



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

Entwicklung einer neuen Methode zur effizienten Aufnahme von Goldnanopartikeln zur Strahlensensibilisierung von Tumorzellen

Autor: Nina Burger
Institut / Klinik: Klinik für Strahlentherapie und Radioonkologie
Doktorvater: Prof. Dr. F. Wenz

Ein Ansatz zur Verbesserung der therapeutischen Breite der Strahlentherapie ist die Nutzung von Materialien mit einer hohen Ordnungszahl zur Radiosensibilisierung von Tumorzellen. Durch höhere Energieabsorption während der Bestrahlung entstehen zusätzliche Sekundärelektronen. Bei Verwendung von Nanopartikeln sind vor allem die sog. Auger-Elektronen aufgrund ihrer geringeren Reichweite von Bedeutung, da sie den DNA-Schaden am direkt umliegenden (Tumor-) Gewebe erhöhen. Goldnanopartikel (GNP) scheinen aufgrund ihrer vielfältigen Eigenschaften und Modifikationsmöglichkeiten für diesen Einsatz prädestiniert zu sein. Bisherige Studien haben gezeigt, dass sowohl die passive zelluläre Aufnahme (Optimum ca. 50 nm) und intrazelluläre Retention von unmodifizierten Goldnanopartikeln als auch die erreichbare Radiosensibilisierung stark vom Partikeldurchmesser abhängig ist. Theoretischen Annahmen zufolge generieren Bestrahlungsenergien im kV-Bereich bei Verwendung von GNP die größten Effekte, *in vitro* zeigte sich jedoch auch im klinisch regelhaft angewendeten MV-Bereich eine relevante Radiosensibilisierung.

Daraus ergab sich als Hauptziel der Arbeit die Etablierung einer neuen Methode mit der GNP größenunabhängig effektiv in Tumorzellen eingeschleust werden können um deren Einsatz als Radiosensitizer voran zu bringen. Die entwickelte Methode beruht in der Beschichtung von GNP mit DNA-Fragmenten und anschließende (*in vitro*) Transfektion (GNP-DT) der beschichteten Partikel in Tumorzellen.

Hierzu wurden Thiol-markierte DNA-Primer zur Herstellung der DNA-Fragmente (0,3 kbp oder 1,1 kbp) verwendet und diese anschließend an die GNP (7,5 nm) kovalent gekoppelt. Nach Transfektion der GNP-DNA-Konstrukte in HeLa-Zellen (humane Zervixkarzinomzellen) wurden die Toxizität der Methode im Kurz- und Langzeitvergleich und die Lokalisation und Menge der Partikel in den Zellen untersucht. Um die Radiosensibilisierung durch die GNP zu bestimmen, wurde das klonogene Überleben der behandelten HeLa-Zellen nach Bestrahlung mit 6 MV Photonen bestimmt.

Die GNP alleine führten zu keiner relevanten Toxizität, bei Anwendung von Transfektion konnte ein Anstieg der Toxizität (15-30% verringerte Zellvitalität) verzeichnet werden, der in der GNP-DT-Gruppe auch über längere Zeit nachweisbar war. Die GNP-DT befanden sich nach Transfektion bevorzugt perinukleär und in zytoplasmatischen Vesikeln akkumuliert. Die Transfektion von unbeschichteten GNP (GNP-T) führte zu einer feineren, homogeneren intrazelluläre Verteilung der GNP. Die alleinige Behandlung mit GNP führte, wie aufgrund der suboptimalen Größe zu erwarten war, zu keiner relevanten Retention von GNP in den Zellen (GNP: 430 ± 2845 GNP/Zelle vs. GNP-DT-0,3: 10925 ± 1954 GNP/Zelle). Eine signifikante Radiosensibilisierung von HeLa-Zellen nach 6 MV Bestrahlung ließ sich nur in der mit GNP-DT behandelten Gruppe feststellen (GNP-DT-0,3 vs. Kontrolle (Co.): max. DMF_{4Gy} : $1,25 \pm 0,14$, $p = 0,039$). Beim Einsatz von kürzeren DNA-Fragmente zeigte sich die größte Radiosensibilisierung (GNP-DT-1,1 vs. Co.: max. DMF_{6Gy} : $1,09 \pm 0,09$), es zeigte sich eine signifikant niedrigere Überlebensrate (SF) im Bereich von 2 bis 8 Gy. (GNP-DT-0,3 vs. GNP-DT-1,1, $p = 0,03$).

Die in dieser Arbeit neu entwickelte Methode ermöglicht somit die effektive Aufnahme und Retention von GNP in Zellen. Mithilfe dieser Methode wird es möglich GNP unterschiedlicher Größe hinsichtlich ihres radiosensibilisierenden Potentials zu untersuchen. Durch Modifikation weiterer Eigenschaften des GNP-DNA-Konstruktes, wie der DNA-Menge, der Anzahl an Thiol-Gruppen, der GNP-Größe, der Liganden an DNA oder GNP und der Transfektionsreagenz, sind noch viele weitere Einsatz- und Optimierungsmöglichkeiten realisierbar.