

2 Grundlagen

2.1 Anatomisch-funktionelle Grundlagen der Leber

Durch einige spezielle Eigenschaften der Leber arbeitet dieses Organ, verglichen mit anderen Geweben, bezüglich der Aufnahme und Exkretion von Fremdstoffen (Zytostatika, Kontrastmittel, Toxine ect.) sehr effektiv. Diese Eigenschaften sind:

1. die große Oberfläche der Hepatozytenmembranen,
2. die Charakteristik der hepatischen Blutkapillaren und
3. ein hoher Blutfluß (Smith, 1973; Klaassen and Watkins, 1984).

Das Blut tritt über die Vena (V.) portae (funktioneller Kreislauf) und die Arteria (A.) hepatica propria (nutritiver Kreislauf) in die Leber ein. Das Blut der V. portae gelangt über die Venae (Vv.) interlobulares in die Sinusoide (kapilläres Wundernetz). Dort vereinigt es sich mit dem Blut der A. hepatica propria, und verläßt über die Vv. centrales, die die Vv. hepaticae bilden, die Leber und mündet in die V. cava caudalis (Voss, 1961).

Partikel gelangen durch Phagozytose in die Kupffer-Zellen des MPS, die sich entlang der Sinusoide erstrecken. Die Hepatozyten besitzen aufgrund ihrer Mikrovilli eine sehr große Oberfläche (Schuhmann-Giampieri, 1993), die in den Disséschen Raum hineinragen, der sich zwischen den Sinusoiden und den Hepatozyten befindet (Hartmann und Meyer, 1994).

Die Leberzellen zeigen eine spezialisierte Clearancefunktion. Prinzipiell sind zwei Mechanismen für die Aufnahme von Stoffen verantwortlich: passive Diffusion und Carrier-vermittelter Transport (Smith, 1973; Klaassen and Watkins, 1984). Hoch lipophile Komponenten passieren die Hepatozytenmembran durch Diffusion nach einem Konzentrationsgradienten, während die Aufnahme weniger lipophiler oder amphiphiler Stoffe oft an einen Carrier-vermittelten Transport gebunden ist. Diese Transportsysteme sind kochsalzabhängig und meist nicht sehr spezifisch. Unter ihnen unterscheidet man vier Hauptgruppen, die einem sogenannten aktiven Transport in die Leberzelle unterliegen. Für jede dieser Klassen (1. Gallensäuren; 2. organische Anionen, wie synthetische Farbstoffe, Bilirubin, Kontrastmittel; 3. organische Kationen, wie Procainamid; 4. neutrale organische Stoffe, wie Steroide, D-Galactose) wird ein spezielles Carrier-vermitteltes Transportsystem angenommen (Schuhmann-Giampieri, 1993).

An den gesamten Leberzellen haben die Hepatozyten einen Anteil von 80 %, die Kupffer-Zellen von 16 % und die Endothelzellen ungefähr von 4 % (Pfeifer et al., 1984). Die hauptsächlich physiologische Funktion von Kupffer-Zellen ist die Phagozytose von Partikeln, z.B. von Endotoxinen oder Bakterien. Die Lysosomen der Kupffer-Zellen sind sehr reich an proteolytischen Enzymen und alkalischen Phosphatasen, was sie sehr effektiv im Abbau von Toxinen und anderen Fremdstoffen macht. Die Lebersinusoide (Leberblutkapillaren) weisen Lücken in der Basalmembran auf und besitzen in ihren

Grundlagen

Endothelzellen 100-1000 nm große Poren, die die Passage von Partikeln erlauben. Hauptsächlich partikuläre Stoffe mit einer Größe von 30-1000 nm gelangen zu den Kupffer-Zellen der Leber, die an den Innenseiten der Kapillaren sitzen, wo sie dem Abbau unterliegen. Um dem Abbau zu entgehen, müssen kleinere Partikel im therapeutisch-diagnostischen Ansatz von 10 bis 30 nm genutzt werden. Weil diese sehr kleinen Teilchen nicht von den Kupffer-Zellen erkannt werden, ist ihre Zirkulation im Blutkreislauf signifikant erhöht, wodurch sie sich besser nutzen lassen. Für herkömmliche (konventionelle) Liposomen gelten die gleichen Bedingungen. Vesikel, die größer als 100 nm sind, werden hauptsächlich in Leber und Milz phagozytiert, während Liposomen von ungefähr 50 nm und kleiner eine verlängerte Blutzirkulation aufweisen (Unger et al., 1990). Die Differenz in der Aufnahme von Partikeln wird durch den unterschiedlichen Gehalt an Kupffer-Zellen erreicht, die im tumorösen Gewebe so gut wie nicht anzutreffen sind (Schumann-Giampieri, 1993). Dadurch gelingt in diesen Organteilen auf diesem Wege keine Anreicherung von Kontrastmittel oder Therapeutikum.

Nach intravenöser Applikation verteilen sich hepatobiliäre Stoffe im vaskulären und interstitiellen Raum. Zur gleichen Zeit wird im Blut ein Gleichgewicht zwischen den reversibel an Proteine gebundenen und den ungebundenen Partikeln erreicht. Die freien hepatobiliären Teilchen werden sowohl über die Nieren durch glomeruläre Filtration ausgeschieden als auch durch die Hepatozyten aufgenommen mit anschließender Exkretion über Galle und Fäzes. Wegen der proteinbindenden Eigenschaften und dem Unterliegen der glomerulären Filtration durch die Nieren ist die Blutkonzentration der stark gebundenen Partikel 30 min post injectionem sehr viel höher als die der Partikel mit niedriger Proteinbindung. Es wird angenommen, daß, im Gegensatz zu den Hepatozyten, der Tumor oder die Metastase dazu befähigt ist, in größerem Maße hepatobiliäre Stoffe (z.B. paramagnetische Kontrastmittel (Hausser und Kalbitzer, 1989)) aufzunehmen. Wird das tumoröse Gewebe mit Blut versorgt, ist die Konzentration stark proteinbindender Therapeutika oder Diagnostika im Tumor wegen der verlängerten Zirkulation dieser Stoffe im Blut viel höher als die nicht so stark proteinbindender Substanzen. Das bedeutet, daß Stoffe mit einer hohen Proteinbindungsrate eine hohe Partikelkonzentration in Leber *und* Tumor erreichen, während lediglich innerhalb der Hepatozyten eine hohe Partikelkonzentration von Material mit niedriger Proteinbindung erreicht wird. Deswegen erhält man mit hepatobiliären Kontrastmitteln mit niedriger Proteinbindung einen stärkeren Kontrast zwischen Leber und Tumor, da diese Stoffe stärker in das Leber- als in das Tumorgewebe aufgenommen werden.

Des Weiteren gibt es nicht unwesentliche speziesspezifische Unterschiede hinsichtlich des Kontrastes (Maus, Ratte, Hund - "gute" und Kaninchen, Affe, Mensch - "schlechte" Ausscheider). Differenzen in der hepatischen Exkretion scheinen für die hepatobiliären Kontrastmittel wichtig zu sein. Dazu kommen außerdem die individuellen Unterschiede innerhalb der Spezies bezüglich der renalen und hepatischen Elimination aus Gründen des

Alters, der Masse, der renalen Funktion, Lebererkrankungen, Leberdurchblutung und genetischer Parameter (Schumann-Giampieri, 1993).

