



Einleitung

Neue Methoden in der Synthese und die Verbesserung der biologischen Validierung durch Hochdurchsatzverfahren, auch an lebenden Zellen, führen seit einigen Jahren zu einem Anstieg neuer potentieller Wirkstoffe zur Behandlung verschiedenster Krankheiten. Es steigen ebenfalls die Bemühungen diese Wirkstoffe nicht nur systemisch, sondern auch gezielt in bestimmten Geweben zu applizieren. Dies gilt insbesondere zur spezifischen Ansteuerung (Targeting) von Tumorgewebe und Metastasen. Weit verbreitete Systeme, die zum gezielten Targeting eingesetzt werden, sind Liposomen, Nanopartikel und auch kleinere Strukturen wie Peptide, Peptoide und Polyamine. Sie haben den Vorteil, dass sie viele Wirkstoffe, die aufgrund ihrer physikochemischen Eigenschaften nicht in der Lage sind zelluläre Membranen zu penetrieren, ausreichend verpacken oder solubilisieren und sie dadurch den Geweben und Zellen zugänglich machen.

Absicht dieser zielgerichteten Therapieansätze ist es, die Nebenwirkungen auf gesunde Gewebe zu minimieren. Gegenwärtig bestehen jedoch noch immer Probleme mit den pharmakologischen und physikochemischen Eigenschaften dieser Systeme, weshalb weiterhin zahlreiche Untersuchungen zur Verbesserung des Drug Targeting unternommen werden.

1 Drug Targeting

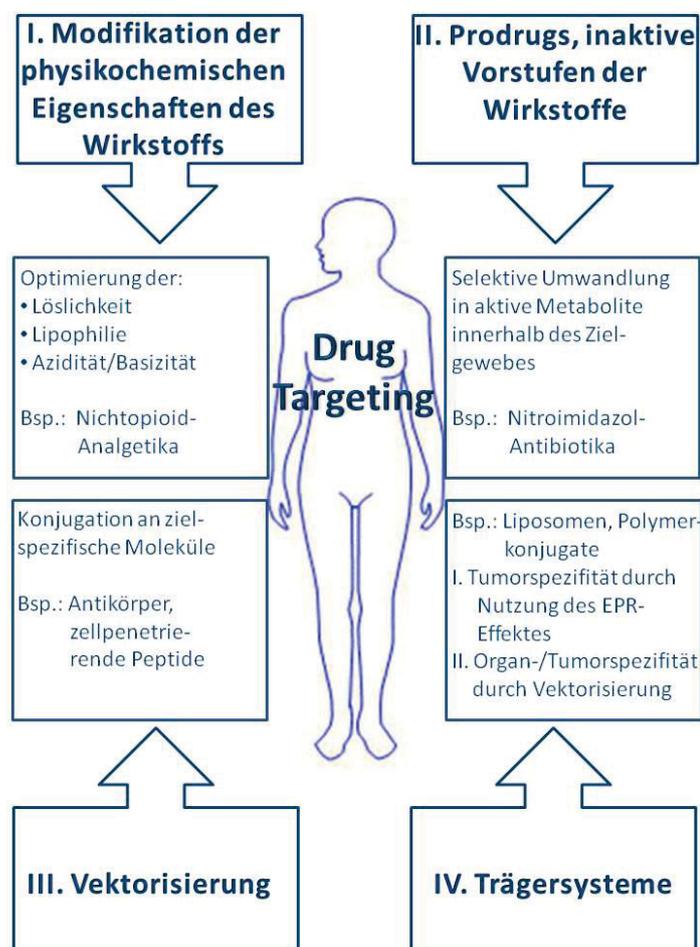


Abbildung 1: Auswahl unterschiedlicher Methoden des Drug Targeting.



Der Begriff des Drug Targeting beschreibt den zielgerichteten Transport eines Wirkstoffs an den gewünschten Wirkort nach systemischer Applikation.^[1] Ziel ist es, die Nebenwirkungen auf gesundes Gewebe zu verringern, gleichzeitig aber die pharmakologische Wirkung zu verstärken und zu optimieren.^[2, 3] Es gibt unterschiedlichste Ansätze des Drug Targeting,^[4] wobei eine Auswahl in Abbildung 1 dargestellt ist.

Eine erste Methode zur Verbesserung der Wirkstoffapplikation ist die Modifizierung, Optimierung oder auch Ausnutzung bestimmter physikochemischer Eigenschaften eines Wirkstoffs. So kann beispielsweise die Löslichkeit, Lipophilie oder auch Azidität/Basizität der Substanzen genutzt werden. Allerdings ist bei dieser Methode die Organspezifität begrenzt. Beispiele für die Ausnutzung dieses Effektes sind Wirkstoffe wie Ibuprofen und Acetylsalicylsäure (Abbildung 2). Diese gehören zur Gruppe der sauren Nichtopioid-Analgetika, die im entzündeten, sauren Gewebe protoniert und damit immobilisiert vorliegen und sich daher dort anreichern.^[5, 6] Bei physiologischem pH-Wert hingegen sind sie deprotoniert und liegen in ihrer anionischen Form vor. In diesem Zustand erfolgt keine Anreicherung.^[7]

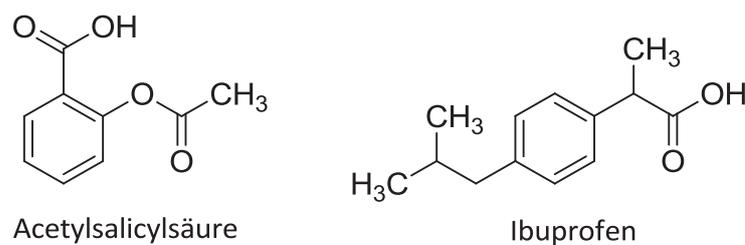


Abbildung 2: Strukturformeln der Nichtopioid-Analgetika Acetylsalicylsäure und Ibuprofen.

Eine weitere Methode des Drug Targeting ist der Einsatz sogenannter Prodrugs.^[8-10] Dieses Konzept wurde erstmals durch Adrien Albert im Jahre 1958 beschrieben.^[11] Es beruht auf dem Einsatz inaktiver Vorstufen von Metaboliten, die im Zielgewebe in ihre aktive Form umgewandelt werden. Dies wird durch Bindung bestimmter, im Zielgewebe abspaltbarer Moleküle an das aktive Wirkstoffmolekül erreicht. Vorteil dieser Methode ist die Verbesserung der Löslichkeit des Wirkstoffs und der Schutz vor unerwünschter Metabolisierung. Außerdem kann durch geeignete Wahl der Gruppe die Aufnahme in die Zelle sowie die Organspezifität beeinflusst werden. Somit kann mit Hilfe der Prodrugs die Pharmakokinetik eines Medikaments insgesamt optimiert werden.^[12] Ein Beispiel zur Ausnutzung dieser Methode sind die zu den Antibiotika gehörenden Nitroimidazole. Sie werden lediglich unter anaeroben Bedingungen durch Bakterien reduziert und dadurch in ihre aktive Form überführt. Nur die aktive Verbindung kann anschließend DNA-Strangbrüche innerhalb der Bakterien induzieren (Abbildung 3).^[13]

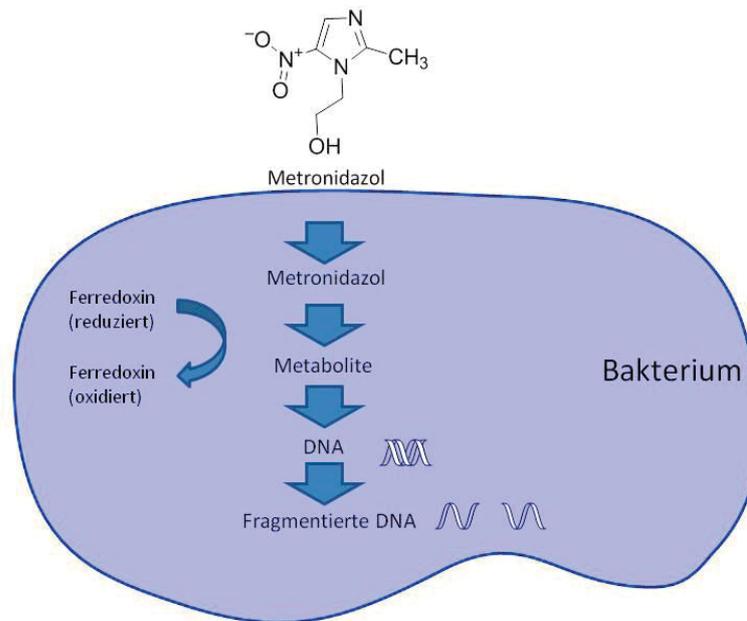


Abbildung 3: Wirkung des beispielhaften Nitroimidazols Metronidazol in einem anaeroben Bakterium.

