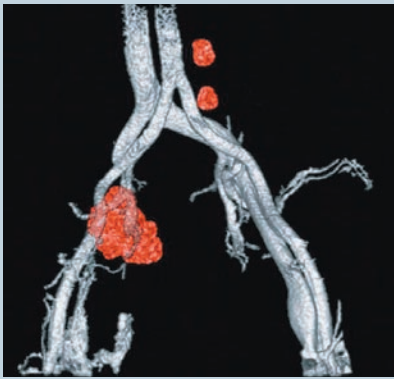


Potenzial mit Nebenwirkungen

Die Nanotechnologie befasst sich mit der Erzeugung und Manipulation von winzigsten Strukturen. Sie ist zu einer Schlüsseltechnologie der Zukunft mit potenziellen Milliardenumsätzen hochgejubelt worden, aber in letzter Zeit wurden vor allem warnende Stimmen laut.



Mit niedermolekularem Dextran umhüllte Eisenoxid-Nanopartikel werden von Makrophagen aufgenommen, reichern sich vorwiegend in Lymphknoten an und reduzieren dort die Intensität des MRT-Signals. Krebszellen verdrängen die Makrophagen, so dass in metastasierten Lymphknoten das Signal hoch bleibt. Das Bild zeigt die 3D-Rekonstruktion einiger Lymphknoten relativ zum umgebenden Gefäßsystem. Bildquelle: Mukesh Harisinghani, Harvard Medical School.

Es stimmt schon, dass der Mensch seit jeher Nanopartikeln ausgesetzt war, z.B. Kondensationsprodukten aus der Atmosphäre oder Rauchpartikeln aus Waldbränden und Vulkanausbrüchen. Seit Beginn der Industrialisierung hat die anthropogene Erzeugung solcher ultrafeinen Partikel aber stark zugenommen, insbesondere aus den Auspuffrohren dieselgetriebener Autos, die für die Lunge umso gefährlicher sind, je kleiner ihr Durchmesser ist.

Nanopartikel werden aber auch zunehmend bewusst durch nanotechnologische Verfahren erzeugt. Vor allem die Medizintechnik setzt in vielen Bereichen auf die Miniaturisierung von Materialien, die man zu diagnostischen oder therapeutischen Zwecken in den Körper einbringen will – und das nicht nur mit der Injektionspritze, sondern nicht-invasiv auch über Lungen, Darm oder Haut.

Der Phantasie scheinen keine Grenzen

gesetzt zu sein, was die mögliche Anwendung von Nanopartikeln betrifft: Dank ihrer geringen Größe von weniger als 0,1 µm passieren sie nahezu alle biologischen Barrieren einschließlich der Blut-Hirn-Schranke und gelangen so in fast jedes Gewebe. Zum Vergleich: Die meisten Körperzellen haben 10 bis 20 µm Durchmesser.

Sensible Organe

Bei Inhalation werden sehr kleine Partikel nicht nur in den gesamten Luftwegen einschließlich der Endstrecke der Alveolen deponiert, sondern sie gelangen dort auch durch Epithel- und Endothelzellmembranen hindurch in den Blut- und Lymphkreislauf und erreichen damit potenziell sensible Organe wie Knochenmark, Lymphknoten, Milz oder Herz. Dies kann diagnostisch genutzt werden: Erst jüngst erregte in der Radiologie ein Kontrastmittel mit 30 nm großen Eisenoxid-Partikeln Aufsehen; damit lassen sich metastasierte Lymphknoten mit hoher Empfindlichkeit erkennen (s. Abb.).

Auch über die Haut können Nanopartikel Lymphgefäße erreichen und damit in ähnlicher Weise verteilt werden. Sogar die Aufnahme in Nervenfasern und damit der Transport ins Gehirn ist im Tierexperiment beobachtet worden. Gerade diese Fähigkeiten machen bei aller Technologiebegeisterung nachdenklich.

Die einfache Aufnahme in verschiedenste Gewebe des Körpers ist einerseits oftmals erwünscht, kann aber andererseits Nebenwirkungen zeitigen, über die wir noch so gut wie nichts wissen. Aus der Forschung über die Luftverschmutzung ist immerhin bekannt, dass es vor allem zwei Eigenschaften sind, auf die man ein Augenmerk haben muss: die geringe Größe und die im Verhältnis zur Masse große Oberfläche. Ersteres ermöglicht die freie, unkontrollierte Passage von Zellmembranen, letzteres verstärkt Wechselwirkung mit der Umgebung und damit die potenzielle Toxizität.