2.2 Kolorektales Karzinom und die Ausbildung von Lebermetastasen

Das Kolonkarzinom gehört in den reichen Ländern zu den häufigsten Tumorerkrankungen des Menschen mit steigender Inzidenz (Schumacher et al., 1998), das sich auch zunehmend bei den unter 50jährigen zeigt (Boese-Landgraf, 1998). Die Genese der kolorektalen Karzinome ist zu 10 % hereditär bedingt, 5 % entwickeln sich nach entzündlichen Darmerkrankungen und 80-85 % entstehen sporadisch durch eine mögliche Adenom-Karzinom-Sequenz (Boese-Landgraf, 1998). Die 5-Jahresüberlebensrate liegt für das kolorektale Karzinom bei 50-60 % aufgrund der zum Zeitpunkt der Operation des Primärtumors auftretenden, unerkannten Mikrometastasen (Schlag, 1998), die neben Tumorstadium und Operationsqualität die Prognose dieser Patienten bestimmen. Nur 45 % der Patienten werden nach Operation des Primärtumors geheilt; die Mehrzahl stirbt an Metastasen und Rezidiven, wobei Lebermetastasen die häufigste Form von Fernmetastasen darstellen (Schumacher et al., 1998).

2.3 Behandlung von Lebermetastasen: Resektion und Alternativen

Derzeit ist die Resektion von Lebermetastasen die einzige kurative Therapie (Schlag, 1998). Handelt es sich jedoch um einen disseminierten Befall oder ungünstige Lokalisation im Lebergewebe, ist diese oft nicht mehr möglich (Muhler und Schwemmler, 1988). Eine Alternative liegt nun in der zytostatischen Therapie, die systemisch oder lokoregionär, eventuell auch in Kombination, ablaufen kann.

Multimodale Therapiekonzepte werden derzeit nur in seltenen Fällen als therapeutischer Standard angewendet. Lediglich im Stadium III eines kolorektalen Karzinoms (noch keine Fernmetastasierung feststellbar) gilt die postoperative Chemotherapie mit 5-FU und Folinsäure, beim Rektumkarzinom die kombinierte Radiochemotherapie als anerkanntes Therapiekonzept (Boese-Landgraf, 1998).

2.3.1 Systemische Chemotherapie

Die größten Erfahrungen liegen mit 5-FU als Monotherapeutikum vor, das als das effektivste Zytostatikum beim metastasierenden kolorektalen Karzinom gilt. Die Ansprechraten liegen bei 20 % (Davis, 1982), die Remissionsdauer bei 3-6 Monaten

(Boccardo und Canobbio, 1983), eine Verlängerung der Lebenszeit konnte jedoch statistisch nicht gesichert werden (Hottenrott und Lorenz, 1987; Schlag und Hohenberger, 1988). Auch die Kombination mit anderen Zytostatika erbrachte keine wesentliche Verbesserung gegenüber der Monotherapie (Lavin et al., 1980; Hottenrott und Lorenz, 1987). Nebenwirkungen beziehen sich hauptsächlich auf den Gastrointestinalbereich und das hämopoetische System. Die Häufigkeit und Schwere der Erscheinungen sind grundsätzlich dosisabhängig.

Die in den letzten 15-20 Jahren zunehmende Resektion von Lebermetastasen sind nicht nur auf verbesserte diagnostische Bildgebung, sondern auch auf die bis zum heutigen Zeitpunkt bestehende Erfolglosigkeit einer systemischen Chemotherapie zurückzuführen (Boese-Landgraf, 1998).

2.3.2 Lokoregionäre Therapie

Eine lokoregionäre Therapie soll die gezielte Anti-Tumor-Therapie am Ort der Läsion mit geringer systemischer Belastung des Gesamtorganismus verbinden.

Desarterialisation: Durch die überwiegend arteriell versorgten Neoplasien im Leberbereich bietet sich eine Arteria-hepatica-Ligatur zur Unterbrechung der Tumorperfusion, die Desarterialisation, mit nachfolgender Tumornekrose (Nilsson, 1966) an. Dabei auftretende Komplikationen (Leberversagen, Blutungen, Leberabszesse, Lungenatelektase, Venenthrombosen) lagen mit 20 % recht hoch (Almersjö et al., 1972). Auch die aufwendige Unterbindung sämtlicher arterieller Einzelgefäße und damit ausschließliche Versorgung über die Pfortader zeigte ähnliche Komplikationen bei nicht nachweisbarem Erfolg bezüglich der Überlebenszeit der Patienten (Petrelli et al., 1984). Die zusätzliche Applikation mit 5-FU über die Pfortader erbrachte weder Erfolge hinsichtlich der Ansprechrate noch der Überlebenszeit, war jedoch weiterhin von einer hohen Komplikationsrate (Laufman et al., 1984) und außerdem einer sehr raschen Bildung von Kollateralfäßen (Bengmark und Rosengreen, 1970; Koehler et al., 1975) begleitet.

Eine Umgehung dieser Nebenwirkungen ist auf dem Wege der temporären Unterbindung des arteriellen Zuflusses möglich, z.B. über einen extra- bzw. intraluminalen Ballonkatheter (Persson et al., 1990), was auch in Kombination mit portaler oder arterieller Zytostatik-aapplikation geschehen kann (Bengmark und Jeppson, 1986).

Eine medikamentelle, temporäre Unterbrechung der Blutversorgung liegt bei Verwendung eines Embolisates vor; die Embolisation wird isoliert jedoch kaum noch angewendet (s.a. Chemoembolisation).

Lokoregionäre Chemotherapie: Bei lokoregionärer Chemotherapie ist eine hohe Anreicherung des Medikaments im Tumor bei geringer Nebenwirkungsrate durch einen niedrigen Zytostatikaspiegel in der Körperperipherie von Vorteil. Dabei spielt folgende

Überlegung eine Rolle: Um eine hohe Zytostatikakonzentration im Zielorgan zu erhalten, sollte die Perfusion dieses Bereiches möglichst gering sein. Außerdem sollte das Medikament nach Ausschwemmung aus dem zu behandeltem Organ den Organismus so rasch wie möglich verlassen, um einen effektiven Behandlungserfolg bei minimaler Nebenwirkungsrate zu erhalten (Hottenrott et al., 1995).

Die lokoregionäre Chemotherapie der Leber ist über die V. portae oder A. hepatica realisierbar. Diese Verfahren werden vor allem bei primären Lebermalignomen oder Lebermetastasen nach Entfernung des Primärtumors angewandt, besonders dann, wenn die Leber das einzige tumorbefallene Organ ist und eine Resektion nicht in Frage kommt.