Auch die Vektorisierung oder Ligandenbindung gehören zu den häufig genutzten Methoden des Drug Targeting. Dabei erfolgt die Konjugation des Wirkstoffs an ein Molekül, das den spezifischen Transport in das Zielgewebe oder die Zielzelle steuert. Als Vektoren bzw. Liganden kommen die verschiedensten Arten von Molekülen zum Einsatz, beispielsweise Polypeptide,^[14, 15] Zucker^[16-18] oder Fettsäuren.^[19] Auch Viren wurden bereits für diese Methode des Drug Targeting eingesetzt.^[20, 21] Am weitesten verbreitet sind jedoch die Bindung und der spezifische Wirkstofftransport mit Hilfe von Antikörpern.^[22-26] Diese Antikörperkonjugate können an spezifische Rezeptoren der Zielzellen oder Zielgewebe binden und anschließend mittels Endozytose in die Zielzellen gelangen. Freisetzung des Wirkstoffs kann dann lysosomal durch Abspaltung des Antikörpers erreicht werden (Abbildung 4).^[27]

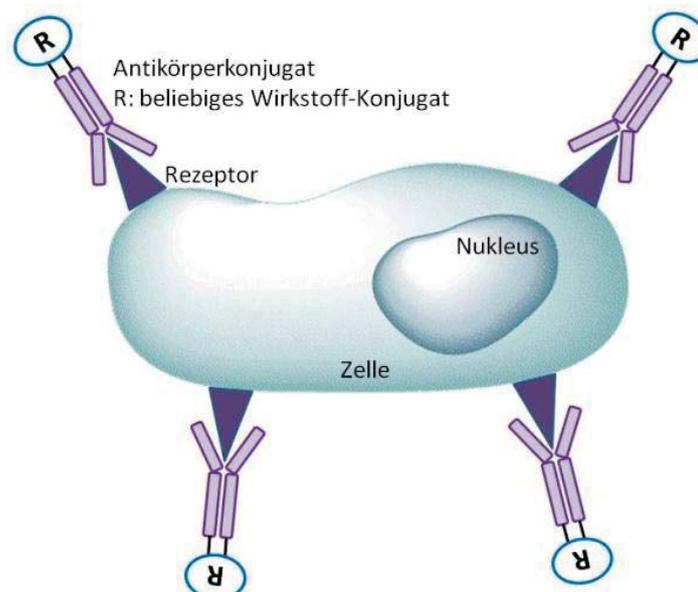


Abbildung 4: Darstellung der Bindung von Antikörperkonjugaten an eine Zielzelle.



Ein Beispiel hierfür ist der Prostata-spezifische Transport zytotoxischer Wirkstoffe nach Bindung an monoklonale Antikörper. Diese binden an das sogenannte Prostata-spezifische Membran-Antigen (PSMA), welches in den meisten Prostatatumoren überexprimiert wird, und werden anschließend schnell internalisiert. Dieses spezifische Targeting konnte bereits durch mehrere Gruppen gezeigt werden.^[28-30] Weitere Studien hierzu sind in einem Übersichtsartikel von Elsasser-Beile et al. zu finden.^[31]

Ein weiteres Beispiel für die Vektorisierung ist die Nutzung der sogenannten zellpenetrierenden Peptide (CPP_{engl.}, cell penetrating peptides).^[32-34] Dies sind kurze, wasserlösliche Peptide mit der Fähigkeit Zellmembranen rezeptorunabhängig zu penetrieren. Die Aminosäuresequenz dieser Peptide basiert auf Protein-Transduktionsdomänen (PTD), wie sie beispielsweise auch im HIV-TAT-Protein (Humanes Immundefizienz-Virus Transaktivator der Transkription) und im Drosophila Antennapedia-Homeoprotein zu finden sind.^[35] Dabei besitzen sie viele Arginin- und Lysin-reiche Domänen. Unter physiologischen Bedingungen sind die CPPs überwiegend positiv geladen.^[36] Dadurch lassen sich ihre elektrostatischen Interaktionen mit negativ bzw. zwitterionisch geladenen Biomolekülen wie DNA oder RNA^[37, 38] und damit auch mit der Glycocalyx von Zellmembranen,^[39, 40] und daher ihre erhöhte Zellaufnahme erklären.^[41] Weitere Eigenschaften der CPP sind deren Amphiphilie und Basizität.^[42] Zudem ist die Toxizität der CPPs gering.^[41] Diese vorteilhaften Eigenschaften werden genutzt, indem unterschiedlichste Wirkstoffe an CPP geknüpft und dadurch in das Zielgewebe, die Zielzellen oder in bestimmte Zellorganellen transportiert werden.^[42-46] Beispiele für Cargos, die bereits erfolgreich mit Hilfe von CPPs transportiert wurden, sind Antigene und Peptid-Nukleinsäuren (PNAs),^[47, 48] Proteine wie Streptavidin^[49] aber auch Fluorophore^[46] oder sogar große unilamellare Vesikel (LUV_{engl.}, large unilamellar vesicles).^[50]

Mit Hilfe der CPPs kann zum einen zellorganellspezifisches Targeting erfolgen. Durch Kupplung von nukleären Lokalisationssequenzen (NLS) kann z.B. gezielter Transport in den Zellkern stattfinden. Auch mitochondriales Targeting durch CPPs konnte bereits erreicht werden. Die dafür genutzten Peptide werden auch als MPPs, mitochondria penetrating peptides, bezeichnet.^[51, 52] CPPs können zum anderen auch zum spezifischen Targeting von Organen eingesetzt werden. So beschreiben Hayashi et al.^[53] einen leberspezifischen Transport von small interfering RNA (siRNA) mit Hilfe von R8(Octaarginin)-modifizierten Lipidnanopartikeln. Kanazawa et al.^[54] gelang nach intranasaler Applikation HIV-TAT-modifizierter Mizellen hirnspezifischer Transport.

Nachteil des Einsatzes von Peptiden als spezifische Wirkstofftransporter ist jedoch deren kurze Halbwertszeit im Plasma. Denn dort werden sie durch Proteasen bzw. Peptidasen degradiert.^[55, 56] Für einige CPPs konnte außerdem auch leicht hämolytische Aktivität bestimmt werden.^[57] Aus diesem Grund wurde innerhalb der letzten Jahre die Suche nach CPP-Mimetika intensiviert. Zu diesen zählen β -Peptide, Peptoide sowie auch Polyamine (Abbildung 5).

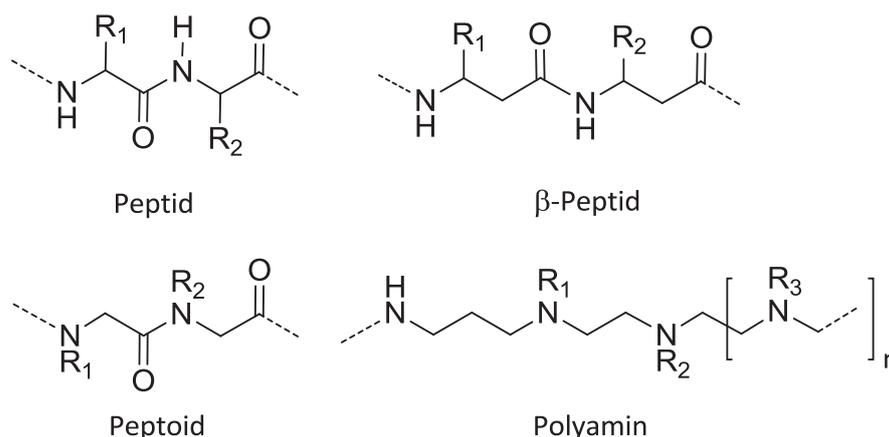


Abbildung 5: Peptide und deren Mimetika.

Im Unterschied zu den natürlichen α -Peptiden befindet sich bei einem β -Peptid die Aminogruppe am β -Kohlenstoff-Atom (Abbildung 5). Peptoide hingegen sind poly-*N*-substituierte Glycine, d.h. die Seitenketten befinden sich am N-Atom des Rückgrats.^[46] Auch Polyamine stellen Mimetika der CPPs dar und können daher zum spezifischen Transport eingesetzt werden.^[58, 59] Vorteile der unterschiedlichen Mimetika sind zum einen deren Stabilität gegenüber Proteasen und Peptidasen und zum anderen eine längere Verweildauer im Organismus. Ihre strukturelle Synthese erfolgt jedoch in Anlehnung an die CPPs, sodass deren vorteilhafte Eigenschaften weiterhin erhalten bleiben, durch einige Modifikationen sogar noch effizienter und spezifischer genutzt werden können.^[60-64] Weiterhin kann durch den Einsatz von CPP-Konjugaten, deren Mimetika oder den bereits erwähnten Prodrugs, die Wirkstofffreigabe, beispielsweise durch pH-abhängige intrazelluläre Spaltung, kontrolliert werden.^[34, 46, 58, 61, 62, 65-68]

Insbesondere der Einsatz Polyamin-basierter Strukturen der CPP-Mimetika ist von Interesse, da durch deren natürliches Vorkommen hohe Verträglichkeiten im Organismus gegeben sind. Für einen Übersichtsartikel siehe Hahn & Schepers.^[58] Wie auch schon für die CPP beschrieben, liegen Polyamine unter physiologischen Bedingungen überwiegend protoniert vor und interagieren daher insbesondere mit negativ oder zwitterionisch geladenen Biomolekülen, beispielsweise DNA.^[69, 70] Ihre Strukturen basieren auf dem Grundgerüst des Spermins oder des Spermidins (Abbildung 6).

