

Aus der
**Klinik und Poliklinik für Allgemein-, Gefäß- und Thoraxchirurgie
des Universitätsklinikums "Benjamin Franklin"
der Freien Universität Berlin**
vorgelegt über das
**Institut für Veterinär-Anatomie
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin**

**Anreicherungsverhalten von Kontrastmittel und Zytostatika enthaltenden Liposomen
in der Leber von WAG/Rij-Ratten**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Susanne Lucas
Tierärztin aus Jena
Berlin 2000
Journal-Nr. 2381

Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan:	Univ.-Prof. Dr. Hartung
Erster Gutachter:	Univ.-Prof. Dr. habil. R. Berg
Zweiter Gutachter:	Univ.-Prof. Dr. Dr. h.c. L. C. Tung
Tag der Promotion:	29. 5.2000

Inhaltsverzeichnis

	Seite	
0	Abkürzungen wichtiger Fachbegriff	2
1	Einleitung und Problemstellung	4
2	Grundlagen	7
2.1	Anatomisch-funktionelle Grundlagen der Leber	7
2.2	Kolorektales Karzinom und die Ausbildung von Lebermetastasen	9
2.3	Behandlung von Lebermetastasen: Resektion und Alternativen	9
2.3.1	Systemische Chemotherapie	9
2.3.2	Lokoregionäre Therapie	10
2.3.3	Chemoembolisation	11
2.3.4	Drug Targeting	12
2.3.4.1	Liposomen	13
2.3.4.2	Abwehr und Liposomen	13
2.3.4.3	Stealth [®] Liposomen	14
2.3.5	Zytostatikum	15
2.3.6	Drug Carrier Embolisation System	16
2.4	Etablierung eines prognostischen Therapiemonitorings	17
2.5	Magnetresonanztomographie (MRT)	19
2.5.1	Kurze Einführung	19
2.5.2	Kontrastmittel in der MRT	21
2.5.3	Liposomal gebundene Kontrastmittel	21
3	Material und Methoden	25
3.1	Ziel und experimentelles Design	25
3.1.1	Fragestellung und Versuchsgruppen	25
3.1.2	Ablauf eigener Untersuchungen	26

Inhaltsverzeichnis

3.2	Versuchstiere	27
3.2.1	Herkunft und Haltung	27
3.2.2	Narkose	27
3.3	Tumorimplantation	27
3.3.1	Tumormodell, Charakterisierung und Herkunft der Tumorzellen	27
3.3.2	Aufarbeitung der Tumorzellsuspension	28
3.3.3	Tumorimplantation	29
3.4	Liposomenpräparation	30
3.4.1	Bestandteile des Liposomensystems	30
3.4.2	Herstellung der Liposomen	30
3.4.3	Applikation der Liposomenpräparationen	31
3.5	Magnetresonanztomographische Untersuchungen	32
3.5.1	Lagerung der Versuchstiere	32
3.5.2	Untersuchungsparameter	32
3.5.3	Datenerfassung und -auswertung	32
3.6	Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC)	34
3.6.1	HPLC-Anlage und Datenerfassung	34
3.6.2	Probenaufbereitung	35
3.7	Genehmigung der Tierversuche	35
4	Ergebnisse	36
4.1	Korrelation von Signal und Therapeutikumgehalt	36
4.2	Untersuchung der Kontrastmittelanreicherung	38
4.2.1	Kontrastmitteldynamik	38
4.2.2	Kontrastdynamik	40
4.3	Untersuchung des Anreicherungsverhaltens des Zytostatikums	45
4.3.1	Lokale und periphere 5-FU/M3-Anreicherung	45
4.3.2	Einfluß von Gd-DTPA auf die Anreicherung von 5-FU und M3	50

Inhaltsverzeichnis

4.4	Konzentrations-Signal-Verlauf	56
5	Diskussion	58
5.1	Diskussion von Material und Methodik	58
5.2	Diskussion der Ergebnisse	60
5.2.1	Korrelation von 5-FU-Konzentration und MR-Signal	60
5.2.2	Einfluß von 5-FU auf die Signalintensität im MRT-Bild	63
5.2.3	Kontrastentwicklung im MRT-Bild nach Applikation von Gd-DTPA-Liposomen	65
5.2.4	5-FU- und M3-Anreicherung unter dem Einfluß von Gd-DTPA	65
5.2.5	Einfluß der T2-Relaxivität von Gd-DTPA-Liposomen auf die Signalintensität im T1-gewichteten MRT-Bild	67
5.3.	Schlußfolgerungen	68
6	Zusammenfassung	71
7	Summary	73
8	Literaturverzeichnis	75
9	Anhang	86
9.1	Tabellen	88

Danksagung

Lebenslauf

Danksagung

Herrn Dr. med. G. Berger gilt mein Dank für die Überlassung des Themas sowie die immerwährende kompetente, innovative Unterstützung bei jeglicher Organisation und Durchführung dieser Arbeit. Des weiteren meinen Dank an die Radiologische Abteilung des Klinikums "Benjamin Franklin" der FU Berlin für die Möglichkeit der umfangreichen Messungen am Forschungstomographen.

