ▲, biotin-bearing liposomes in mouse serum; ○, non-biotin-bearing liposomes in mannitol buffer; △, non-biotin-bearing liposomes in mouse serum

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

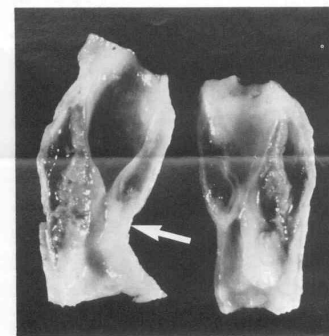
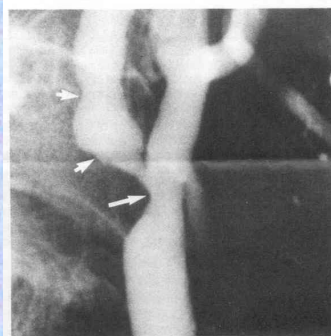
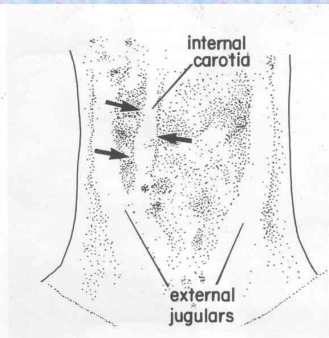
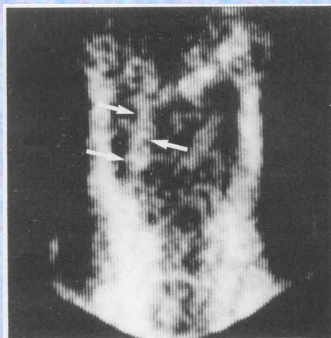
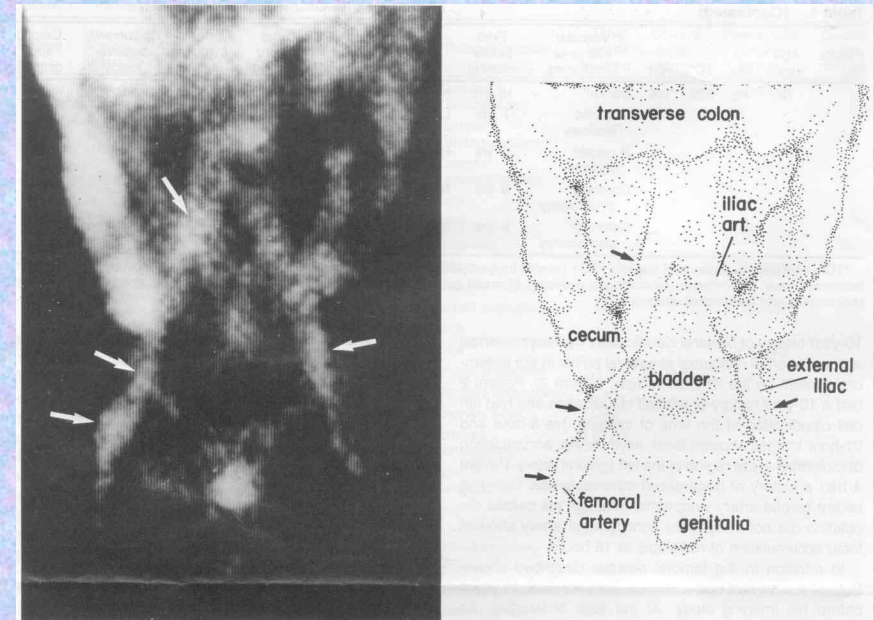
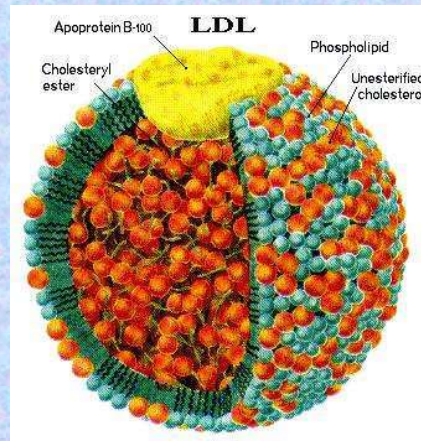
Tissue	% Administered dose/g tissue			
	Control	Avidin treated		
		10 μ g	20 μ g	30 μ g
Tumour	12.06 \pm 1.57 (100)	12.51 \pm 1.73 (104)	11.03 \pm 1.56 (91)	10.50 \pm 1.72 (87)
Liver	7.82 \pm 1.14 (100)	14.15 \pm 2.21 (181)**	19.22 \pm 2.39 (246)**	18.08 \pm 2.13 (231)**
Spleen	11.26 \pm 1.62 (100)	10.96 \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 $P < 0.01$

