



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

**Perfluorhexyloctan-(F6H8)-Emulsionen zur intravenösen
Anwendung : Einfluß verschiedener Tenside auf die in vitro
Inflammation, Biokompatibilität und potentieller
Medikamententransport**

Autor: Friedrich Anger
Institut / Klinik: Institut für Anästhesiologie und Operative Intensivmedizin
Doktormutter: Prof. Dr. G. Beck

Einleitung: Semifluorierte Alkane (SFA) sind wie die Perfluorocarbone (PFC) als inert, untoxisch und biokompatibel beschrieben. Die SFA bieten als Diblockmoleküle im Vergleich zu den chemisch verwandten PFC die Möglichkeit neben Sauerstoff auch lipophile oder wasserunlösliche Arzneistoffe zu lösen. Weiterhin lassen sich mit SFA langzeitstabile Emulsionen herstellen. Somit bieten semifluorierte Alkane alle Grundvoraussetzungen, um als intravenöse Trägersubstanz dienen zu können. In dieser Arbeit wurden im Rahmen von in vitro Experimenten die Auswirkungen stabiler Emulsionen des SFA Perfluorhexyloctan (F6H8) auf humane Endothelzellen, Vollblut, PBMC und Monozyten untersucht. Ziel dieser Arbeit war es die zelluläre Biokompatibilität der Emulsionen zu vergleichen und die Möglichkeit eines Medikamententransports am Beispiel von N-Octanoyl-Dopamin (NOD) zu testen.

Material und Methoden: Humane Endothelzellen (HUVEC), Vollblut, PBMC und Monozyten wurden in Zellkultur überführt und anschließend mit verschiedenen Konzentrationen der drei F6H8-Emulsionen inkubiert. Als Kontrolle dienten die entsprechenden Tensidlösungen ohne F6H8 und reines Zellkulturmedium. Für einige Experimente wurden die Zellkulturen zeitgleich mit LPS stimuliert. Nach 24 Stunden wurden die Zellen auf Zytokinproduktion, Apoptose und Interaktion mit der Emulsion untersucht. Die Quantifizierung von IL-6, IL-8 und TNF- α konnte mittels ELISA erfolgen. Eine mögliche Apoptose der PBMC wurde über den Marker Annexin V in der Durchflusszytometrie analysiert. Nach Inkubation mit fluoreszenzmarkierten Emulsionen entstanden, sowohl Aufnahmen von Monozyten unter dem Fluoreszenzmikroskop, als auch eine Analyse von HUVEC in der Durchflusszytometrie. Für den Versuch des Medikamententransports wurden HUVEC mit NOD, gelöst in einer F6H8-Emulsion oder dispergiert in EtOH, inkubiert. Den Einfluss von NOD auf seine Zielproteine der HUVEC erfassten wir dann im Verfahren des Western Blot.

Ergebnisse: Alle verwendeten F6H8-Emulsionen wurden von den Monozyten respektive PBMC in unterschiedlichem Maße phagozytiert. Ebenso scheinen HUVEC die F6H8-Emulsionen, in Abhängigkeit des verwendeten Emulgators, unterschiedlich aufzunehmen. In hohen Konzentrationen wird die Zytokinproduktion der HUVEC durch alle getesteten F6H8-Emulsionen unterdrückt. Pluronic F68 und Tween80 stabilisierte F6H8-Emulsionen sowie die dazugehörigen Tensidlösungen steigern die TNF- α -Produktion in unstimuliertem Vollblut. In LPS stimuliertem Vollblut hemmt F6H8-Pluronic F68 hingegen die TNF- α -Produktion. F6H8-Pluronic F68 und -Lecithin S75 induzieren eine Apoptose von Monozyten. Zusammenfassend haben die Lecithin S75 und Tween80 stabilisierten F6H8-Emulsion die geringsten immunologischen Auswirkungen auf die hier untersuchten Zelllinien. Alle beschriebenen Effekte sind konzentrationsabhängig und treten vor allem unter hohen Konzentrationen (4-0,4%) der F6H8-Emulsionen auf. Zudem steigert F6H8-Tween80 in einer HUVEC-Kultur die Bioverfügbarkeit von NOD gegenüber einer NOD-Ethanol-Dispersion.

Diskussion: Seit der ersten Vorstellung von F6H8 wurden zahlreiche experimentelle Versuche durchgeführt, die zeigen, dass reines F6H8 inkubiert mit diversen Zellreihen eine geringe bis keine Zelltoxizität aufweist. Dennoch ist F6H8 bis dato nur in der Augenheilkunde als Gemisch mit Silikonöl zur Langzeit-Endotamponade zugelassen. Arbeiten die F6H8-Emulsionen außerhalb ihrer Anwendung auf diesem Gebiet untersuchen, gibt es nur wenige. In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass die Biokompatibilität von F6H8-Emulsionen in entscheidendem Maße von der Qualität und Quantität des zur Stabilisation verwendeten Emulgators abhängt. Zudem scheinen hohe Konzentrationen (4-0,4 %

w/v F6H8) im Zuge einer vermehrten Inkorporation der Emulsionströpfchen in das Zytosol die getesteten Zellreihen zu beeinträchtigen. Der Medikamententransport, am Beispiel von NOD mittels F6H8-Emulsionen, ist in vitro durchführbar, aber durch die eingeschränkte Biokompatibilität der Emulsionen in seiner Dosierung limitiert.

Schlussfolgerung: Anhand der vorliegenden Ergebnisse wird evident, dass Perfluorhexyloctan-Emulsionen konzentrationsabhängig inflammatorische Reaktionen an HUVEC, Monozyten und Vollblut auslösen können. Diese sind bei 0,04 % w/v F6H8-Lecithin und F6H8-Tween80 im Vergleich zur Mediumkontrolle auf ein Minimum reduziert. Inwiefern diese Emulsionen den physiologischen Organismus beeinflussen, sollte im Tiermodell untersucht werden.