

7 Zusammenfassung

Die hier vorgelegte Arbeit beschäftigt sich im Wesentlichen mit zwei Aspekten der Plasmaproteinadsorption. Zum einen wurde anhand von zwei unterschiedlichen Modellnanopartikeln untersucht wie sich das Adsorptionsverhalten von Proteinen durch Veränderung der physikochemischen Parameter, bei gleichen chemischen Eigenschaften, beeinflussen lässt. Im zweiten Teil wurde eine enge Korrelation zwischen der Plasmaproteinadsorption auf arzneistoffhaltigen Nanopartikeln und dem im Tierversuch festgestellten in-vivo-Verhalten erstellt.

Im Rahmen der Untersuchungen der Styrenpartikel wurden eine an Reihe Informationen gewonnen. Zum ersten Mal konnte anhand von Kalibriergeraden die genaue Menge der einzelnen Plasmaproteine auf PEGylierten Nanopartikeln bestimmt werden. Hier hat sich eine deutliche Diskrepanz gezeigt zwischen der tatsächlichen Zusammensetzung der Proteine auf den Partikeln und dem Wert, der von der Auswertungssoftware MELANIE 3 errechnet wird. Besonders auffallend war hier der Unterschied bei Albumin. Es stellt bereits bei Werten von unter 10 %Vol das auf der Partikeloberfläche dominierende Protein dar. Die vermutete Funktion des Albumins als Dysopsonin konnte erneut bekräftigt werden. Das Gegenteil trifft für das Fibrinogen zu. Obwohl man eine stärkere Färbung der drei Fibrinogenketten feststellen konnte, lag sein tatsächlicher Anteil weit unter dem Wert der mit MELANIE 3 berechnet wurde.

Der zweite Styrenpartikel-Typ hatte auf der Oberfläche Ketten, die eine positive Ladung besaßen. Obwohl es sich hier um extrem hydrophile Partikel handelte, konnte eine sehr hohe Proteinadsorption festgestellt werden. Da sich hier keine hydrophoben Wechselwirkungen ausbilden können, kann man davon ausgehen, dass die Proteinadsorption im Fall der kationischen Partikel über Ladungwechselwirkungen stattfindet. Die meisten adsorbierten Proteine haben allerdings opsonisierende Eigenschaften. Eine Anwendung als i.v.-Injektion erscheint deshalb als nicht sinnvoll.

Der größte Teil der Arbeit beschäftigt sich mit der Proteinadsorption auf PBCA-Partikeln auf deren Oberfläche Doxorubicin adsorbiert wurde. Im Rahmen einer Tierstudie, die von einer 2-D PAGE-Studie begleitet wurde, konnten einige entscheidende neue Erkenntnisse gewonnen werden.

Zunächst konnte festgestellt werden, dass sich die Plasmaproteinmuster von Partikeln, die mit Poloxamer 188 inkubiert waren, von denen, die mit Polysorbat 80 vorbehandelt wurden kaum unterscheiden. Dasselbe galt für die Wirksamkeit der Partikel *in vivo*. Diese Tatsache kann als Beweis für die unmittelbare Beteiligung einiger Plasmaproteine am Transport des Doxorubicins über die Blut-Hirn-Schranke gewertet werden. Allerdings musste festgestellt werden, dass nicht nur ApoE für ein Gehirn-Targeting verantwortlich ist. Da sich auf den Pherogrammen der Doxorubicin-haltigen PBCA-Partikel keine Spuren von ApoE fanden, die Wirksamkeit der Partikel im Tierversuch aber nachgewiesen werden konnte, müssen andere Proteine eine Überwindung der BBB ermöglichen. Auf den Gelen beider Nanosuspensionen konnten signifikant hohe Mengen an ApoA-I und ApoJ detektiert werden. Beide Plasmaproteine sind Liganden für Rezeptoren, die sich auf den Endothelzellen der Blut-Hirn-Schranke befinden. ApoA-I bindet an dem sogenannten Scavenger-Rezeptor Klasse B, Typ I (SR-BI), der die Cholesterylester, die sich in ApoA-I befinden, aufnimmt und zur Spaltung in die Zelle transportiert. Das ApoJ ist Ligand für Megalin, ein Rezeptor, der endozytotisch ApoJ ins Ablumen transportiert. ApoJ würde analog zu ApoE die Endozytose des gesamten Nanopartikels in die Endothelzelle vermitteln, während ApoA-I den Nanopartikel vor der Endothelzelle „parken“ würde. Durch Abbau des PBCA würde der Arzneistoff freigesetzt werden und durch den entstehenden Konzentrationsgradienten der Arzneistoff in das Ablumen diffundieren. Beides ist theoretisch denkbar, jedoch erscheint der Weg über ApoA-I, das sich in höherer Konzentration auf den Partikeln fand, für die Zellen schonender. Die in dieser Arbeit erhaltenen Ergebnisse haben die Bedeutung von ApoE für ein Gehirn-Targeting nicht widerlegt, sondern lediglich um weitere Plasmaproteine erweitert. Mitte der neunziger Jahre war der SR-BI als Rezeptor für ApoA-I noch nicht bekannt und konnte deswegen nicht in die Überlegungen mit einbezogen werden. Die gewonnenen Erkenntnisse über ApoA-I werden auch durch die Ergebnisse, die Gessner bei der Proteinanalyse von „Lipid Drug Conjugates“-Nanopartikeln gezeigt hatte, erhärtet (Gessner, Olbrich et al. 2001). Entsprechende

Tierstudien bezüglich des Nachweises der Beteiligung von ApoA-I und ApoJ beim Transport von Arzneistoffen in das Gehirn sind in Vorbereitung.

Allerdings konnte auch gezeigt werden, dass die Proteinmuster auf den Nanopartikeln nach Inkubation mit Plasma species-abhängig sind. So waren die Adsorptionsmuster bei Ratten- und Humanplasma eher unterschiedlich.

Sollte ApoA-I wirklich den Transport in die Gehirne der Ratten vermittelt haben, so wird dies im menschlichen Körper mit hoher Wahrscheinlichkeit nicht der Fall sein, da nur wenig ApoA-I auf den Gelen der Partikel, die in Humanplasma inkubiert wurden, vorhanden ist. Es gibt hier definitiv große Unterschiede – wenigstens in der Adsorptionskinetik. Der Aspekt der species-abhängigen Proteinmuster auf nanopartikulären Arzneistoff-Trägersystemen muss bei der Durchführung und Bewertung erhaltener Ergebnisse zukünftig berücksichtigt werden.