Unter Normalbedingungen erhält die Leber 70 bis 80 % ihres Perfusionsvolumens über die V. portae und 20 bis 30 % über die A. hepatica. Kleinste, inzipiente Tumorbildungen haben größere portalvenöse Perfusionsanteile (Breedis and Young, 1954), weshalb vor allem diese Neubildungen bei einer Applikation des Zytostatikums über die V. portae erfaßt werden. Außerdem wird diese Methode nach einer Primärtumoroperation zur Prophylaxe der Metastasierung in die Leber angewandt. Hierbei wird unter vollständiger Isolation der Leber in situ aus dem Körperkreislauf und Einbringen des Organs in ein künstliches Kreislaufsystem über gewisse Zeit mit einem Therapeutikum perfundiert. Die Methode erfordert einen relativ hohen apparativen Aufwand.

Die Leber stellt durch ihren anatomischen Aufbau das nahezu ideale Organ zur weitgehend isolierten Perfusion von Neoplasien dar, die größer als 3 mm sind. Der Grund hierfür liegt in der beginnenden arteriellen Blutversorgung kleinster Metastasen, die bei einer Größe von 3 mm bereits 80-100 % ihres Blutvolumens aus der A. hepatica beziehen. Daher wird bei solchen Läsionen eine lokoregionäre Chemotherapie über die A. hepatica realisiert (Breedis und Young, 1954; Ackermann et al., 1969; Ackermann, 1974).

In einer Studie von Peng et al. (1989) bestätigte diese Gruppe, daß eine intraarterielle, regionale Applikation einen niedrigeren systemischen Blutgehalt als nach intravenöser Applikation nach sich zieht und damit weniger Nebenwirkungen und eine bessere Toleranz der Chemotherapie bei der Behandlung von Lebertumoren erlaubt.

Auch Ridge et al. (1988) erhielten im Ergebnis ihrer Untersuchungen den höchsten Adriamycin-Spiegel unter hepatoarterieller Infusion verglichen mit portalvenöser und intravenöser Applikation bei der Behandlung größerer Tumoren, wobei außerdem eine systemische Reduktion der Toxizität erreicht wurde.

2.3.3 Chemoembolisation

Seit den 70er Jahren wird die Embolisierungstechnik zur Okklusion und Chemoembolisation von Lebermalignomen angewandt (Goldstein et al., 1975, 1976; Chuang und Wallace, 1981; Kato et al., 1981). Die Kombination der Embolisierung mit der Applikation von

Zytostatika führt zu einer Anreicherung durch längere Verweildauer des Medikaments im Tumor. Hypervaskularisierte Tumoren (z. B. Metastasen eines Karzinoids) gelten als besonders geeignet für eine erfolgreiche Embolisationstherapie (Hottenrott et al., 1995).

Die Auswahl der Embolisate erfolgt nach Materialcharakter, Partikelgröße (Verschlußebene), Röntgendichte (kontrollierte Applikation, Qualitätskontrolle der Embolisation), Viskosität und Okklusionsmechanismus (homogene Verteilung im arteriellen Fließbett), biologischem Verhalten (Einfluß auf Gefäßendothel und umgebende Gewebe), Rekanalisationstendenz (bestimmt durch die biologische Abbaubarkeit) und Applikationstechnik (Kunstlinger et al., 1981; Kauffmann und Richter, 1988; Schreyer et al., 1991; Coldwell et al., 1994).

Die Steuerung der Embolisation muß so geschehen, daß sie im Bereich der den Tumor versorgenden Arteriolen erfolgt. Ausmaß und Dauer der Okklusion werden vom Embolisationsmaterial beeinflußt (Hottenrott et al., 1995). Entscheidend für die Embolisation mit Partikeln ist deren Größe, die bei Verwendung von normierten Präparaten von 100 bis 1000 µm (z. B. Gelatine, Zellulose, Stärke) gewählt werden kann. Mikrosphären, am bekanntesten ist DSM (Degradable Starch Microspheres), haben eine homogene Größe und lösen sich durch die körpereigene Amylase kurzfristig (10-30 min) in der Gefäßbahn auf. Als besonderen Vorteil wird postuliert, daß eine präkapilläre Blockade zum Schutz des gesunden Leberparenchyms durch eine Partikelgröße von 40 bis 80 µm erreicht wird. So soll, unter Erhaltung der Tumorperfusion, bei zentraler Gabe eine selektive Anreicherung in multiplen Herden möglich sein (Ziessmann et al., 1983; Suzuki et al., 1987).

Aufgrund der hohen Inzidenz des hepatozellulären Karzinoms in Japan liegen hier die meisten Erfahrungen vor (The Liver Cancer Study Group of Japan, 1985). Mindestens zwei Drittel der Tumoren können nicht rezisiert werden (The Liver Cancer Study Group of Japan, 1990; Takayasu, 1990; Bismuth et al., 1992), so daß bei diesem Kollektiv die Chemoembolisation mit Lipiodol und Zytostatikum als Standardtherapie gilt.

Da die 5-Jahresüberlebensrate nach Resektion unter 50 % liegt (Nakajima et al., 1993) - bedingt durch die hohe Rezidivrate von bis zu 60 % (Nagao et al., 1990) - stellt die Chemo-embolisation auch hier meist die einzige Alternative dar (Nakao et al., 1991). Einjahresüberlebenszeiten von 60 % (Ohishi, 1989) können mit der Chemoembolisation erzielt werden, die damit höher liegen als bei einem vergleichbaren, nichtbehandeltem historischen Kollektiv (Hottenrott et al., 1995).

2.3.4 Drug Targeting

Um mit den vorhandenen wirksamen Pharmaka eine stärkere Wirksamkeit am Zielort bei möglichst geringer Gesamtbelastung des Organismus zu erreichen, erscheint es sinnvoll, die

Affinität des Therapeutikums zum Tumorgewebe zu erhöhen. Das kann zum einen über die lokoregionäre Anwendung, die zeitverzögerte Freisetzung am Therapieort durch die Chemoembolisation oder aber über die Ausnutzung eines natürlichen, zielgerichteten Transportes des Pharmakons zum Wirkort, dem Drug Targeting, erfolgen. Typische Transportsysteme stellen Antikörper, Peptide, Proteine, Polymere, Polysaccharide, Liposomen und Zellen dar (Gupta und Weissleder, 1996). Liposomen werden gegenwärtig als Arzneistoff-Carrier für maligne Erkrankungen und Infektionen des MPS entwickelt (Weinstein und Leserman, 1984; Caride, 1985).

Wegen ihrer Fähigkeit, Substanzen einzuschließen, werden sie als Drug Carrier verwendet, deren Eliminierung aus dem Organismus problemlos verläuft (Arndt und Fichtner, 1986).

2.3.4.1 Liposomen

Liposomen sind geschlossene, vesikuläre Doppelschichtstrukturen mit zellmembranähnlichen Eigenschaften, in denen konzentrische Lipiddoppelschichten wäßrige Kompartimente voneinander abgrenzen. Liposomen werden gebildet, wenn man geeignete amphiphile Verbindungen, z.B. Phospholipide, mit Wasser in Kontakt bringt. Die Bezeichnung der Liposomen erfolgt entweder nach ihrem Bau oder der Art ihrer Darstellung. Danach werden kleine einschichtige Liposomen SUV (small unilamellar vesicles), mehrschichtige Liposomen MLV (multilamellar vesicles) und andere, entsprechend ihrer Herstellung, als REV (reverse phase evaporation) bezeichnet (Arndt und Fichtner, 1986).

