

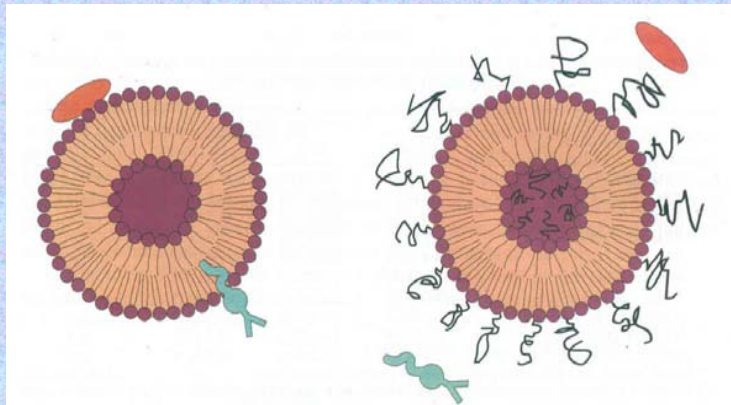
Liposzómák diagnosztikai és terápiás alkalmazásai I.

Dr. Voszka István

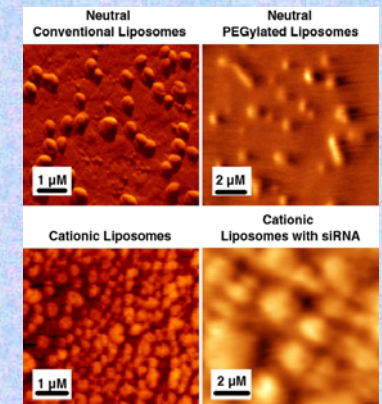
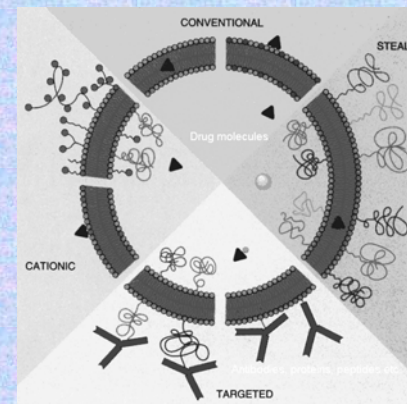
Előny:

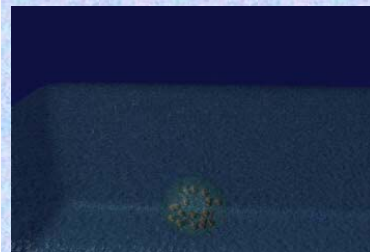
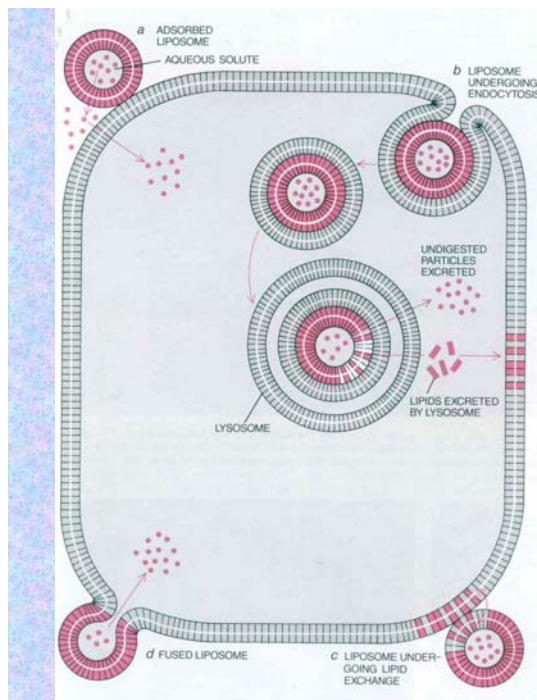
- célzott bejuttatás
- kevesebb mellékhatás
- kisebb dózis elegendő

- 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

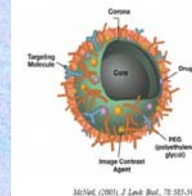


Liposzómák csoportosítása





Diagnosztikai alkalmazások: diagnosztikában használatos anyagokat zárnak a liposzómákba



1. Röntgen-kontrasztanyag

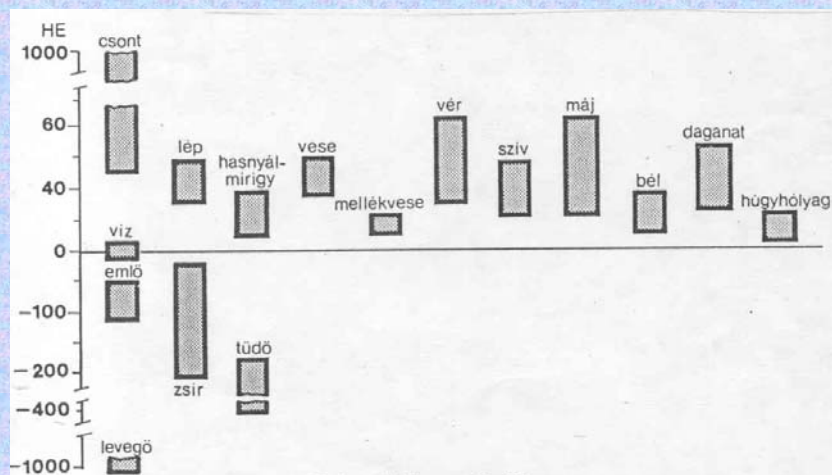
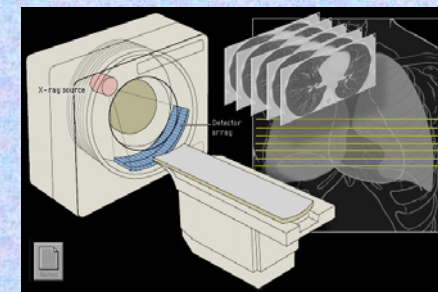
Pl. CT vizsgálatnál az egyes képelemek denzitását határozzák meg egy relatív skálán (Hounsfield-skála)

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

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

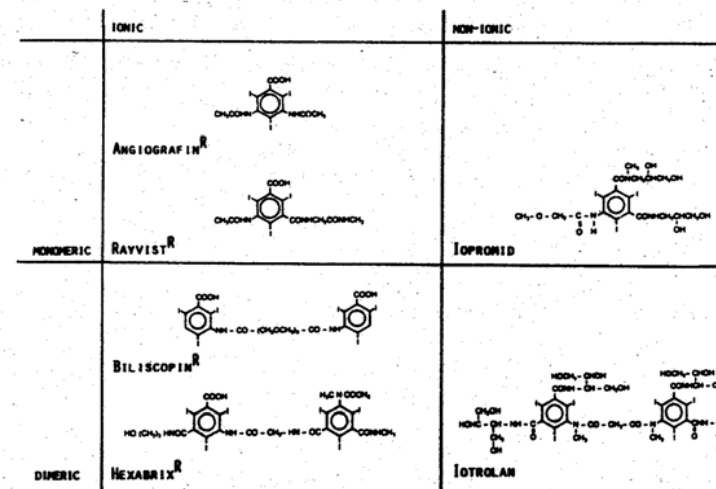


Fig. 1. Chemical structures of the radiocontrast agents used.