Nanotoxikologie

So verwundert es nicht, dass derzeit eine neue Disziplin am Entstehen ist: die Nanotoxikologie. Dieses Stichwort tauchte erst im Jahr 2004 in der wissenschaftlichen Literatur auf, und im Augenblick findet man dazu in der Medizin-Datenbank PubMed (S. 61) gerade einmal vier Publikationen. Die ausführlichste Übersicht über das neue Forschungsgebiet

geben Oberdörster et al. (Environmental Health Perspectives 2005; 113: 823-39). Man darf getrost darauf wetten, dass die Zahl der Veröffentlichungen sehr schnell ansteigen wird, denn die potenziellen Risiken sind genauso wenig von der Hand zu weisen wie der vermutete Nutzen. Anthony Seaton und Kenneth Donaldson, Arbeitsmediziner in Edinburgh, die man zu den Begründern der Nanotoxikologie zählen kann, argumentieren anhand von zwei Analogbeispielen aus der Umwelttoxikologie (Lancet 2005; 365: 923-4):

1. Man weiß, dass bereits ein relativ geringer Anstieg der Luftverschmutzung das Risiko vor allem für kardiovaskuläre Erkrankungen und Todesfälle ordentlich erhöht. Dafür werden die Nanopartikel aus Verkehrs- und Industrieabgasen verantwortlich gemacht, und zwar über mutmaßlich drei Mechanismen: Sie verursachen Entzündungen und Gerinnsel, die bei Patienten mit vorgeschädigten Herzkranzgefäßen zum Infarkt führen können. Sie können Gefäßwandzellen verändern, so dass es zur Bildung von Thromben kommt. Und sie können wahrscheinlich das autonome Nervensystem beeinflussen, das den Kreislauf reguliert.
2. Das zweite Beispiel betrifft Nanoröhren aus Kohlenstoff oder anderen Materialien, denen eine große Zukunft z.B. als Träger von Medikamenten vorhergesagt wird. Diese Nanoröhren haben einige Eigenschaften – geringen Durchmesser, große Länge und Unlöslichkeit (und damit eine lange Lebensdauer im Körper) – die sie fatalerweise mit einem einst ebenfalls hochgelobten, mittlerweile aber geächteten Material teilen: dem Asbest. Es sei nicht auszuschließen, so Seaton und Donaldson, dass Nanoröhren, die zu therapeutischen Zwecken inhaled werden, ähnliche gesundheitliche Folgen bis hin zum Krebs haben könnten wie Asbest.

Kein Mediziner würde wohl die neue Technologie in Bausch und Bogen ablehnen, denn sie bietet faszinierende Perspektiven für Therapie und Diagnostik – und nicht zuletzt für die pharmazeutische Industrie. Bevor man aber blind drauflos entwickelt, gilt der Satz: Für Risiken und Nebenwirkungen fragen sie lieber erst ihren Nanotoxikologen. ■

jjg

Genexpression

Ordnung im Chaos

Die Messwerte, die man mit Genexpressions-Biochips erhält, zeigen eine erstaunliche Stabilität, obwohl sie sich ebenso gut chaotisch verhalten könnten. Die Erklärung liegt womöglich in der Selbststabilisierung von Zufällen beim Auf- und Abbau von mRNA.

Die Medizin dringt mit Mikro- und Nanosystemen immer tiefer in die Welt kleinster Strukturen vor: Ihre Abmessungen liegen, wie der Name besagt, im Bereich von Mikro- bzw. Nanometern. Für die Genforschung setzt man beispielsweise Microarrays mit Tausenden von Gensonden ein, deren Durchmesser bei etwa 1 µm liegt.

So faszinierend es sein mag, mit solchen „Biochips“ den Expressionszustand sämtlicher Gene eines Gewebes erfassen zu können, so problematisch ist die Auswertung der Massendaten. Immer wieder kommt es vor, dass gefeierte Publikationen nach kurzer Zeit von anderen Forschergruppen widerlegt werden. Biometriker wie Prof. P. Martus von der Charité Berlin warnen deshalb davor, weitreichende biologisch-medizinische Schlüsse zu ziehen, solange noch nicht einmal ein vernünftiges Datenmodell existiert.

Auf einer Fachtagung der Arbeitsgruppe Bioinformatik der DGKL (www.dgkl.de/bioinformatik) erläuterte Martus in der Ev. Akademie Tutzing, die traditionellen Normalverteilungen der Labordiagnostik seien auf Biochipexperimente nicht bedenkenlos übertragbar. Schließlich teste man mit Expressionschips nicht wie üblich

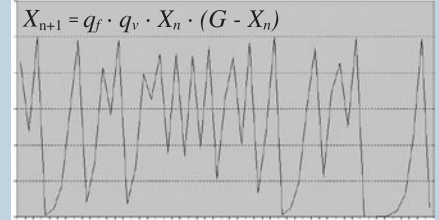
Tausende von Individuen auf ein einziges Merkmal wie z.B. Cholesterin, sondern umgekehrt Tausende von Merkmalen an einem einzigen Individuum.