2.3.4.2 Abwehr und Liposomen

Von besonderem Interesse bei der Behandlung von Lebertumoren ist natürlich ein möglichst hoher Zytostatikum-Spiegel in der Tumorzelle bei größtmöglicher Schonung des gesunden Lebergewebes. Durch gezielte Modifikation der Liposomenzusammensetzung kann man ein optimales Konstrukt erhalten.

Die Verkapselung der Arzneimittel in Liposomen schützt diese vor einem raschen Abbau in vivo und setzt sie über eine größere Zeitspanne hinweg im Körper frei (bis zu einigen Tagen) (Allen et al., 1992).

Generell sinkt die Halbwertszeit der konventionellen Liposomen mit zunehmendem Durchmesser, negativer Ladungsdichte und abnehmender Membranstabilität. Damit ist für diese Liposomen eine maximale Halbwertszeit nur über die Nutzung von SUV möglich, die aus Distearoyl-Phosphatidylcholin oder -Sphingomyelin und Cholesterol bestehen, welche eine feste, neutrale Doppelmembran liefern.

Der exakte Mechanismus jeder dieser Parameter konnte bis heute nicht geklärt werden. Fest steht, daß verschiedene Plasmaproteine an die Liposomenoberfläche adsorbiert werden, und der Grad der Anlagerung mit der Entfernung aus dem Blut korreliert. Die negative Oberflächenladung wird unter anderem vor allem von Makrophagen erkannt (Papahadjopoulus, 1995).

Normalerweise werden die Liposomen, wie alle Fremdkörper, so schnell wie möglich durch die Zellen des MPS aus dem Blut entfernt.

Die Aufnahme der Liposomen durch das MPS ist das Ergebnis der Opsonierung von Liposomen durch Plasma-Proteine, die zur Bindung und Aufnahme durch die retikuloendothelialen Zellen führen (Allen et al., 1989). Offensichtlich existieren zwei Phasen bei der Eliminierung der Liposomen aus der Blutzirkulation: der Bindungsprozeß und das Recycling. Die Fähigkeit der Kupffer- und anderer MPS-Zellen, Teile aus der Blutzirkulation innerhalb einer bestimmten Zeitspanne zu entfernen, ist einerseits abhängig von der Menge der erkennenden, bindenden und aufnehmenden Stellen, die damit besetzt und nicht für die weitere Liposomenaufnahme verfügbar sind und andererseits abhängig von der Anzahl der recycelten bzw. wiederhergestellten Bindungs- und Aufnahmestellen. Allen und Hansen (1991) sowie zahlreiche weitere Autoren konnten zeigen, daß die Erkennung, Bindung und Aufnahme konventioneller Liposomenformulierungen relativ rasch mit Halbwertszeiten von einigen Minuten geschieht, und zwar umgekehrt proportional zur Liposomengröße. Diese Autoren vermuten, daß das Erkennungs- und Bindungsgeschehen einen hohen Affinitäts- und gleichzeitig einen niedrigen Kapazitätsprozess darstellt und daß das Recycling von Bindungsstellen und mögliche Rekrutierung neuer MPS-Zellen auf die Höhe der Kapazität Einfluß hat. Das bedeutet, daß es bei Konfrontation des MPS mit einer großen Menge an Liposomen zu einem Sättigungseffekt kommt, der den "überschüssigen" Liposomen eine verlängerte Zirkulation im Gefäßsystem erlaubt, womit die Wahrscheinlichkeit einer Aufnahme durch die Hepatozyten steigt.

Auch Allen et al. (1992) und Federico et al. (1989) stellten fest, daß die therapeutische Effizienz von konventionellen Liposomen mit ansteigender Liposomen- und damit Arzneimitteldosis als ein Ergebnis der Sättigung der Liposomenaufnahme durch das mononukleäre Phagozytensystem zunimmt, woraus eine längere Zirkulation der höher dosierten Liposomen resultiert (Michaelis-Menten-Pharmakokinetik) (Allen et al., 1992).

2.3.4.3 Stealth® Liposomen

Ghosh und Bachhawat (1995) schlußfolgerten aufgrund ihrer Beobachtungen, daß bezüglich der Stabilität der Liposomen im Blut sowohl deren Zusammensetzung als auch eine kritische Rezeptordichte sowie deren Zugänglichkeit auf der Liposomenoberfläche berücksichtigt werden müssen.

Liposomenmembranen, die Lipide enthalten, an die Polyethylenglykol (PEG)-Ketten kovalent gebunden sind, werden derzeit als Medikamenten-Verteilungssystem entwickelt. Diese sogenannten Stealth[®]-Liposomen haben eine relativ lange Halbwertszeit im Blut und zeigen eine veränderte Bioverteilung in vivo. Needham et al. (1992) schlußfolgern, wie auch andere Gruppen, daß membrangebundene polymere PEG (1900 g/mol) die Abstoßungs-kräfte zwischen Doppelmembranen signifikant anheben. Sie zeigten, daß die Lipidketten einen Abstand von ca. 5 nm zwischen den verschiedenen Liposomenoberflächen hervor-bringen. Der Grund der Verlängerung der Blutzirkulationszeit solcher Liposomen liegt in der räumlichen Barrieren-Bildung der PEG-Ketten um die Liposomen, die eine gegenseitige Annäherung verhindern und offensichtlich die Interaktionen mit Plasmaproteinen und phagozytotischen Zellen reduzieren. Außerdem konnte bestätigt werden, daß keinerlei Veränderungen der mechanischen Stabilität durch das Anlagern der PEG-Ketten gegenüber konventionellen Liposomen besteht.

Borisov et al. (1995) erklärten die Stabilisierung der Liposomen mit angelagerten PEG-Ketten aufgrund physikalischer Beschreibungen der beobachteten Effekte der sterischen Barrieren der PEG-Liposomen gegenüber dem Immunsystem: Werden lange flexible Ketten an die Oberfläche kolloidaler Partikel gebracht, entsteht um die Partikel eine Hülle aus konnektierten Monomeren. Dadurch kommt es zwischen den Partikeln zu einer den van der Waals-Kräften entgegengesetzt wirkenden Kraft, die die Suspension stabilisiert. (Die van-der-Waals-Kräfte fördern das Zusammenlagern von Vesikeln.) Das Ausmaß dieser Abstoßungskräfte ist direkt abhängig von der Dicke der Hülle und der Größe der Polymer-Spirale, die bis zu 100 nm lang sein kann.

Dies kann nur eine theoretische Beschreibung der wirkenden Kräfte darstellen, die in Wirklichkeit durch das Anbringen der Polymerketten an flexibel deformierbaren Oberflächen, wie Liposomenmembranen, verkompliziert wird.

Im Endeffekt zirkulieren die Stealth[®]-Liposomen in Abhängigkeit von der Dichte und Länge der aufgelagerten Polymere erheblich länger im Blutsystem. Sie werden entweder opsoniert, das nachfolgende Andocken der Makrophagen wird jedoch verzögert oder verhindert oder schon die Opsonierung unterbleibt durch den Brush-Effekt (sehr dichte PEG-Ketten-Auflagerung auf den Liposomen) der Polymerketten (Borisov et al., 1995; Torchilin et al., 1995a).