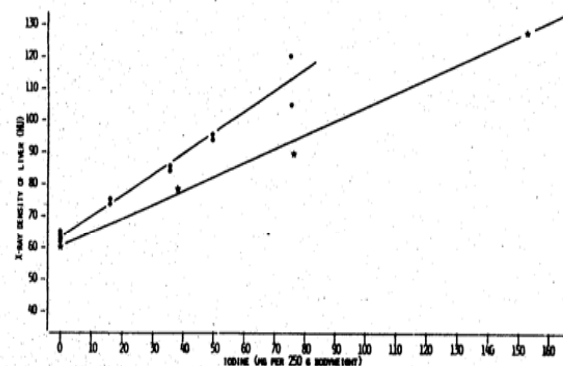


Fig. 4. Correlation between X-ray density of the liver and amount of iodine administered. (The values are average values from 10 different regions of the liver.) Dots: liposome encapsulated Angiografin, lipid mixture: egg-PC:CH = 7:3; rat liver, 60 min after iv. injection, stars: free radiocontrast agent,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

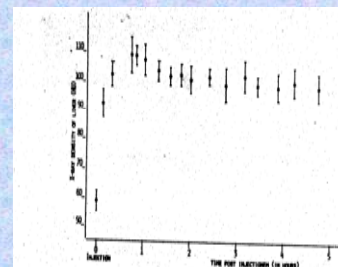


Fig. 5a. Time course of intensified X-ray density of the rat liver after iv. liposome encapsulated Angiografin. (The values are average values from 10 different regions of the rat liver, lipid mixture: egg-PC:CH = 7:3, injection iodine content: 90 mg iodine.)

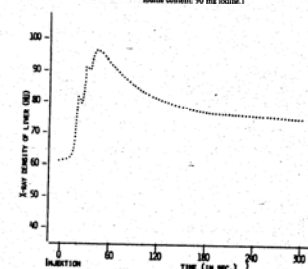


Fig. 5b. Time course of intensified X-ray density of the human liver after iv. injection of free radiocontrast agent (Claussen). (The values are average values from 10 different regions of the human liver.)

Liposzómás jódtartalmú kontrasztanyag eloszlása (mikro CT felvétel)

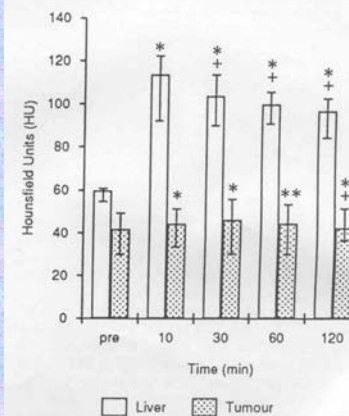
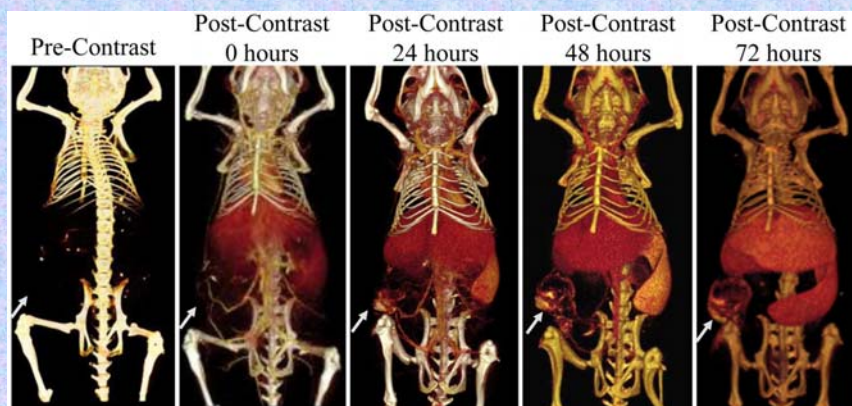


Fig. 1. Attenuation in normal liver tissue and tumorous tissue before and after injecting iodoxanol-liposomes. Median values and ranges. Levels of significance: comparison of values after CM administration to precontrast values; * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$. Attenuation 30, 60, and 120 min after injection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

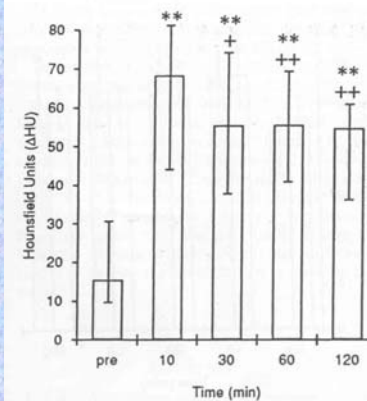
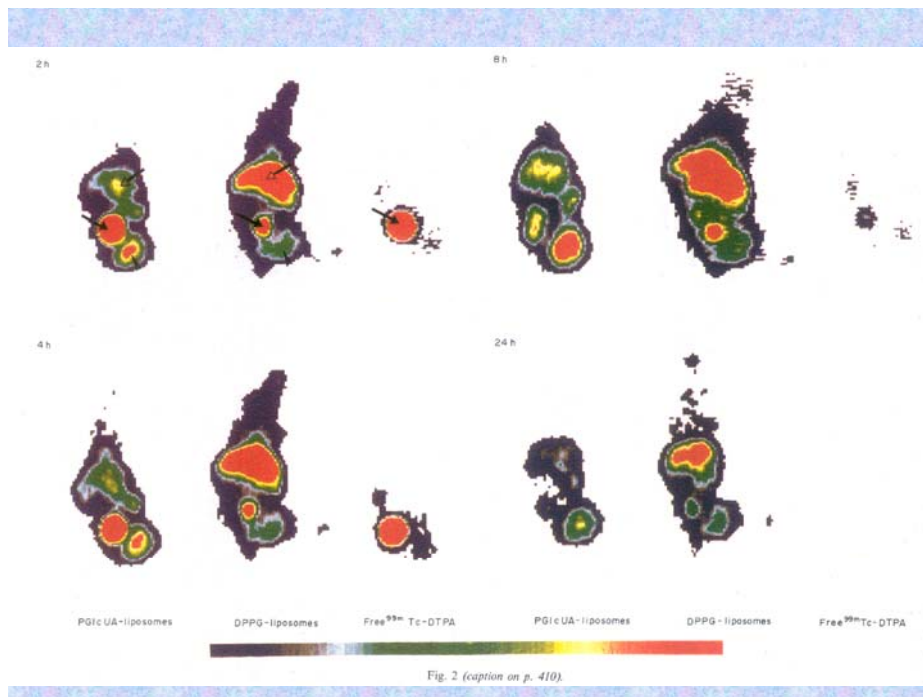
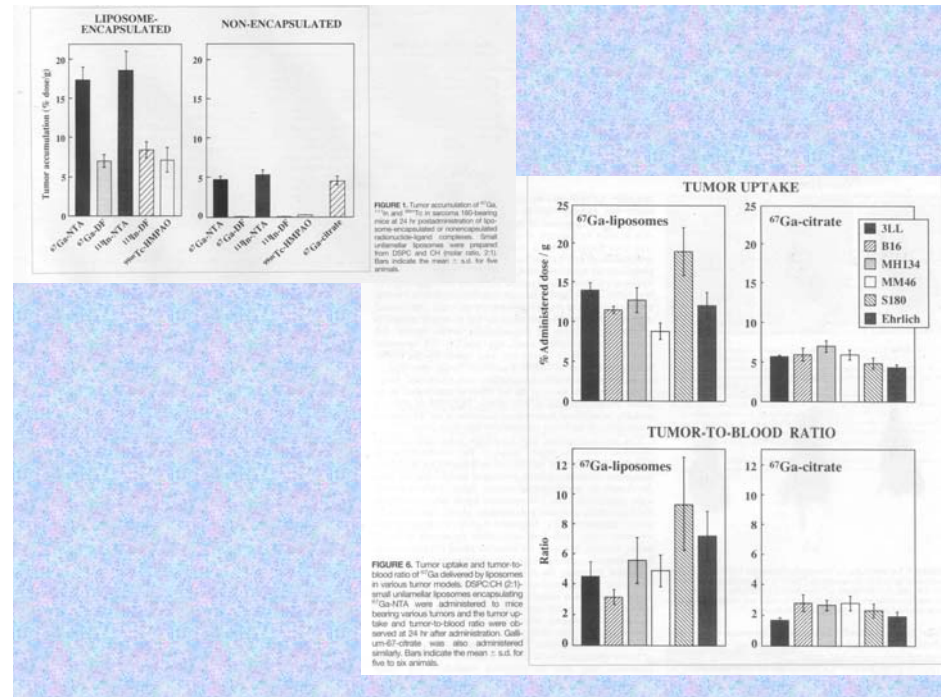
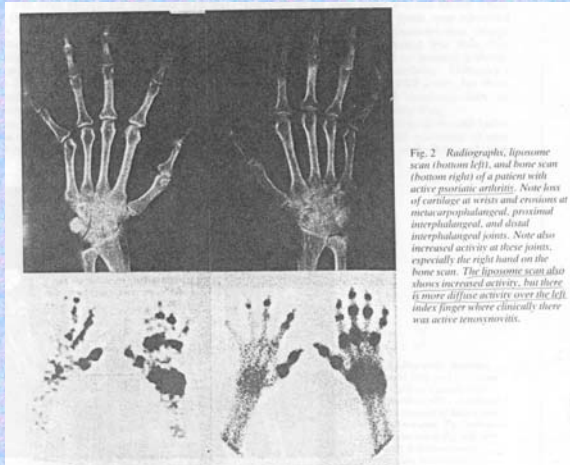