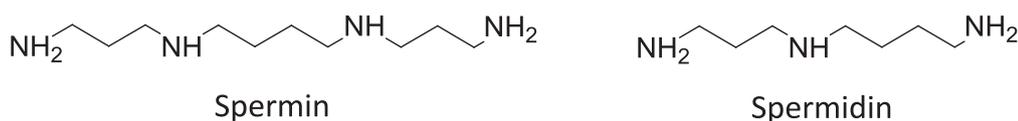


Abbildung 6: Strukturen der Polyamingrundgerüste Spermin und Spermidin.

Diese können mittels unterschiedlicher Seitenketten modifiziert werden, wobei es auch möglich ist Cargos einzuführen. Beispiele für Cargos, die über Polyamine transportiert werden, sind Naturstoffe,^[71] Fluorophore,^[56, 59, 66] lipophile Reste,^[59, 72, 73] aber auch antimikrobielle, antiinflammatorische oder antitumoraktive Wirkstoffe.^[66, 74, 75]



Spezifisches Targeting kann auch durch den Einsatz von Antikörperkonjugaten (Abbildung 4), Polymerkonjugaten (Abbildung 7), sowie auch Immunoliposomen (Abbildung 10) erreicht werden. Durch Galactosamin-modifizierte Polymere konnte bereits eine leberspezifische Anreicherung von Doxorubicin verzeichnet werden.^[76] Auch die Überwindung der Blut-Hirn-Schranke in Ratten konnte mit Hilfe des monoklonalen Antikörpers OX-26 erreicht werden. Dieser Antikörper wird durch den Ratten-Transferrin-Rezeptor erkannt und kann somit Wirkstoffe in das Hirn transportieren.^[77] Die Möglichkeit, Immunoliposomen zum lungenspezifischen Targeting zu nutzen, untersuchten bereits Hughes et al.^[78] Als Ligand wurde dabei der monoklonale Antikörper 273-34A genutzt, der an ein Epitop bindet, das überwiegend an den Endothelzellen von Lungenkapillaren vorkommt. Insgesamt konnte eine erhöhte Anreicherung der Immunoliposomen im Vergleich zur Leber bestimmt werden.

Eine weitere Möglichkeit des zielgerichteten Transports von Wirkstoffen stellt die Nutzung sogenannter Trägersysteme dar. Der Wirkstoff wird dabei entweder im Trägersystem verkapselt oder mittels kovalenter oder ionischer Wechselwirkungen an den Träger gebunden. Dies führt zum Schutz des Wirkstoffs vor unerwünschter Metabolisierung. Vorteil dieser Systeme ist deren hohe Beladungskapazität mit dem gewünschten Wirkstoff. Außerdem ist es möglich die Größe sowie die Permeabilität der Systeme zu kontrollieren.^[4] Ein Beispiel für die Bindung an das Trägersystem ist die Konjugation an Polymere, wobei in der Regel auch ein Linker benötigt wird (Abbildung 7).^[79]

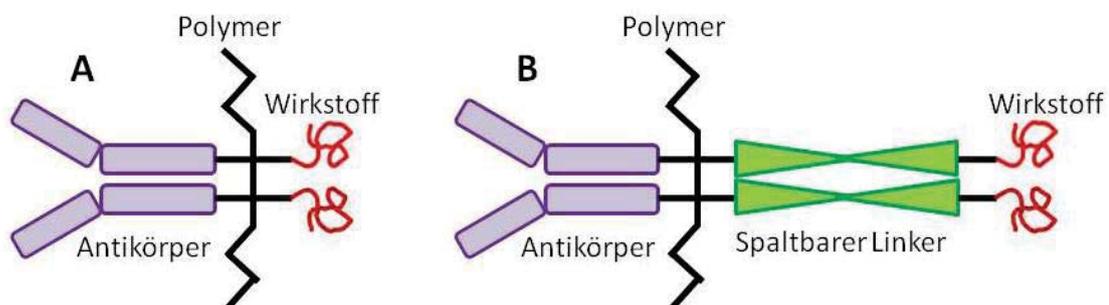


Abbildung 7: Schematische Darstellung eines polymeren Trägersystems zum spezifischen Drug Targeting; A ohne spaltbaren Linker; B mit spaltbarem Linker.

Auch viele andere Systeme können als Trägersysteme zum Einsatz kommen. Beispielsweise Mikrokapseln,^[80-82] Carbon-Shells,^[83] Carbon-Nanohorns^[84] oder Nanoröhren,^[85-88] aber auch Block Copolymere,^[89-92] Hydrogele,^[93] Mizellen^[94, 95] und Liposomen^[96-101] können in diesem Zusammenhang aufgeführt werden.

Vielfach kommen liposomale Systeme aufgrund ihrer erleichterten Präparation und Kontrolle der Partikelgröße zur Anwendung. Zudem sind sie in der Regel nicht toxisch, da sie aus natürlichen Substanzen präpariert werden.^[102] Liposomen sind vesikuläre Systeme, deren Membran aus einer Doppelschicht oberflächenaktiver Moleküle aufgebaut ist. Üblicherweise bestehen diese aus Phospholipiden, die sich aus einem kugelförmigen hydrophilen Teil und einem schwanzförmigen lipophilen Teil zusammensetzen. Werden oberflächenaktive Moleküle als dünne Schicht mit Wasser suspendiert, ordnen sie sich



derart an, dass sie eine Doppelmembran bilden, die an der Außenseite hydrophil und im Inneren lipophil ist. Dies führt dazu, dass das sowohl im Lumen, als auch außerhalb des Liposoms hydrophiles Milieu vorliegt, wobei das Innere der Liposomenmembran lipophil ist. So können zum einen wasserlösliche Substanzen im Lumen des Liposoms und/oder lipidlösliche Substanzen in die Membran aufgenommen und mit Hilfe des Liposoms transportiert werden. Abbildung 8 zeigt ein Liposom nach Einschluss eines Wirkstoffs im Lumen in dreidimensionaler Darstellung.

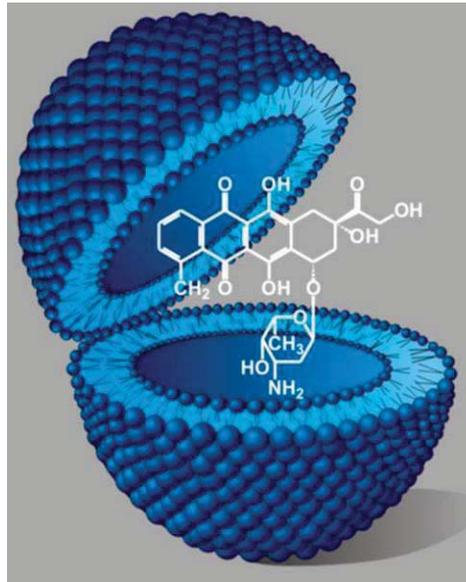


Abbildung 8: 3D-Darstellung eines Liposoms nach Wirkstoffeinschluss.

Je nach Aufbau und Größe werden Liposomen in unterschiedliche Klassen eingeteilt (Abbildung 9)^[65, 97, 103, 104]:

- SUV: small unilamellar vesicle (kleine unilamellare Vesikel)
- LUV: large unilamellar vesicle (große unilamellare Vesikel)
- MLV: multilamellar vesicle (multilamellare Vesikel)
- MVL: multivesicular liposome (multivesikuläre Liposomen)

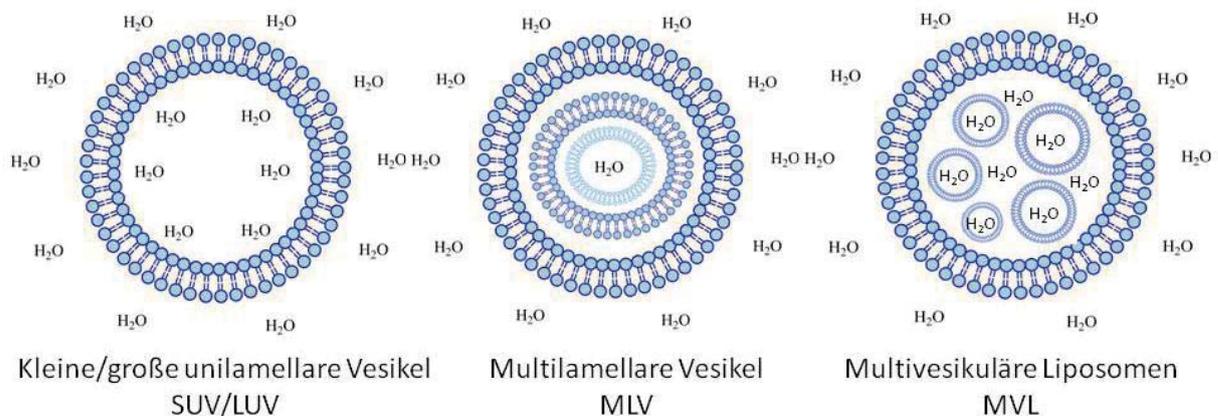


Abbildung 9: Unterschiedliche Klassen von Liposomen.



