



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

Wechselwirkung zwischen Chitosan-Nanokapseln und dem Endothel unter statischen und dynamischen Bedingungen

Autor: Julia Hummel
Institut / Klinik: Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie
Doktorvater: Prof. Dr. S. W. Schneider

Die Verpackung von Biomolekülen wie z.B. messenger-RNA oder Medikamenten wie z.B. Chemotherapeutika in Nanopartikel ist ein gängiges Verfahren in der Nanomedizin. Entsprechende Nanopartikel werden unter anderem bereits in der Krebstherapie oder zur Impfung gegen SARS-CoV-2 eingesetzt. Nanometrischen Wirkstoffvehikel werden genutzt, um die verpackten Biomoleküle vor dem vorzeitigen Abbau durch z.B. Ribonukleasen zu schützen oder um hydrophobe Medikamente in einer wässrigen Lösung zu stabilisieren. Die praktische Handhabung nanomedizinischer Formulierungen im klinischen Alltag und der therapeutische Effekt der transportierten Substanz hängen maßgeblich von der Stabilität des Nanopartikels und seiner Wechselwirkung mit dem biologischen System ab. Aufgrund ihrer geringen Größe können Nanopartikel biologische Barrieren wie die Blut-Gewebe-Schranke überwinden und von Zellen internalisiert werden. Dies kann sowohl therapeutisch genutzt werden, aber auch zu unerwünschten Nebenwirkungen führen. Doch bei der Testung von Nanomaterialien wird der Fokus selten auf die Wechselwirkung zwischen physiologischem und pathophysiologischem Endothel und den Partikeln gelegt. Auch der Einfluss des Blutflusses auf die Interaktion von im Blut zirkulierender Nanopartikel und der Gefäßwand sind weitestgehend unbekannt. In der hier vorliegenden Arbeit wurde daher die Wechselwirkung von Chitosan-Nanokapseln (Chi-NK) mit humanen Endothelzellen unter statischen Versuchsbedingungen und unter (patho-) physiologischen Blutflussbedingungen untersucht. Der Einfluss einer prokoagulatorischen Endothelzellaktivierung und insbesondere die dabei ablaufende Freisetzung des von-Willebrand-Faktors (vWF) auf die Interaktion zwischen Chi-NK und Endothel stand im Fokus der Flussexperimente. Der vWF ist ein hochmolekulares Glykoprotein, welches nach seiner Freisetzung Scherkraft-abhängig gestreckt wird und Thrombozyten aus dem Blutstrom rekrutiert.

Unter statischen Bedingungen kam es zu einer Dosis- und Zeit-abhängigen Aufnahme der Chi-NK in die Endothelzellen. In Immunfluoreszenzfärbungen war eine perinukleäre Akkumulation erkennbar. Durchflusszytometrische Messungen zeigten, dass geringe Chi-NK Konzentrationen ($< 0,33 \cdot 10^{12}$ Partikel/ml) nicht zytotoxisch waren. Höheren Chi-NK Konzentrationen ($> 0,33 \cdot 10^{12}$ Partikel/ml) zeigten eine Zeit-, als auch Konzentrations-abhängige Toxizität. Behandlungen mit verschiedenen Endozytoseinhibitoren deuteten darauf hin, dass Chi-NK hauptsächlich Clathrin-abhängig in die Endothelzellen aufgenommen wurden.

In mikrofluidischen Flusskammern wurden in weiteren Versuchen der Einfluss des Blutflusses und die prokoagulatorischen Endothelzellaktivierung auf die Wechselwirkung zwischen Gefäßwand und Chi-NK untersucht. Im Gegensatz zu den statischen Versuchsbedingungen lagerten sich unter unidirektionalen Strömungsbedingungen von 6 dyn/cm^2 weniger Chi-NK an der Endothelzelloberfläche an. Nach Freisetzung des vWF durch Stimulation der Endothelzelle mit $50 \mu\text{M}$ Histamin ist allerdings eine deutliche endotheliale Anreicherung der Chi-NK über den durch den Blutfluss gestreckten, fadenförmigen vWF zu erkennen.

Aufbauend auf diesen Arbeiten soll in zukünftigen Versuchen evaluiert werden, ob sich Chi-NK für den Transport von Krebsmedikamenten im präklinischen Tiermodell eignen. Die hier beschriebene vWF-vermittelte Kumulation von Chi-NK am Endothel zeigt auf, dass sich blutzirkulierende Nanopartikel besonders in gerinnungsaktivierten Gefäßabschnitten anreichern. Dies ist insbesondere für zukünftige Therapieansätze interessant, da bekannt ist, dass in Tumoren und Metastasen des Melanoms vWF-Fäden gehäuft im Gefäßlumen vorkommen und somit eine Anreicherung antitumoral wirkender Substanzen im Tumorgefäß ermöglichen.