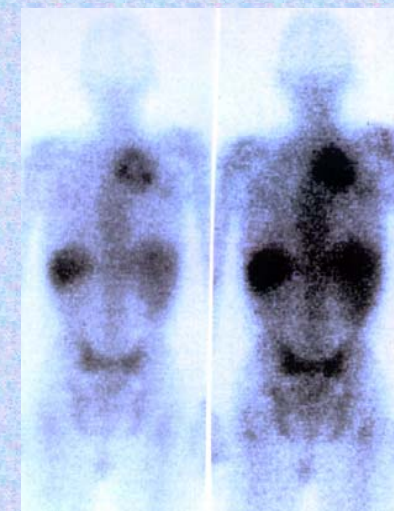
Fig. 3. Contrast expressed as the difference in attenuation (Δ HU) between normal liver tissue and tumorous tissue before and after injecting iodoxanol-liposomes. Median values and ranges. Levels of significance: comparison of values after CM administration to precontrast values; ** $p < 0.01$. Contrast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

2. Radioaktív izotópok

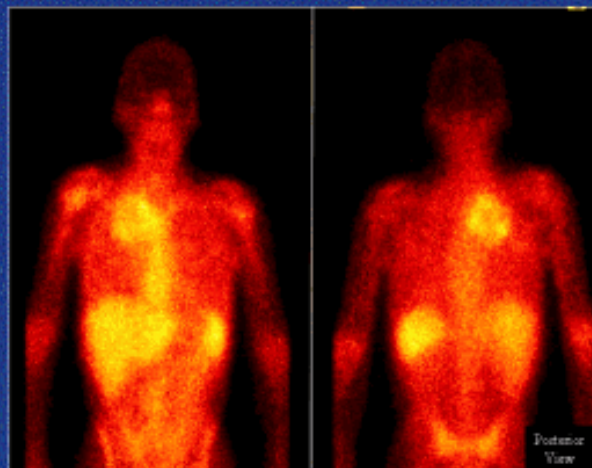
- Liposzómába zárva specifikusabb kötődés, pl. gyulladásos góchoz, tumorhoz



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



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



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

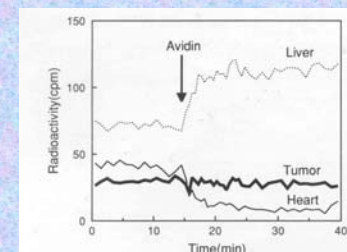
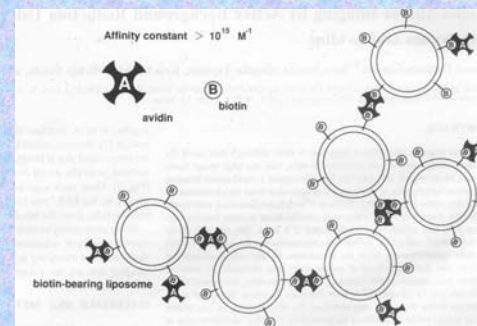
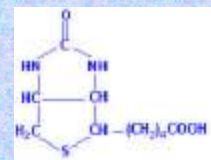


Fig. 7. Time-activity curves in the regions of interest over tumor, liver, and heart. Dynamic acquisition was started at 105 min after the administration of B-liposomes, and avidin was administered 15 min after an additional 15 min.

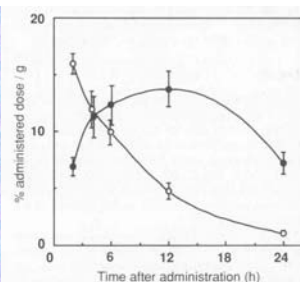


Fig. 2. Uptake and retention of ^{67}Ga in tumor and blood of mice bearing sarcoma 180 after the administration of biotin-bearing liposomes encapsulating ^{67}Ga -DF. ●, tumour; ○, blood. Each point represents the mean \pm SD for five animals.

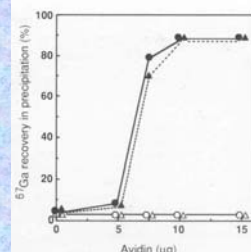


Fig. 1. Accessibility of biotin moieties on the liposomal surface to avidin. ●, biotin-bearing liposomes in mannitol buffer; ○, non-biotin-bearing liposomes in mannitol buffer; △, non-biotin-bearing liposomes in mouse serum.