Bei der Suche nach einem Datenmodell für Expressionsdaten muss man unbedingt die zugrunde liegende Biologie berücksichtigen: Die Biochipwerte repräsentieren mRNA-Konzentrationen im Fließgleichgewicht zwischen Synthese und Abbau. In erster Näherung lassen sich solche Gleichgewichte durch demographische Modellrechnungen simulieren. Danach erreichen Populationen normalerweise ein Gleichgewicht, in dem Vermehrung und Absterben gleich groß sind – eine durchaus plausible Analogie zu Synthese und Abbau von Molekülen. Wie der Physiker Mitchell Feigenbaum 1975 zeigte, tendieren solche Systeme unter bestimmten Verhältnissen zu chaotischen Schwankungen, ähnlich der Wirbelbildung in einem Strudel (s. Abb.).

In einem von der DGKL geförderten Forschungsprojekt (www.simchip.de) wird derzeit simuliert, welche Einflussgrößen die Verteilung der Messwerte von Genexpressionschips bestimmen. Grundsätzlich sind drei Prozesse zu berücksichtigen:

1. mRNA-Synthese (Polymerase II)
2. mRNA-Abbau (Halbwertszeiten)
3. Aktivatoren und Inhibitoren

Die bisher erhaltenen Ergebnisse sind vielversprechend: Durch geeignete Kombination von Differenzialgleichungen für den Auf- und Abbau der mRNA lässt sich zeigen, dass die Verteilung der Biochip-



Mit Modellrechnungen wie z.B. der „logistischen Gleichung“ kann man das Fließgleichgewicht zwischen Vermehrung und Absterben von Populationen beschreiben. Chaosforscher fanden heraus, dass es unter ganz bestimmten Bedingungen zu starken Schwankungen ohne erkennbare Regelmäßigkeiten kommt – ähnlich den Wirbeln in einem Strudel.

Messwerte als vollständig zufälliger und dennoch selbststabilisierender Prozess beschrieben werden kann. Das vorläufige Datenmodell ergibt – wie von Martus bereits vermutet – keine der bekannten Normal- oder Lognormal-Verteilungen; vielmehr liegen fast alle Werte in einem erstaunlich engen Bereich mit scheinbaren Ausreißern um zwei Zehnerpotenzen nach oben. Die Extremwerte erklären sich nicht durch hohe Synthese-, sondern geringe Abbauraten der mRNA. Daraus resultieren oftmals sog. Differenzierungsgene eines Gewebes wie z.B. Alpha-Amylase in der Bauchspeicheldrüse.

Die Konsequenzen eines solchen Datenmodells für die Deutung der Genregulation sind noch nicht absehbar. Sie reichen von mathematisch fundierten Empfehlungen für die Normalisierung von Expressionsdaten bis zu philosophischen Fragen über das Entstehen von biologischer Ordnung aus dem scheinbaren Chaos von Zufallssystemen. ■

gh

MEDICA 2005 Symposium Nr. 209

Neue Wege in der Krebsdiagnostik

Donnerstag, 17.11.2005, 10:00-13:00, CCD.Süd Raum 7b

Die meisten Krebsformen entwickeln sich über Jahrzehnte hinweg aus prämaligen Vorstufen. Diese können geheilt werden, wenn man sie rechtzeitig entdeckt. Das Problem liegt jedoch am Fehlen von klinischen Symptomen in diesen Frühstadien: Verursacht der Krebs erst einmal Beschwerden, so ist es für eine erfolgreiche Therapie oft bereits zu spät. Die Tumordiagnostik setzt deshalb mit immer empfindlicheren Labortests und extrem hochauflösenden Bildgebungsverfahren auf Früherkennung und frühe Intervention.

Doch auch in fortgeschrittenen Krebsstadien eröffnen moderne Verfahren neue Horizonte für die Diagnosestellung, Stadieneinteilung, Therapieauswahl und Prognosebeurteilung. Die Zukunft liegt in der „Theragnostik“ – der umfassenden Diagnostik molekularer Störungen und darauf aufbauend dem gezielten Einsatz spezifischer Medikamente.

Redner	Titel
Prof. Dr. G. Hoffmann	Einführung
Priv.-Doz. Dr. M. Cohnen	Röntgenstrahlen und mehr: Moderne bildgebende Verfahren in der Tumordiagnostik
Dr. P. Stieber	Tumormarkerprofile für die Früherkennung und Verlaufskontrolle
Dr. P. Findeisen	Neue Strategien für die Entdeckung von Tumormarkern
Prof. Dr. C. Poremba	Genexpressionsprofile als Prädiktoren des therapeutischen Ansprechens
Dr. K. Habben	Theragnostik - Brückenschlag zwischen Therapie und Diagnostik

Gentransfer

Viren auf Bestellung

Moderne Impfstoffe basieren auf nicht infektiösen Viruspartikeln, in deren Genom Fremdgene von prinzipiell gefährlichen Erregern wie z.B. Pocken eingefügt wurden.