2.3.5 Zytostatikum

Fluoropyrimidine stellen seit mehr als 20 Jahren das effektivste Zytostatikum zur Behandlung von gastrointestinalen Tumoren dar (Hottenrott et al., 1995).

Sie gehören zur Gruppe der Antimetaboliten, die als Abwandlungsprodukte natürlicher Stoffe aufgrund ihrer Affinität zu Enzymen der Biosynthese von Nukleinsäuren wirken. Fluoropyrimidine stellen Pyrimidinanaloga dar, die in die Thymidilatsynthese eingreifen. Bei Verabreichung von 5-Fluorourazil (5-FU) wandelt sich dieses beim Erreichen der Zelle zunächst in 5-Fluorodesoxyuridin (5-FUDR, M3) und anschließend in 5-Fluorodesoxyuridinmonophosphat (5-FdUMP) um, welches eine 250 bis 4000 mal höhere Affinität zur Thymidilatsynthetase als das in der Zelle natürlicherweise vorkommende Desoxyuridinmonophosphat aufweist und damit statt dessen zu Thymidilat methyliert wird. Das als Zwischenstufe gebildete 5-Fluorouridinmonophosphat (5-FUMP) wird auch in die RNA eingebaut; somit wird neben der DNA- auch die RNA-Synthese gestört.

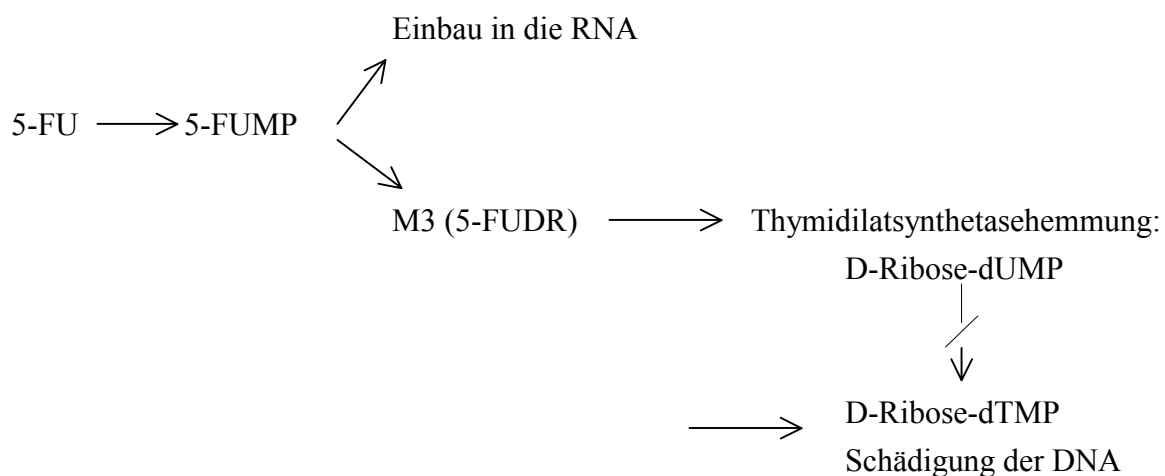


Abb. 1: Metabolisierung von 5-Fluorourazil: Die Umwandlung zu M3 ist der wichtigste Schritt bei der Nutzung von 5-FU, da es den wirksamsten Metaboliten dieses Zytostatikums darstellt.

5-FU = 5-Fluorourazil; 5-FUMP = 5-Fluorouridinmonophosphat; 5-FUDR = 5-Fluorodesoxyuridin; dUMP = Des-oxyuridinmonophosphat; dTMP = Desoxythymidinmonophosphat

2.3.6 Drug Carrier Embolisation System

Um die Vorteile eines Carrier-Systems mit denen der Chemoembolisation zu verbinden, wurde ein Drug Carrier Embolisation System (DCES) (Reszka et al., 1999) von der Arbeitsgruppe entwickelt. Es handelt sich um ein Multi-Release-System, das lokoregionär appliziert wird. Das Chemotherapeutikum wird in SUV verkapselt, die durch die Anlagerung von PEG-Ketten oberflächenmodifiziert sind und damit eine verlängerte Zirkulation im Blut garantieren. Die beim Verkapselungsprozeß verbleibende freie Form des Zytostatikums verbleibt in Lösung. Dieser Suspension wird kurz vor Applikation DSM (Spherex®) als Embolisat hinzugefügt. Die Protonen des freien 5-FU gehen zusätzlich intermolekulare Wechselwirkungen mit den Protonen der auf den Liposomen gebundenen

PEG-Schwänze ein. Damit wird neben dem im wäßrigen Innenraum verkapselten Prozentsatz an 5-FU ein weiterer nicht quantifizierbarer Anteil an freiem 5-FU über die PEG-Ketten assoziiert (Needham et al., 1992; Reszka et al., 1999). Außerdem konnte eine Interaktion zwischen den Spherex[®]-Partikeln und den Protonen der PEG-Ketten der Lipidkopfgruppe der SUV nachgewiesen werden (Reszka et al., 1999). Damit entsteht ein stabiles Transportsystem, das eine hohe Anreicherungsrate im Zielgebiet bei maximaler Schonung des Gesamtorganismus hervorbringt, wobei 5-FU in mehreren Stufen freigesetzt wird, da die Blutflußrate im tumorversorgenden Gebiet über ca. 30 min drastisch reduziert ist.

2.4 Etablierung eines prognostischen Therapiemonitorings

Die Effizienz einer Tumorthherapie wird danach beurteilt, in welcher Weise und Intensität sich Tumorwachstum und Anteil des vitalen Tumorgewebes verändern. Das läßt sich natürlich erst nach eingetretener, mehr oder minder starker Reaktion auf die Behandlung einschätzen. Dieser Prozeß wiederum benötigt Zeit, die in der Regel beim tumortragenden Patienten sehr kostbar ist.

Es liegen nur sehr wenige Arbeiten vor, die es sich zum Inhalt gemacht haben, bereits während oder sofort nach Abschluß der Therapie eine Aussage über den Erfolg der Behandlung machen zu können.

Das bisher vorgenommene Staging hat das Ziel, bereits präoperativ eine Stadienklassifikation des kolorektalen Karzinoms vorzunehmen, die operative bzw. multimodale Verfahrensweise auszuwählen und die Prognose des Patienten abschätzen zu können. Als prognostischer Marker zum Rezidivnachweis hat lediglich das karzinoembryonale Antigen (CEA) einen Aussagewert. Über weitere Marker zur Proliferation, Tumordinvasion und Metastasierung sowie molekulargenetische Marker wird intensiv geforscht, die Erkenntnisse lassen derzeit jedoch noch keine verbindliche Prognoseabschätzung zu (Schlag, 1998).