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

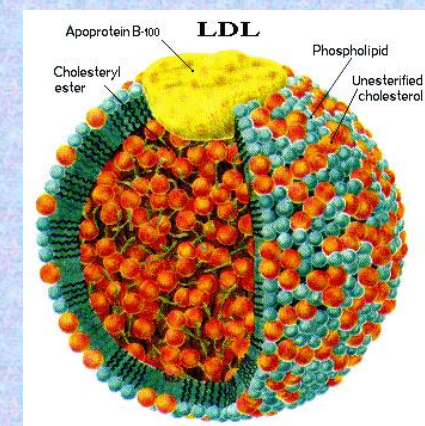
Each value represents the mean \pm SD for five animals

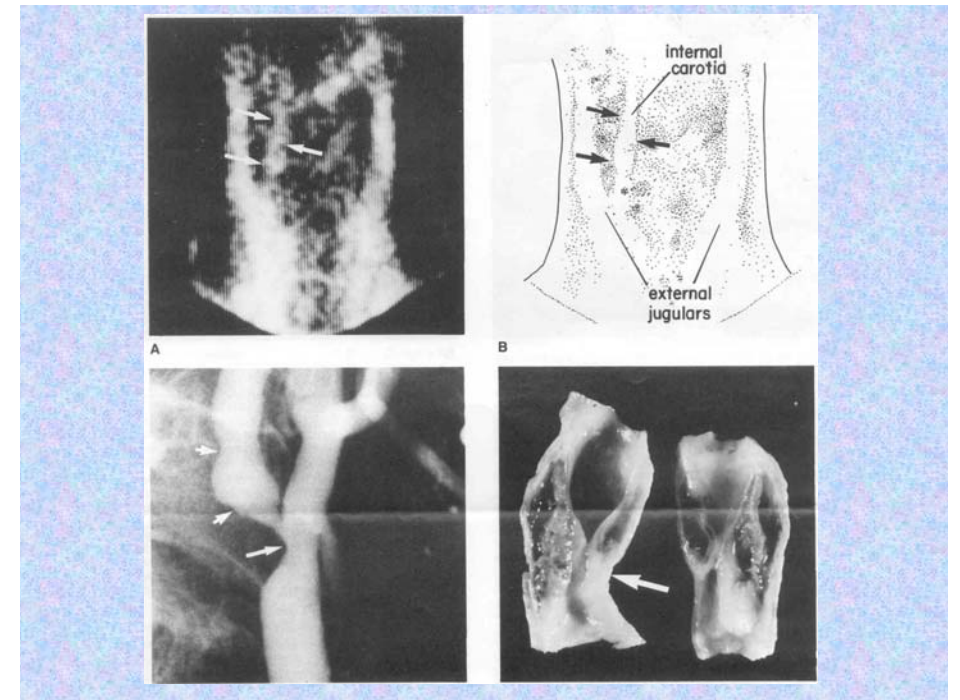
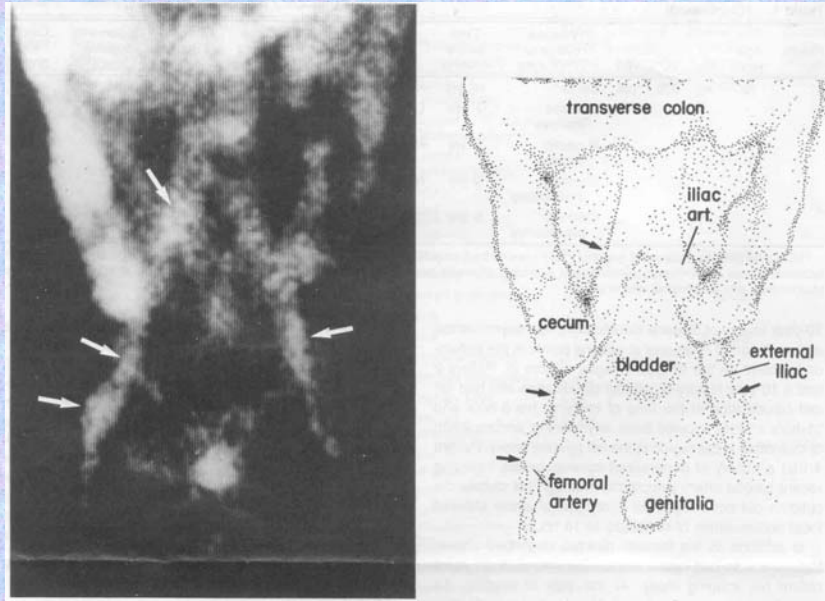
** Statistically significant difference from the control group at $P < 0.01$

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

LDL összetevői

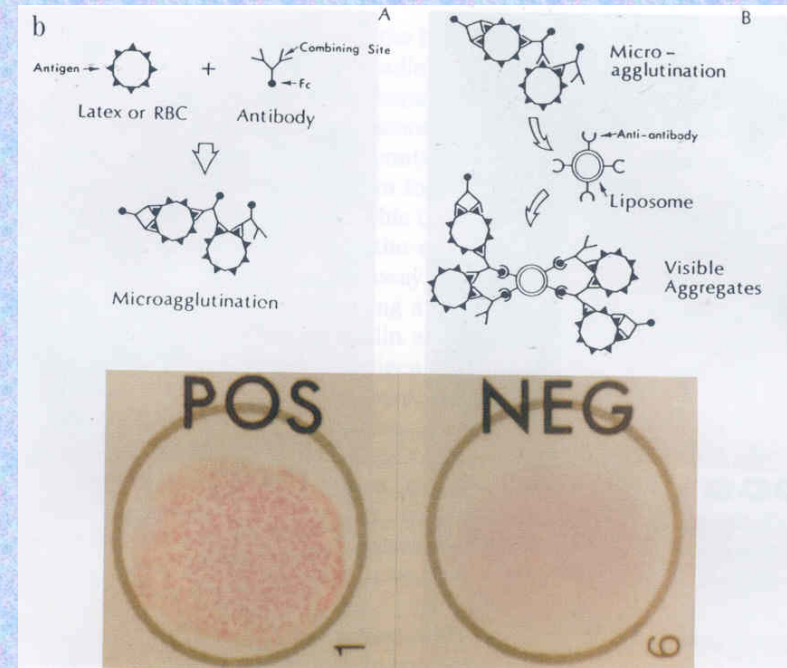
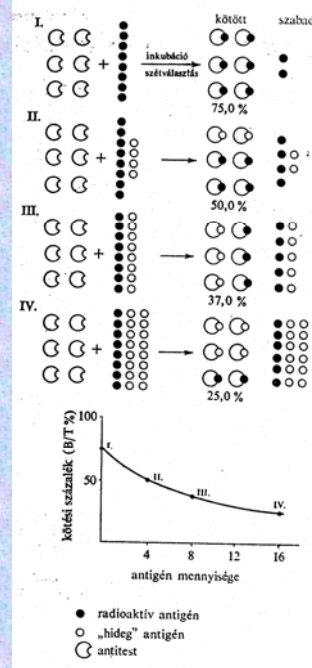
Fehérje	22 %
Foszfolipid	22 %
Koleszterin	8 %
Koleszterinészter	40 %
Triglicerid	8 %





LIA (liposome immuno assay)

