

University of Groningen

Interactions of liposomes with plasma lipoproteins.

Damen, Jan Jozef Maria

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

1982

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Damen, J. J. M. (1982). *Interactions of liposomes with plasma lipoproteins*. s.n.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

S A M E N V A T T I N G

De huidige kennis van de eigenschappen en functies van biologische membranen is voor een groot deel verkregen door studies aan modelmembranen. Met name liposomen hebben als een relatief eenvoudig en goed te karakteriseren modelsysteem een onmisbare plaats verworven in het membraanonderzoek. Liposomen zijn kleine kunstmatige partikels (25-2500 nm in doorsnee) bestaande uit één of meer konsentrische fosfolipide-lagen van elk twee molekulen dik ("bilagen"). De fosfolipide-bilaag vormt ook de basisstructuur van biologische membranen. Liposomen ontstaan vanzelf wanneer fosfolipiden van biologische of syntetische oorsprong worden gedispergeerd in een waterige oplossing. Daarbij wordt een gedeelte van de oplossing door de liposomale membranen ingesloten (zie pagina 10, Fig. 2). Het vermogen van liposomen om de ingesloten oplossing vast te houden heeft geleid tot het idee om ze toe te passen als kapsules voor wateroplosbare geneesmiddelen voor inwendig gebruik. Tot de voordelen van met name intraveneuze toediening van liposomaal-verpakte geneesmiddelen worden onder meer gerekend: de bescherming van het geneesmiddel tegen inaktivering door het bloed en tegen snelle uitscheiding door de nieren, de biologische afbreekbaarheid, de lage toxiciteit en de lage immunogeniteit van het materiaal waaruit de kapsule is samengesteld, en in het bijzonder de mogelijkheid om de liposomen op een bepaald doel in het lichaam af te sturen. Na intraveneuze toediening van liposomen aan ratten is echter gebleken dat het liposomale fosfolipide snel wordt overgedragen op de plasma *high density lipoproteins* (HDL) met als gevolg een voortijdig vrijkomen van het ingesloten materiaal in de bloedbaan. Op zich is het niet verwonderlijk dat lipoproteïnen betrokken zijn bij de afbraak van liposomen door plasma Lipoproteïnen zijn micellaire complexen van lipiden en eiwitten, die het transport van lipiden door de bloedbaan verzorgen. De overdracht van liposomaal fosfolipide op HDL vertoont zelfs een opvallende overeenkomst met een bepaalde stap uit het lipoproteïne-metabolisme, zoals zich dat in de bloedsomloop afspeelt: bij de

lyse van triglyceride-rijke lipoproteïnen komen grote hoevee-
fosfolipide vrij, die, net als het liposomale fosfolipide,
n opgenomen door HDL. Onder meer hierom vallen interacties
n liposomen en plasma ook binnen het terrein van het lipopro-
-onderzoek, en worden liposomen niet alleen bestudeerd als
membranen, maar ook als model-lipoproteïnen.

t in dit proefschrift beschreven onderzoek was gericht op het
nisme van de fosfolipide-overdracht van liposomen op HDL, en
t vinden van een methode om het voortijdig uiteenvallen van
omen in plasma tegen te gaan.

t inleidende hoofdstuk behandelt in het kort de structuur, de
ding en het gebruik van liposomen en geeft een beknopte be-
jving van de structuur en het metabolisme van plasma lipopro-
n met een nadruk op de interacties tussen fosfolipiden en
roteïnen.

ofdstuk II beschrijft een onderzoek naar de veranderingen in
leerd menselijk HDL als gevolg van interacties met liposomen.
middel van iso-elektrische fokussing kunnen een aantal sub-
ties van HDL worden onderscheiden. Het iso-elektrisch profiel
HDL, dat een kleine hoeveelheid fosfolipide heeft opgenomen,
ont geen noemenswaardig verschil met dat van het natieve HDL.
verdubbeling van het oorspronkelijke fosfolipide-gehalte van
wordt wel een grote verandering in het iso-elektrische profiel
genomen. Desalniettemin blijkt in beide gevallen het opgenomen
lipide zich over alle subfrakties verdeeld te hebben en vol-
g gemengd te zijn met het endogene fosfolipide.

et derde hoofdstuk beschrijft hoe de stabiliteit van liposomen
eterd kan worden door hun lipide-samenstelling aan te passen.
inbouwen van tenminste 40 mol% cholesterol in de liposomale
ranen blijkt het vrijkomen van een ingesloten fluorofoor tij-
inkubatie van de liposomen met ratteplasma vrijwel volledig
oorkomen. De overdracht van liposomaal fosfolipide wordt even-
geremd door cholesterol, van sfingomyeline/cholesterol-liposo-
naar HDL volledig, van fosfatidylcholine/cholesterol-liposomen
HDL slechts gedeeltelijk. De resterende fosfatidylcholine-
dracht is het gevolg van een uitwisselingsproces, zoals bleek

uit inkubaties van deze liposomen met HDL, waarvan de fosfolipide biosynthetisch radioactief gemerkt waren. Tussen HDL en sfingomyeline/cholesterol-liposomen vindt geen uitwisseling van fosfolipide plaats.

In het vierde hoofdstuk wordt aangetoond dat niet alleen HDL betrokken is bij de afbraak van liposomen door plasma. Fosfatidylcholine-liposomen blijken door een combinatie van geïsoleerd HDL en lipoproteïne-vrij plasma met dezelfde snelheid te worden afgebroken als door totaal plasma. In beide gevallen wordt het liposomale fosfatidylcholine in het HDL opgenomen. Andere geïsoleerde lipoproteïnen dan HDL, of HDL zonder toevoeging van lipoproteïne-vrij plasma vertonen slechts een langzame opname van liposomaal fosfolipide. De stimulerende werking van lipoproteïne-vrij plasma is trypsine- en temperatuurgevoelig en dus naar alle waarschijnlijkheid geassocieerd met een eiwit. De activiteit berust niet bij albumine, maar bij een deeltje met een groter moleculair gewicht. Door inkubatie van liposomen met lipoproteïne-vrij plasma wordt de actieve component gebonden aan de liposomen en kan dan gescheiden worden van de grote massa van plasma-eiwitten door middel van gelfiltratie.

Het vijfde hoofdstuk beschrijft een gedeeltelijke zuivering van deze plasmakomponent. Er is een methode ontwikkeld waarmee de fosfolipide-overdracht van liposomen naar HDL sneller en eenvoudiger bepaald kan worden dan met de gebruikelijke gelfiltratie. De nieuwe methode is gebaseerd op de precipitatie van liposomen met heparine en mangaanchloride. Liposomen van verschillende samenstellingen kunnen op die manier inclusief hun ingesloten materiaal worden geïmprecipiteerd uit inkubatiemengsels met HDL.

Door middel van ultracentrifugatie en diverse chromatografische technieken is een plasmafractie verkregen, waarin de fosfolipide-overdracht stimulerende activiteit op bescheiden schaal is verrijkt (280 x). Deze fractie stimuleert zowel de netto overdracht van fosfatidylcholine-liposomen naar HDL, als de uitwisseling van fosfolipide tussen HDL en liposomen die bestaan uit fosfatidylcholine, fosfatidylserine en cholesterol, waarvan de liposomale structuur niet wordt aangetast.

otte worden in het laatste hoofdstuk de interacties tussen
n en lipoproteïnen bediscussieerd in het kader van een mo-
therapeutische toepassing van liposomen. Er wordt gewezen
gelijkheid om apolipoproteïnen te gebruiken ten gunste van
n-cel interacties.