Ursprünglich wurden Liposomen als Modell zur Untersuchung von Zellmembranen entwickelt. Allerdings wurde schnell deutlich, dass sie für viele weitere Anwendungen genutzt werden können, beispielsweise als Carrier für vielfältige Wirkstoffe oder Antigene. Dadurch kann auch die Freisetzung der transportierten Substanz beeinflusst werden und das Liposom als sogenanntes Slow Release Reservoir wirken. Durch ein Liposom als Carrier werden zum einen Löslichkeitseigenschaften der Substanzen moduliert und auch deren Elimination im Blutstrom weitestgehend verhindert. Zum anderen können über diese Art der Applikation eines Wirkstoffs dessen Nebenwirkungen gesenkt werden.^[97, 105, 106]

Allgemein kann die Gewebeselektivität aller genannten Trägersysteme und damit auch der eingeschlossenen oder gebundenen Wirkstoffe außerdem durch Konjugation mit einem Vektor noch zusätzlich gesteigert werden (z.B. Immunoliposomen) (Abbildung 10). Wichtig bei der Nutzung von Trägersystemen ist auch die kontrollierte Freisetzung des Wirkstoffs am Zielort. Daher werden zumeist pH-labile Systeme genutzt, die im sauren endosomal/lysosomalen System oder im sauren Milieu von Tumorgewebe zur Freisetzung des Wirkstoffs führen.^[107, 108] Außerdem kann die kontrollierte Freisetzung auch mittels Ultraschall erreicht werden.^[109-111]

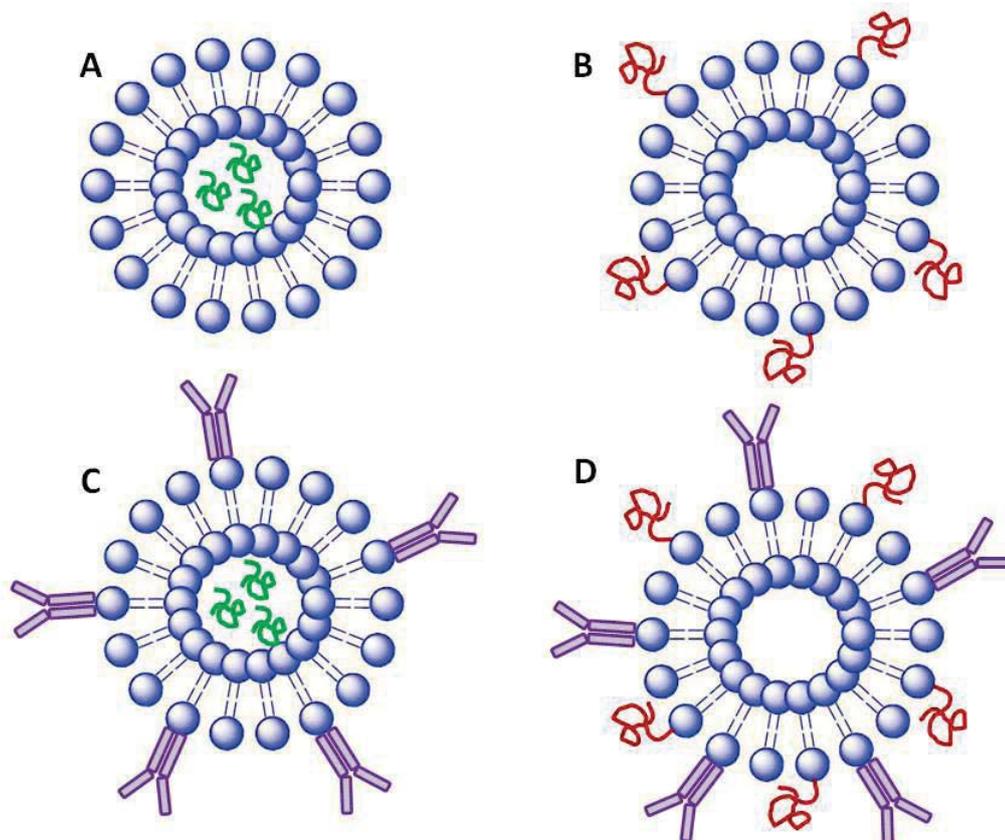


Abbildung 10: Schematische Darstellung unterschiedlicher liposomaler Trägersysteme; **A** Liposom mit Wirkstoffeinschluss; **B** Liposom mit Wirkstoffkonjugation; **C** Liposom mit Wirkstoffeinschluss und Antikörperkonjugation (Immunoliposom); **D** Liposom mit Wirkstoff- und Antikörperkonjugation (Immunoliposom).



2 Tumorspezifisches Targeting

Trotz intensiver und jahrelanger Forschung stellen Tumorerkrankungen nach Herz-Kreislauf-Erkrankungen noch immer die zweithäufigste Todesursache in vielen Teilen der Welt dar. Die einzelnen Phasen, die zur Entstehung einer Tumorerkrankung führen, sind in Abbildung 11 dargestellt.

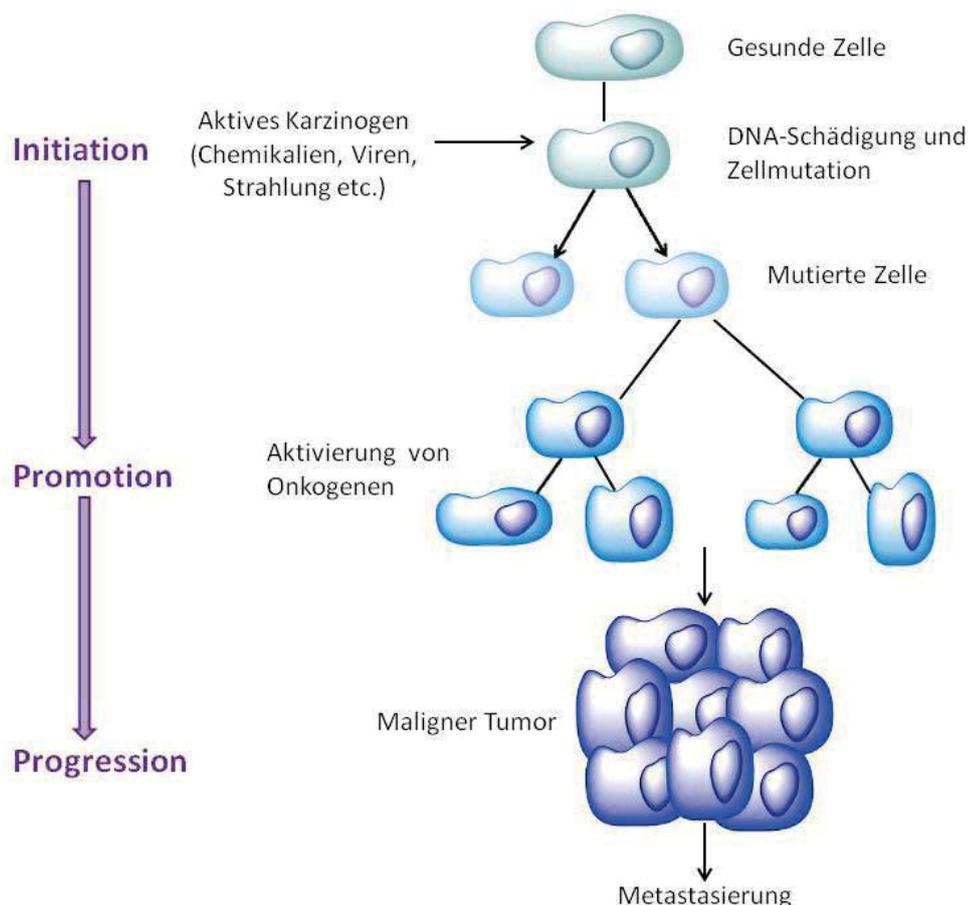


Abbildung 11: Schematische Darstellung der Phasen der Krebsentstehung.