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

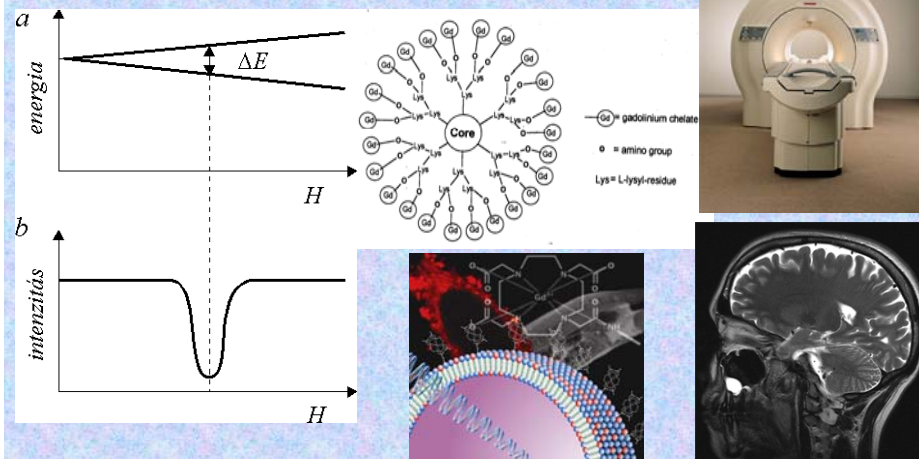


3. MR-kontrasztanyagok

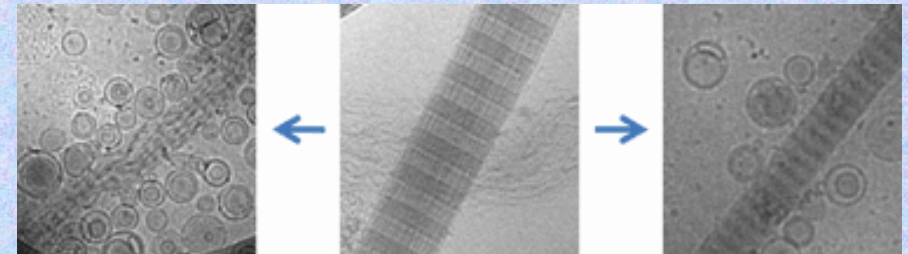
Mágneses momentummal rendelkező atommagok mutathatók ki (pl. ^1H , ^{31}P)

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

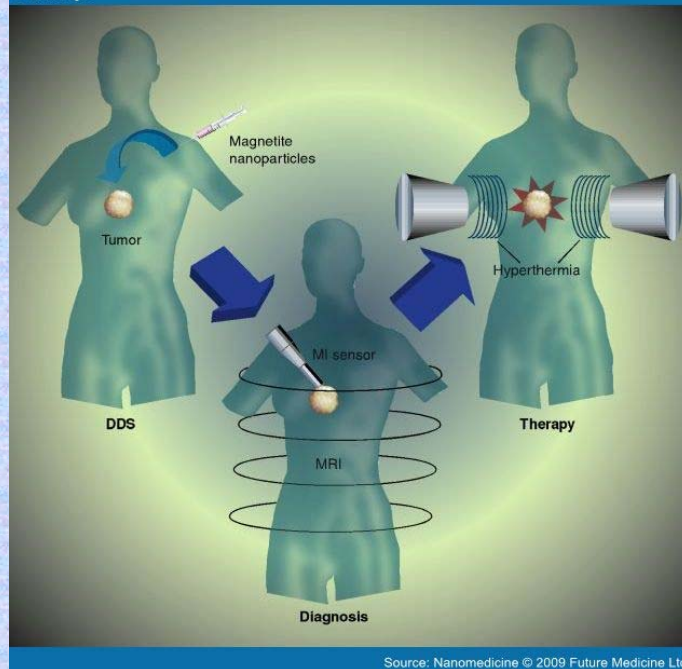
Liposzómába zárva specifikusabban juttathatók célba.



MR kontrasztanyag liposzómában



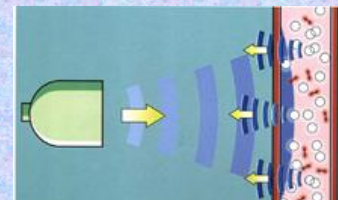
Medscape



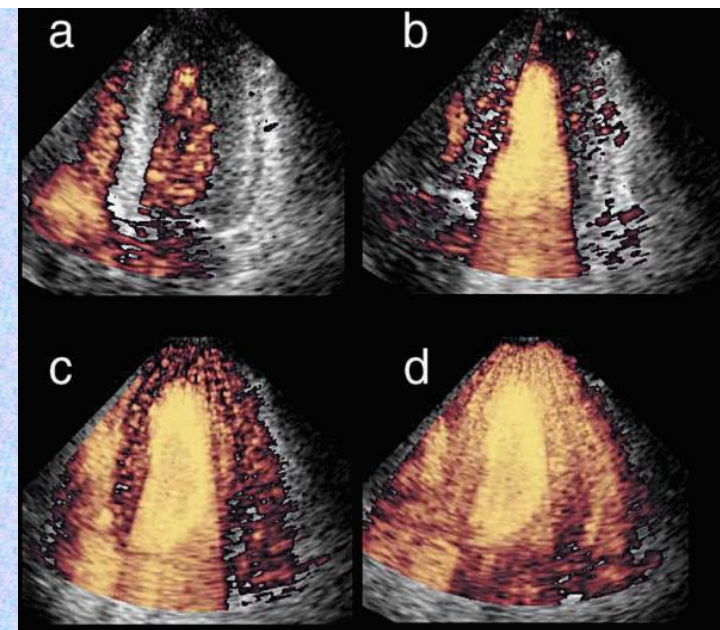
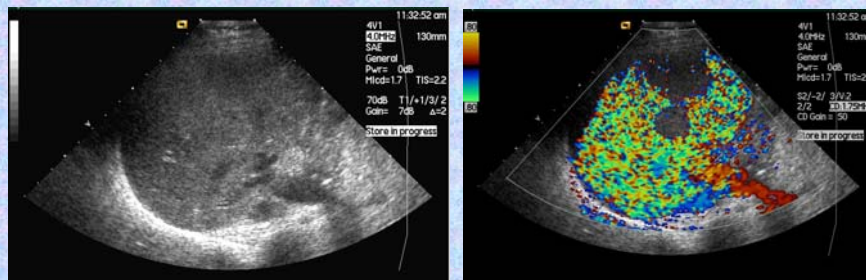
Source: Nanomedicine © 2009 Future Medicine Ltd

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)



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

Terápiás alkalmazások

a) Lokális (helyi) alkalmazások

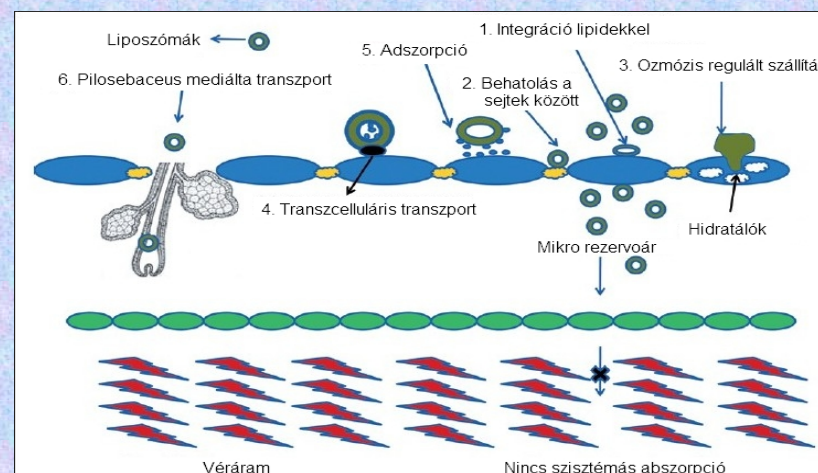
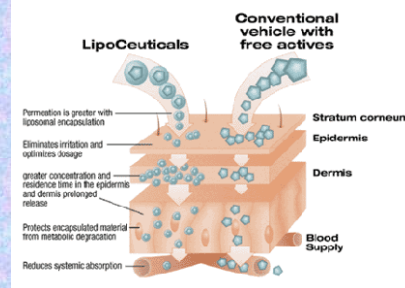
1. Bőrfelület