Zwei grundlegende Möglichkeiten der Prognoseerfassung der Lebermetastasen des kolorektalen Karzinoms sind bisher in der Literatur beschrieben:

Erstens kann die Untersuchung bestimmter, mit der Behandlung im Zusammenhang stehender Tumormarker bzw. Stoffwechselprodukte erfolgen:

Hanazaki et al. (1998) fanden eine gute Korrelation zwischen CEA im Serum und der Response auf hepatische arterielle Chemotherapie bei nichtresektablen Lebertumoren. Laut Chazal et al. (1997) stellen sich unter der Behandlung von 5-FU in Kombination mit Folsäure eine signifikant höhere FPGS (Foly-Polyglutamat-Synthetase)-Aktivität (Inhibition der Thymidilatsynthetase als erwünschtes Resultat der 5-FU-Therapie) der Patienten mit Response heraus.

Zweitens besteht die Möglichkeit, das Zielgebiet direkt über bildgebende Verfahren sichtbar zu machen und so Stoffwechselfvorgänge oder Gewebereaktionen nachzuweisen:

Hale et al. (1998) untersuchten mit Hilfe der Computertomographie die prognostische Signifikanz der Inzidenz und der Charakteristika von Leberkalzifizierungen der Lebermetastasen des kolorektalen Karzinomes für das Ansprechen auf eine Therapie, die sich jedoch nicht als verwertbar herausstellte.

Semelka et al. (1998) beschrieben MR-Bilder hypervaskulärer maligner Leberläsionen vor und nach arterieller hepatischer Chemoembolisation, die eine Korrelation zu nachfolgendem Imaging zu einem späteren Zeitpunkt und klinischer Response aufwiesen. Sie demonstrierten eine Veränderung der Erscheinung der Läsionen im MR-Bild nach Behandlung im Vergleich zur MR-Aufnahme vor Behandlung mit nachfolgender klinischer Response. Bei Patienten ohne oder mit sehr dezenten Veränderungen in den MR-Aufnahmen nach Behandlung im Vergleich zu den Pae-Treatment-Bildern blieb ein Behandlungserfolg aus.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, über das Enhancement des Kontrastmittels im MR-Bild auf die Anreicherung des Zytostatikums im Zielgebiet schließen zu können.

Die Grundlage hierfür bildete das von der Arbeitsgruppe erarbeitete Behandlungskonzept des DCES. Erstmals erfolgte zusätzlich die Kopplung eines MR-fähigen Kontrastmittels - Gd-DTPA - an ein zytostatikumtragendes Liposom. Dieses wasserlösliche Chelat erreicht über die Bindung an eine Fettsäure einen lipophilen Pol, der zur Inkorporation in die äußere Liposomenmembran dient.

Das verabreichte Konstrukt wurde über das gekoppelte Kontrastmittel beobachtet und die ermittelte Signalintensität mit den nachfolgend über die HPLC erhaltenen Therapeutikaspiegeln verglichen.

Eine Korrelation besteht dann, wenn eine zeitgleiche Verweildauer von Zytostatikum und der entsprechenden Menge eines Kontrastmittels, ermittelt über die Signalintensität, in den sowohl mit der MRT als auch der HPLC untersuchten Geweben (Tumor, Tumorrandsaum, Lebergewebe) vorliegt.

Die mittlerweile vorliegenden Ergebnisse der Arbeitsgruppe über die Anwendung des DCE-Systems zeigen folgende Situation: Die pharmakokinetischen Daten (Berger et al., 1998) werden durch die ebenfalls mit diesem Konstrukt durchgeführten Langzeitversuche (Pohlen et al., 1998) im Ergebnis weitestgehend bestätigt. Bereits nach einmaliger Applikation ist eine deutliche Tumorregression erfaßbar, die in einer verlängerten Überlebenszeit der Versuchstiere resultiert. Der Zusammenhang der Zytostatikumanreicherung konnte daher mit dem Benefit bezüglich der Überlebenszeit bewiesen werden.

Gelingt es, den Nachweis der Zytostatikum-Kontrastmittel-Korrelation zu erbringen, kann in direkter Folge eine echte Prognose des Patienten gestellt und zeitgerecht bei

Nichtansprechen des Patienten mit einer notwendigen Therapiemodifikation reagiert werden.

2.5 Magnetresonanztomographie (MRT)

2.5.1 Kurze Einführung

Die Magnetische Kernspinresonanz wurde von Bloch und Purcell voneinander unabhängig im Jahre 1946 entdeckt (Bloch et al., 1946; Purcell et al., 1946). Die Grundlage für die heute angewandte MR-Bildgebung in der Medizin ist die von Lauterbur (1973) entwickelte Ortskodierung des MR-Signals.

Das Vorliegen von kernresonanzfähigen Protonen in der zu untersuchenden Probe ist eine entscheidende Voraussetzung für die Erzeugung eines Kernresonanz-Signals.

In der Medizin werden überwiegend Wasserstoffatome betrachtet, deren Kerne jeweils nur ein Proton besitzen. Sie gehören zu einer kleinen Gruppe von Atomen, die ein ungepaartes Elektron auf der äußeren Elektronenschale aufweisen. Wie die meisten Atomkerne haben die Wasserstoffatome einen Kerndrehimpuls, d.h. sie drehen sich um die eigene Achse, die dabei rotierende Ladung (das ungepaarte Elektron) induziert einen elektrischen Strom, der wiederum, einem elektrodynamischen Grundsatz folgend, ein Magnetfeld induziert. Werden diese Protonen einem starken Magnetfeld ausgesetzt, richten sie sich überwiegend parallel zu diesem aus, da diese Form weniger Energie benötigt als die antiparallele Ausrichtung. Dabei führen sie, ähnlich einem rotierendem Kreisel, eine Präzessionsbewegung aus, wobei eine proportionale Abhängigkeit zur angelegten Feldstärke besteht: Je stärker das Magnetfeld, in dem sich die Protonen befinden, um so schneller ist die Präzession der Protonen. Die Rotationsgeschwindigkeit der Protonen ist eine Stoffeigenschaft, die als Larmorfrequenz bezeichnet wird. Sie beträgt in einem MR-Tomographen in der Klinik mit einer Feldstärke von beispielsweise 1 Tesla 42,58 MHz und liegt damit im Radiowellenbereich.

Wird ein Hochfrequenzimpuls in das Magnetfeld eingestrahlt, der der Resonanzfrequenz der Protonen in diesem bestimmten Magnetfeld entspricht oder sehr nahe kommt, nimmt ein Teil der Protonen die Energie auf und richtet sich antiparallel aus. Außerdem werden die ungeordnet präzessierenden Protonen dazu veranlaßt, in Phase zu präzessieren (d.h. alle Kreisel in einer Momentaufnahme "von oben" betrachtet, weisen mit dem Ladungsvektor in die gleiche Richtung). Wird der äußere Impuls abgeschaltet, sind die Protonen bestrebt, wieder den stabilen, energieärmeren Zustand zu erreichen. Sie wechseln ihre Ausrichtung von antiparallel zu parallel und geben die Energiedifferenz als Hochfrequenz-Impuls ab. Dieser Vorgang ist abhängig von der stofflichen Zusammensetzung der Umgebung der Protonen (das umgebende "Gitter") und wird daher als Spin-Gitter-Relaxation, auch Longitudinal- oder T1-Relaxation bezeichnet. Des weiteren ist dieser Vorgang abhängig

von den kleinen (immer etwas unterschiedlichen) Magnetfeldern unmittelbar umgebender Protonen sowie geringer Abweichungen innerhalb des am gesamten Patienten angelegten Magnetfeldes, das nie vollständig homogen ist, und Spin-Spin-, Transversal- oder T2-Relaxation heißt (die Protonen präzessieren wieder außer Phase, d.h. ungeordnet). Beide Relaxationszeiten laufen unabhängig voneinander und gleichzeitig ab, wobei die reine T2-Relaxation immer länger als die T1-Relaxation dauert.