Bei der Initiation kommt es zunächst zur Schädigung einer gesunden Zelle. Da Zellen jedoch über Reparaturmechanismen verfügen, können sie diesen Schaden zumeist beheben. Außerdem kann auch durch weitere Kontrollmechanismen der kontrollierte Zelltod (Apoptose) der geschädigten Zelle eingeleitet werden. Kennzeichnend für Tumorerkrankungen ist eine Störung dieser Kontroll- und Reparaturmechanismen, wodurch es zu erhöhtem Zellwachstum (Entstehung eines Geschwürs, Tumorbildung) kommt (Phase der Promotion). Beschränkt sich das unkontrollierte Wachstum lediglich auf einen bestimmten Körperbereich, so ist das Geschwür im Allgemeinen nicht lebensbedrohlich und wird daher als gutartiger (benigner) Tumor bezeichnet. Bösartige (maligne) Tumore hingegen, können auch in andere Körperbereiche vordringen (Invasion), beispielsweise über Blut oder Lymphe. Dort kann es schließlich zur Bildung von Tochtergeschwüren, Metastasen, kommen (Abbildung 12). Dies wird auch als Phase der Progression bezeichnet.^[112, 113]

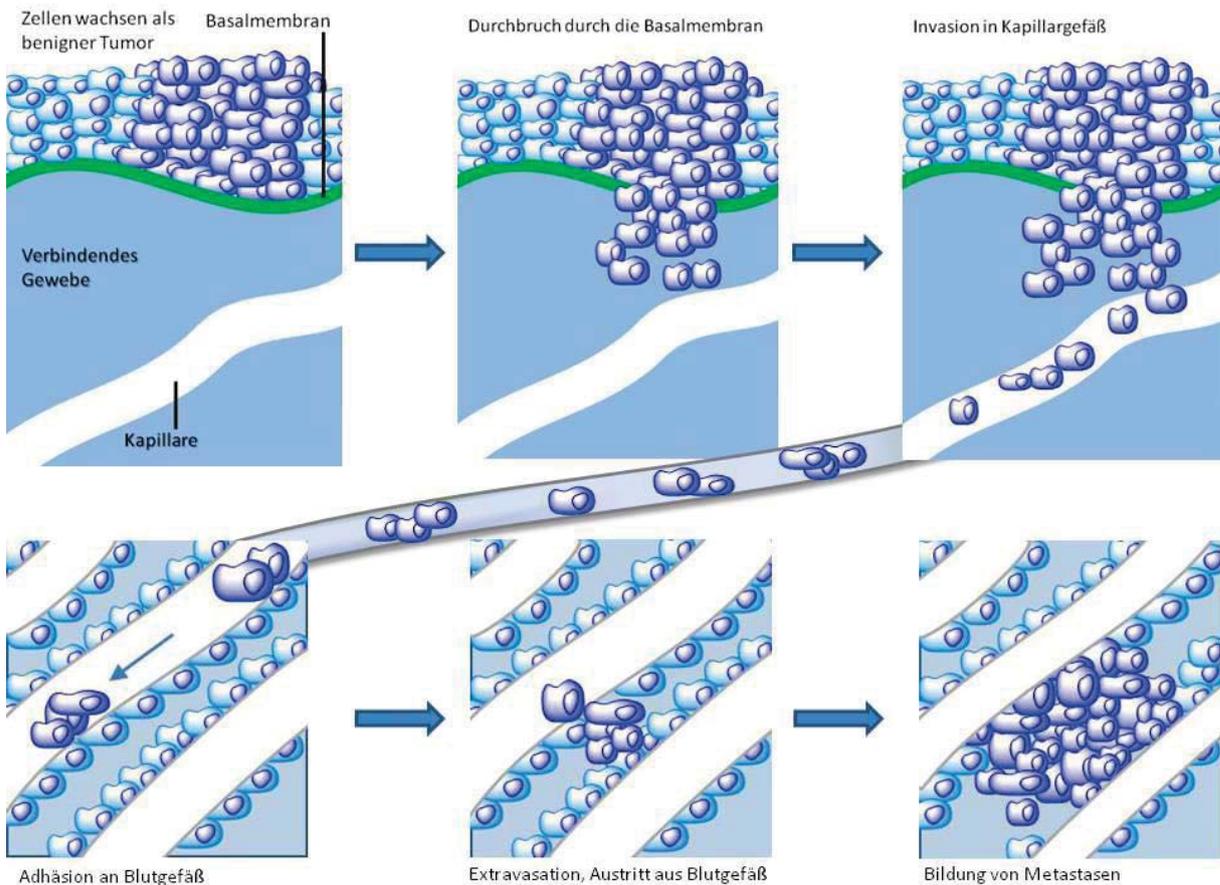


Abbildung 12: Schematische Darstellung der Metastasierung eines Tumors; modifiziert nach Alberts et al.^[114]

Zur Therapie von Tumorerkrankungen gibt es die unterschiedlichsten Ansätze. Diese sind in Tabelle 1 in einer kurzen Übersicht mit ihren jeweiligen Vor- und Nachteilen dargestellt. Die operative Entfernung von Tumoren kann nur dann vollständig geschehen, wenn der Tumor genau abgrenzbar ist. In der Regel wird zusätzlich zum Tumorgewebe ein Teil des umliegenden gesunden Gewebes sowie auch benachbarte Lymphknoten entfernt. Ziel ist es eventuell dort angesiedelte Metastasen gleichzeitig zu beseitigen. Als Nebenwirkung bei dieser Therapieform kann es zu Störungen des Lymphflusses und Lymphstau aufgrund entfernter Lymphknoten kommen.^[115-117]

Als Chemotherapie bezeichnet man die Behandlung durch Verabreichung sogenannter Zytostatika, d.h. Substanzen, die die Zellvermehrung hemmen oder Zytotoxika, d.h. Substanzen, die schädigend auf Zellen wirken. Zusammenfassend werden diese Wirkstoffe als Chemotherapeutika bezeichnet. Die Behandlung kann lokal oder systemisch und auch einzeln oder in Kombination unterschiedlicher Wirkstoffe erfolgen. Die Wirkung beruht darauf, schnell wachsende Zellen in ihrer Vermehrungsfähigkeit zu beeinträchtigen. Als Chemotherapeutika werden eine Reihe von Substanzen eingesetzt. Einige davon sind mit ihrer jeweiligen Wirkweise und Beispielen in Tabelle 2 zusammengefasst.^[118]



Tabelle 1: Auswahl einiger konventioneller Arten der Tumorthherapie.

Vorteile	Art der Therapie	Nachteile
+ Zumeist vollständige Entfernung + Post-operative Feststellung von Tumormerkmalen für die weitere Behandlung	Operativer Eingriff	- Nur bei soliden abgrenzbaren Tumoren - Nebenwirkungen: gestörter Lymphfluss, Lymphstau
+ Auch Metastasen angegriffen	Chemotherapie (Verabreichung zytostatisch wirkender Substanzen)	- Nur schnell wachsende Zellen/Tumore → Starke Nebenwirkungen - Multidrug-Resistance (MDR)
+ Nebenwirkungsarm + Gute Verträglichkeit	Antihormontherapie (Unterdrückung der Hormonbildung, die das Tumorwachstum unterstützt)	- Gefahr von Tumorneubildungen durch veränderten Hormonhaushalt - Entwicklung von Resistenzen gegen Hormonentzug
+ Nebenwirkungsarm	Immuntherapie (Erkennung tumorassoziierter/tumorspezifischer Antigene, TAA/TSA)	- Keine automatische Immunreaktion
+ Zielgerichtet + Intensität einfach modulierbar	Strahlentherapie/Radiotherapie (Einsatz von Röntgen-/Gammastrahlen, Elektronentherapie)	- Nicht lokalisierbare Metastasen nicht erreichbar - Lokale Strahlenschäden
+ Auch tiefliegende Tumore selektiv behandelbar + Leicht wiederholbar	Hyperthermie (Einsatz nichtionisierender Strahlenquellen)	- Bisher noch erschwerte Kontrolle der Körpertemperatur - Lokaler Schmerz - Gefahr von Embolien

Tabelle 2: Ausgewählte Chemotherapeutika und deren Wirkweise.

Zytostatikum	Wirkweise	Beispiele
Alkylanzien	Vernetzung von DNA oder Proteinen (→ Ablesen und Neubildung der DNA gestört)	Cyclophosphamid, Hydroxyurea
Antimetabolite	Einbau in DNA (→ spezifische Wirkung während der Zellteilung)	Fludarabin, Gemcitabin
Antitumorantibiotika	DNA-Bruch und Veränderung der Zellmembran	Anthracycline: Doxorubicin, Epirubicin
Platin-Verbindungen	Bindung an DNA und Hemmung von Reparaturenzymen	Cisplatin, Carboplatin
Taxane	Verfestigung von Microtubuli-Fäden	Paclitaxel, Docetaxel
Topoisomerasehemmer	Hemmung von Topoisomerasen	Camptothecin, Teniposid
Vincaalkaloide	Hemmung der Microtubuli-Bildung	Vincristin, Vinblastin

Die verschiedenen Chemotherapeutika unterscheiden nicht zwischen gesunden und erkrankten Zellen. So entstehen die bekannten und zumeist sehr starken Nebenwirkungen wie Haarausfall, Übelkeit und Erbrechen sowie Blutarmut, durch Angriff sich häufig regenerierender Gewebe. Die Stärke der Nebenwirkungen ist fast immer der dosis-limitierende Faktor.