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

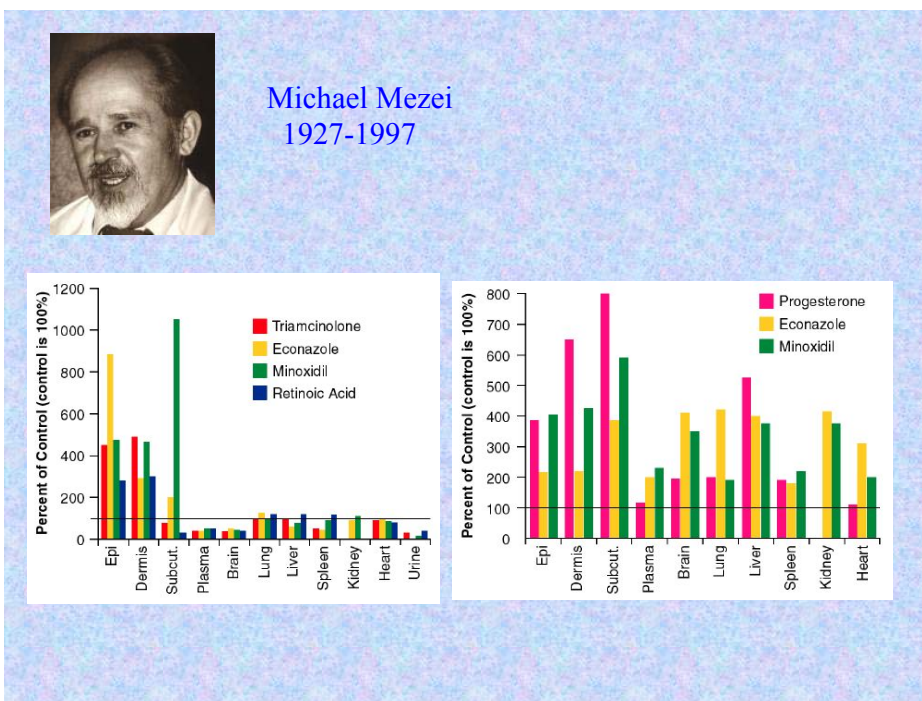
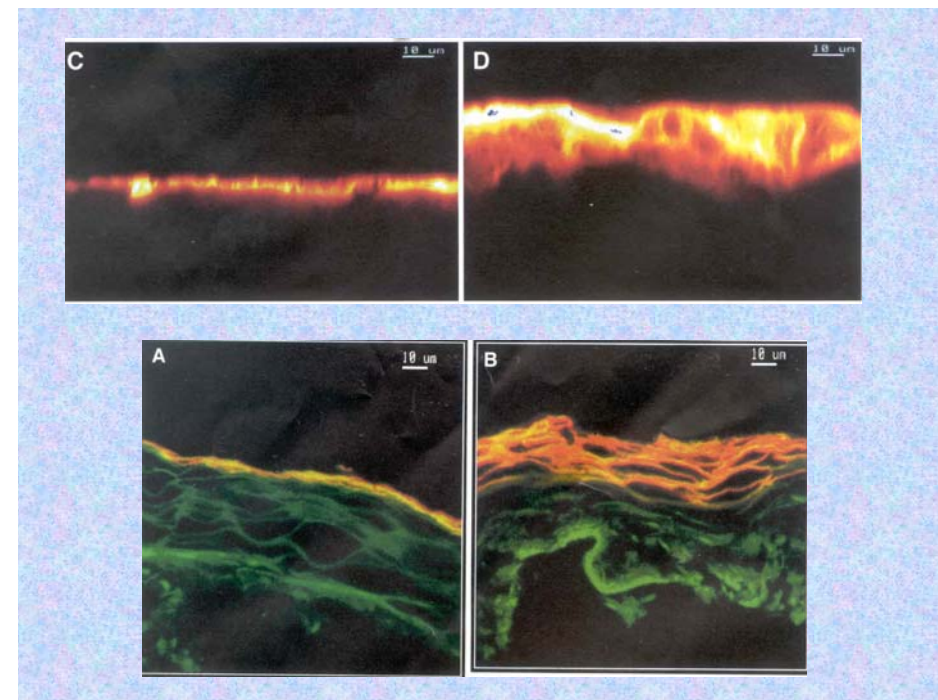
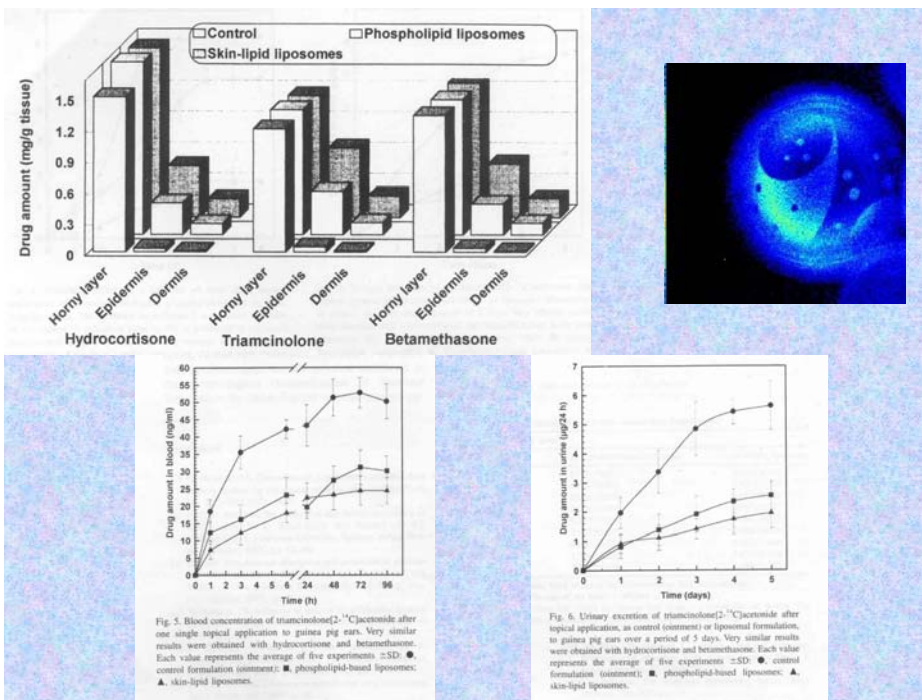
A liposzómák - könnyebben áthatolnak a bőr savköpenyén

- 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 liposzómális hatóanyag bőrbe jutásának lehetséges útjai.