Jede Gewebeart im lebenden Organismus hat einen unterschiedlichen Gehalt an Wasserstoffprotonen, die auf unterschiedliche Weise gebunden und damit durch ihre Umgebung beeinflusst sind. Aus diesem Grund haben sämtliche Gewebe mit physiologischen und pathologischen Eigenschaften bestimmte charakteristische Relaxationszeiten, die sich im Millisekundenbereich bewegen.

Anhand der Spinechotechnik soll erläutert werden, wie durch die Auswahl der Meßparameter Repetitionszeit (TR) und Echozeit (TE) auf das resultierende Bild Einfluß genommen werden kann. Für ein T1-gewichtetes Bild (Überwiegen der T1-Effekte) gilt, daß die TR relativ kurz gewählt wird, um nur die Protonen wiederholt anzuregen, die bis zur nächsten Anregung vollständig relaxieren und Signal geben, während die übrigen Protonen zu langsam relaxieren, um signalwirksam zu sein. Wenn eine Messung auf T2-Effekten beruhen soll (T2-Wichtung), wird die TE sehr lang gewählt, so daß nach einem nach T2/2 eingestrahlten 180°-Rephasierungspuls nur die Protonen wieder in Phase laufen, die eine relativ lange TE haben, da die Protonen mit einer kurzen TE bereits soweit relaxiert sind, daß sie nicht mehr wesentlich zum resultierenden Signal beitragen.

Kurz zusammengefaßt bedeutet das für die klinische Anwendung von Spin-Echo-Sequenzen: kurze TR (< 500 ms) und kurze TE (< 30 ms) ergeben eine T1-Wichtung, lange TR (> 1500 ms) und lange TE (> 80 ms) ergeben eine T2-Wichtung, bei einer langen TR und einer kurzen TE hingegen spricht man von einer Protonenwichtung (Mittelstellung zwischen T1- und T2-Wichtung).

Die Signale werden mit einer Empfangsspule aufgenommen. Die Ortskodierung des MR-Signals erfolgt über eine ortsverschiedene Modulation der Magnetfeldstärke durch das Anlegen sogenannter Gradienten. Dabei wird für jeden Bildpunkt die Magnetfeldstärke variiert. Über die rechnerische Fourier-Transformation werden die Meßwerte in ein Bild umgesetzt.

Am häufigsten werden in der heutigen Diagnostik sogenannte Spin-Echo-Sequenzen (SE-Sequenzen) eingesetzt. Auf einen 90°-Impuls folgt nach dem Verstreichen der halben Echozeit ein 180°-Puls zur Refokussierung der dephasierenden Protonen (s.o.) und nach Verstreichen der gesamten Echozeit wird das resultierende Signal gemessen. Diese Folge wird nach Ablauf der Wiederholzeit repetiert.

(Rinck et al., 1985; Hausser und Kalbitzer, 1989; Schild, 1990; Horowitz, 1989)

2.5.2 Kontrastmittel in der MRT

Mit Hilfe von MR-Kontrastmitteln gelingt eine bessere Abgrenzung bestimmter anatomischer oder pathologischer Strukturen, die nativ mit dieser Bildtechnik nicht sichtbar sind. Das ist der Fall bei sehr kleinen Läsionen, fehlendem Zwischenraum zwischen Läsion und Gewebe oder auch bei ähnlichen Signaleigenschaften benachbarter Strukturen (Hendrick und Haacke, 1993). MR-Kontrastmittel haben einen indirekten Einfluß auf den Bildkontrast im Gegensatz zu direkten Kontrastmitteln in der Radiologie und Computertomographie. MR-Kontrastmittel verändern die Relaxationszeit von Wasserstoffkernen, die mit dem Kontrastmittel in unmittelbarem Kontakt kommen. Voraussetzungen für einen Kontrastmitteleffekt sind, daß a) das Kontrastmittel in der Lage ist, sofort mit den Wasserstoffkernen in magnetische Interaktionen zu treten und b) das Kontrastmittel unmittelbar in die physikalische Umgebung der Wassermoleküle gelangt.

Unter den kontrastbeeinflussenden Substanzen gibt es sowohl solche, die die T₂-Relaxationszeiten (superparamagnetische Kontrastmittel, z.B. Eisenoxide) als auch solche, die die T₁-Relaxationszeiten (paramagnetische Kontrastmittel) von Geweben verändern. Zur zweiten Gruppe gehört das Gadolinium (Gd), das zu den seltenen Erden (Lanthaniden) zählt. Es ist in ungebundener Form hoch toxisch und wird deshalb an den Chelatbildner Diäthylentriaminpentaessigsäure (DTPA) gebunden und so vollständig eliminiert. Gd-DTPA zählt zu den extrazellulären Kontrastmitteln und ist u.a. bei Fragestellungen, die Tumoren, Entzündungen und vaskuläre Erkrankungen betreffen, indiziert. Die in dieser Studie verwandte Substanz ist Magnevist[®] (Schering AG, Berlin, Deutschland). Es verteilt sich nach i.v. Injektion zuerst im Intravasalraum und diffundiert rasch in den interstitiellen Raum. Die Ausscheidung erfolgt fast ausschließlich über die glomeruläre Filtration der Nieren (Lanadio und Kopp, 1997) mit einer Halbwertszeit von 20-30 min.

Gd-DTPA ist sehr hydrophil und weist eine unwesentliche Proteinbindung und Komplementaktivierung auf (Niendorf et al., 1991).

2.5.3 Liposomal gebundene Kontrastmittel

Wegen der oben erwähnten Pharmakokinetik eignet sich Gd-DTPA nicht als organspezifisch oder spezifisch pathologisch gerichtetes Kontrastmittel, wie es dem Ziel dieser Studie dienlich wäre. Vielmehr sollte ein Target-Kontrastmittel nach Gupta und Weissleder (1996) folgende Eigenschaften haben: 1. Stabilität in vivo, 2. keine sofortige Aufnahme durch das MPS oder anderweitige Entfernung aus der Zirkulation, 3. hohe Affinität zum Zielort, 4. genügend hohe Gewebeanreicherung für das In-vivo-Imaging, 5. Metabolisierung in nichttoxische Produkte nach Ablauf der Untersuchung. Es ist erforderlich, daß das Zielgewebe eine hohe Anzahl von spezifischen Bindungsstellen besitzt,

einen adäquaten regionalen Blutfluß aufweist und den Carriern eine Überwindung der Gefäßwand gestattet. Das Targeting ist abhängig von der Effektivität der Struktur des Vehikels (Carrier, Vektor) und dem signalgebenden Molekül (Label). Außerdem sollte das Label nicht die Targetspezifität des Vektors verändern und, umgekehrt, sollte der Carrier keinen Einfluß auf die Effizienz des Labels haben.

