

Xiaoyin Gu  
Dr. med.

## Evaluation der tumorspezifischen MRT-Kontrastmittel NanoTarg und BS-Gad am Prostatakarzinom der Ratte

Geboren am 27.04.1979 in Harbin/China  
Staatsexamen am 14.06.05 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Radiologie  
Doktorvater: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Jürgen Debus

Im Rahmen dieser Arbeit wurden zwei neuartige Kontrastmittel für die Magnet-Resonanztomographie (MRT) im Tierversuch evaluiert. Hierzu wurden die Substanzen mit den Entwicklungsnamen NanoTarg, einer Mischung von Tf-Liposomen mit konventionellem MRT-Kontrastmittel Magnevist<sup>®</sup>, bzw. BS-Gad, einem Gadolinium-cys-(c-myc-spezifischen PNA-)Komplex, mit den in der klinischen Routine eingesetzten Kontrastmitteln Magnevist<sup>®</sup> bzw. Omniscan<sup>®</sup> verglichen.

Die konventionellen MRT-Kontrastmittel Magnevist<sup>®</sup> und Omniscan<sup>®</sup> sind hydrophile Substanzen mit Gadolinium-DTPA, welche die Zellmembran nicht überwinden können und ausschließlich in den Extrazellulärraum des Gewebes gelangen.

Das MRT-Kontrastmittel NanoTarg besteht aus Tf-Liposomen und Gadolinium-DTPA. Der Tf-Lipoplex ermöglicht einen tumorzielten intrazellulären Transport und wurde bereits in der Tumorthherapie eingesetzt. BS-Gad besteht aus Gadolinium, einer c-myc-spezifischen Peptid-Nukleinsäure (PNA) sowie einer Transmembran-Peptid-Einheit (TPU). Aufgrund ihrer besonderen Struktur erfüllen beide Kontrastmittel die Voraussetzung für das *molecular imaging*, dabei fungiert Gadolinium als Signalmolekül bei der MRT und der Tf-Lipoplex bzw. der Cys-[c-myc-spezifischer PNA]-Komplex als Trägermolekül. Daher war eine spezifische Verbindung mit den Tumorzellen, eine gute Tumorzell- und sogar Zellkerngängigkeit und somit eine Signalintensitätszunahme speziell im Tumorgewebe sowie eine Langzeitanreicherung (*proof-of-principle*) im Vergleich zur alleinigen Gabe von Gadolinium-DTPA zu erwarten.

Als Tier- bzw. Tumormodell wurde der Dunning-Prostatatumor von Copenhagen-Ratten verwendet. Die Versuche wurden in einem speziellen 2,4-T-Tier-MRT-Scanner sowie einem klinischen 1,5-T-MRT durchgeführt.

Im Einzelnen wurden für die neuen Kontrastmittel in einer Dosis-Eskalations-Studie die jeweils optimale Dosis sowie der optimale Zeitpunkt für die MRT-Messung im Tumor nach systemischer Gabe des jeweiligen MRT-Kontrastmittels ermittelt. Hierbei wurden die Kontrastmitteldynamik, Sensitivität und Spezifität der neuen Kontrastmittel im Vergleich zu Magnevist<sup>®</sup> und Omniscan<sup>®</sup> untersucht sowie subjektiv und objektiv bewertet.

Der Signalintensitätsunterschied im Tumorgewebe nach Applikation von NanoTarg bzw. Magnevist<sup>®</sup> war subjektiv nicht festzustellen. Nach der Applikation von 0,1 ml/kg KG einer modifizierten NanoTarg-Formulierung, trat vier Stunden nach Applikation eine erneute leichte Anreicherung im Tumorgewebe auf. Die lange Anreicherungszeit kann als Hinweis gedeutet werden, dass eine schwache intrazelluläre Anreicherung stattgefunden hat.

Für die objektive Analyse der NanoTarg-Versuchsreihe wurden Zeit-Signal-Intensitätskurven erstellt und mithilfe des 2-Kompartiment-Modells analysiert. Hierbei zeigte NanoTarg eine leichte Zunahme der Signalamplitude, eine späte Akkumulation sowie eine größere Austauschratenkonstante als Magnevist<sup>®</sup>. So war die Signalamplitude bei einer NanoTarg-Dosis von 0,3 ml/kg KG im Vergleich zur Magnevist<sup>®</sup> signifikant größer. Bei einigen NanoTarg-Versuchen kam es nach 83 min zu einer erneuten Anreicherung, d. h. eine späte Akkumulation, auf. Das lässt den Schluss zu, dass sich das NanoTarg möglicherweise vermehrt an die Transferrinrezeptoren (TfR) in den Tumorzellen bindet und dadurch nicht ausgeschieden wird. Die Austauschratenkonstante ( $K_{21}$ ) zeigt an, wie rasch sich die Kontrastmittelkonzentration im Gewebe der Konzentrationsänderung im Plasma anpasst. Nach Applikation von 0,1 ml/kg KG bzw. 0,2 ml/kg KG lag ein durchschnittlich kleinerer  $K_{21}$ -Mittelwert im Vergleich zu Magnevist<sup>®</sup> vor, der zeigte, dass sich NanoTarg langsamer im Tumor anreichert und nachfolgend langsamer aus dem Tumor eliminiert wird. So wird die Theorie gestützt, dass sich NanoTarg intrazellulär anreichert und dadurch langsamer ausgeschieden wird. Bei höherer Konzentration (0,3 ml/kg KG) verhält sich NanoTarg wie Magnevist<sup>®</sup>. Eine mögliche Ursache könnte die begrenzte Anzahl von TfR sein, entsprechend ist der  $K_{21}$ -Wert hoch.

Auch in In-vitro-Versuchen an Tumorzellen, konnte kein signifikanter Unterschied zwischen NanoTarg und Magnevist<sup>®</sup> festgestellt werden.

Bei den BS-Gad-Versuchen wurde eine Dosis-Eskalations-Studie mit BS-Gad im Vergleich zu Omniscan<sup>®</sup> durchgeführt. Um die spezifische bessere Verbindungsmöglichkeit von Tumorzellen durch c-myc-spezifische PNA nachzuweisen, wurde außerdem als Vergleich eine c-myc-nicht spezifische PNA genutzt. Nach BS-Gad-Applikation (c-myc-spezifisch bzw. c-myc-nicht spezifisch) in verschiedenen Dosierungen (höchste Dosis: 3 mg/Ratte) konnte keine wahrnehmbare Anreicherung im Tumorgewebe festgestellt werden. Demgegenüber war schon bei einer Omniscan<sup>®</sup>-Applikation von 0,01 ml eine deutliche Kontrastanreicherung zu beobachten. Möglichen Ursachen für die nicht erfolgte Kontrastmittelanreicherung von BS-Gad innerhalb des Tumorgewebes könnten die umgedrehte Synthese der Transporteinheit, der geringe Anteil an der Markersubstanz Gadolinium sowie die deutlich komplexere Situation unter In-vivo-Bedingungen sein.

In der vorliegenden Form ist mit den zwei getesteten Substanzen NanoTarg bzw. BS-Gad keine gewebespezifische Bildgebung von Tumorzellen möglich. Beide Substanzen zeigen entweder keinen Unterschied zu den schon vorhandenen und in der klinischen Routine eingesetzten Kontrastmitteln Gadolinium bzw. Omniscan<sup>®</sup> oder überhaupt keine Kontrastanhebung nach Injektion. Da beide getesteten Substanzen ihre Zellspezifität in vitro unter Beweis gestellt haben, ist eine weiterführende Analyse der postulierten Wirkungsmechanismen notwendig.