

# Erste *in vitro*- und *in vivo*-Untersuchungen von <sup>68</sup>Ga-Substraten für P-Glycoprotein

M. Fellner<sup>1</sup>, O. Thews<sup>2</sup>, F. Rösch<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut für Kernchemie, Johannes Gutenberg-Universität Mainz

<sup>2</sup>Institut für Physiologie und Pathophysiologie, Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Die Zellen des menschlichen Körpers verfügen über sehr effektive Transportmechanismen, um Xenobiotika (z.B. verschiedene Pharmaka) aktiv unter Energieverbrauch aus Zelle zu eliminieren. Da hierdurch die intrazelluläre Medikamentenkonzentration erniedrigt wird, kommt es zu einer Wirkungsverminderung, was in Tumorzellen zum Phänomen der Multidrug-Resistance (MDR) führt. Der wichtigste Vertreter dieser sog. ABC-Transporter ist das p-Glykoprotein (P-Gp), das neutrale sowie positiv geladene Substrate aus der Zelle herauspumpen kann. Die Expression und Aktivität dieser Transporter unterscheidet sich in Geweben und Tumoren konstitutionell und kann darüber hinaus durch verschiedene Faktoren beeinflusst werden. Um die Wirksamkeit von Pharmakotherapien bereits prätherapeutisch abschätzen zu können, wäre eine frühzeitige Erfassung der Aktivität des p-Glykoproteins (am besten im Rahmen eines bildgebenden Verfahrens) notwendig.

## Methodik

Verschiedenen Liganden aus der Gruppe der Schiff'schen Basen<sup>1</sup> wurden synthetisiert und innerhalb von 30 min ab Generatorelution markiert.<sup>2</sup> Zellversuche an einer Tumorzelllinie (Sublinie AT-1 des R-3327 Dunning-Prostata-Karzinoms der Ratte) wurden als erstes Auswahlkriterium für geeignete Liganden durchgeführt. Dabei wurden 5 mL Zellsuspension mit dem Liganden versetzt und 30 min inkubiert. Nach Zentrifugation wurden Überstand und Zellen getrennt vermessen.

Dabei wurden die Zellen in der Hälfte der Versuche jeweils mit 10 µmol Verapamil versetzt zur Blockung des P-Gp. Ein erster interessanter Ligand (G1L9) hiervon wurde zusätzlich für *in vivo* Versuche an tumortragenden (gleiche Zelllinie wie bei den zuvor genannten Zellversuchen) Copenhagen-Ratten ausgewählt. Nach Injektion wurde 60 min dynamisch mit Fokus auf den beiden Tumoren an den Hinterläufen und anschließend 15 min Ganzkörper gemessen.

## Ergebnisse

Die Liganden konnten erfolgreich markiert und anschließend in Zellversuchen evaluiert werden. Diese Untersuchungen zeigten, dass der Literaturligand H<sub>3</sub>-Eabi<sup>1</sup> einen guten Kontrast zwischen geblockter und ungeblockter Zelle aufweist, jedoch ist die Gesamtaufnahme in die Zellen deutlich geringer als bei dem später verwendeten Liganden G1L9. Der Kontrast ist schwächer, dennoch ist die Steigerung der Aufnahme in die Zelle höher als beim Literaturliganden. Auch G1L11 verhielt sich hier analog zu G1L9.