Es ist hinreichend bekannt, daß die Kupffer-Zellen und Hepatozyten zur Endozytose von Partikeln, einschließlich Lipidvesikeln fähig sind (Tilcock et al., 1989). Deswegen werden Liposomen als Vehikel für die Anreicherung des Kontrastmittels im Zielgebiet Leber und Milz genutzt. Da das Kontrastmittel Gd-DTPA durch die Bindung an Liposomen bevorzugt durch das MPS aufgenommen wird, kann die Totaldosis, die verabreicht werden muß, im Vergleich zum freien Kontrastmittel gesenkt werden, vorausgesetzt, daß die äquivalente Dosis den gleichen Effekt im Zielorgan hervorruft.

Es werden verschiedene liposomale Kontrastmittel beschrieben, deren Anreicherungsverhalten und Stabilität je nach Lipidkombination und Größe schwanken. Prinzipiell gibt es zwei Möglichkeiten, Kontrastmittel mit Liposomen zu verbinden: einmal die Verkapselung *in* das Vehikel und zum zweiten ein Anhängen des Kontrastmittels *an* das Transportsystem. Tilcock et al. (1989) haben gezeigt, daß *in* Lipidvesikeln enthaltenes Gd-DTPA, als ein effektives Kontrastmittel gelten kann. Bei einer konstanten Konzentration von Lipid und Gd-DTPA zeigen die kleineren Vesikel eine größere Relaxivität, da größere Liposomen eine relativ lange Strecke, die durch die Lipidmembran unterbrochen ist, zwischen dem paramagnetischen Kern und dem umgebenden Wasser und damit eine geringere Relaxivität aufweisen (Tilcock et al., 1989; Unger et al., 1989a). Diese ist in etwa linear abhängig vom Oberflächen-Volumen-Verhältnis der Vesikel von 70-400 nm Durchmesser. Es ist bekannt, daß die Vesikelgröße, die Lipiddosierung und die Vesikelkomposition die Pharmakodynamik der Liposomen und damit die Effektivität des Kontrastmittels beeinflussen (Tilcock et al., 1989).

Die konventionellen Liposomen werden relativ rasch aus dem Blut entfernt und in Abhängigkeit von ihrer Größe und ihren physikalischen Eigenschaften entweder im MPS oder direkt in den Hepatozyten konzentriert (Kabalka et al., 1991). Mit diesen Eigenschaften hat ein in konventionellen Liposomen verkapseltes Kontrastmittel nicht die idealen Modalitäten eines Target-Kontrastmittels, welches möglichst gezielt in die Leberläsion gelangen sollte.

Für eine Inkorporation in die liposomale Membran wird der Chelator (DTPA) mit einer Fettsäure oder einem Phospholipidrest verbunden (Torchilin et al., 1995b). Kabalka et al. (1991) entwickelten ein neuartiges Kontrastmittel, das Gadolinium mit verschiedenen DTPA-Derivaten, an die Alkyl-Seitenketten gebunden sind, enthält. Der resultierende amphiphile Komplex (besitzt hydrophile als auch hydrophobe Eigenschaften) wird in die Membran von Liposomen inkorporiert. Auch Schwenderer et al. (1990) berichteten über ähnliche Versuche mit kleinen Stearat-DTPA-Liposomen, deren Ergebnisse von Karlik et al.

(1991) bestätigt wurden. Durch die freie Zugänglichkeit des oberflächengebundenen Gadolinium für Wasserstoffprotonen resultiert eine Relaxivität ähnlich der des freien Gd-DTPA. Durch das Variieren der Lipidkombination, des Flüssigkeitszustandes der äußeren Membran und der Vesikelgröße, kann das Muster der Anreicherung selektiv modifiziert werden (Unger et al., 1989a; Karlik et al., 1990). Wenn sich die Größe der Liposomen bis etwa 100 nm bewegt, ist außerdem eine relativ lange Blutzirkulation sicher, da kleinere Partikel vom MPS schlechter erkannt und damit langsamer eliminiert werden.

Selbst wenn man davon ausgeht, daß eine große Anzahl von Liposomen ihr Ziel tatsächlich erreicht, können nur so viele Liposomen bzw. deren Inhalt aufgenommen werden, wie auch Bindungsstellen an den Zielzellen frei sind (Allen und Hansen, 1991). Vorausgesetzt wird außerdem eine ausreichende Perfusion des Zielgewebes. Wenn es gelingt, die Blutpassage zu verlängern, steigt die Wahrscheinlichkeit einer spezifischen oder unspezifischen Wirkstoffanreicherung durch eine ausreichende Passage des Ziels und einer größeren Anzahl produktiver Kollisionen zwischen Bindungsstelle und Liposom (Torchilin et al., 1995b).

Mit kleinerer Partikelgröße verringert sich natürlich sowohl der Verkapselungsraum als auch die Oberfläche, die zur Verfügung steht. Ist man auf größere Vesikel oder eine noch stärker verlängerte Verweildauer des Systems im Blut angewiesen, gibt es die Möglichkeit, die Liposomen zu "tarnen" (Anlagern von PEG-Ketten). Diese sogenannten Stealth[®]-Liposomen sind mit einer polymer stabilisierten Membran versehen, die, je nach Dichte, das "Andocken" von Makrophagen oder sogar eine Opsonierung verhindern (Torchilin et al., 1995a).

Das Anbringen der PEG-Ketten auf der Oberfläche von membrangekoppelten Gadolinium-Liposomen erlaubt eine Veränderung der Gadolinium-Wasser-Umgebung durch die Präsenz der Wassermoleküle, deren Protonen fest mit denen der PEG-Moleküle assoziiert sind. Mit zunehmendem Gehalt an PEG-assoziierten Wasserstoffprotonen in unmittelbarer Nähe von chelierten Gadolinium-Ionen an der Liposomenoberfläche steigt die Relaxivität gegenüber von Liposomen ohne PEG-Ketten. Die Stealth[®]-Liposomen zeigen im Vergleich zu konventionellen Liposomen eine zweifach gesteigerte Relaxivität bei nur halbem Gehalt an Gadolinium (Torchilin et al., 1995b).

Zusammenfassend bedeutet das, daß eine Verkapselung von Therapeutika und Diagnostika in Liposomen diese vor einem raschen Abbau in vivo schützt und sie über eine größere Zeitspanne hinweg im Körper freisetzt. Die therapeutische Effizienz von konventionellen, nicht "getarnten" Liposomen nimmt mit ansteigender Liposomenzahl und damit gesteigerter Medikamentendosis als ein Ergebnis der Sättigung der Liposomenaufnahme durch das mononukleäre Phagozytensystem zu. Daraus resultiert eine längere Zirkulation dieser höher dosierten Liposomen (Michaelis-Menten-Pharmakokinetik, *dosisabhängige* Pharmakokinetik).

Grundlagen

Die *dosisunabhängige* Pharmakokinetik durch die Unterdrückung der Aufnahme der Liposomen durch das mononukleäre Phagozytensystem ist ein entscheidender Vorteil der Stealth[®]-Liposomen. Sie sind damit den konventionellen Liposomen überlegen (Allen et al., 1992).