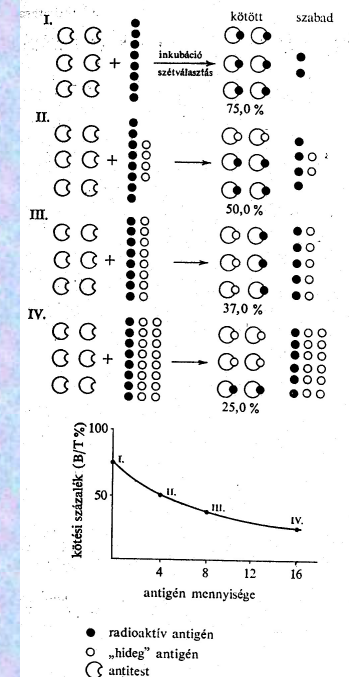
- **LDL** (low density lipoprotein – a koleszterin anyagcserében játszik szerepet; specifikus sejtfelszíni receptorhoz kötődik – immunliposzómához hasonló viselkedés) – pl. érelmeszesedéses gócok kimutatása

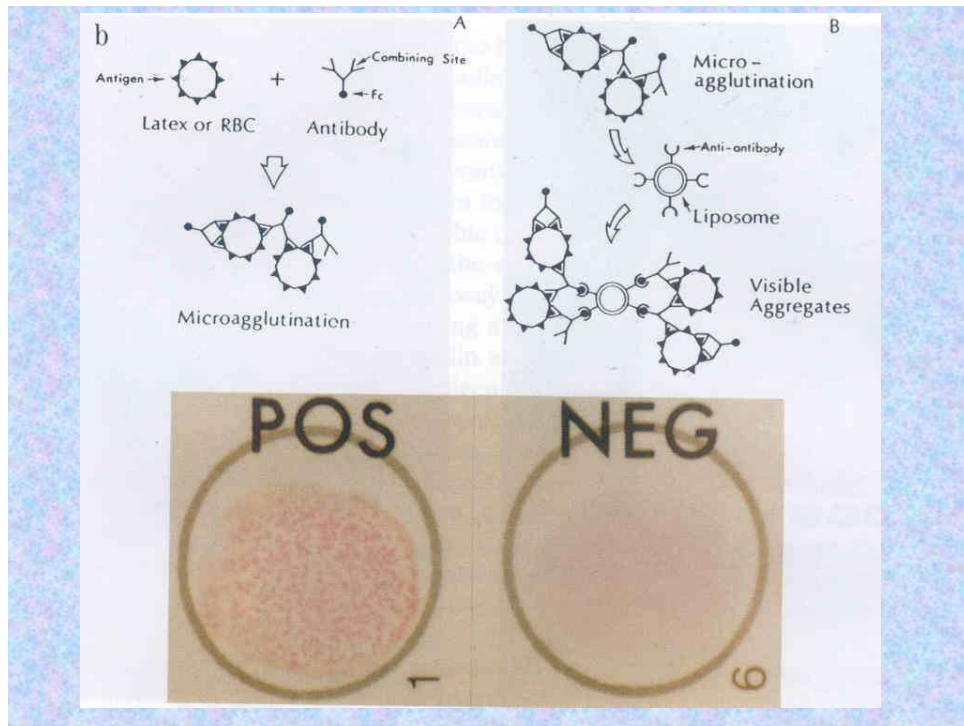
LDL összetevői	
Fehérje	22 %
Foszfolipid	22 %
Koleszterin	8 %
Koleszterinészter	40 %
Triglicerid	8 %



LIA (liposome immuno assay)