Helyi érzéstelenítők

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

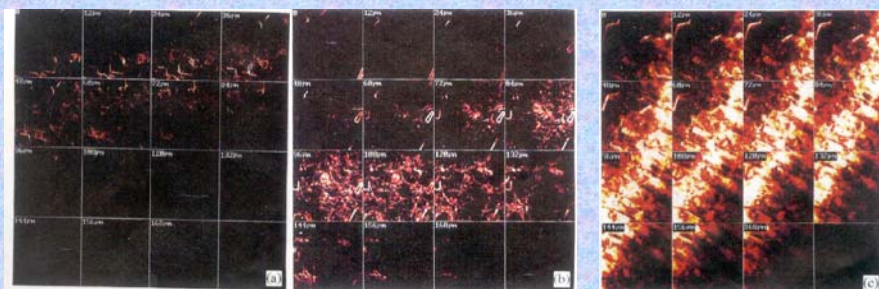


Kozmetika



Etoszómák:

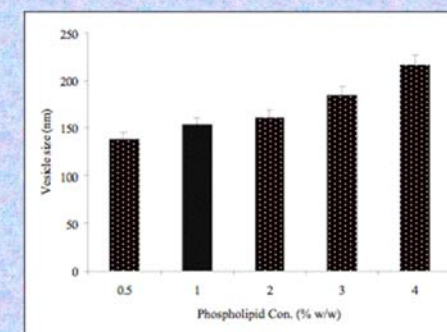
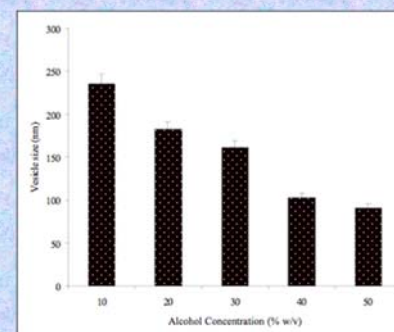
Lipid (szója foszfatidilkolin) – víz – etanol keverékéből létrehozott 2-3 rétegű lipidpreparátum. Mélyebben hatol be a bőrbe, mint a liposzóma. Elsősorban a szisztémásan ható gyógyszerek transzdermális bevitelében használatosak.



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	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, cerobroside, ceramide, phospholipid
Future Perfect Skin Gel	Estee Lauder	Feproteins, trace elem. minerals, vitam.
Emulsion Nrl 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/Apotheke	glycolipid PSL, Sphingolipid E
Intensive Reducer	Kao Sofina Emoliel Cream & Moisture Essence	BRF System, Repair Factor, thymus extract
Anti-Cellulit Gel	Kao Sofina Cosmetic (Parfumerien Dr. Lenartz GmbH)	Aloe vera, thymus extract
Inovita	Cosmetics Margot Zimmer GmbH	20% liposome
Liposome Skin Vital	Madame Nanette	hydrospheres
Complex	Bioscience	fibroblastin
Micro 2000	Shulton (American Cyanamid)	thymus extract, vitamin A
Anti-Stress	Elizabeth Arden	palmitate, soya phospholipid
Sane 2 Liposome	Gabriele Wyeth	chestnut extract, hyalur. acid
Ampule	Kosmetik	mucopolysaccharide, hyaluronic acid, liposome
Sympathik 2000	Biopharm GmbH	Liposomal gel for do-it-yourself cosmetic
Liosen	Geymonat	soothing cream to reduce eye puffiness
TMH-Ampulle	Gerthard Klapp	
Natipide II	Nattermann PL	
Eye Perfector	Avon, NY	

Etoszómák

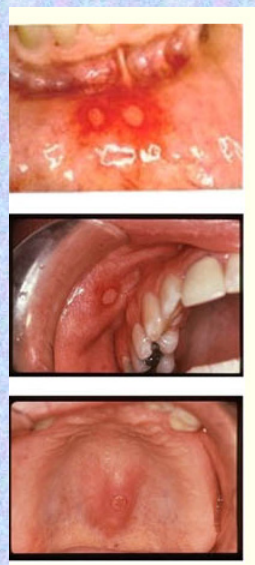


2. Nyálkahártyák (pl. száj, orr)

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 – gangliozid-tartalmú

lencse – ConA tartalmú

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

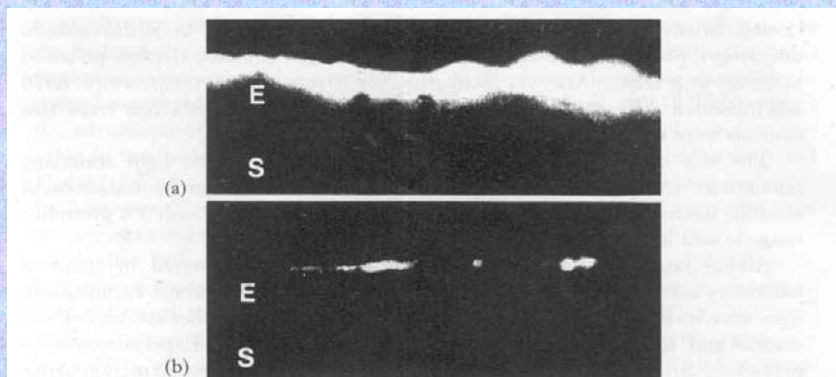


Figure 1. Rat cornea exposed *in-vivo* for 30 min to propidium iodide microencapsulated in liposomes (a) or to propidium iodide dissolved in buffer (b). Sections of frozen eyes were freeze dried and inspected by fluorescence microscopy. Note enhanced uptake of propidium iodide into the corneal epithelium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

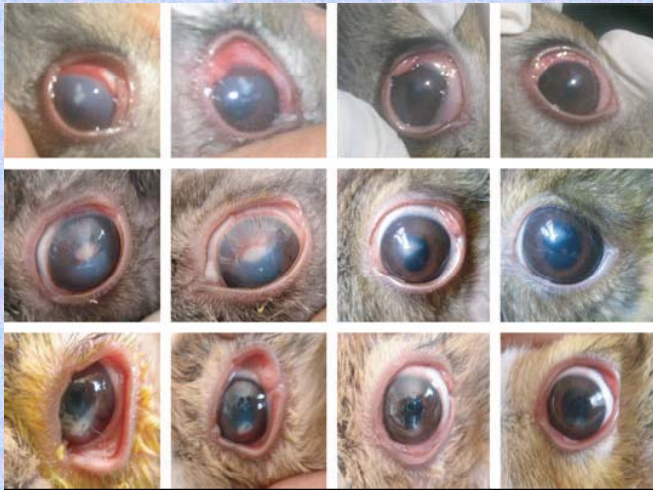
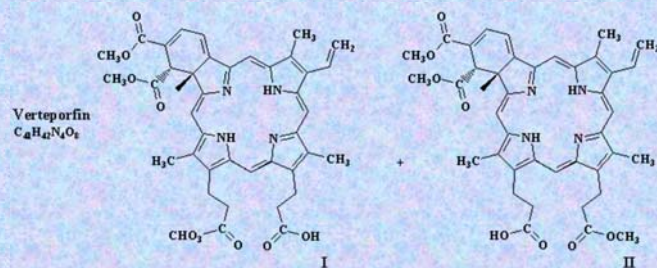
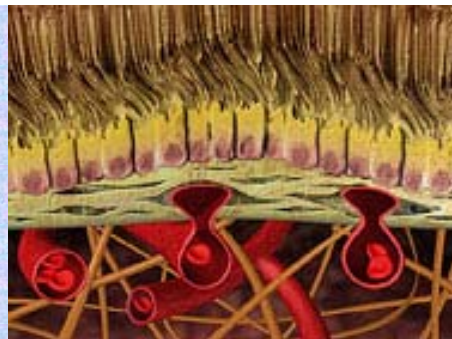
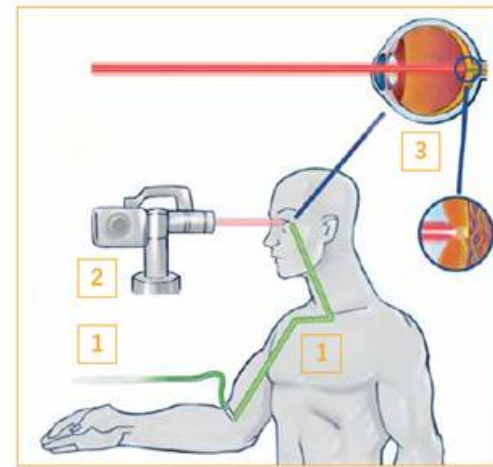
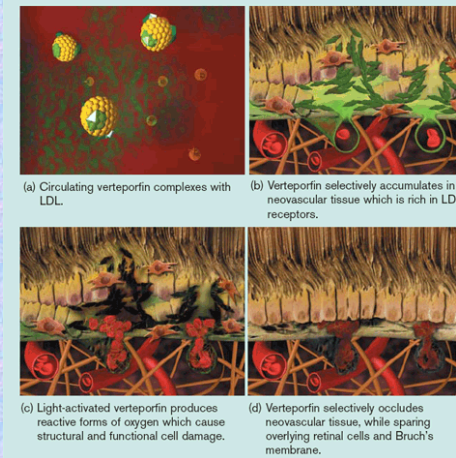