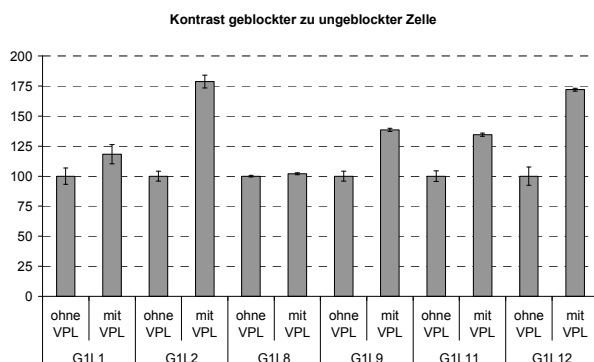


Abb. 1: Kontrast der Aufnahme der verschiedenen Liganden zwischen geblockter und ungeblockter Zelle

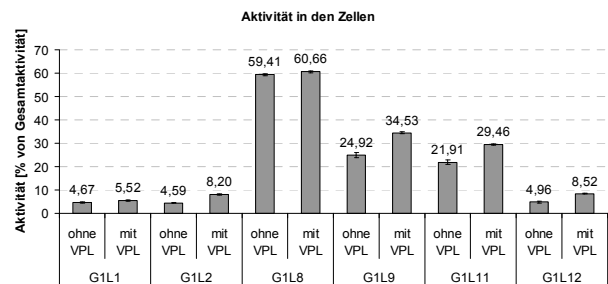


Abb. 2: Bindung der Liganden an die Zellen (mit Verapamil geblockt und ungeblockt)

Durch ein etwas besseres Ergebnis als G1L11 wurde G1L9 für die ersten *in vivo*-Untersuchungen ausgesucht und zeigte hier eine deutliche Anreicherung im Tumorgewebe (TU/NT: 2,3) Auch erste Versuche zur Aktivitätssteigerung des P-Gp durch eine Azidifizierung des Tieres mittels Unterversorgung von Sauerstoff zeigten Erfolge, der Ligand wurde verstärkt aus dem Tumorgewebe heraustransportiert. Diese Ergebnisse werden weiter validiert.

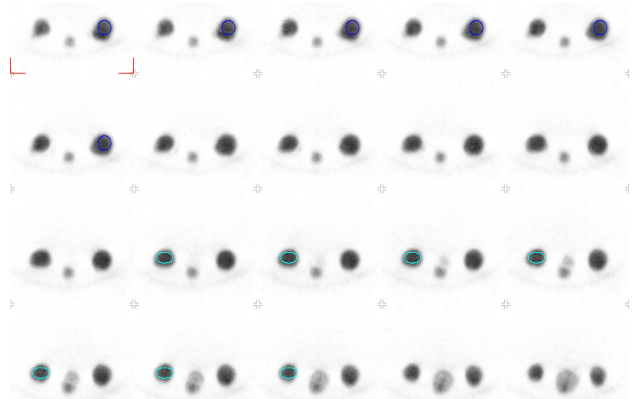


Abb. 3: transversale Schnitte durch die Tumore an den Hinterläufen der Ratte, Kleintier-PET, 0-60 min p.i., 30 nmol G1L9, 58 MBq injiziert

## Schlussfolgerung

Die Zellversuche zeigen gute Ergebnisse, jedoch ist der Kontrast bei <sup>99m</sup>Tc-Sestamibi mit einem Faktor von 6 zwischen geblockter und ungeblockter Zellen noch deutlich höher als bei den hier beschriebenen Ga-Liganden. Es konnte ein erster viel versprechender Ligand (G1L9) für *in vivo*-Untersuchungen ausgewählt werden. *In vivo* zeigt dieser eine gute Anreicherung im Tumorgewebe.

Darüber hinaus lässt sich der Transport des Liganden durch P-Glykoprotein beeinflussen wenn die Aktivität des Proteins durch Ansäuerung des Tumors gesteigert wird. Bei erhöhter Transportaktivität des P-Gp sinkt die Anreicherung des Liganden im Tumorgewebe.

## Ausblick

Im weiteren Verlauf werden neue Amingrundkörper dargestellt, um einen besseren Kontrast zwischen geblockten und ungeblockten Zellen zu erreichen.

## Literatur:

- [1] Sharma et al.; Journal of Nuclear Medicine, (2005), 46(2), 354-364
- [2] M. Fellner et al.; Jahresberichte 2007 – Institut für Kernchemie