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



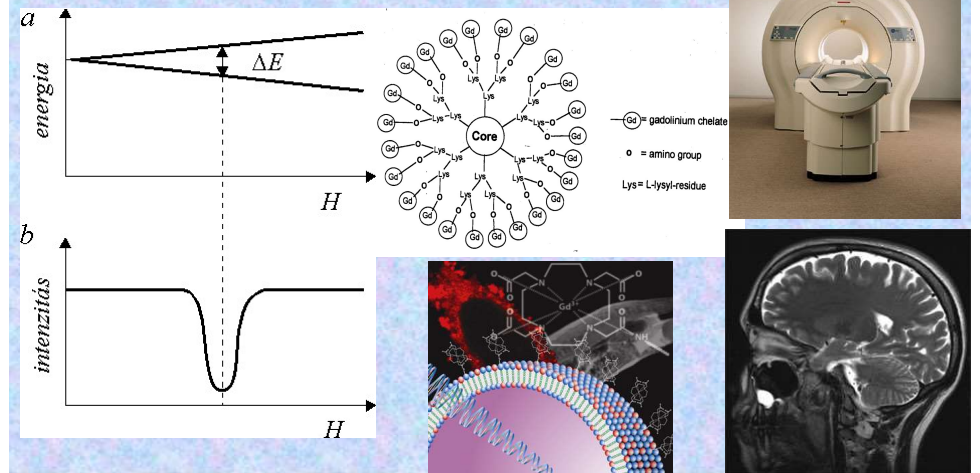


3. MR-kontrasztanyagok

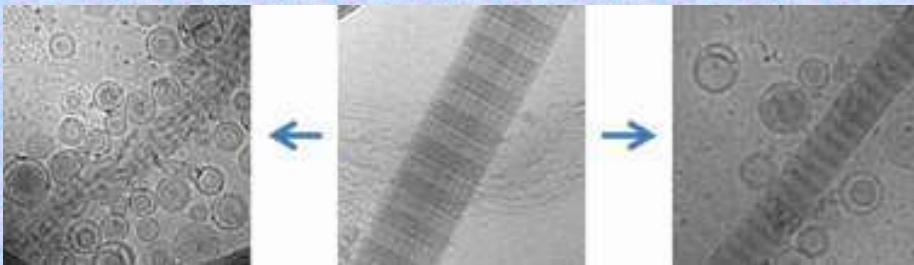
Mágneses momentummal rendelkező atommagok mutathatók ki (pl. ^1H , ^{31}P)

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

Liposzómába zárva specifikusabban juttathatók célba.



