

Richard Dominikus Kroll
Dr. med.

Charakterisierung der erhöhten Gefäßpermeabilität und der Transfektion durch Ultraschall gesteuerte Zerstörung von Microbubbles in Herzen und in Tumoren

Geboren am 24.08.1983 in Neuendettelsau

Staatsexamen am 01.12.2009 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. Raffi Bekeredjian

Microbubbles haben sich als Kontrastmittel in der Ultraschalldiagnostik etabliert. Die Benutzung von Microbubbles als therapeutische Vehikel wird seit einigen Jahren experimentell getestet. Durch hochamplitudige Oszillationen der Microbubbles im Ultraschallfeld können durch ihre Zerstörung sowohl DNA-Transfektionen, als auch lokale Erhöhungen der Kapillarpermeabilität erreicht werden.

Ziel dieser Arbeit war es, am Beispiel des Herzens und eines Tumormodells in der Ratte, den Einfluss der Ultraschall gesteuerten Zerstörung von Microbubbles auf die Erhöhung der Kapillarpermeabilität zu charakterisieren. Zusätzlich sollte der Einfluss des jeweiligen Modells auf die Transfektionseffizienz getestet werden. Die Erhöhung der Kapillarpermeabilität wurde hierbei als therapeutisches Ziel im Tumor angesehen, hingegen im Herzen als potenzielle Nebenwirkung der Transfektion betrachtet.

Um zu testen, wie die Transfektion am Herzen verbessert werden kann, ohne die Kapillarpermeabilität zu erhöhen, wurde der Einfluss einer räumlichen Verteilung des Ultraschalls gegenüber einer statischen Fokussierung untersucht. Dabei wurde die Hypothese aufgestellt, dass eine räumliche Verteilung des Ultraschalls durch relative, oszillierende Bewegung zwischen Rattenherz und Schallkopf zu einer erhöhten Transfektion im Gesamtherzen führen sollte. Im Tumormodell sollte hingegen der Effekt einer erhöhten Kapillarpermeabilität grundsätzlich charakterisiert werden. Gleichzeitig wurde getestet, ob eine DNA-Transfektion auch bei einem schnell wachsenden Tumor mit dieser Methode möglich ist.

Bei den Experimenten am Rattenherz zeigte sich, dass eine Verteilung des Schallfeldes die Transfektion in *allen* Abschnitten der Ventrikel verbessert. Die *Gefäßpermeabilität* hingegen wurde nicht durch eine Verteilung des Schallfeldes erhöht. Diese unterschiedlichen Phänomene weisen darauf hin, dass für eine verbesserte Transfektion die Einwirkzeit des Ultraschalls auf nur einen Abschnitt verkürzt werden kann, hingegen eine erhöhte

Kapillarpermeabilität im Herzen insbesondere durch längere Behandlung in einem Segment auftritt. Dieses Ergebnis ermöglicht eine verbesserte Transfektionseffizienz durch niedrigere Ultraschall-Energiedosen pro Segment und damit eine Reduktion unerwünschter Wirkungen, wie die Schädigung der Gefäßwände. Technisch könnte eine solche Anordnung z.B. auch durch dreidimensionale Ultraschallsonden umgesetzt werden.

An soliden Tumoren ist das therapeutische Potenzial der Ultraschall gesteuerten Zerstörung von Microbubbles bislang wenig erforscht. Daher charakterisierten wir anhand eines Rattenmodells für das hepatozelluläre Karzinom (HCC) die therapeutisch anwendbare Steigerung der Gefäßpermeabilität und der DNA-Transfektion.

Mit der lokalen Zerstörung von Microbubbles ließ sich die Permeabilität der Gefäßwände im Zielvolumen gegenüber den nicht beschallten Tumoren um ein Fünffaches steigern. Diese Permeabilitätserhöhung war nur transient, wie sich durch Messung *nach* Beendigung der Microbubble Zerstörung nachweisen ließ. Zudem war der Effekt spezifisch für das beschallte Zielvolumen, weil in Kontrollgeweben keine signifikante Erhöhung der Permeabilität nachweisbar war.

Die Ergebnisse bestätigen unsere Hypothese, dass mit Hilfe dieses Verfahrens die Durchlässigkeit der Gefäßwände gezielt in HCC-Tumoren erhöht werden kann. Auf diese Weise ließe sich die Aufnahme von therapeutischen Substanzen lokal erhöhen, so dass sich die systemische Konzentration – und damit die Gefahr von Nebenwirkungen – reduzieren lässt. Die Transfektionsexperimente am HCC-Tumor mit einem Luciferaseplasmid waren im Gegensatz zum Herzen nicht erfolgreich. Eine hohe Zellteilungsrate und hierdurch bedingte Elimination der intrazellulären Plasmid-DNA ist als mögliche Ursache anzusehen.

Unsere Experimente zeigen, dass die Ultraschall gesteuerte Zerstörung von Microbubbles eine nicht-invasive Transfektion des Herzens mittels DNA erlaubt. Die Transfektionseffizienz kann durch räumliche Verteilung des Ultraschalls gesteigert werden, ohne die unerwünschte Erhöhung der Kapillarpermeabilität zu steigern. Als therapeutisch nutzbaren Effekt ließ sich am Tumormodell zeigen, dass die Ultraschall gesteuerte Zerstörung von Microbubbles zielgerichtet und lokal begrenzt Gefäßwand-permeabilität transient erhöht. Eine Transfektion des gewählten Tumormodells mit diesem Verfahren war nicht möglich.