Fig. 1. Photographs showing gradual stages of healing and disappearance of Candida keratitis treated with: (A) fluconazole solution (first group), (B) and (C) fluconazole-loaded liposome in a rabbit (second group). (1) Before treatment. (2) One week after treatment. (3) Two weeks after treatment. (4)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

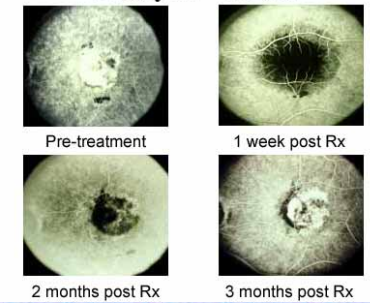
- Időskori macula elfajulás (age-related macular degeneration - AMD) kezelése liposzomás porfirinszármazék (Visudyne) és lézerkezelés kombinációjával. (fotodinámiás terápia (PDT))



Visudyne therapy – mechanism of action



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

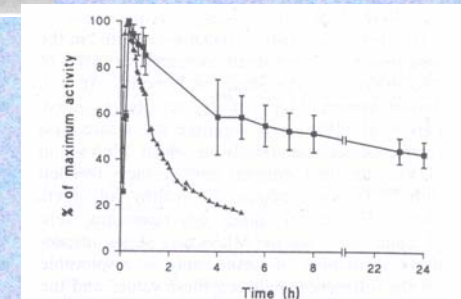
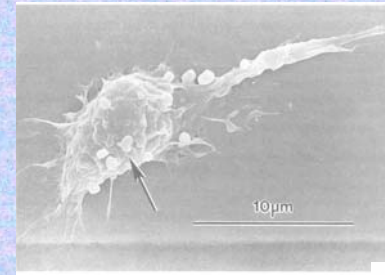


Fig. 1. The deposition and clearance of activity following inhalation of ^{99m}Tc -DTPA in solution (▲) ($n=1$) and entrapped in DPPC/Chol MLVs (■) ($n=3$, mean \pm S.D.)

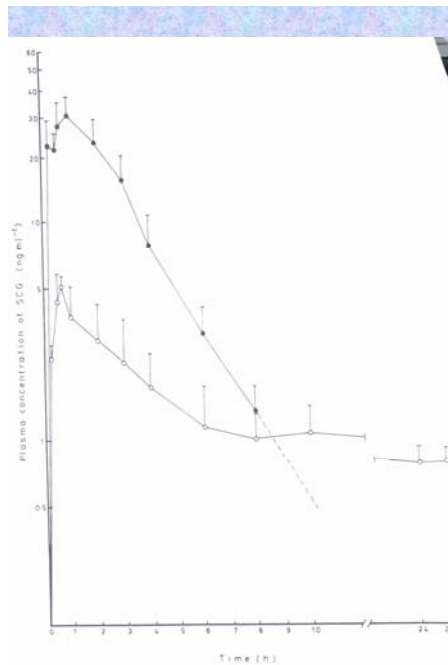


TABLE 1

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]
Barbitol*	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.

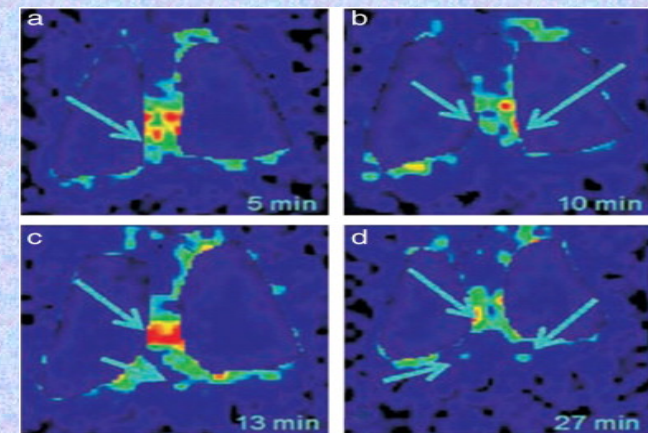


Fig. 21 Thoracic images in posterior view obtained after ^{99m}Tc -liposome aerosol inhalation, in the pig number 18. a) 5<ce:hsp sp="0.25"/> min after inhalation/visualization of the hilar draining chains; b) 10<ce:hsp sp="0.25"/> min after inhalat...

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

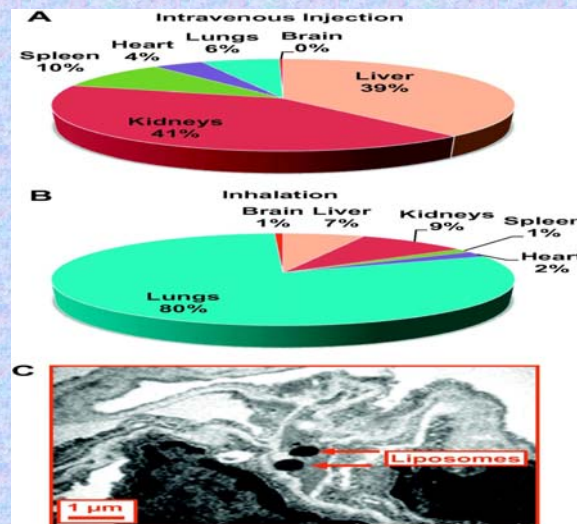


Fig. 4 Inhalation delivery of liposomes to mouse lungs. A and B ? Relative tissue content of liposomes delivered to mice by intravenous instillation (A) or inhalation (B). Liposomal content was registered in organs 24 h after i...

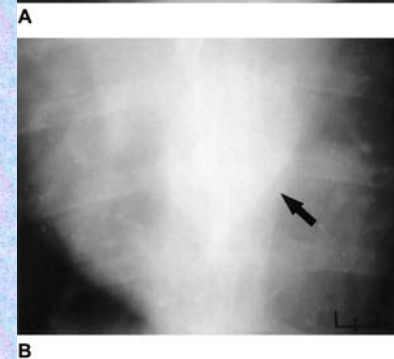
Vera Ivanova, Olga B. Garbuzenko, Kenneth R. Reuhl, David C. Reimer, Vitaly P. Pozharov, Tamara Minko

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