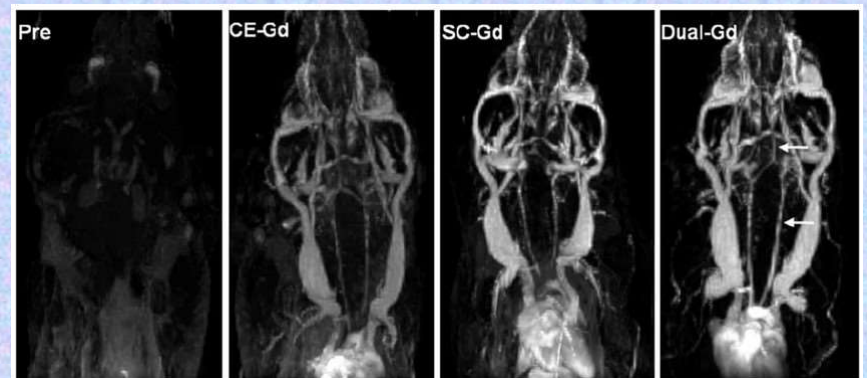
MR kontrasztanyag liposzómában

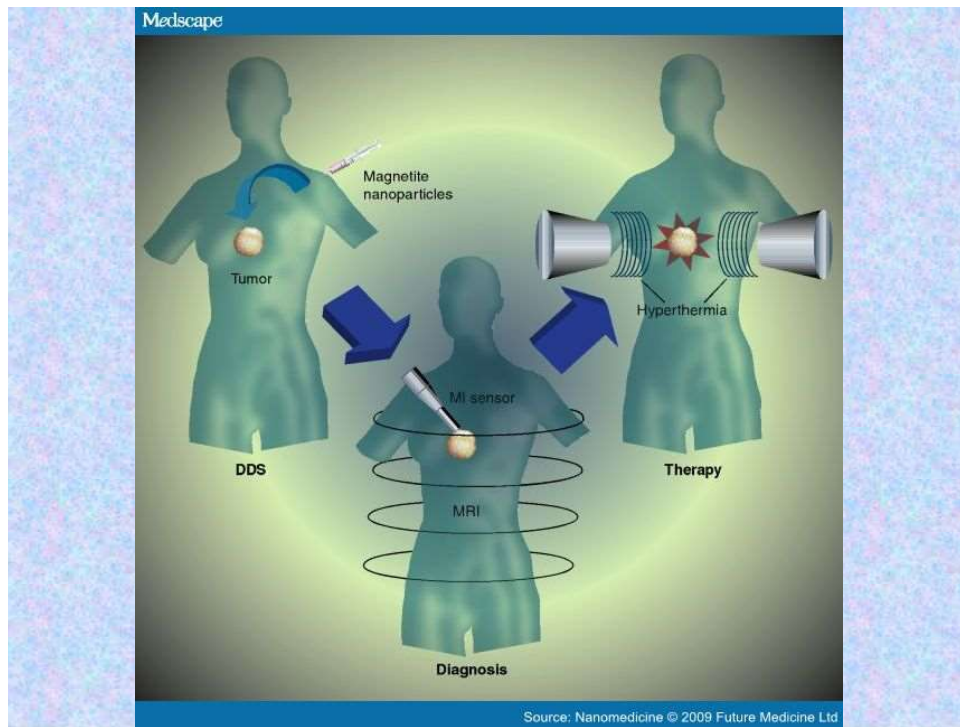


Gd-tartalmú liposzómás kontrasztanyag alkalmazása egér mellkasban

CE – core encapsulated

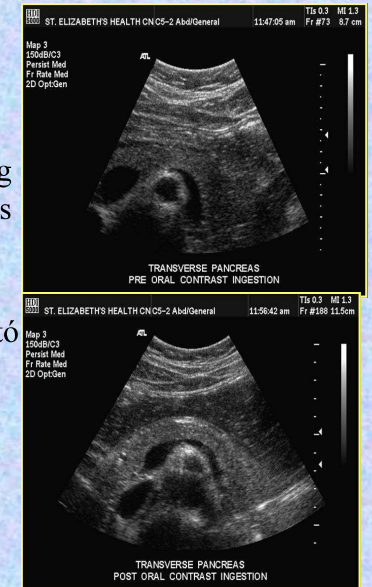
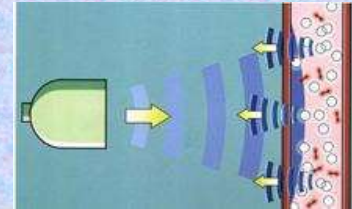
SC – surface conjugated



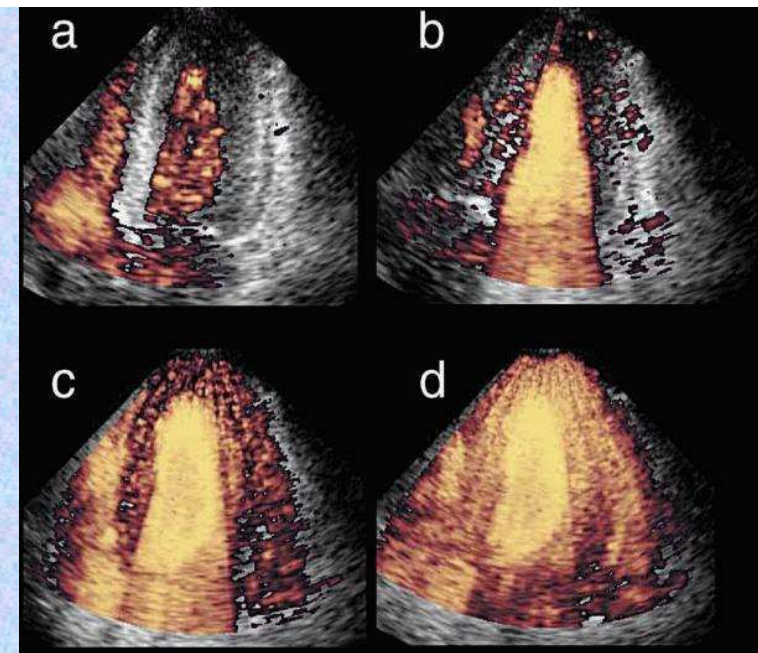


4. UH kontrasztanyagok

- Az ultrahangos képalkotás biztonságos, noninvazív 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)