Vorteilhaft bei der Chemotherapie ist, dass auch Metastasen durch die jeweiligen Wirkstoffe in ihrem Wachstum gehemmt werden. Sehr bedeutender Nachteil ist jedoch die Resistenz der Tumorzellen gegenüber zytostatisch oder zytotoxisch wirkenden Substanzen. Dies wirkt sich zumeist auf die verschiedensten Chemotherapeutika aus und wird daher auch als Multidrug-Resistance (MDR, Abbildung 13) bezeichnet.^[119, 120]

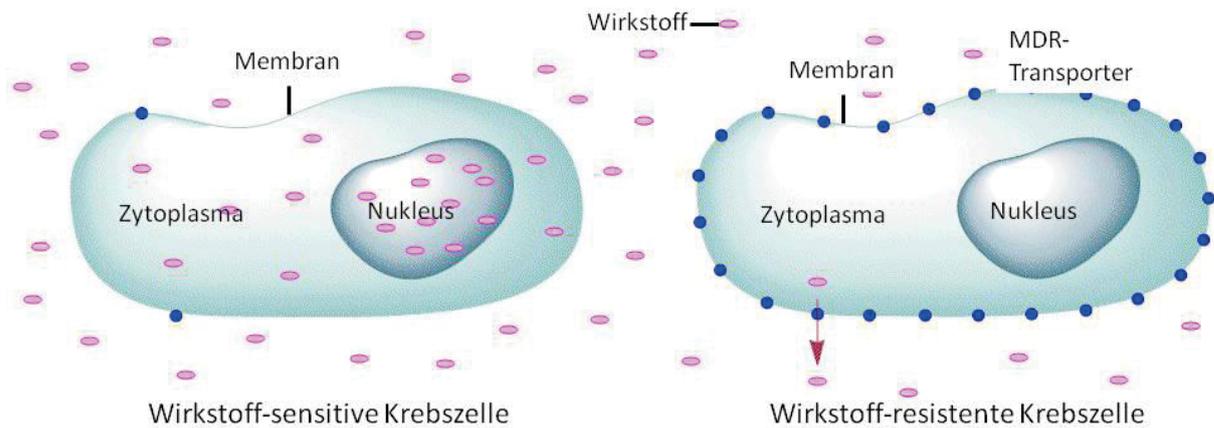


Abbildung 13: Schematische Darstellung der Multidrug-Resistance (MDR) von Tumorzellen; modifiziert nach Szakacs et al.^[121]; Ullah.^[122]

Diese Resistenz kann inhärent sein oder sich auch während der Behandlung entwickeln.^[123] Dabei besitzen die resistenten Zellen eine erhöhte Anzahl sogenannter Multidrug-Resistance (MDR)-Transporter. Mit deren Hilfe werden die in die Zelle gelangten Chemotherapeutika sofort wieder heraustransportiert ohne zuvor ihre Wirkung entfalten zu können.^[117, 124] Zu diesen Transportern zählt zum einen das P-glycoprotein (P-gp),^[125, 126] das unter anderem mit der Resistenz gegenüber Anthracyclinen^[127, 128] und Vincaalkaloiden^[129-131] in Verbindung gebracht wird. Verantwortlich für die Bildung des P-gp ist das MDR1 Gen.^[120, 132, 133] P-gp ist ein Transporter der ATP-binding cassette (ABC) Superfamilie.^[134] Weitere Transporter dieser Superfamilie, die mit MDR in Zusammenhang gebracht werden, sind die MRP1-6 (Multidrug resistance-associated protein 1-6) Homologe^[135] und das BCRP (breast cancer resistance protein).^[136]

Neben dem Mechanismus des erhöhten Effluxes der Wirkstoffe durch Transportersysteme, werden auch andere, in der Zelle veränderte, Mechanismen für die MDR diskutiert. Beispiele sind eine veränderte Membranpermeabilität und damit veränderte Aufnahmekinetik der Wirkstoffe,^[137, 138] Defekte der Apoptose Signalwege^[139-141] und Änderung bestimmter Enzymgehalte innerhalb der Zelle (z.B. Glutathion-S-Transferase^[142, 143]).

Einige Tumore wachsen verstärkt unter hormonellem Einfluss.^[144-149] Die Antihormontherapie nutzt diese Hormonabhängigkeit aus, indem die körpereigene Hormonbildung unterdrückt wird, um das Tumorstadium einzuschränken. Vorteile dieser Therapieart sind die gute Verträglichkeit und das geringe Ausmaß an Nebenwirkungen. Nachteilig wirkt sich jedoch der veränderte Hormonhaushalt darauf aus, dass dadurch eventuell die Bildung neuer, anderer Tumore begünstigt wird. Zudem kann eine Reihe von Tumoren im Laufe der Behandlung eine gewissen Resistenz gegenüber dem Hormonentzug entwickeln.^[150, 151]

Eine weitere Art der Tumorbehandlung ist die Immuntherapie. Ausgenutzt wird hierbei die Erkennung tumorassoziierter bzw. tumorspezifischer Antigene (TAA/TSA), die Tumorzellen von gesunden Körperzellen unterscheiden. Diese können z.B. Anhäufungen bestimmter Merkmale sein oder auch Merkmale, die dem umgebenden Gewebe nicht ähneln. Damit sind diese Antigene nicht unbedingt körperfremd und führen nicht automatisch zu einer



Immunreaktion. Auch die fehlende Entzündungsreaktion erschwert diese Art der Therapie. Kommt es doch zur Auslösung einer Immunreaktion oder wird diese von außen induziert, ist es von Vorteil, dass kaum bis keine Nebenwirkungen hervorgerufen werden.^[152-154]

Auch mittels Bestrahlung ist es möglich, einen Tumor in seinem Wachstum zu hemmen. Zum Einsatz kommen dabei elektromagnetische/ionisierende Strahlen wie Röntgen- und Co-60-Gammastrahlen (Linearbeschleuniger, Telekobaltgeräte) für Therapien von tiefliegenden Tumoren oder die Elektronentherapie für Tumore nahe der Oberfläche. Die Bestrahlung führt zu einer indirekten oder direkten Schädigung biologisch aktiver Moleküle, z.B. von DNA oder Enzymen. Die eingesetzte Energiedosis einer Bestrahlung wird in der Einheit Gray (Gy) angegeben. Wichtig bei dieser Therapie ist es, das umliegende gesunde Gewebe zu schonen, beispielsweise durch Bestrahlung aus unterschiedlichen Richtungen, sodass die höchste Strahlendosis im Bereich des Tumors erreicht wird. Nachteil dieser Therapieart ist zum einen, dass nicht lokalisierbare Metastasen nicht durch die Bestrahlung geschädigt werden. Zum anderen kommt es häufig zu Strahlenschäden im jeweils bestrahlten Gebiet, wie z.B. Haarausfall, trockene Haut oder Durchfall. Neuartige Technologien ermöglichen heute jedoch die sehr genaue Einstellung der Bestrahlungsintensität, sodass weitestgehender Schutz des umliegenden Gewebes gewährleistet ist. Zudem kann auch intraoperative Bestrahlung stattfinden, wobei ebenfalls gesundes Gewebes geschützt wird.^[116, 117, 150, 155] Viele Studien und Forschungsarbeiten nutzen außerdem den Einsatz sogenannter Radiosensitizer zur Verstärkung der intrazellulären Strahlendosis.^[156, 157] Dazu können zum einen chemische Substanzen dienen, die durch Veränderung des Sauerstoffgehaltes innerhalb der Zelle die Bestrahlungssensitivität erhöhen.^[158, 159] Beispiele dazu sind Metronidazol^[160] und Misonidazol.^[161] Aber auch nanopartikuläre Systeme^[162] wie Pt-^[163] oder Au-Nanopartikel^[164-168] dienen als Radiosensitizer, da sie durch erhöhte Absorption der applizierten Strahlung die Dosis pro Gewebe deutlich erhöhen (Abbildung 14).^[169]

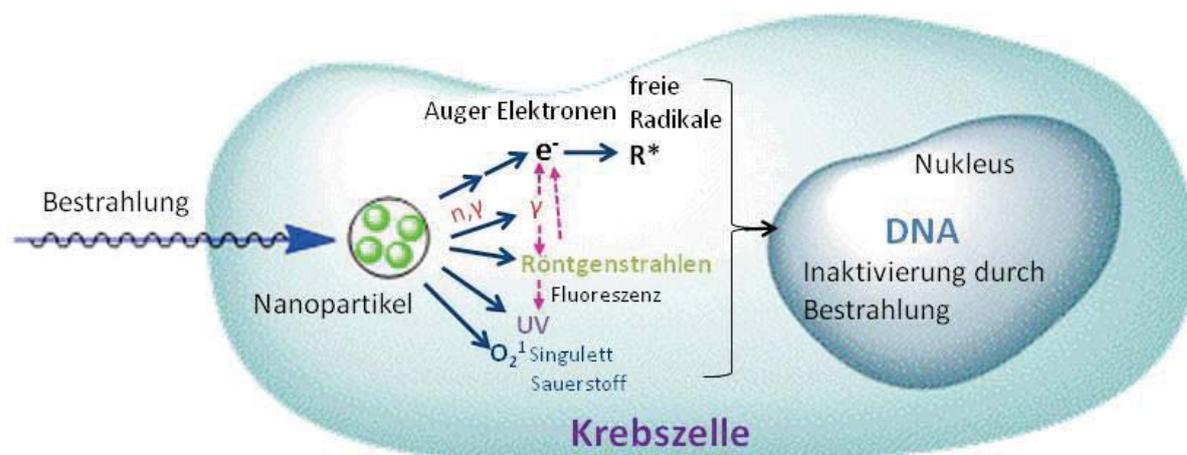


Abbildung 14: Wirkung von Nanopartikeln als Radiosensitizer innerhalb einer Krebszelle.

