

Rui Sun

Dr. med.

## **Physikalische und biologische Charakterisierung SPIO- und USPIO-markierter Zellen**

Geboren am 24.04.1978 in Heilongjiang, VR China

3.Staatsexamen am 12.05.2006 an der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg

Promotionsfach: Radiologie, DKFZ (Deutsches Krebsforschungszentrum)

Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. F. Kiessling

SPIO und USPIO sind superparamagnetische Eisenoxidpartikel verschiedener Größe und Oberflächenbeschichtung für die MR-Tomographie. Sie bewirken eine starke Verkürzung der  $T_2$ - und  $T_2^*$ -Relaxationszeit und eine mäßige Verkürzung der  $T_1$ -Relaxationszeit. Klinisch werden (U)SPIO häufig als intravenös applizierte Kontrastmittel für die Diagnostik von Tumoren der Leber und Milz verwendet. Ferner werden (U)SPIO für die Lymphknotendiagnostik, Gefäßdiagnostik, Erfassung der Gewebepfusion sowie Hyperthermiebehandlung bei Tumoren eingesetzt. Experimentell sind (U)SPIO für die magnetische Markierung von Zellen sowie deren in vivo Tracking mittels MRT sehr gut geeignet.

In dieser Arbeit wurden drei verschiedene Zelllinien (hämatopoetische Lewis-Ratten-Progenitorzellen (LPC), humane mesenchymale Fibroblasten (MSU), epitheliale humane Hepatokarzinomzellen (HEP-G2)) mit SPIO und USPIO inkubiert. Untersucht wurden die Aufnahmegeschwindigkeit, Aufnahmemenge, intrazelluläre Lokalisation, Toxizität und die intrazelluläre Verweildauer der Partikel sowie der Proliferationsindex inkubierter und nicht inkubierter Zellen.

Die Aufnahme von (U)SPIO war zeit- und konzentrationsabhängig. Histologisch konnte die SPIO-Aufnahme bereits nach 20-minütiger Inkubation beobachtet werden. In der Berliner Blau- und Kernechtrot-Färbung stellten sich Eisenpartikel als feine blaue Granulae dar, die sich zum größten Teil perinukleär befanden. In der TEM waren verschiedene Schritte der Endozytose und eine überwiegende Anreicherung der Partikel in den großen lysosomalen Kompartimenten zu erkennen. Als Aufnahmemechanismen schienen die Phagozytose für SPIO-Partikel und Pinozytose für USPIO-Partikel bedeutsam zu sein. Die Zellmarkierung war mehr als 15 Tage nach der Inkubation histologisch noch nachweisbar. Die Trypanblaufärbung und der Proliferationsindex ließen keine zytotoxischen Effekte erkennen.

SPIO wurde von allen Zelllinien besser und schneller aufgenommen als USPIO. Nach 5 Stunden Inkubation mit 3,0  $\mu\text{mol Fe/ml}$  SPIO wurde der höchste intrazelluläre Eisengehalt in HEP-G2-Zellen, gefolgt von LPC Zellen und von MSU-Zellen nachgewiesen. Nach 5 Stunden Inkubation mit USPIO in gleicher Konzentration wurde der höchste intrazelluläre Eisengehalt in LPC-Zellen, gefolgt von HEP-G2-Zellen und von MSU-Zellen beobachtet. Erst 10 Tage nach der Inkubation zeigte sich in der Berliner Blaufärbung eine signifikante Abnahme des intrazellulären Eisengehalts sowohl für SPIO als auch für USPIO. Fünfzehn Tage nach der Inkubation wurde ein niedrigerer intrazellulärer Eisengehalt bei inkubierten Zellen als bei Kontrollzellen gefunden.

Die  $T_2$ -Relaxationszeiten der markierten Zellpellets zeigten eine zeit- und konzentrationsabhängige Abnahme. Diese Ergebnisse stimmen mit der histologisch beobachteten zeit- und konzentrationsabhängigen Aufnahme von (U)SPIO überein. Für alle Zelllinien zeigten sich 5 Stunden nach Inkubation mit 3,0  $\mu\text{mol Fe/ml}$  SPIO  $T_2$ -Relaxationszeiten unterhalb der Messgrenze ( $< 3$  Millisekunden). Eine effektive magnetische Zellmarkierung bestand für mehr als 6 Tage nach Inkubation, was ein notwendiges Zeitfenster für das nichtinvasive in vivo Zell-Tracking gewährleistet.

Die vorliegende Arbeit zeigt, dass die verwendeten SPIO und USPIO toxikologisch unbedenklich sind und sich für eine magnetische Zellmarkierung eignen. Aufgrund der stärkeren Aufnahme und ausreichend langen intrazellulären Verweildauer ist jedoch SPIO (SHU 555 A) für eine unselektive Zellmarkierung besser geeignet als USPIO (SHU 555 C).