Terápiás alkalmazások

a) Lokális (helyi) alkalmazások

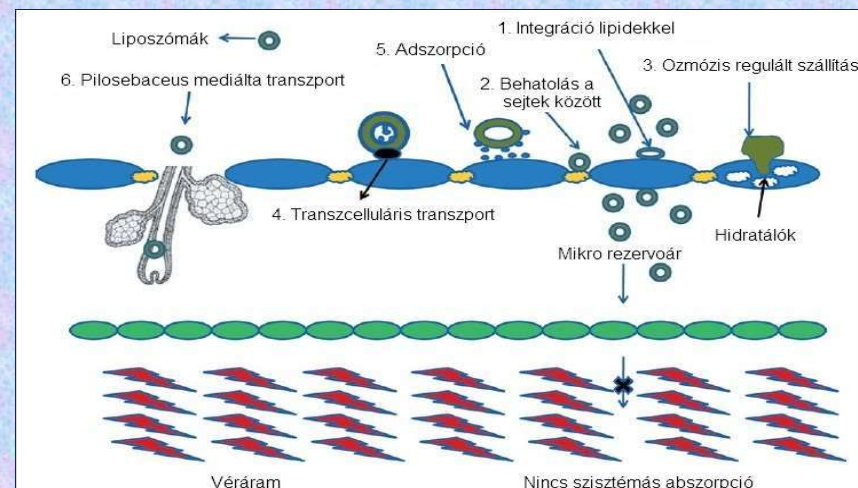
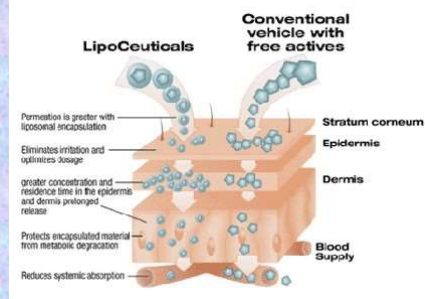
1. Bőrfelület

- 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 liposzómális hatóanyag bőrbe jutásának lehetséges újtjai.

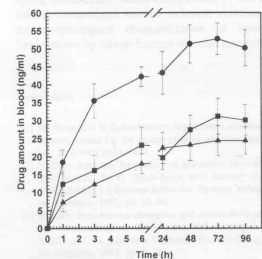
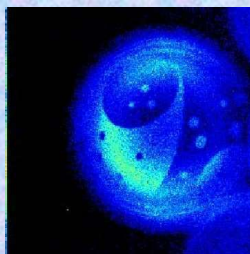
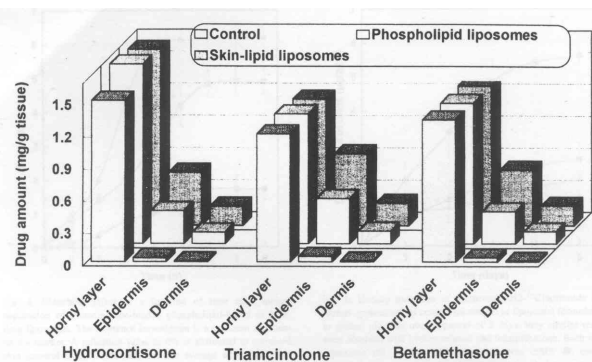


Fig. 5. Blood concentration of triamcinolone[2-¹⁴C]acetate after one single topical application to guinea pig ears. Very similar results were obtained with hydrocortisone and betamethasone. Each value represents the average of five experiments \pm SD: ●, control formulation (ointment); ■, phospholipid-based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