Je nach Nanopartikel und Bestrahlungsart kommt es innerhalb einer Zelle zur Bildung unterschiedlicher Sekundärprodukte/-strahlen. Diese führen zur Schädigung der DNA und möglichem Zelltod.^[170, 171] Gesunde Zellen besitzen vielfältige DNA-Reparatur-Mechanismen.



Diese sind in schnell teilenden Krebszellen jedoch vermindert, wodurch es ermöglicht wird, dass strahlungsinduzierte DNA-Schäden an die Tochterzellen weitergegeben werden. Dies kann zu Akkumulation der Schäden und letzten Endes zum Untergang der Zellen führen.^[172] Besonders wirkungsvoll ist in diesem Fall die Formierung von Auger Elektronen als Sekundärprodukte. Diese führen sowohl zur Bildung von Einzelstrang-, als auch (bevorzugt) Doppelstrangbrüchen der DNA.^[163] Da die Auger Elektronen sehr niedrige Energiegehalte (< 10 keV, meist < 1 keV) besitzen, ist deren Reichweite sehr gering (< 100 nm).^[169] Daher ist die Ausnutzung dieser Sekundärstrahlen besonderes nach Anreicherung der Partikel nahe des Zellkerns sehr effektiv.^[164] Vorteilhaft führt dies schlussendlich zur Akkumulation der DNA-Strangbrüche in kleinen Abschnitten der DNA und erhöht toxischer Auswirkung.^[169]

Die Verstärkung der Dosis sowie der Wirkung nach Applikation antikörperbeschichteter Au-Nanopartikel wurde am Tiermodell (Maus, subkutanes Mammakarzinom) bereits durch Hainfeld et al.^[173] untersucht. Nach selektiver Anreicherung und Retention der Nanopartikel im Tumor konnte eine Reduktion der Tumorgöße um 86% in der Nanopartikel-unterstützten Therapie im Vergleich zu einer Reduktion um 20% ohne Nanopartikel bestimmt werden. Zudem wurden keine Nebenwirkungen beobachtet. Wagner & Yang^[174] beschrieben zudem synergistische Wirkung von Bestrahlungs- und Chemotherapie. Diese Effekte führten sowohl zu einer signifikanten Abnahme des Tumorwachstums, als auch erhöhter Tumorzellapoptose und verbesserten klinischen Resultaten im Fall der Behandlung von Brust-, Ovarial- und Lungentumoren.

Auch die Behandlung von Tumoren mittels Hyperthermie ist möglich. Eingesetzt werden dabei nichtionisierende Strahlenquellen (Laser oder Radiofrequenz), die zur lokalen Erhöhung der Körpertemperatur des Patienten auf bis zu 44 °C bis 46 °C führen.^[172, 175, 176] Dies kann zytotoxische Effekte und das Auslösen einer Koagulationsnekrose zur Folge haben. Dieser Vorgang wird auch als Thermoablation bezeichnet.^[177, 178] Hyperthermie in Form von Thermoablation kann auch durch lokal applizierte superparamagnetische Eisenoxidnanopartikel und Anlegen eines elektromagnetischen Wechselfeldes durchgeführt werden.^[179, 180] Der Vorteil dieser Methode liegt darin, dass auch tiefliegende Tumore selektiv behandelt werden können, ohne umgebendes Gewebe zu beschädigen. Denn der Einfluss des magnetischen Feldes ist auf gesundes Gewebe unbedeutend. Zudem ist eine Wiederholung der Behandlung ohne erneute Punktion problemlos möglich, da der Abtransport der Partikel aus dem Tumorgewebe nur langsam stattfindet. Nachteil ist die Gefahr einer Embolie je nach Größe der applizierten Nanopartikel. Dabei sollten Durchmesser von 5 μm nicht überschritten werden und auch keine Tendenz zur Agglomeration gegeben sein. Während der Behandlung kann es zudem zu lokalem Schmerz durch die Hitzeentstehung kommen.^[181-185]

Doch auch eine geringere Erhöhung der Körpertemperatur (< 44 °C) wird häufig zur Tumorthherapie eingesetzt, denn dadurch können Zellen für bestimmte andere Therapiearten sensibilisiert werden, beispielsweise für eine Chemo- oder Radiotherapie. Nachteilig bei der Hyperthermie als Behandlungsart ist die noch erschwerte Regulation der Erhöhung der



Körpertemperatur, weshalb sie bisher lediglich in Kombination mit den genannten Behandlungen eingesetzt wird.^[155]

Diese Übersicht über gängige konventionelle Arten der Tumorthherapie lässt erkennen, dass noch immer Forschungsbedarf zur Verbesserung der Behandlungen besteht. Die zahlreichen und zum Teil auch sehr starken Nebenwirkungen führen zur Limitierung vieler Ansätze. Hinzu kommt die bereits erwähnte MDR, die die sonst sehr weit verbreitete Therapieform der Chemotherapie erschwert. Aus diesen Gründen wird eine Kombination unterschiedlicher Therapieansätze und ein gezieltes Targeting von Tumorzellen angestrebt.

Als Ansatz zum Tumortargeting gilt die sogenannte makromolekulare Therapie, bei der die bereits erwähnten Trägersysteme, wie Liposomen, Mizellen etc., zum Einsatz kommen können. Eine besondere Rolle für diese Targetingstrategie spielt dabei die Kenntnis, dass Blutgefäße unter bestimmten Bedingungen ‚undicht‘ werden können und sich damit ihre Permeabilität erhöht. Dies wurde im Speziellen für Tumorgefäße beobachtet.^[186] Grund dafür ist die erhöhte Ausbildung von Blutgefäßen (Angiogenese) zur Versorgung mit Nährstoffen und Sauerstoff, die bereits bei einer Tumorgroße von 100 – 200 µm beginnt.^[187] Das Wachstum und die Verzweigungen der Gefäße werden durch die Sekretion von Wachstumsfaktoren (z.B. VEGF, vascular endothelial growth factor^[187, 188]), permeabilitäts-regulierenden Faktoren (z.B. Bradykinin, Stickoxid^[188, 189]), Migrationsstimulatoren (z.B. PDGF, platelet derived growth factor^[190]), proteolytischen Enzymen (z.B. Matrix Metalloproteasen^[191], Serinproteasen^[192]) und Molekülen der Extrazellulärmatrix (z.B. TGF-β, transforming growth factor^[193, 194]) induziert. Unter anderem kommt es bei diesem Prozess durch den VEGF-Wachstumsfaktor zur Disruption occludinhaltiger Tight Junctions,^[195] die sonst zur endothelialen Konnektivität dienen. Dies führt schließlich zu erhöhter Permeabilität der Blutgefäße. Spezifischer Transport in das Tumorgewebe soll nun diese sogenannten Fenestrations zur Akkumulation des Trägersystems ausnutzen. Zudem sind Tumore arm an Lymphgefäßen, sodass durch die fehlende Lymphdrainage ebenso der Abtransport der Partikel verhindert wird.^[196, 197] Dieses passive Targeting durch partikuläre Systeme durch die hochpermeablen Blutgefäße und folgende Retention aufgrund des fehlenden Lymphsystems, werden auch zusammenfassend als EPR-Effekt (erhöhte Permeabilität und Retention) bezeichnet.^[198] Beachtet werden muss dabei jedoch, dass es einen spezifischen Größenbereich gibt, innerhalb dessen die Retention stattfinden kann. Zum einen muss die Phagozytose durch Makrophagen des Blutes, Opsonisierung, d.h. Proteinadsorption der Partikel und/oder die Aufnahme und damit Eliminierung durch Zellen des mononukleären Phagozytensystems (MPS) im retikuloendothelialen System (RES) berücksichtigt werden. Zellen des RES sind insbesondere in Leber und Milz, aber auch im Knochenmark zu finden. Der Aufbau der unterschiedlichen Endothelien eines Organismus ist in Abbildung 15 schematisch dargestellt.