Viren verfügen über Mechanismen, um an Zellen anzudocken und ihre Erbsubstanz in den Wirt einzuschleusen. Daher stellen Sie ein sehr effizientes System zum Gentransfer in der Medizin und biochemischen Forschung dar. Virale Vektoren können für Impfungen und Gentherapie oder auch im Rahmen von Expressionsexperimenten in Zelllinien oder Primärzellen verwendet werden.

Für die Schutzimpfung gegen Pocken, die bis 1980 als Pflichtimpfung durchgeführt wurde, verwendete man verschiedene Stämme des Vacciniavirus. Mit diesen gelang es zwar, die Pocken sehr effizient in den Griff zu bekommen, jedoch trat auch ein breites Spektrum von Nebenwirkungen bis hin zur Enzephalitis auf.

1976 wurde das „Modifizierte Vacciniavirus Ankara“ (MVA) als Pocken-Vorimpfstoff vom Paul Ehrlich Institut zugelassen und anschließend an 120.000 Personen angewendet, ohne dass ernste Nebenwirkungen auftraten. „Entschärft“ hatte das Virus Professor Anton Mayer in München, der dazu von 1960 bis 1974 das Ausgangsvirus CVA (Cutaneous Vacciniavirus Ankara) über 500 Vermehrungsrunden auf speziellen Hühnerzellen züchtete. CVA wurde 1958 in Ankara von

einem Esel isoliert und war hoch infektiös. Ein Vergleich von CVA und MVA zeigte, dass im MVA sechs große Stücke aus dem CVA-Genom fehlen, insgesamt über 31.000 Basenpaare (bp).

Da das MVA vielen anderen Vektoren gegenüber Vorteile hat, ist dessen Anwendung zunehmend verbreitet. Das MVA infiziert Säugerzellen. Seine Gene und damit auch das eingebaute Fremdgen werden effizient abgelesen und in Proteine übersetzt, aber es werden keine funktionsfähigen MVA-Partikel gebildet oder gar freigesetzt. Dadurch wird eine Immunantwort gegen die gebildeten Proteine hervorgerufen, ohne dass eine Virusvermehrung stattfindet. Neben dieser Voraussetzung, die MVA als Vektor geradezu prädestiniert, können auch bis zu 50.000 bp in das Genom eingefügt werden. Würde man zum Beispiel einen Impfstoff gegen das Denguefieber entwickeln wollen, könnte man theoretisch das ganze Genom des Denguevirus, das gerade einmal 10700 bp umfasst, in das Genom des MVA einfügen. Praktisch würde man sich jedoch auf einige wenige Gene beschränken, die für besonders immunogene Proteine kodieren.

Die gute Verträglichkeit des MVA wurde bereits im Menschen und in Tieren nachgewiesen. MVA wird auch in einer zunehmenden Zahl von klinischen Studien verwendet. Wegen seines einzigartigen Sicherheitsprofils wurde MVA von der US Regierung ausgewählt, um einen sicheren

Pockenimpfstoff der dritten Generation herzustellen.

Obwohl so begehrt, war es bisher doch ausgesprochen schwierig, rekombinante MVA herzustellen. Die größten Probleme sind das optimale Design und das Klonieren sowie Isolieren der rekombinanten MVA. Die Münchner Firma VIVACS hat sich auf dieses Verfahren mit einem optimierten Vektordesign spezialisiert. Sie ist im renommierten „Biovalley“ Martinsried angesiedelt und verfügt über die nötige Industrie-Erfahrung, um durch hohe Qualitäts-Standards bei der Herstellung und der Dokumentation spätere Probleme bei der Arzneimittelzulassung mit den Behörden von Anfang an zu minimieren.

Dazu schicken die Kunden lediglich das DNA-Fragment, das Sie exprimiert haben möchten. Falls keine DNA vorliegt, genügt sogar die Sequenz auf dem Papier. Die Expressionsstärke des Gens kann je nach Bedarf gewählt werden, und auf Wunsch wird auch noch ein Reportergen eingebaut, um die Handhabung in der Zellkultur zu erleichtern. Das resultierende rekombinante MVA wird durch Bestimmung der genetischen und biologischen Eigenschaften charakterisiert und detailliert dokumentiert. ■

gh

Weitere Informationen:
Dipl.-Ing. Karl Heller, GF
VIVACS GmbH

karl.heller@vivacs.de, www.vivacs.de

**Innovations- und Gründerzentrum
Biotechnologie IZB
Martinsried - Freising**

IZB GmbH
am Klopferplatz 19
82152 Martinsried

**Hotspot für Life-Science
Unternehmensgründer**

**seit 10 Jahren
Nr. 1 in Deutschland**

www.izb-online.de