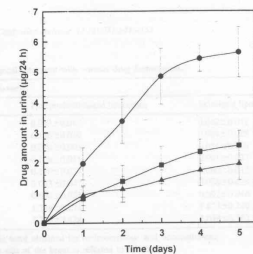
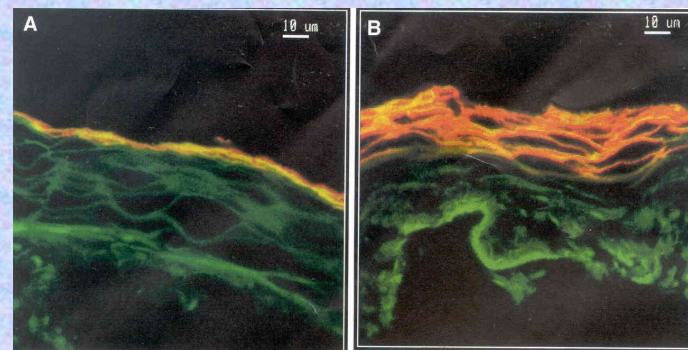
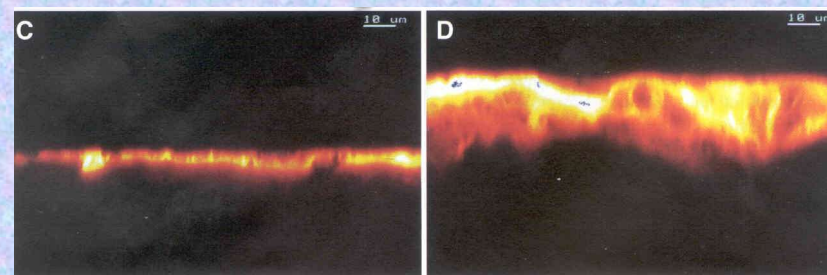
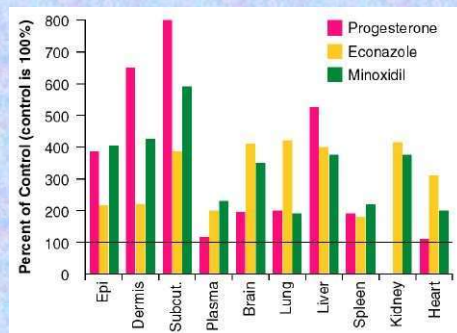
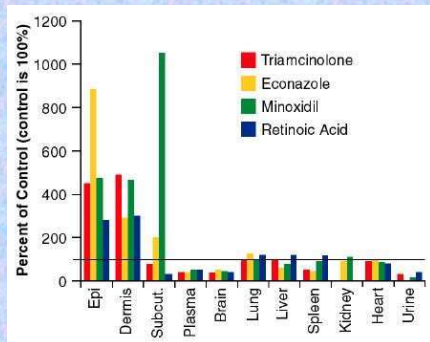


Fig. 6. Urinary excretion of triamcinolone[2-¹⁴C]acetate after topical application, as control (ointment) or liposomal formulation, to guinea pig ears over a period of 5 days. Very similar results were obtained with hydrocortisone and betamethasone. Each value represents the average of five experiments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





Michael Mezei
1927-1997



Helyi érzéstelenítők

- Lidocaine

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



Kozmetika



TRIPLE ACTION
Anti-Aging Formula

Collagen Gels And Fiber Masks
We Make The Difference!

Les Nouvelles PARIS

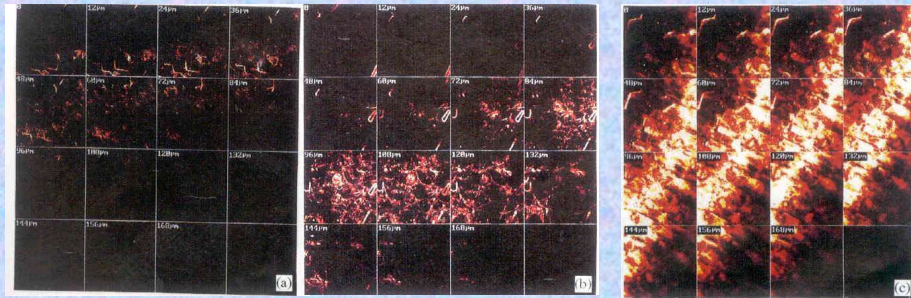
LES NOUVELLES COSMETICS, INC.
Skin Care Manufacturers & Wholesale Distributors
Phone: (305) 592-6818 • Fax: (305) 383-6781
U.S. Canada, V. Islands & Puerto Rico 1-800-654-5256