Herrn Prof. Dr. med. vet. habil. R. Berg möchte ich für die rasche und unkomplizierte Übernahme der Betreuung von veterinärmedizinischer Seite und die hilfreiche Unterstützung bei der Fertigstellung danken.

Dank auch an Herrn Dr. med. U. Pohlen für die Geduld bei der Einarbeitung in die Implantationstechnik und Mikrochirurgie sowie an Frau Dr. Binnenhei für die unverzichtbare Unterstützung bei allen Fragen, die die HPLC betrafen.

Herrn Dr. Ebert, Schering AG Berlin, gilt mein besonderer Dank für das Überlassen der Gadolinium-Formulierung, die die Grundlage dieser Arbeit bildete.

Bei Frau Dr. rer. nat. S. Päuser möchte ich mich für die Anregung zu diesem Thema, die Einarbeitung in die MR-Technik und für die Unterstützung bei den Vorversuchen bedanken. Für die Beantwortung sämtlicher Fragen, die die MR-Technik betreffen, gilt mein Dank Herrn Dr. med. S. A. Schmitz, Herrn Dr. rer. nat. J. Bernarding und Herrn Dr. rer. nat. J. Braun sowie Frau Dr. vet. med. S. Wagner, die außerdem immer wertvolle Tips und Unterstützung bei tierexperimentellen Fragen zu geben hatte.

Meinen Dank an Frau Dr. Arndt, Institut für Biometrie und Informationsverarbeitung des Fachbereiches Veterinärmedizin der FU Berlin, für die Unterstützung und die hilfreichen Tips bei der statistischen Aufarbeitung des Datenmaterials.

Der Arbeitsgruppe "Drug Targeting", MDC, Berlin-Buch ein Dankeschön für die freundliche und rasche Anfertigung der jeweiligen Liposomen-Chargen sowie das Überlassen der CC531-Zellen.

Weiterhin möchte ich mich beim Team des Chirurgischen Forschungslabors, besonders bei Frau A. Pannhorst, für die freundliche und prompte Hilfe bei der Organisation der OP's und der Beschaffung von Arbeitsmitteln bedanken. Hier auch ein Dankeschön an Frau Urban für die Betreuung der Versuchstiere.

Einen herzlichen Dank an die Sonnenfeld-Stiftung, ohne deren finanzielle Unterstützung mit einem Promotions-Stipendium diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Meinen ganz besonderen Dank an Jens und Antje, die mir geduldig zuhörten und mich moralisch und fachlich unterstützten, wo sie konnten.

Lebenslauf

Name: Susanne Lucas

Geburtsdatum: 16. 07. 1970

Geburtsort: Sebnitz / Sachsen

Eltern: Johannes Lucas, Feinmechaniker
Dr. med. Christl Lucas, geb. Mors, Zahnärztin

01.09.1977-31.08.1987 Allgemeinbildende Polytechnische Oberschule
"Bertolt Brecht", Jena

1.9.1987-31.8.1989 Erweiterte Oberschule
"Johannes R. Becher", Jena

01.09.1989-31.08.1990 Vorpraktikum im Wissenschaftsbereich
Tierfütterung und Ernährungsschäden
der Sektion Tierproduktion und Veterinärmedizin,
Humboldt-Universität zu Berlin

01.09.1990-30.09.1992 Studium an der Humboldt-Universität zu Berlin,
Fachrichtung Veterinärmedizin

01.10.1992-10.04.1996 Studium an der Freien Universität zu Berlin,
Fachrichtung Veterinärmedizin

21.05.1996 Erteilung der Approbation als Tierärztin

15.06.1996-30.11.1999 Arbeit an der Dissertation in der Klinik und Poliklinik
für Allgemein-, Gefäß- und Thoraxchirurgie in Zusammen-
arbeit mit der Abteilung für Radiologische Diagnostik und
Nuklearmedizin des Universitätsklinikums
"Benjamin Franklin" der Freien Universität Berlin,
gefördert durch ein Stipendium der Sonnenfeld-Stiftung