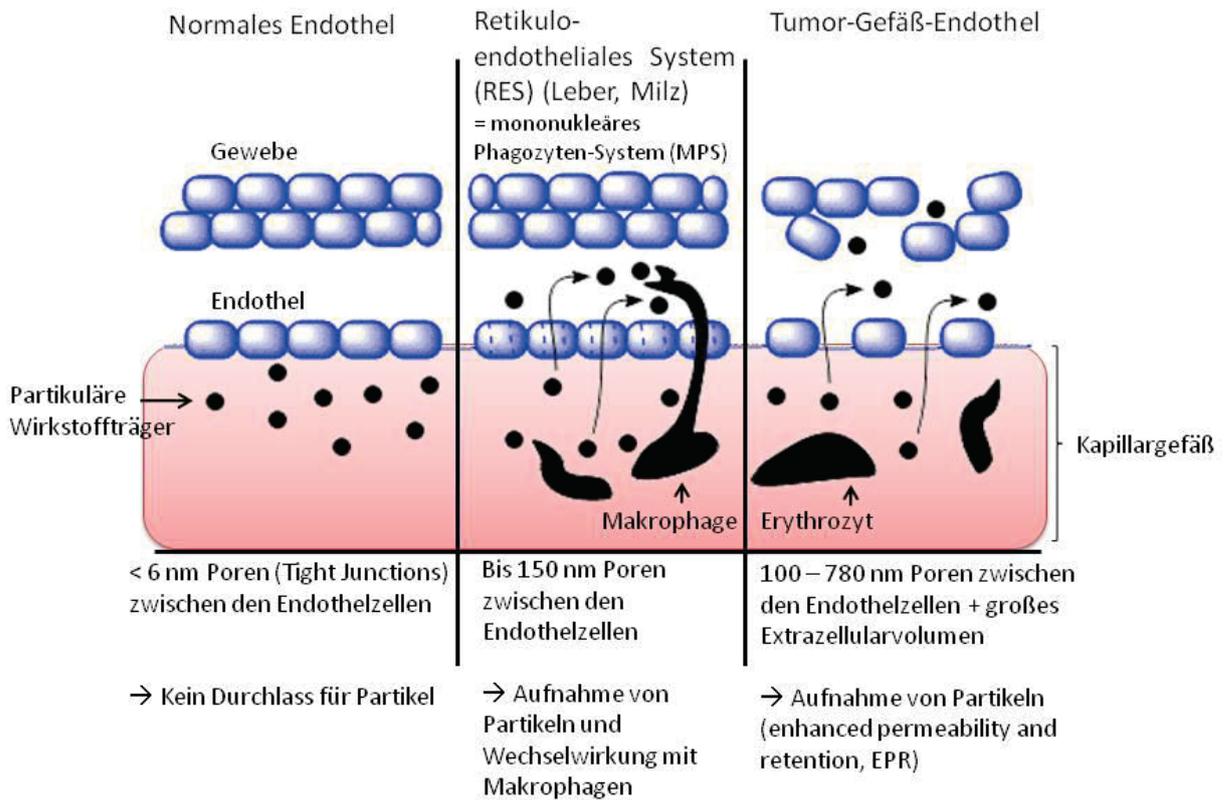


Abbildung 15: Aufbau der unterschiedlichen Endothelien eines Organismus; modifiziert nach Kratz et al.^[199]

Normales, gesundes Gewebe besitzt aufgrund von Tight Junctions zwischen den Zellen nur Porengrößen kleiner als 6 nm.^[200, 201] Größere Poren sind dagegen im Glomerulus der Niere (40 – 60 nm) sowie im RES (bis zu 150 nm im sinusoidalen Endothel der Leber und Milz) zu finden.^[201] Das Tumor-Gefäß-Endothel weist Porengrößen zwischen 100 und 780 nm auf.^[202-204] Die tatsächlichen Größen der Fenestrations sind dabei abhängig vom jeweiligen Tumortyp, dem Stadium der Erkrankung und auch der Körperregion, in der der Tumor liegt.^[196] Partikel, deren Größe über einem Durchmesser von 300 bis 400 nm liegt, werden im Blutstrom allerdings als körperfremde Stoffe erkannt und mittels Phagozytose von Makrophagen eliminiert.^[205, 206] Somit gilt als Ausschlussgröße zum tumorspezifischen Targeting mittels makromolekularer Therapie: 150 – 300 nm. Innerhalb des Tumorgewebes kommt es dann zur passiven Aufnahme der applizierten Partikel (Abbildung 17). Dies wird auch als Extravasation bezeichnet.

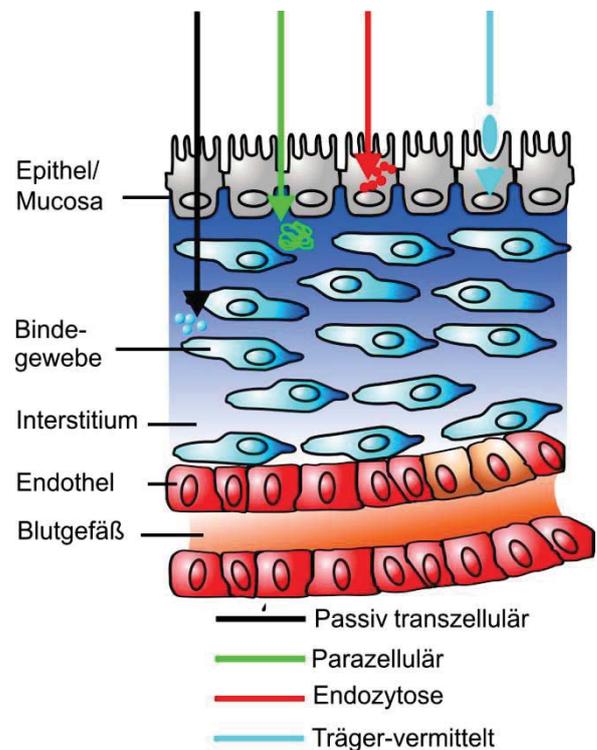


Abbildung 16: Transportmechanismen.



Während sehr kleine Partikel frei zwischen den Zellen hin und her diffundieren können (parazellulärer Transport (Abbildung 16)) werden die größeren aufgrund der ständigen Veränderung der Poren durch die Angiogenese innerhalb des Tumors zurückgehalten.

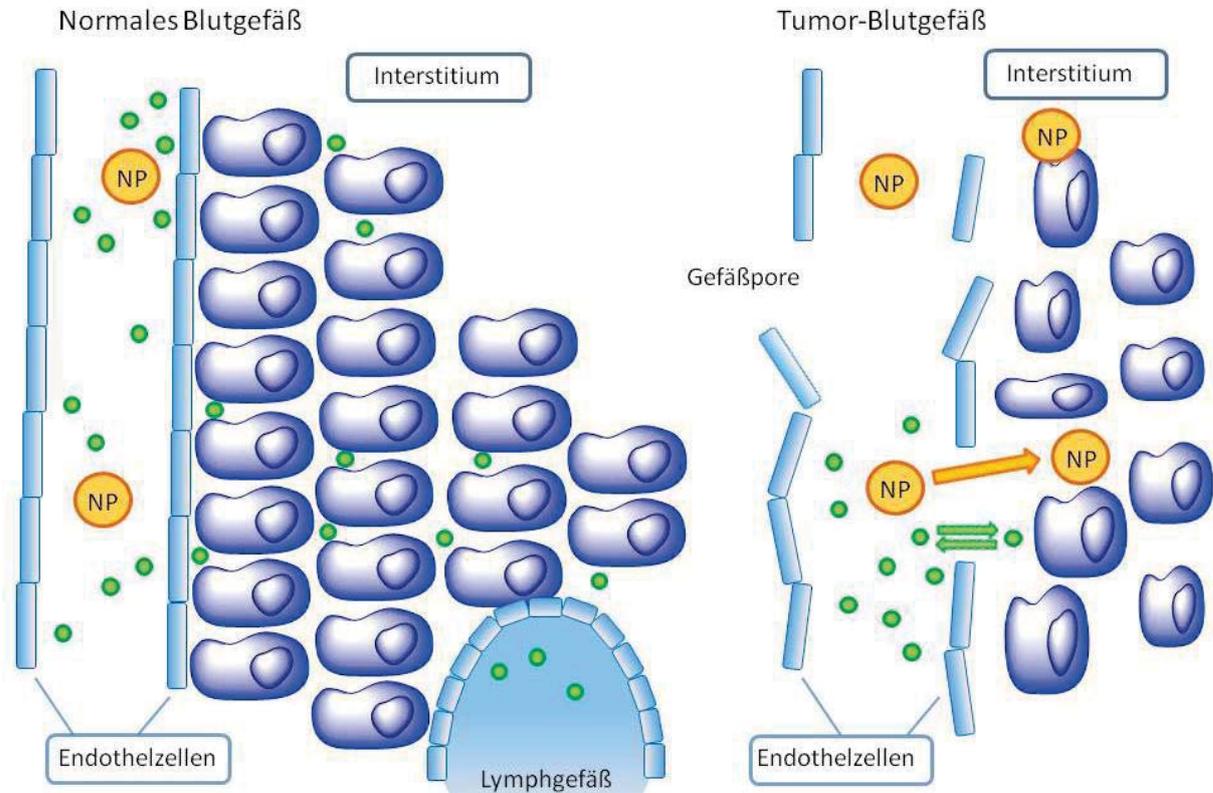


Abbildung 17: Extravasation partikulärer Systeme in Tumorgewebe im Vergleich zu normalem Gewebe; kleine Moleküle (grün) diffundieren frei in das Gewebe und wieder hinaus, dagegen werden Nanopartikel (NP, gelb) im Gewebe zurückgehalten; modifiziert nach Adiseshaiah et al.^[196]