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

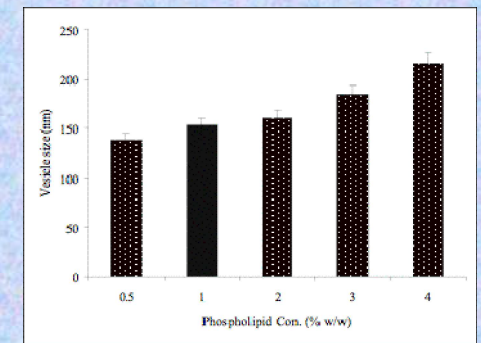
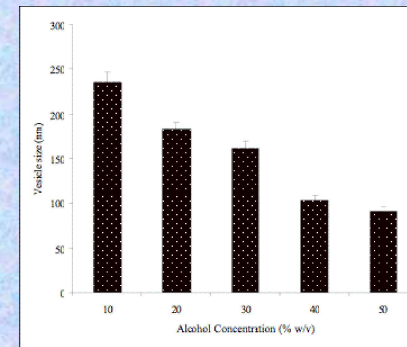
Product	Marketer	Liposomes and key ingredients
Capture	Christian Dior	liposomes in gel with ingredients
Plenitude	L'Oréal	
Effect du Soleil	L'Oréal	tanning agents in liposomes
Niosomes	Lancôme (L'Oréal)	glyceropolylether with moisturizers
Nactosomes	Lancôme (L'Oréal)	vitamins, retinolacetate
Esprit de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

Etoszómák:

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

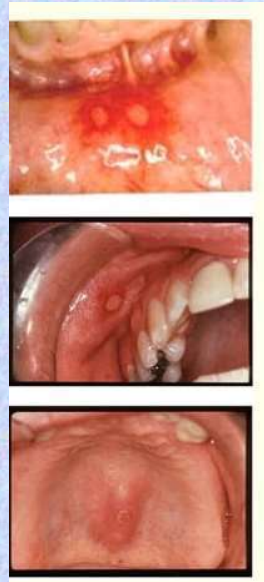


Etoszómák



2.Nyálkahártyák (pl. száj, orr)

Könnyen átjárhatók 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 átjárhatók 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 – gangliosid-tartalmú

lencse – ConA tartalmú

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

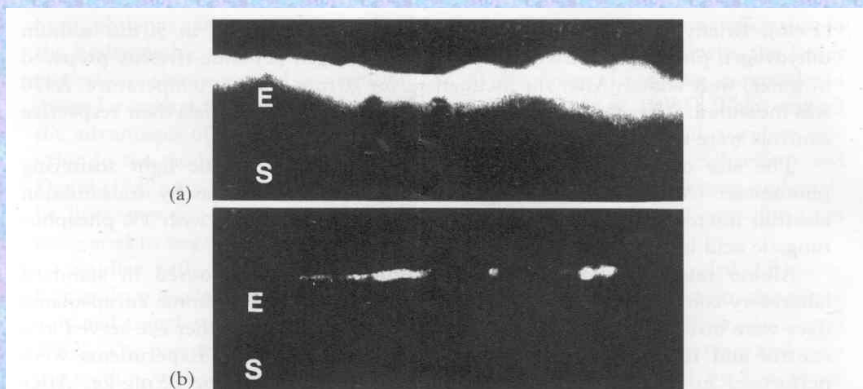


Figure 1. Rat cornea exposed *in-vivo* for 30 min to propidium iodide microencapsulated in liposomes (a) or to propidium iodide dissolved in buffer (b). Sections of frozen eyes were freeze dried and inspected by fluorescence microscopy. Note enhanced uptake of propidium iodide into the corneal epithelium (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 injekciós esetén.

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

A kötődés a kettősrétegek számától is függ:

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

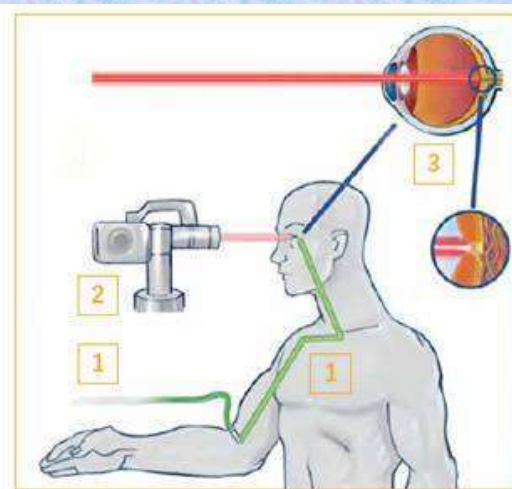
Acetazolamid bezárási határfoka és a kiszabadult hatóanyag aránya:

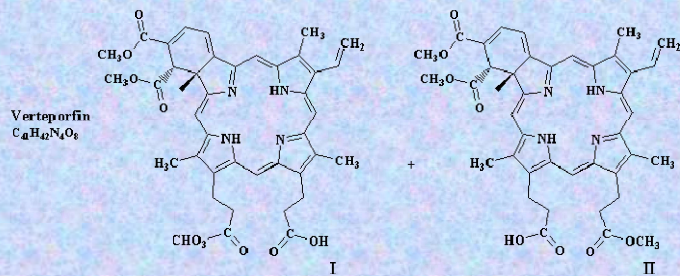
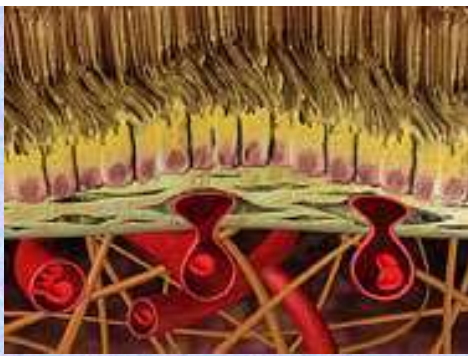
	Semleges	Negatív	Pozitív
Bezárás határfoka	41,06 %	29,27 %	49,58 %
Kiszabadult hatóanyag aránya 9 óra elteltével	33,8 %	13,36 %	26,7 %



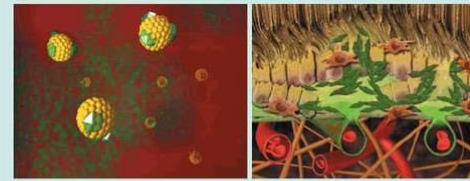
Fig. 1. Photographs showing gradual stages of healing and disappearance of Candida keratitis treated with: (A) fluconazole solution (first group), (B) and (C) fluconazole-loaded liposome in a rabbit (second group). (1) Before treatment. (2) One week after treatment. (3) Two weeks after treatment. (4)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

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

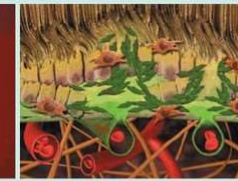




Visudyne therapy – mechanism of action



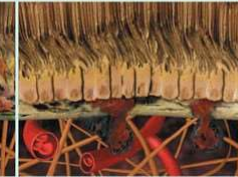
(a) Circulating verteporfin complexes with LDL.



(b) Verteporfin selectively accumulates in neovascular tissue which is rich in LDL receptors.

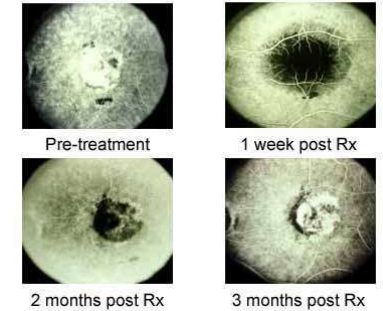


(c) Light-activated verteporfin produces reactive forms of oxygen which cause structural and functional cell damage.



(d) Verteporfin selectively occludes neovascular tissue, while sparing overlying retinal cells and Bruch's membrane.

Visudyne™ Effect



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 határfoka és mélysége főleg az aeroszol részecskeméretétől függ, nem a liposzómáétól.

A porlasztás során a bezárt anyag egy része elvész. 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

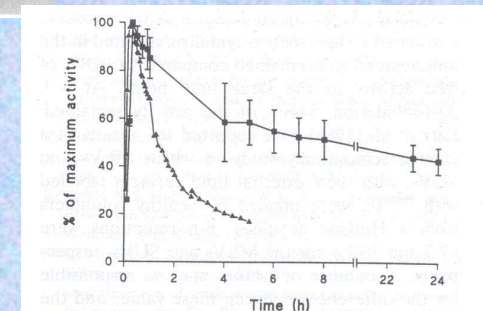
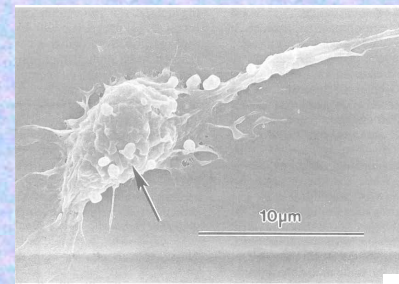


Fig. 1. The deposition and clearance of activity following inhalation of ^{99m}Tc -DTPA in solution (▲) ($n=1$) and entrapped in DPPC/Chol MLVs (■) ($n=3$, mean \pm S.D.)

