



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Fakultät für Klinische Medizin Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

**Akustische Energie zur Transfektion beim Prostatakarzinom:
Entwicklung und Evaluation**

Autor: Philipp Erben
Institut / Klinik: Urologische Universitäts-Klinik
Doktorvater: Priv. Doz. Dr. M. S. Michel

Beim lokalisierten Prostatakarzinom besteht heute die urologische Behandlung der Wahl in der Entfernung des gesamten Organs. Seit Anfang der 90er Jahre setzte die Entwicklung minimalinvasiver Therapiealternativen für das Prostatakarzinom ein. Dazu wurden in den letzten Jahrzehnten verschiedene Verfahren entwickelt (Brachytherapie, Laparoskopie, Kryoablation). Jedoch ist mit den nicht- bzw. minimalinvasiven Verfahren oft nur bedingt eine kurative Therapie möglich. So gewinnen bei der Suche nach neuen Therapien auch gentherapeutische Ansätze an Wichtigkeit. Dazu wurden für den Gentransport in den letzten Jahren verschiedene virale und nichtvirale Vektoren entwickelt. Dabei ist der klinische Einsatz der Gentherapie oft durch geringe Effektivität und Spezifität ebenso wie durch immunologische Probleme bei viralen Vektoren gekennzeichnet. In dieser Arbeit wurde unter standardisierten Bedingungen, die Durchführbarkeit einer mit akustischen Energie induzierten Transfektion untersucht. Übergreifendes Ziel war es, ein neues Transfektionsverfahren zu etablieren und die beeinflussenden Faktoren der Transfektionsrate in standardisierten Protokollen an in-vitro und in-vivo Modellen zu untersuchen.

Drei verschiedene Zelllinien (Prostata und Urothelkarzinom, Nierenzelllinie) wurden mit verschiedenen Formen akustischer Energie transfiziert. Der Effekt von verschiedenen Parametern der elektromagnetischen Stoßwelle wurde ebenso in einem standardisierten Protokoll untersucht wie die Transfektion mit dem fokussiertem Ultraschall und der elektrohydraulischen Stoßwelle (Impulsanzahl, Frequenz, Energieflußdichte, Plasmidkonzentration). Die Analyse der Transfektionsrate des Reportergens (pEGFP) erfolgte per FACScan. Die Transfektion mit Lipofektamin und Elektroporation wurde als positive Kontrollgruppe durchgeführt. Für die Untersuchungen zur Transfektion von soliden Tumoren in-vivo wurde ein Prostatakarzinom Modell mit Copenhagen Ratten verwendet. Nach der subkutanen Implantation von MatLu Dunning Prostatakarzinomzellen und Tumorwachstum erfolgte die direkte Injektion von pEGFP-DNA Plasmiden. Die Tumoren wurden mit elektromagnetischer Stoßwelle mit verschiedenen Parametern behandelt. Nach der Aufarbeitung der Tumoren und Zellisolation erfolgte die Analyse der Transfektionsrate mit dem FACScan.

Alle Zelllinien konnten mit akustischer Energie transfiziert werden. Das Maximum der Transfektionsrate lag bei der Behandlung mit dem fokussierten Ultraschall bei 49.5% (200 W, 500 ms, 200 µg/ml DNA). 31.3% der Zellen konnten mit der elektromagnetischen Stoßwelle transfiziert werden (1500 Impulse, 200 µg/ml DNA, 0.5 mJ/mm² Energieflußdichte, 2 Hz). Plasmid Strangbrüche stellten sich als ein limitierender Faktor der Transfektion mit akustischer Energie heraus. Auch in der intratumoralen Injektion von Plasmiden konnten 4,6 % der Zellen mit der Stoßwelle in der Behandlungsgruppe (2000 Impulse, 0.5 mJ/mm² Energieflußdichte, 2 Hz), im Gegensatz zu 0.1% in der Kontrollgruppe transfiziert werden.

Die Transfektion mit akustischer Energie ist mit dem fokussierten Ultraschall und der elektromagnetischen Stoßwelle bei verschiedenen Zelllinien auf hohem Niveau reproduzierbar. Ebenso ist die Transfektion von soliden Tumoren im in-vivo Modell möglich. Vor allem durch die geringen Nebenwirkungen und einfache Anwendung der Stoßwelle ist die Transfektion mit akustischer Energie eine vielversprechende Möglichkeit zur Gentherapie. Die Aktivierung von Prodrugs oder die Suizid Gentherapie sind mögliche Felder zur Entwicklung neuer Therapiemöglichkeiten beim Prostatakarzinom.