

## 6 Zusammenfassung

Ein bekanntes Problem bei der Behandlung von Lebermetastasen ist die Frage, ob das Chemotherapeutikum das tumortragende Organ oder, idealerweise, den Tumor selbst erreicht. Ziel dieser Arbeit war es daher, das Anreicherungsverhalten des Zytostatikums mit Hilfe der Magnetresonanztomographie (MRT) zu verfolgen.

Dafür wurden erstmalig das Zytostatikum 5-Fluorourazil (5-FU) und das MRT-Kontrastmittel Gd-DTPA gemeinsam in Stealth<sup>®</sup>-Liposomen (5-FU-Gd-SUV-PEG) verkapselt.

Im Tierversuch wurden humane Lebermetastasen kolorektaler Karzinome durch die Implantation von CC531-Adenokarzinom-Zellen in die Leber männlicher WAG/Rij-Ratten simuliert. Die Tiere wurden vor und nach Applikation der 5-FU-Gd-SUV-PEG, die intravenös, intraarteriell und intraarteriell in Kombination mit dem Embolisat DSM erfolgte, magnetresonanztomographisch mit protonen- und T1-gewichteten Sequenzen bei 2,35 T (BRUKER Biospec 24/40) untersucht und die relativen Signalintensitäten von Tumor und Leber bestimmt.

Nach Euthanasie der Tiere wurden die Gewebkonzentrationen von 5-FU und seinem aktiven, intrazellulären Metaboliten M3 in Tumor, Tumorrandsaum, Leber, Milz, Magen, Pankreas, Niere, Lunge, Herz und Serum mit Hilfe der HPLC zu den Zeitpunkten 15, 30, 45, 60, 90, 120 min, 4, 8, 12, 24 und 48 h bestimmt. Die Daten von Leber und Tumor wurden mit den entsprechenden relativen MR-Signalintensitätswerten korreliert.

Um die Einflüsse von 5-FU und der Liposomen auf das Signalverhalten der 5-FU-Gd-SUV-PEG in Tumor und Leber einschätzen zu können, wurden a) Gadolinium-Liposomen ohne 5-FU (Gd-SUV-PEG) i.a. und i.v. appliziert und b) reines Gd-DTPA i.v. verabreicht.

Um die Wirkung des gekoppelten Kontrastmittels (Gd-DTPA) auf die Pharmakokinetik von 5-FU zu eruieren, wurden die Daten zu den einzelnen Zeitpunkten der 5-FU-Gd-SUV-PEG-Gruppen mit denen historischer 5-FU-SUV-PEG-Kollektive verglichen.

Die statistische Auswertung erfolgte mit einer einfaktoriellen Varianzanalyse bzw. mit dem Fisher PLSD-Test bei einem Signifikanzlevel von  $p < 0,05$ .

Die stärkste Korrelation zwischen der Signalintensität im MR-Bild und der 5-FU-Konzentration im Gewebe über den Zeitraum von 90 min bis 4 h konnte im Tumor mit einem Korrelationsfaktor von  $c = 0,82$  in der Gruppe mit intraarterieller Embolisation (Gruppe 7) festgestellt werden. In der Gruppe nach intraarterieller Gabe ohne Embolisation (Gruppe 5) zeigte sich eine Korrelation zu den Zeitpunkten 60 min mit  $c = 0,84$  und 4 h mit  $c = 0,92$ . In der intravenösen Gruppe (Gruppe 2) war zu keinem Zeitpunkt eine Korrelation zwischen Signal und 5-FU-Gehalt nachweisbar.

## Zusammenfassung

Die höchste 5-FU-Anreicherung im Tumor über 48 h unter Schonung der Leber und der peripheren Organe wurden nach lokaler Chemoembolisation (Gruppe 7) ermittelt. Es wurden zum Teil sehr hohe M3-Spiegel im Tumor gemessen. Andere Tiere der gleichen Gruppe zeigten relativ niedrige M3-Level, was als Einfluß des liposomal gebundenen Gd-DTPA auf die 5-FU-Anreicherung in die Zellen diskutiert wird.

In der intraarteriellen Gruppe mit DSM ohne 5-FU (Gruppe 6) wurde ein gegenüber dem Lebersignal um bis zu 66 % erhöhtes Tumorsignal gemessen. Die gleiche Gruppe mit 5-FU (Gruppe 7) zeigte einen zeitlich verzögerten Signalanstieg, der auf das durch das Embolisat protrahiert freigesetzte 5-FU zurückzuführen ist. Beide intraarteriellen Gruppen mit Embolisat (mit und ohne 5-FU; Gruppen 6 und 7) zeigen ein zwischen 15 und 120 min gegenüber allen anderen Gruppen signifikant erhöhtes Tumorsignal, das zu einem deutlichen Tumor-Leber-Kontrast führt. Liposomales Gd-DTPA, intravenös (Gruppen 1 und 2) und intraarteriell ohne Embolisat verabreicht, (Gruppen 4 und 5), erzielte lediglich einen geringgradigen Signalanstieg in der Leber. Beide intravenösen Gruppen mit reinem Gd-DTPA (Gruppen 3 und 8) zeigten unabhängig von der Konzentration des Kontrastmittels (33 bzw. 250  $\mu\text{mol/kg}$ ) jeweils annähernd gleiche Signalintensitäten in Leber und Tumor, die keine Kontrastierung der Läsion gegenüber dem Lebergewebe zuließen.

Schlußfolgernd kann gesagt werden, daß eine hohe Korrelation von 5-FU, gemessen mit der HPLC ex vivo, und der in vivo-MR-Signalintensität innerhalb von 90 bis 240 min nach hepatoarterieller Applikation von 5-FU-Gd-SUV-PEG mit Embolisat besteht. Daher kann die Zytostatikumanreicherung mit Hilfe der MRT als einem nicht-invasiven Verfahren eingeschätzt werden. Über die Verstoffwechslung des Zytostatikums in seinen aktiven Metaboliten M3 kann anhand der Signalintensität keine Aussage gemacht werden, da 5-FU offensichtlich während der Aufnahme in die Zellen und/oder seiner Metabolisierung in M3 durch das gekoppelte Kontrastmittel beeinflusst wird. Künftige Untersuchungen müssen zeigen, ob bei Verwendung eines Zytostatikums, das zu 100 % verkapselt vorliegt, ein störender Einfluß auf die Anreicherung und Aufnahme in die Zielzellen durch das Kontrastmittel, das an die äußere Hülle gekoppelt wird, verhindert werden kann.

Die durch an Stealth<sup>®</sup>-Liposomen gekoppeltes Gd-DTPA erreichte Positivkontrastierung von leberfremden Tumoren nach hepatoarterieller Embolisation verbessert die diagnostische Sensitivität dieses Kontrastmittels, das ohne liposomale Verkapselung kaum eine Differenzierung von Läsion und gesundem Lebergewebe zuläßt.

Die beschriebenen Formulierungen ermöglichen die Optimierung der klinischen Diagnostik von Lebermetastasen und helfen die Anzahl der Versuchstiere in experimentellen pharmakokinetischen Studien zu senken.